



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“COMPROBACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS  
HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN  
(*Plantago major*) EN RATONES (*Mus musculus*)”**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO**

**PRESENTADO POR**

**KARINA FERNANDA REDROBÁN VARGAS**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2012**

## **DEDICATORIA**

*Este proyecto de tesis dedico principalmente a mi abuelita Mercedes Insuaste, una mujer luchadora y con un infinito don de amar que desde el cielo me ha guiado.*

*A mi madre, la Lcda. Marina Vargas quien a lo largo de su vida ha velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo instante de mi inteligencia y capacidad.*

*Es por esas dos mujeres maravillosas que soy lo que soy ahora.*

*Las amo.*

## **AGRADECIMIENTO**

*Mi profundo agradecimiento está dirigido a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, institución que ha sabido formarme académicamente con el afán de llegar a ser una profesional de éxito*

*A Dios y a la Virgen que gracias a ellos, pude culminar esta tesis*

*Al B.Q.F. Fausto Contero, tutor docente de este proyecto por saber guiarme con sus conocimientos y experiencia.*

*A la Dra. Susana Abdo por el gran aporte brindado en la elaboración de este trabajo de investigación*

*Y a cada una de las personas que colaboraron de una u otra manera para la culminación de este mi meta.*

# ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

## FACULTAD DE CIENCIAS

### ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de Tesis certifica que el trabajo de investigación: "**COMPROBACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) y LLANTEN (*Plantago major*) EN RATONES (*Mus musculus*)**" de responsabilidad de la señorita egresada Karina Fernanda Redrobán Vargas, ha sido prolijamente revisado por los miembros del tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

**NOMBRE**

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Yolanda Díaz H. -----

**DECANA FAC. CIENCIAS**

Dr. Luis Guevara I. -----

**DIRECTOR ESCUELA**

**BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

BQF. Fausto Contero B. -----

**DIRECTOR DE TESIS**

Dra. Susana Abdo L. -----

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Tc. Carlos Rodríguez -----

**DIRECTOR CENTRO**

**DE DOCUMENTACIÓN**

**NOTA TESIS** -----

Yo, Karina Fernanda Redrobán Vargas, soy responsable de las ideas,  
doctrinas y resultados expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de  
la tesis de grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÈCNICA  
DE CHIMBORAZO

---

**KARINA FERNANDA REDROBÁN VARGA**

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AT	Actividad Terapéutica
A	Aspecto
TLC	Cromatografía en capa fina
NMP	Número más probable
MP	Materia Prima
OMS	Organización Mundial de Salud
pH	Potencial de Hidrógeno
T	Temperatura
t	Tiempo
UFC	Unidad formadora de colonias
V	Viscosidad
W	Peso
HR	Humedad relativa
cm	Centímetros
mm	Milímetros
mL	Mililitros
g.	Gramos
mg.	Miligramos
°C	Grados centígrados
min.	Minutos
rpm	Revoluciones por minuto

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	PARTE TEÓRICA.....	1
1.1	MEDICINA TRADICIONAL .....	1
1.2	FITOMEDICINA.....	2
1.2.1	¿QUÉ ES UN PRINCIPIO ACTIVO?.....	3
1.2.2	DROGA VEGETAL .....	4
1.3	FITOFÁRMACOS.....	5
1.3.1	ELABORACIÓN DE LOS FITOFÁRMACOS .....	5
1.4	BERRO .....	6
1.4.1	DESCRIPCIÓN .....	7
1.4.2	HÁBITAT .....	8
1.4.3	CULTIVO Y RECOLECCIÓN .....	8
1.4.4	ACCIÓN FARMACOLÓGICA .....	9
1.4.5	COMPONENTES QUÍMICOS .....	10
1.4.6	TOXICIDAD DE LOS BERROS .....	10
1.5	LLANTÉN .....	11

1.5.1	DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA Y CICLO DE VIDA.....	12
1.5.2	COMPONENTES QUÍMICOS .....	13
1.5.3	ACCIÓN FARMACOLÓGICA .....	14
1.6	PROCESO DE OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO.....	14
1.6.1	RECOLECCIÓN DE LAS PLANTAS.....	14
1.6.2	CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA.....	15
1.6.3	MACERACIÓN.....	15
1.6.4	FILTRACIÓN.....	15
1.6.5	CONTROL DE CALIDAD .....	16
1.7	PIEL .....	16
1.7.1	COMPONENTES DE LA PIEL.....	16
1.7.1.1	LA EPIDERMIS .....	16
1.7.1.2	LA DÉRMIS .....	17
1.7.1.3	LA HIPODERMIS O FASCIA SUPERFICIAL .....	17
1.7.2	COMPONENTES DE CADA CAPA DE LA PIEL.....	17
1.8	HERIDA .....	18
1.8.1	CLASIFICACIÓN DE LAS HERIDAS .....	19
1.8.1.1	Heridas abiertas.....	19
1.8.1.2	Heridas cerradas.....	19
1.8.1.3	Heridas simples.....	19
1.8.1.4	Heridas complicadas .....	19
1.8.2	CLASIFICACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE HERIDAS .....	19

1.8.2.1	Punzantes .....	19
1.8.2.2	Cortantes .....	20
1.8.2.3	Punzocortantes .....	20
1.8.2.4	Abrasiones.....	20
1.8.2.5	Laceraciones .....	20
1.8.2.6	Avulsivas.....	20
1.8.2.7	Amputación.....	20
1.8.2.8	Contusas .....	21
1.8.2.9	Magulladuras.....	21
1.8.2.10	Aplastamiento .....	21
1.8.3	PROFUNDIDAD DE LA HERIDA .....	21
1.9	CICATRIZACIÓN .....	22
1.9.1	COMPONENTES PRINCIPALES DE LA CICATRIZACIÓN.....	23
1.9.1.1	REGENERACIÓN .....	23
1.9.1.2	REPARACIÓN .....	23
1.9.1.2.1	Primera Intención.....	23
1.9.1.2.2	Segunda Intención.....	24
1.9.1.2.3	Tercera Intención: .....	25
1.9.2	CÉLULAS QUE INTERVIENEN EN LA CICATRIZACIÓN.....	26
1.9.2.1	Hematíes o eritrocitos: .....	26
1.9.2.2	Plaquetas o trombocitos: .....	26
1.9.2.3	Leucocitos: .....	26

1.9.2.4	Granulocitos y Linfocitos: .....	26
1.9.2.5	Monocitos o fagocitos:.....	26
1.9.2.6	Fibroblastos:.....	26
1.9.3	FACTORES QUE AFECTAN LA CICATRIZACIÓN .....	26
1.9.4	FASES DE LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS .....	28
1.9.4.1	La fase inflamatoria .....	28
1.9.4.2	La fase proliferativa .....	28
1.9.4.3	La fase de maduración .....	28
1.9.5	COMPLICACIONES DE LA CICATRIZACIÓN.....	29
1.10	FLAVONOIDES.....	30
1.10.1	CLASIFICACIÓN DE LOS FLAVONOIDES .....	30
1.10.1.1	Flavonas .....	31
1.10.1.2	Flavonoles .....	31
1.10.1.3	Flavanonas .....	31
1.10.2	EL EFECTO MILAGROSO DE LOS FLAVONOIDES .....	31
1.11	TANINOS .....	32
2.	PARTE EXPERIMENTAL .....	33
2.1	LUGAR DE INVESTIGACIÓN .....	33
2.2	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS .....	33
2.2.1.1	MATERIALES .....	33
2.2.1.2	MATERIAL VEGETAL .....	33
2.2.1.3	MATERIAL BIOLÓGICO .....	33

2.2.1.4	MATERIAL DE LABORATORIO .....	34
2.2.2	EQUIPOS.....	34
2.2.3	REACTIVOS .....	34
2.3	MÉTODOS Y TÉCNICAS.....	35
2.3.1	PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA VEGETAL.	35
2.3.1.1	DETERMINACIÓN DE HUMEDAD .....	35
2.3.1.2	DETERMINACIÓN DE CENIZAS .....	36
2.3.1.2.1	CENIZAS TOTALES .....	36
2.3.1.2.2	CENIZAS SOLUBLES EN AGUA.....	37
2.3.1.2.3	CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO.....	38
2.3.1.3	DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES.....	38
2.3.1.4	DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES.....	39
2.3.1.5	CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES .....	40
2.3.2	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS .....	41
2.3.3	CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS .....	41
1.	DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA.....	41
2.	DETERMINACIÓN DE pH.....	41
3.	DETERMINACIÓN DEL INDICE DE REFRACCIÓN .....	42
4.	DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA .....	42
5.	DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES .....	43
2.3.4	EVALUACIÓN FITOQUÍMICA.....	43
2.3.4.1	Ensayo de Shinoda (Flavonoides).....	44

2.3.4.2	Ensayo de Mayer, Dragendorff y/o Wagner.(Alcaloides) .....	44
2.3.4.3	Ensayo de Liberman- Buchard (Triterpenos y/o Esteroides).....	44
2.3.4.4	Ensayo de Borntrager (Quinonas).....	45
2.3.4.5	Ensayo de Baljet (Cumarinas) .....	45
2.3.4.6	Ensayo de espuma (Saponinas).....	45
2.3.4.7	Ensayo de Cloruro Férrico (Taninos) .....	45
2.3.4.8	Ensayo de Resinas.....	46
2.3.4.9	Ensayo de Antocianidinas.....	46
2.3.5	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO .....	46
2.3.5.1	MÉTODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA.....	46
2.3.5.2	DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES.....	47
2.3.6	EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS .....	48
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	50
3.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA DE BERRO (Nasturtium officinale) Y LLANTEN (Plantago major) .....	50
3.1.1	DETERMINACIÓN DE HUMEDAD .....	50
3.1.2	DETERMINACIÓN DE CENIZAS .....	51
3.1.3	DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES .....	55
3.1.4	DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFÍA ....	55
3.2	CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS HICROALCOHÓLICOS.....	59
3.2.1	DESCRIPCION ORGANOLÉPTICA.....	59

3.2.2	DETERMINACIÓN DE LOS PARAMETROS FÍSICOS.....	60
3.2.3	EVALUACIÓN FITOQUÍMICA.....	61
3.2.4	CONTROL MICROBIOLÓGICO.....	63
3.3	ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO ( <i>Nasturtium officinale</i> ) Y LLANTÉN ( <i>Plantago major</i> ) EN RATONES.....	64
3.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	66
4.	CONCLUSIONES .....	77
5.	RECOMENDACIONES .....	79
6.	RESUMEN .....	80
7.	BIBLIOGRAFÍA .....	83
8.	ANEXOS .....	91

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>CUADRO N° 1.</b> Determinación de humedad en berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) y llantén ( <i>Plantago major</i> ) como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica Espoch. Octubre 2011 .....	<b>50</b>
<b>CUADRO N° 2.</b> Determinación de cenizas totales en las plantas de berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) y llantén ( <i>Plantago major</i> ) como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Octubre 2011.....	<b>51</b>
<b>CUADRO N° 3.</b> Determinación de cenizas solubles en agua en berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) y llantén ( <i>Plantago major</i> ) como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Octubre 2011.....	<b>53</b>
<b>CUADRO N°4.</b> Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) y llantén ( <i>Plantago major</i> ) como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Octubre 2011 .....	<b>54</b>
<b>CUADRO N° 5.</b> Determinación del porcentaje de sustancias solubles en berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) y llantén ( <i>Plantago major</i> ) como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Noviembre 2011 .....	<b>55</b>
<b>CUADRO N° 6.</b> Determinación del Rf de una muestra de llantén ( <i>plantago major</i> ) como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Noviembre 2011.....	<b>56</b>
<b>CUADRO N° 7.</b> Determinación del Rf de una muestra de berro ( <i>nasturtium officinale</i> ) como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Noviembre 2011.....	<b>56</b>
<b>CUADRO N° 8.</b> Determinación del Rf de una muestra de Quercetina como referencia para la presencia de flavonoides. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Noviembre 2011.....	<b>57</b>

<b>CUADRO N° 9.</b> Determinación de la concentración de flavonoides (% de quercetina) en las plantas de berro ( <i>nasturtium officinale</i> ) y llánten ( <i>plantag major</i> ) como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Diciembre 2011.....	<b>58</b>
<b>CUADRO N°10.</b> Descripción organoléptica de los extractos hidroalcohólicos de berro ( <i>nasturtium officinale</i> ) y llántén ( <i>plantag major</i> ). Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Diciembre 2011.....	<b>59</b>
<b>CUADRO N° 11.</b> Determinación de parámetros físicos de calidad de los extractos hicroalcoholicos de berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) y llantén ( <i>Plantago major</i> ). Realizado en el laboratorio de Alimentos. Espoch. Diciembre 2011.....	<b>60</b>
<b>CUADRO N° 12.</b> Tamizaje fitoquímico de los extractos hicroalcoholicos de berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) y llantén ( <i>Plantago major</i> ). Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Noviembre 2011.....	<b>61</b>
<b>CUADRO N° 13.</b> Determinación del número de microorganismos Aerobios mesofilos y Coliformes totales en los extractos hidroalcohólicos de berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) y llantén ( <i>Plantago major</i> ). Realizado en el laboratorio de microbiología. Espoch. enero 2012.....	<b>63</b>
<b>CUADRO N° 14.</b> Actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro y llantén en ratones evaluado mediante los días de cicatrización de cada uno de los grupos experimentales. Realizado en el Bioterio. Espoch. Febrero 2012.....	<b>64</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA N° 1.</b> Evaluacion del proceso de cicatrización en cada grupo experimental mediante la aplicación de cada uno de los tratamientos. ....	<b>49</b>
<b>TABLA N° 2.</b> Análisis estadístico, aplicado a los datos arrojados del estudio de cada tratamiento en ratones.Espoch. Febrero 2012.....	<b>66</b>
<b>TABLA N°3.</b> Análisis de Anova realizado a los resultados de las aplicaciones de los tratamientos en los grupos experimentales.Espoch. Febrero 2012.....	<b>67</b>
<b>TABLA N°4.</b> Análisis postest de Tukey realizados a los datos de la aplicación de los tratamientos en los grupos experimentales.Espoch. Febrero 2012.....	<b>68</b>
<b>TABLA N°5.</b> Análisis subconjuntos homogeneos realizados a los datos de la aplicación de los tratamientos en los grupos experimentales.Espoch. Enero 2012 .....	<b>69</b>
<b>TABLA N°6.</b> Medida diaria en cm. de la apertura de la herida .Espoch. Enero 2012.....	<b>71</b>
<b>TABLA N°7.</b> Escala referencial de la producción de la costra en cm., de acuerdo a la medida de apertura de la herida.Espoch. Enero 2012 .....	<b>72</b>
<b>TABLA N°8.</b> Escala de producción de la costra en cm., de acuerdo al tratamiento aplicado en cada grupo experimental. Espoch. Enero 2012.....	<b>73</b>
<b>TABLA N°9.</b> Porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización de cada tratamiento con respecto a la ausencia de tratamiento Espoch. Enero 2012.....	<b>75</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>GRÁFICO N°1.</b> Tipos de cicatrización de heridas. A) Primera intención B) Segunda intención. C) Tercera intención.....	<b>25</b>
<b>GRÁFICO N°2.</b> Estructura básica de los flavonoides.....	<b>30</b>
<b>GRÁFICO N°3.</b> Determinación de humedad en berro y llantén. Laboratorio de fitoquímica. Espoch. Octubre 2011 .....	<b>51</b>
<b>GRÁFICO N°4.</b> Determinación de cenizas totales en las drogas crudas de berro y llantén. Realizado en el laboratorio de fitoquímica.Espoch. Octubre 2011 .....	<b>52</b>
<b>GRÁFICO N°5.</b> Determinación de cenizas solubles en agua berro y llantén. Realizado en el laboratorio de fitoquímca. Espoch. Octubre 2011 .....	<b>53</b>
<b>GRÁFICO N°6.</b> Determinación de cenizas insolubles en HCl en berro y llantén. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Octubre 2011 .....	<b>54</b>
<b>GRÁFICO N°7.</b> Medias de los días de cicatrización con respecto a los tratamientos aplicados. Espoch. Febrero 2012 .....	<b>70</b>
<b>GRÁFICO N°8.</b> Producción y desprendimiento de la costra vs días al aplicar los tratamientos en cada grupo experimental. Espoch. Enero 2012 .....	<b>74</b>

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

<b>FOTOGRAFÍA N°1</b> Berro ( <i>Nasturtium officinale</i> ) .....	6
<b>FOTOGRAFÍA N°2.</b> Llánten ( <i>Plantago major</i> ).....	11
<b>FOTOGRAFÍA N°3.</b> Cicatrización de una herida en una mano 30 días después de producida la lesión .....	22
<b>FOTOGRAFÍA N°4.</b> Placas cromatográficas para la detección de flavonoides en berro y llánten comparados con la Quercetina Laboratorio de fitoquímica. Espoch. ....	57
<b>FOTOGRAFÍA N°5.</b> Determinación de humedad en berro y llánten como materia prima aplicando el método gravimétrico. Laboratorio de Fitoquímica. Espoch. ....	91
<b>FOTOGRAFÍA N°6.</b> Determinación de cenizas en berro y llánten como materia prima. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch.....	91
<b>FOTOGRAFÍA N°7.</b> Aplicación del concentrado de berro y llánten en la placa cromatográfica y recorrido de la fase móvl. Laboratorio de fitoquímica. Espoch .....	92
<b>FOTOGRAFÍA N°8.</b> Evaporación del contenido de alcohol de los extractos mediante la utilización del rotavapor. Laboratorio de fitoquímica. Espoch.....	92
<b>FOTOGRAFÍA N°9.</b> Control de calidad de los extractos mediante: el índice de refracción (método de abbe), pH y densidad relativa .....	93
<b>FOTOGRAFÍA N°10.</b> Aclimatación de los ratones previa la aplicación de los tratamientos en cada grupo experimental. Bioterio. Espoch .....	96
<b>FOTOGRAFÍA N°11.</b> Depilado de los ratones con crema depilatoria. Previa la aplicación de los tratamientos en cada grupo experimental. Bioterio. Espoch.....	96
<b>FOTOGRAFÍA N°12.</b> Inducción de la herida en el dorso de los ratones con bisturí. Bioterio. Espoch.....	97

- FOTOGRAFÍA N°13.** Aplicación de alcohol al 50% y eterol en la herida de los ratones. Bioterio. Espoch ..... **97**
- FOTOGRAFÍA N°14.** Aplicación de los extractos hidroalcohólicos en una proporción de berro/llantén 40:60, 60:40 y 50:50 en la herida de los ratones. Bioterio. Espoch .... **97**
- FOTOGRAFÍA N°15.** Medición diária de la cicatrización de las heridas y producción de costra en los ratones con la aplicación de los tratamientos en cada grupo experimental. Bioterio. Espoch..... **98**
- FOTOGRAFÍA N°16.** Cicatrización de la herida a los 6 días de aplicación con cada tratamiento. Bioterio. Espoch ..... **98**

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO N°1.</b> Determinación de humedad en berro ( <i>Nasturtium officinal</i> ). y llantén ( <i>Plantago major</i> ).....	<b>91</b>
<b>ANEXO N°2.</b> Determinación de cenizas en las drogas crudas de berro ( <i>Nasturtium officinal</i> ) y llantén. ( <i>Plantago major</i> ).....	<b>91</b>
<b>ANEXO N°3.</b> Identificación del compuesto químico representativo.....	<b>92</b>
<b>ANEXO N°4.</b> Evaporación del contenido de alcohol de los extractos hidroalcohólicos de berro ( <i>Nasturtium officinal</i> ). y llantén ( <i>Plantago major</i> ) .....	<b>92</b>
<b>ANEXO N°5.</b> Control de calidad de los extractos hidroalcohólicos de berro ( <i>Nasturtium officinal</i> ). y llantén ( <i>Plantago major</i> ).....	<b>93</b>
<b>ANEXO N°6.</b> Control microbiológico del extracto hidroalcohólico de berro ( <i>Nasturtium officinal</i> ) Realizado en el laboratorio de análisis técnicos Área de microbiología.....	<b>94</b>
<b>ANEXO N°7.</b> Control microbiológico del extracto hidroalcohólico de llantén ( <i>Plantago major</i> ) Realizado en el laboratorio de análisis técnicos Área de microbiología.....	<b>95</b>
<b>ANEXO N°8.</b> Determinación de la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro y llantén en ratones ( <i>Mus musculus</i> ) .....	<b>96</b>

## INTRODUCCIÓN

Las plantas, en todo el mundo, no sólo han sido nuestra principal fuente de alimentación y medicinas, sino la fuente de muchas de las aspiraciones, de los mitos, de los significados simbólicos y de las conductas rituales humanas.

El aprovechamiento de plantas aromático-medicinales hay que buscarla en la más remota antigüedad, según consta en diversos testimonios históricos pertenecientes a distintas civilizaciones y culturas, que han ido sucediendo en nuestro planeta.

Inicialmente el hombre las uso, a imitación de los animales, guiado por su instinto, después empíricamente, y más tarde de forma más racional, conociendo sus propiedades terapéuticas de forma progresiva, con los avances tecnológicos en química analítica. (15)

Desde 1975, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reconocido la importancia de las medicinas tradicionales en el control de la salud y ha generado un programa orientado a la promoción de la medicina tradicional en los países de desarrollo.

En el Ecuador las plantas medicinales constituyen uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como suburbano, donde los servicios de atención médica son escasos, acentuándose en las poblaciones más alejadas de las cabeceras municipales y de los centros urbanos, pero a pesar de su riqueza y diversidad de flora medicinal, el porcentaje de especies que poseen estudios fitoquímico y farmacológicos es muy escaso. (22)

Las causas que acentúan el arraigado y extenso empleo de fitofármacos entre los ecuatorianos son: el bajo poder adquisitivo que no permite el acceso a medicamentos siendo principal razón la baja economía de la población a productos de “calidad

extranjera”, la carencia de un sistema oficial de salud efectivo y, principalmente, que el conocimiento médico ancestral es inmenso

El hombre en común se encuentra expuesto a múltiples laceres no intencionados debido a situaciones precarias de vida y en el caso de animales pueden darse también por peleas con otros animales ya sea de su misma especie o no, de acuerdo a estos motivos se presentan lesiones superficiales .

Dado estos inconvenientes ha surgido la necesidad de buscar un producto de origen vegetal que sea barato eficaz y autosustentable como lo son los extractos hidroalcohólicos de Berro y Llantén, que ayudan a una pronta cicatrización de la herida; y a la vez incentivan a la población a investigar muchas de las plantas que todavía no se conocen pero que podrían llegar a ser una excelente alternativa médica y social.

El Eterol es un medicamento veterinario utilizado como antiséptico y cicatrizante de excoriaciones de la piel, úlceras y heridas que en cuya composición presenta Fenol 1g y violeta de genciana 0.4g

Este último está comprobado que posee acción carcinogénica en animales, y está contraindicada su aplicación en membranas mucosas, ojos, heridas y piel no intacta., además el producto presenta otro inconveniente, pues no cicatriza la lesión a profundidad provocando que el animal no se recupere con normalidad y produciendo también una coloración violeta en la zona aplicada, creando un mal aspecto a la herida.

La elaboración de los extractos de Berro y Llantén no posee efectos secundarios que pueda atentar a la salud animal mucho menos a la humana, mejorando el proceso de cicatrización.

Es interesante señalar que el llantén, se le encuentra en América concibiendo grandes cualidades medicinales conocidas desde muy antiguo y que han hecho que los conquistadores y colonizadores europeos la hayan llevado a diferentes sectores de las Américas

El Llantén ha sido usado desde tiempos remotos como un recurso de medicina alternativa, encontrándose en abundancia en nuestro país.

Numerosos investigadores se han interesado por conocer sus componentes químicos y sus efectos, estos sostienen que el Llantén es un eficaz medicamento para "heridas pútridas" y de difícil cicatrización. (31)

La Enciclopedia Hispano Americana, Edición de 1914, ya hace mención del llantén (*Plantago major*), como planta que en medicina popular se usa para la cicatrización de heridas, de úlceras, contra erupciones herpéticas y escropulosas. Además de para una serie de otros usos de interés como anti cancerígena. (46)

El berro (*Nasturtium officinale*) constituye uno de los mejores vulnerarios que existe para curar los posibles problemas que se producen en la piel cuya capacidad le viene otorgada por la existencia de propiedades antisépticas y de regeneración celular. Es una planta que se comercializa durante todo el año, por lo que siempre se pueden aprovechar sus propiedades medicinales

En muchas regiones indígenas de nuestro país, las personas que trabajan en el área agrícola, han manifestado que cuando llegan a cortarse o tener accidentes, estos colocan las hojas de berro sobre la herida para que exista una pronta cicatrización.

Con base en este conocimiento cultural en la utilización de estos vegetales en el tratamiento de sus enfermedades, investigadores realizan estudios en el laboratorio a fin de comprobar los efectos de ciertas plantas sobre las diferentes enfermedades que afectan al ser humano.

A partir de dichos antecedentes, el presente proyecto va enmarcado al estudio de vegetales con actividad cicatrizante para mejorar este proceso en heridas recientes, creando una alternativa medicinal con plantas existentes en nuestro medio como lo son el Berro, el cual además de poseer propiedades cicatrizantes, también goza de excelentes propiedades antibacteriales y el Llantén que debido a su alto contenido de taninos y por su bajo pero muy importante contenido en flavonoides es una reconocida planta vulneraria.

El motivo de combinación de estas dos plantas (Berro y Llantén), es debido a la acción conjunta de sus actividades: hemostática y antibacterial, que por tener un efecto superior al que resulta de la utilización de una sola planta es más eficaz y arroja mejores resultados en la comprobación de la actividad cicatrizante.

Para la presente investigación, se planteó los siguientes objetivos:

- a) Obtener los extractos hidroalcohólicos de *Berro (Nasturtium officinale)* y Llantén (*Plantago major*), a través de un proceso de maceración
- b) Realizar el control de calidad de los extractos hidroalcohólicos.
- c) Comprobar el efecto cicatrizante del producto en ratones de laboratorio de la especie (*Mus musculus.*), que permitió afirmar la siguiente hipótesis de trabajo:

Los extractos hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) y Llantén (*Plantago major*) poseen actividad cicatrizante en heridas cutáneas menores.

# CAPÍTULO I

## 1. PARTE TEÓRICA

### 1.1 MEDICINA TRADICIONAL

La medicina tradicional abarca una amplia variedad de terapias y prácticas que varían entre países y entre regiones. En algunos países se denomina medicina «alternativa» o «complementaria».

La medicina tradicional se viene utilizando desde hace miles de años, y sus practicantes han contribuido enormemente a la salud humana, en particular como proveedores de atención primaria de salud al nivel de la comunidad. (50)

Este tipo de medicina ha mantenido su popularidad en todo el mundo. A partir del decenio de 1990 se ha constatado un resurgimiento de su utilización en muchos países desarrollados y en desarrollo.

La medicina tradicional es: “la suma de los conocimientos teóricos y prácticos, explicables o no, utilizados para diagnóstico, prevención y supresión de trastornos físicos, mentales y sociales, basados exclusivamente en la experiencia y la observación, y transmitidos verbalmente o por escrito de una generación a otra..”(11)

También se define como: “medicina del campo que atiende los curanderos y que se transmite de generación en generación”. (11)

La medicina tradicional se contrapone a la medicina científica, formal o académica, que se enseña en las facultades de medicina. Mientras en la medicina institucional el representante es el médico, en la tradicional es el curandero, sin embargo este tipo de

medicina ha hecho ya algunas contribuciones importantes: ayuda a comprender el significado de los métodos curativos en el Tercer mundo, a los médicos a comprender mejor la mentalidad de sus pacientes, que no pertenecen a su propia cultura, y también ayuda a los farmacólogos a encontrar nuevos remedios botánicos. (11)(50)

La Medicina Tradicional ha venido siendo conceptuada como una medicina eminentemente curativa que sustenta su actividad terapéutica principalmente en el uso de las hierbas medicinales. Se la confunde con facilidad con la botánica tradicional o etnobotánica. Por el contrario la Medicina Tradicional es una manifestación cultural de carácter “holístico”, donde la salud es producto de un orden, equilibrio o armonía no únicamente de elementos biológicos o bioquímicos, sino también de elementos sociales, psicológicos y aún económicos.(20)

Lejos de ser exclusivamente curativa, la Medicina Tradicional considera elementos de promoción y protección de la salud, que tienden a prevenir la enfermedad, diagnosticarla y tratarla en forma temprana, y a evitar el agravamiento del mal. Nuestro interés principal en este tema, es demostrar la existencia de principios preventivos o normas de profilaxis en la Medicina Tradicional. (20)

Finalmente, la medicina tradicional demuestra poseer componentes preventivos, beneficios para la salud, aún en ausencia del peligro de enfermarse. En el embarazo, por ejemplo, la partera de un sin número de prescripciones tradicionales que protegen la salud del niño y de la madre, antes durante y después del parto. (20)

## **1.2 FITOMEDICINA**

La **Fitomedicina** es un tipo de medicina alternativa que se basa en las plantas y vegetales para la curación, utilizados para restablecer la armonía del cuerpo y encontrar el equilibrio que se necesita, en base a la terapia con hierbas medicinales.

Estudia las propiedades de las plantas medicinales y su uso, buscando un mejor estado de las personas en cuanto a males y enfermedades.

La Fitomedicina se define como la medicina que se emplea de forma terapéutica las plantas en forma de infusiones, decocciones, extractos u otras formas. Dentro de ella se engloban la Fitofarmacología y la fitoterapia. (48)

La Organización Mundial de la Salud, OMS, ha definido Fitomedicina como la aplicación de principios activos de origen vegetal en terapéutica, basado en el conocimiento científico moderno, esto es una base que se sostiene en los pilares fundamentales de la farmacología y la terapéutica moderna: farmacodinamia, farmacocinética, estudios preclínicos, clínicos y la divulgación de éstos a través de medios reconocidamente validados por las comunidades científicas.

La Fitoterapia Moderna o Fitomedicina, se nutre del desarrollo de la Fitofarmacología básica y clínica, esto es de los estudios farmacológicos realizados con plantas o sus componentes y lo que la lleva a fundamentarse en el uso racional y científico de productos vegetales con finalidad terapéutica; puede así ser utilizada para prevenir, curar o anular estados patológicos.

En la actualidad se estima que alrededor del 80% de la población utiliza medicina alternativa herbolaria (Fitoterapia) como tratamiento paralelo a la medicina tradicional y su uso ha estado siempre muy arraigado a la tradición. (48)

Para entender el concepto de fitoterapia, es necesario realizarnos la siguiente pregunta:

### **1.2.1 ¿QUÉ ES UN PRINCIPIO ACTIVO?**

Es la sustancia vegetal que está dotada de propiedades curativas, o que tiene una actividad farmacológica.

Son los metabolitos secundarios de la planta, es decir, los que poseen funciones por ejemplo de reserva, de atraer o repeler insectos, etc. (42)

Por otro lado conviene definir también que es una droga.

La OMS define *droga* como toda sustancia que, introducida en el organismo por cualquier vía de administración, produce una alteración, de algún modo, del natural funcionamiento del SNC del individuo y es, además, susceptible de crear dependencia, ya psicológica, física o ambas. (17)(42)

Una de las virtudes en las especies vegetales, es que los principios activos, se encuentran generalmente en equilibrio y de esta forma existe una menor posibilidad de que se acumulen sustancias indeseables en el organismo. De esta manera a la vez se reduce la posibilidad de efectos secundarios o acciones indeseables y dañinas que perjudiquen nuestro estado de salud.

Otro punto a tener en cuenta es el importante papel que juegan la forma de recolección y conservación de las plantas, ya que desde el inicio del proceso de recolección la planta comienza a sufrir distintos cambios biológicos, por lo tanto una ineficiente manera de recolectar o conservar las especies, aumentaría la cantidad de productos degradantes (descomposición de sus principios activos), perjudicando así la calidad y poder curativo de la planta.

La fitoterapia constituye una forma de medicina alternativa, con gran participación en el mundo actual, ya que permite la recuperación del uso de las especies vegetales como vía para lograr un desarrollo sustentable de la industria farmacológica sin perjudicar nuestro medio ambiente, ya que limita el uso de productos químicos, principales contaminantes del medio en que vivimos.(42)

### **1.2.2 DROGA VEGETAL**

Es la planta o parte de planta con acción farmacológica que no ha sufrido más manipulación que los procesos de recolección y conservación. Formarían también parte de este concepto, los productos obtenidos por incisión o cualquier otro medio de determinada planta: gomas, resinas, así como extractos que se producen en el lugar de origen (curare). (49)

Los componentes responsables de la acción farmacológica es el principio activo.

Las drogas vegetales que provienen de la recolección de plantas nativas, presentan una gran variabilidad con relación al contenido de los componentes activos y secundarios. Para mantener constante la composición de una preparación fitofarmacéutica los fabricantes necesitan disponer de grandes existencias de plantas, recolectadas en áreas diferentes y mezcladas, para garantizar la homogeneidad de la materia prima. (49)

### **1.3 FITOFÁRMACOS**

El fitofármaco es un medicamento extraído de una planta medicinal. El término proviene de griego *phytos*= planta y *pharmakon* = remedio. Aunque el extracto obtenido de una especie vegetal se compone de toda una serie de principios activos, éste es considerado como un solo fármaco, ya que su efecto radica en la acción combinada de sus componentes. (10)

Sin embargo, los actuales medicamentos de uso generalizado son sintéticos. Éstos son elaborados mediante la combinación de cierto número de sustancias aisladas, siguiendo una receta científicamente probada.

Los componentes de estos fármacos artificiales pueden conseguirse sintetizándolos, a partir de unas materias primas adecuada, o aprovechando una serie de fuentes naturales. Estas fuentes pueden ser plantas, animales, bacterias, hongos, virus, cultivos de células procedentes de determinados órganos, etc. (10)

#### **1.3.1 ELABORACIÓN DE LOS FITOFÁRMACOS**

El procedimiento más importante en la producción farmacéutica es el secado, para el que existen varios métodos. En el más sencillo se expone los vegetales al aire seco, colocándolos atados en haces. Los fragmentos más pequeños, como los pétalos, frutos, hojas u otras piezas desmenuzadas, se esparcen sobre cedazos para facilitar la circulación del aire entre el material. El proceso de secado suele acelerarse mediante el uso de ventiladores.

Otras prácticas de secado consisten en la aplicación de frío o calor o en la utilización de determinados procesos físicos y químicos para absorber la humedad. Un método físico sencillo es el uso de silicatos, unas sales que fijan la humedad del aire.

El secado es además el paso previo imprescindible para la pulverización, otro método importante de preparar una droga. (10)

La extracción de los principios activos constituye el siguiente paso. La manera más sencilla consiste, en ingerir la droga directamente. El disolvente más común y barato es el agua, pero solo sirve para extraer los componentes hidrófilos, solubles en ella. En cambio sustancias lipófilas se disuelven en grasas, ceras y aceites.

Como los fitofármacos suelen contener más de un principio activo, debe aplicarse toda una serie de diluyentes, cuidando bien de realizar las extracciones en un orden determinado. (10)

#### 1.4 BERRO



FOTOGRAFÍA N°1 BERRO (*Nasturtium officinale*)  
Fuente: INFOAGRO.COM - Portal líder en agricultura.

**NOMBRE CIENTÍFICO:**

*Nasturtium officinale*

**NOMBRES POPULARES:**

Berro, mastuerzo de agua (1)

## **BOTÁNICO:**

El botánico inglés Robert Brown, autor de una Flora (1810), le pone el nombre científico de "*Nasturtium officinale*" o de botica. (45)

El Berro es una planta que ha sido muy utilizada desde la antigüedad por sus beneficios y propiedades curativas. No en vano, encontramos referencias históricas en el mundo clásico, en el que mencionan su utilización en la dieta de aquellas personas que efectuaban trabajos físicos intensos. El aroma picante del berro le ha valido el nombre de *Nasturtium* (del latín *nasi tortium* = nariz torcida) (8) (45)

Los romanos, por ejemplo, la llegaron a considerar como un excelente afrodisíaco, además de un buen estimulante de la mente. Mientras que, en la Edad Media, los monjes la utilizaban para los problemas de intoxicación sanguínea.

Por todo ello, casi se podría asegurar que muchos son los beneficios del berro, una planta particular y habitualmente utilizada en la cocina de muchas partes del mundo. (8)

### **1.4.1 DESCRIPCIÓN**

Planta herbácea de la familia de las crucíferas (*Brassicaceae*) acuática con tallo erguido, grueso y carnoso, ramificado en la parte superior, hierba perenne. Las hojas son pequeñas y compuestas, de gusto agradable como condimento y en ensaladas; las flores son blancas, pequeñas, están dispuestas en racimos terminales y sin brácteas. (8)(13)

Contienen materia colorante amarilla, sales minerales, acetato de hierro, oxalato de potasio y calcio, cloruros de potasio, sodio y vitaminas A y C. (8)

Cuando se abren los capullos florales, las hojas que son pinnadas y alternadas adquieren un sabor muy purgante, y ya no pueden ser utilizadas como alimento. El berro se cultiva en pequeñas balsas (35)

### **1.4.2 HÁBITAT**

Su origen se sitúa en Europa y Rusia. Desde aquí se extendió a toda Europa para luego, ser exportada al norte de África, América del norte y América del sur, así como el Caribe. La planta silvestre crece de una manera abundante en la mayoría de los riachuelos y corrientes frescas y poco profundas, prefiriendo zonas encharcadas o con poca corriente. Es muy abundante en zonas acuáticas que contienen cantidades elevadas de residuos orgánicos, donde forman una espesa capa cubriendo la superficie del agua. (52)

### **1.4.3 CULTIVO Y RECOLECCIÓN**

El berro se cultiva en las proximidades de los lugares de consumo o manipulación para su posterior venta, principalmente debido a la dificultad que conlleva su conservación. Al tratarse de una planta subacuática, cuyas raíces deben quedar fijadas en tierra, es recomendable plantarla en fosas impermeables de aproximadamente 50 metros de longitud por 2,5 de ancho y medio metro de profundidad. En su interior se ubicará un fondo de tierra en pendiente que asegure el flujo de agua y su renovación (agua muy oxigenada, con pH neutro o ligeramente ácido, de temperatura que ronde los 10°C, sin estancamientos ni materia orgánica contaminante). La siembra tiene lugar durante los meses primaverales, cubriendo las semillas con 4-6 cm de agua. Conforme el berro crece y se desarrolla es necesario introducir agua hasta alcanzar los 15-20 cm en el período final del cultivo. (35)(52)

El berro, al ser una planta en constante contacto con el agua, queda expuesto a contaminaciones como la duela (parásito que se transmite a través de los excrementos de los animales), por lo que es recomendable en cocina utilizar aquél que procede de cultivos controlados.

En la recolección, sus tallos deben ser cortados aproximadamente a 5 centímetros del nivel del suelo, respetando al máximo las raíces. Las hojas pueden recolectarse regularmente, con una media de 18 recolecciones al año, evitando de esta forma su putrefacción en el agua perjudicando las raíces. La mejor época es el invierno, teniendo en cuenta que las plantas más jóvenes poseen un mayor valor en gastronomía. (52)

#### 1.4.4 ACCIÓN FARMACOLÓGICA

El berro posee diversas propiedades como: depurativo de la sangre, diurético, colagogo y refrescante. Sus excelentes virtudes son conocidas vulgarmente con el calificativo “fuente de salud”. Tónico general, estimulante del corazón y del sistema nervioso. (23)

Utilizado externamente el berro constituye uno de los mejores vulnerarios que existe, capaz de ayudar a curar los posibles problemas que se producen en la piel. Esta capacidad le viene otorgada principalmente por la existencia de dos componentes que poseen propiedades antisépticas y curativas o regenerativas de la piel: Zinc y Vit. C, mientras que el flavonoide rutina le proporciona propiedades bactericidas al mismo tiempo que ayuda a conservar la vitamina C. (8) (52)

- **Depurativo de la sangre:** facilita la eliminación de los residuos ácidos del metabolismo, y además por su riqueza mineral, estimula la producción de hematíes (glóbulos rojos). Conviene a artríticos, gotosos, obesos, anémicos, y a quienes padecen de eccemas y erupciones de la piel debido a autointoxicación.
- **Tonificante:** aumenta el apetito y la secreción de jugos digestivos. Es un tonificante general del organismo. Muy útil en caso de astenia (debilidad) y fatiga primaveral. Por su contenido en yodo se recomiendan los berros en caso de hipotiroidismo. (1) (52)
- **Expectorante:** favorece la eliminación de mucosidad bronquial haciéndola más fluida.
- **Prevenir la aparición del cáncer:** esta capacidad de los berros se debe a unas sustancias llamadas glucosinolatos que previenen el desarrollo de células cancerosas. Los glucosinolatos no son exclusivos de los berros sino que aparecen en otras plantas como las coles, el brocoli, las coles de Bruselas, los nabos, los rábanos y la mostaza, etc. (1)

#### **1.4.5 COMPONENTES QUÍMICOS**

- **ÁCIDOS:** ascórbico, aspártico, glutámico (planta)
- **Aminoácidos:** alanina, arginina, cisteína, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, prolina, tirosina, treonina, valina (planta)
- **Beta caroteno** (planta)
- **Fibra** (planta)
- **Gluconasturina** (planta)
- **Glucósidos:** sinigrina, sinalbina, glucotropeolina (aceite esencial 0.066%)
- **Vitaminas:** A, C, B (planta)
- **Minerales:** calcio, cobre fosforo, hierro magnesio, manganeso, potasio sodio, yodo zinc (planta)
- **Agua**
- **Flavonoides:** rutina

#### **1.4.6 TOXICIDAD DE LOS BERROS**

No debe administrarse remedios de berros a personas con problemas gástricos, tales como gastritis, ulcera gástrica, así como a los enfermos de riñones o vesícula. Un uso demasiado abundante de esta planta a través de la alimentación o mediante preparados medicinales pueden producir irritación de los riñones o de la vejiga urinaria. Igualmente puede irritar el estómago en personas con el estómago débil.

No administrar preparados de berros a menores de 4 años. (52)

## 1.5 LLANTÉN



FOTOGRAFÍA N°2. LLANTÉN (*Plantago major*)  
FUENTE: PERUECOLOGICO.COM

### **NOMBRE CIENTÍFICO:**

*Plantago major*

### **NOMBRES POPULARES:**

Llantén, llantén mayor, plantaina, pan del camino, torraja cimarrona (1)

El *Plantago major* es una planta herbácea perenne, de tallos subterráneos no ramificados. Por ser una planta de fácil localización, no se cultiva, se considera una maleza. Existen especies relacionadas a *P. major*, como lo son *P. lanceolata* y *P. psyllium*. (3)

*Plantago major* posee un potencial de comercialización enorme, gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antibacteriana, astringentes y antihemorrágicas; también como cicatrizante de heridas, tanto internas como externas.

La aucubigemina, derivado de la aucubina, es el compuesto activo de mayor relevancia y se cree que es responsable de la actividad antibacteriana de la planta. (3)

### 1.5.1 DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA Y CICLO DE VIDA

*Plantago major* es una planta que pertenece a la división Magnoliópsida, clase Magnoliópsida, orden Plantaginales y a la familia Plantaginaceae .

El *Plantago major* es una hierba perenne que desarrolla su ciclo de vida entre seis y siete meses. Posee una altura entre los 15 cm a 30 cm; sin embargo, su longitud puede variar según los distintos hábitats de crecimiento.

El tallo de *P.major* es un rizoma corto de color amarillo, el cual puede llegar a medir 15 cm de longitud en una planta adulta. Por otro lado, las raíces son blancas y de tamaño uniforme, surgen del tallo subterráneo. (3)

Las hojas son glabras, ovaladas, de color verde claro y se unen al tallo por un largo pecíolo; poseen aproximadamente 50 cm de longitud y un ancho de 20 cm en plantas adultas. Nacen a ras del suelo en forma de roseta y se desarrollan verticalmente.

Presentan un margen liso o denticulado, además de una inervación paralela con tres u ocho venas. Los pecíolos son lisos y miden alrededor de 15 cm

La floración ocurre entre mayo y octubre, en zonas templadas. Presenta una inflorescencia tipo espiga, cuya mitad superior se recubre de pequeñas flores. Las flores poseen una coloración café-verdosa; su corola es amarilla y muy pequeña (unos 3mm de diámetro); por otra parte, las anteras son color lila, al inicio, y luego se vuelven amarillentas. Los pedúnculos florales nacen del mismo punto de donde arrancan los pecíolos, y son de mayor longitud (3)

*P. major* es polinizada por el viento. El fruto es una pequeña cápsula que, cuando madura, se abre transversalmente dejando caer las semillas que contiene. Se producen más de 20.000 semillas por planta, estas tienen forma ovalada, tamaño muy reducido y un ligero sabor amargo; se localizan de 8 á 16 semillas por cápsula.

Con el clima húmedo, las semillas se vuelven pegajosas, lo que provoca que se adhieran a los animales y, de esta manera, logran dispersarse. El endospermo representa la mayor parte de la semilla y cubre completamente al embrión; las células del endospermo están

constituidas por gruesas paredes de celulosa, cuyo lumen celular contienen proteínas y gran cantidad de aceites. (3)

### 1.5.2 COMPONENTES QUÍMICOS

La planta de llantén, conocida también como llantén mayor o llantén grande, posee dentro de su composición una gran **variedad de ácidos**. Se destacan entre ellos el ácido **linoleico**, el cual se encuentra principalmente en las semillas de esta planta, el **ácido oleico**, el **salicílico** y el **ácido fumárico**, este último se encuentra mayoritariamente en las hojas del llantén.

El llantén, conocido científicamente como *Plantago major*, posee entre sus componentes varias **sustancias azucaradas**, como el **sorbitol**, **la sacarosa** y **la fructuosa**. Además, esta planta contiene las sustancias plantagonina e indicaína, las cuales son alcaloides. (1) (3)

La planta de llantén posee **flavonoides**, que poseen excelentes propiedades cicatrizante y antioxidante. Los flavonoides que contiene el llantén son la **luteolina** y **la noscapina**. El llantén contiene **vitamina C** entre sus componentes, ésta se encuentra principalmente en las hojas de la planta. Además, la planta en general posee una importante cantidad de **fibras**.

La planta del llantén no posee muchas sales minerales dentro de su composición, sin embargo se destaca por su abundancia el **potasio**. El llantén posee **propiedades alimentarias**, esto se debe a que posee una gran **cantidad de proteínas y de fibras**, principalmente en las hojas.

Además contiene también:

- **Muscílagos (6%)**: arabinogalactanos, ramnogalacturonanos, glucomananos y pectinas.
- **Ácidos fenoles** como el ácido p-hidroxibenzoico, ácido protocatéquico, ácido gentísico y ácido cafeico

- Iridoides (0.3-2.5%): asperulina y el mayoritario es la aucubina,
- Taninos
- Otros componentes como: cumarinas, ácido salicílico, sales minerales, especialmente zinc y K. (1)

### 1.5.3 ACCIÓN FARMACOLÓGICA

**Vulneraria:** las hojas de llantén frescas constituyen uno de los mejores vulnerarios, es decir tienen las propiedades de desinfectar los cortes o heridas y favorecer su cicatrización. Igualmente estas propiedades la hacen muy adecuada para el tratamiento de otras anomalías de la piel, como dermatitis, llagas, pústulas, etc. Esta propiedad se le atribuye tanto a su riqueza en flavonoides como taninos, con función cicatrizante y hemostática, así como a su contenido de alantoina, una sustancia que tiene la propiedad de estimular el crecimiento de las células de la epidermis y sustituir aquellas que estaban dañadas con lo que produce una regeneración de la misma (23) (53)

**Emoliente, antiinflamatorio, antimicrobiana.** La acción emoliente es debida al elevado contenido en mucílagos. La actividad antiinflamatoria se ha relacionado con los iridoides heterosídicos y los derivados del ácido caféico. Este último ha demostrado también actividad antioxidante. (23)

## 1.6 PROCESO DE OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO

### 1.6.1 RECOLECCIÓN DE LAS PLANTAS

En el caso de plantas cuyas demandas exceden la producción interna, se las obtiene de un grupo de productores, que nos garantizan la calidad y regularidad en la materia prima para los productos. Por esta razón podemos garantizar que las plantas que constituyen nuestra Materia Prima son cultivadas en forma orgánica, sin agrotóxicos ni fertilizantes químicos. (14)

### **1.6.2 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA**

Una vez en el laboratorio, las plantas pasan por la primera etapa de control de calidad que consiste en evaluar sus características organolépticas (color, textura, olor), su estado de conservación (identificación de colonias de hongos o insectos), y de pureza (contaminación con otras plantas o con partes de la planta que no son empleadas en la preparación de las Tintura). Luego de esta etapa de control de calidad, las plantas son lavadas y secadas durante 24 horas a 50 °C y almacenadas. Las plantas tratadas de esta forma, y estivadas en condiciones adecuadas de humedad, temperatura y limpieza, son estables hasta un año. (8)

### **1.6.3 MACERACIÓN**

Es el proceso mediante el cual se consigue extraer y disolver en un líquido las sustancias activas de una planta. Estas sustancias se encuentran contenidas y bien protegidas dentro de las células de los tejidos vegetales, ya sea la raíz, las hojas, las cortezas, las flores o los frutos. Para liberar estas sustancias activas, que queden disponibles y puedan ser absorbidas por nuestro organismo, es necesario procesar el material vegetal de alguna forma. En el caso de la maceración, la parte de la planta que contiene las sustancias activas es trozada hasta un determinado grado de finura, embebida en un líquido o solvente y dejada así en contacto en condiciones y tiempos estandarizados con agitación periódica. Durante el proceso, el líquido o solvente entrará dentro de las células vegetales y arrastrará consigo las sustancias activas disolviéndolas. Las tinturas son un tipo de maceración en la que el líquido solvente es una mezcla de alcohol etílico y agua. (14)

### **1.6.4 FILTRACIÓN**

Luego de un periodo prefijado, el macerado se filtra para separar el líquido del material vegetal sólido

### **1.6.5 CONTROL DE CALIDAD**

Este líquido filtrado se somete a ciertas pruebas de laboratorio para comprobar que el proceso de maceración transcurrió adecuadamente y que el producto cumple con los estándares de calidad. (14)

## **1.7 PIEL**

La piel recubre por completo la superficie corporal y es el órgano más extenso del cuerpo. Entre sus funciones se encuentran: (4)

- Protección de la luz ultravioleta y de las agresiones mecánicas, químicas y térmicas.
- Sensibilidad al dolor, la temperatura, el tacto y la presión.
- Termorregulación
- Funciones metabólicas como la síntesis de vitamina D.

### **1.7.1 COMPONENTES DE LA PIEL**

La piel se compone de las siguientes capas:(4)

#### **1.7.1.1 LA EPIDERMIS**

Forma una barrera protectora impermeable. La constituye el epitelio, que se encuentra en constante crecimiento y renovación, y es avascular.

No posee vasos y se alimenta por inhibición desde los capilares de la dermis.

La epidermis está compuesta por:

- capa córnea
- capa lúcida
- capa granulosa

- capa espinosa
- capa basal

### **1.7.1.2 LA DÉRMIS**

Es la siguiente capa de la piel más interna a la epidermis, forma un brusco límite con la epidermis y una suave transición con la hipodermis; se divide en dermis papilar y dermis reticular.

La dermis papilar tiene un relieve de contacto con la epidermis a través de las células epidérmicas basales muy irregular y muy extensa; esto facilita el intercambio de nutrientes con la epidermis. (34)

La Dermis posee una amplia red de vasos y nervios. Está formada fundamentalmente por fibras colágenas y fibras elásticas que dotan a la piel de su elasticidad.

- Colágenas: rígidas, que determinan la resistencia a la tracción de la piel.
- Elásticas: onduladas, responsables de la elasticidad de la piel.

### **1.7.1.3 LA HIPODERMIS O FASCIA SUPERFICIAL**

La hipodermis llamada también panículo adiposo o tejido celular subcutáneo, está constituido por células grasas, que se conocen con el nombre de adipocitos, los cuales se disponen en lóbulos separados por tejido conectivo llamados septos

La hipodermis tiene un objetivo específico que es el de amortiguar los traumatismos bajo la piel. (34)

## **1.7.2 COMPONENTES DE CADA CAPA DE LA PIEL**

La piel consiste en dos capas principales, *la epidermis externa y la dermis subyacente*. Las estructuras epidérmicas especializadas como los folículos pilosos y las glándulas sebáceas y sudoríparas se sitúan en la dermis sin interrumpir la unión dermo - epidérmica.

Bajo la dermis se encuentra el tejido hipodérmico de sostén, o tejido graso subcutáneo. Contiene nervios y sus terminales, vasos sanguíneos que irrigan la piel y linfáticos. (34)

La epidermis tiene cinco estratos celulares. Las células de la capa basal se reproducen constantemente. Las células más viejas son desplazadas hacia la superficie, donde se depositan. Un proceso de transformación gradual cambia las células redondas y nucleadas de la capa basal en las escamas planas y ricas en queratina, que se encuentran en las capas externas de la epidermis. Estas células están muertas.

La dermis consiste en un tejido hecho de fibras de colágeno y elastina en una matriz de mucopolisacáridos, irrigadas por una trama vascular muy rica. La dermis sostiene la epidermis. (34)

La elastina de la dermis le aporta elasticidad y el colágeno su fuerza de tensión. El grosor de la dermis y por tanto, su tensión, varían según cada parte del cuerpo, lo que se comprueba al comparar como ejemplo las características de la piel de la espalda con las de la piel del párpado.

La unión de la dermis y la epidermis forma una serie de ondas llamadas pedículos radicales o papilas. Los apéndices de la epidermis, como los folículos y las glándulas sudoríparas, están revestidos de células epiteliales y se introducen en la dermis sin interrumpir la unión dermoepidérmica (34)

## **1.8 HERIDA**

Se denomina herida a una solución de continuidad en la piel y tejidos producida por acto quirúrgico o traumatismo, entendiéndose como tal a toda acción violenta ejercida sobre el organismo, capaz de producir una lesión tisular.(6)

En toda herida suele haber:

- Espacio muerto que contiene sangre, linfa y restos de tejidos que pueden existir también cuando la herida es abierta, cuerpos extraños procedentes del exterior, como tierra, trozos de ropa o del agente causal, o bacterias del medio ambiente.
- Una zona de astricción marginal, que constituyen los bordes de la herida, contundidos e hipovitalizados.

- Interrupción de los vasos sanguíneos y linfáticos y de los nervios.
- Déficit funcional del territorio traumatizado.
- Dolor.(21)

## **1.8.1 CLASIFICACIÓN DE LAS HERIDAS**

### **1.8.1.1 Heridas abiertas**

En este tipo de heridas se observa la separación de los tejidos blandos. Son las más susceptibles a la contaminación.

### **1.8.1.2 Heridas cerradas**

Son aquellas en las que no se observa la separación de los tejidos, generalmente son producidas por golpes; la hemorragia se acumula debajo de la piel (hematoma), en cavidades o en viseras. Deben tratarse rápidamente porque pueden comprometer la función de un órgano o la circulación sanguínea. (51)

### **1.8.1.3 Heridas simples**

Son heridas que afectan la piel, sin ocasionar daño en órganos importantes. Ejemplo: Arañazo o cortaduras superficiales.

### **1.8.1.4 Heridas complicadas**

Son heridas extensas y profundas con hemorragia abundante; generalmente hay lesiones en músculos, tendones, nervios, vasos sanguíneos, órganos internos y puede o no presentarse perforación visceral. (51)

## **1.8.2 CLASIFICACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE HERIDAS**

### **1.8.2.1 Punzantes**

Causadas por objetos puntiagudos (clavos, agujas, anzuelos, etc.).

Dolor, hemorragia escasa, orificio de entrada no muy notorio, profundidad, puede presentar perforación de de vísceras y hemorragia interna, peligro inminente de infección. Se considera la más peligrosa de todas.

### **1.8.2.2 Cortantes**

Por objetos afilados (vidrios, cuchillos, latas, etc.). Presenta una herida con bordes limpios y lineales, de hemorragia escasa, moderada o abundante. Puede afectar músculos, tendones y nervios. (4) (51)

### **1.8.2.3 Punzocortantes**

Por objetos puntiagudos y filosos (puñales, tijeras, cuchillos, hueso fracturado, etc.). Combina los dos tipos de heridas anteriores.

### **1.8.2.4 Abrasiones**

Raspones, causadas por fricción o rozamiento de la piel con superficies duras. La capa más superficial de la piel (epidermis) es la que se ve afectada. Frecuentemente se infectan, pero se curan rápidamente.

### **1.8.2.5 Laceraciones**

Lesiones producidas por objetos de bordes dentados, generan desgarros del tejido y los bordes de las heridas se presentan irregulares. (4)

### **1.8.2.6 Avulsivas**

Lesión con desgarrar, separa y destruye el tejido, suele presentar una hemorragia abundante.

### **1.8.2.7 Amputación**

La amputación es el corte y separación de una extremidad del cuerpo mediante traumatismo (también llamado avulsión) o cirugía.

### **1.8.2.8 Contusas**

Son producidas por la resistencia que ejerce el hueso ante un golpe (de puño, piedras, palos, etc.), produciéndose la lesión de los tejidos blandos. Hematoma y dolor son las causas más comunes de estos tipos de heridas.

### **1.8.2.9 Magulladuras**

Heridas cerradas generadas por golpes. Se divisan como una mancha de color morado.

### **1.8.2.10 Aplastamiento**

Pueden generar fracturas, hemorragias externas e internas abundantes, y lesión de órganos. (4) (51)

## **1.8.3 PROFUNDIDAD DE LA HERIDA**

Las heridas de la piel se pueden clasificar según las capas afectadas. Las heridas superficiales afectan sólo la epidermis.

Las de profundidad parcial afectan la dermis. Las heridas de profundidad total llegan hasta el tejido subcutáneo o incluso a mayor profundidad.

La dermis estará intacta si, al examinar una herida, se puede identificar las marcas normales de la piel como las huellas dactilares. Una lesión que afecte parcialmente el grosor de la piel mostrará una dermis rosada y uniformemente pálida. La lesión dérmica más profunda mostrará islotes de grasa amarillenta que penetrarán en la trama dérmica.

En heridas de profundidad total, se verán áreas continuas de glóbulos de grasa sin dermis subyacente. El sangrado de una herida superficial se produce a partir de múltiples bocas puntiformes.

En las heridas dérmicas más profundas, se ven puntos de sangrado de mayores tamaños y más separados. Las heridas de profundidades totales y penetrantes pueden mostrar un sangrado arterial pulsátil o un sangrado continuo de origen venoso. (39)

## 1.9 CICATRIZACIÓN

La cicatrización es un proceso natural que poseen la mayoría de vertebrados para regenerar los tejidos de la dermis y epidermis que han sufrido una herida. Cuando una persona posee una herida en el proceso de recuperación se llevan a cabo una serie de complejos fenómenos bioquímicos que se suceden para reparar el daño. (2) (38)



FOTOGRAFÍA N°3. CICATRIZACIÓN DE UNA HERIDA EN UNA MANO 30 DÍAS DESPUÉS DE PRODUCIDA LA LESIÓN

FUENTE: [HTTP://ES.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/CICATRIZACIÓN](http://es.wikipedia.org/wiki/Cicatrización)

Si la cicatrización es lenta o la cicatriz es débil, demasiado fuerte o muy abundante, se considera que tanto el proceso de reparación (cicatrización) como su resultado (cicatriz) son anormales o patológicos.

En esencia el defecto y el exceso de este proceso de reparación, son las causas que producen las siguientes patologías de la cicatrización. (2)

- Retraso de la cicatrización
- Cicatriz hipertrófica
- Cicatriz queiloide
- Cicatriz retráctil.

*El retraso de la reparación cicatricial* de una herida produce una herida crónica. Aunque no hay acuerdo para definir el tiempo que se debe retrasar la cicatrización con el objeto de calificar a una herida como crónica, se puede considerar que en este grupo de cicatrices patológicas son incluidas todas las heridas que prolongan en exceso su curación. (2)

## **1.9.1 COMPONENTES PRINCIPALES DE LA CICATRIZACIÓN**

La cicatrización incluye 2 principales componentes: la regeneración y la reparación. (12)

*La regeneración* es el reemplazamiento de las células perdidas y tejidos con células del mismo tipo. *La reparación* es la cicatrización como resultado de las células perdidas siendo reemplazadas por tejido conectivo. La reparación es el tipo más frecuente de cicatrización y generalmente resulta en la formación de una cicatriz

### **1.9.1.1 REGENERACIÓN**

Es la capacidad de las células para regenerarse depende del tipo celular. Las células lábiles como células de piel, órganos linfoides, medula ósea y membranas mucosas del tracto digestivo, urinario y reproductor, se dividen constantemente, y la lesión a estos órganos tiene una rápida regeneración. (12)

Las células estables retienen su capacidad para regenerarse, pero lo hacen solamente si el órgano está lesionado. Los ejemplos de células estables son el hígado, el páncreas, los riñones y las células óseas.

Las células permanentes no se regeneran, ejemplo de estas son: neuronas y las células musculares cardíacas. (12)

La cicatrización ocurre por reparación con un tejido de cicatrización.

### **1.9.1.2 REPARACIÓN**

La reparación es un proceso más complejo. La mayoría de las lesiones cicatrizan por la reparación del tejido conectivo. La cicatrización por reparación ocurre por primera, segunda y tercera intención.

#### **1.9.1.2.1 Primera Intención**

Esta se lleva a cabo cuando los márgenes de la lesión se aproximan claramente, como en una incisión quirúrgica o una cortadura por papel. Los procesos que se asocian con cicatrización primaria incluyen 3 fases. (12)

- \* **Fase Inicial:** La fase inicial dura de 3 a 5 días. El área de incisión se llena de sangre de los vasos sanguíneos cortados, y se forman un coágulo sanguíneo. Esto forma una matriz provisional para la migración de GB, aparece una reacción inflamatoria aguda.
- \* **Fase granulación:** La fase de granulación es el segundo paso y dura 3 semanas. Los componentes del tejido de granulación consiste en fibroblastos proliferativos; capolares en proliferación; varios tipos de GB, exudado, y una sustancia semilíquida suelta y adherible.

Al mismo tiempo se origina la angiogénesis. A partir del endotelio roto de los vasos de la herida, brotan yemas angioblásticas del endotelio capilar dirigidas hacia la cavidad de la herida, que se disponen de forma perpendicular a ésta, formando en la superficie de la herida unos mamelones granulares que constituyen el tejido de granulación. (12)(13)

- \* **Los fibroblastos** son células de tejido conectivo inmaduras que migran al sitio de cicatrización y segregan colágeno se organiza y reestructura para reforzar el sitio de cicatrización. A esta etapa se la denomina *tejido fibroso o tejido de cicatrización*.

#### **1.9.1.2.2 Segunda Intención**

Cuando por algún motivo no es posible suturar directamente la herida y deben actuar los mecanismos de síntesis del tejido cicatricial, la cicatrización se denomina *por segunda intención*.

La duración del proceso es mayor que en los casos de cicatrización por primera intención, y la calidad de la cicatriz final habitualmente es menor. La posibilidad de complicaciones aumenta debido al curso tórpido, al tiempo que permanece la herida sin cerrar, a las posibilidades de infección, etc., lo que con frecuencia conduce a la formación de cicatrices patológicas. (5)

### 1.9.1.2.3 Tercera Intención:

La cicatrización por tercera intención se produce en los casos de dehiscencia de sutura o cuando no ha sido posible la sutura inmediata tras una lesión, y una vez iniciados los mecanismos destinados a formar la cicatriz, se opta por refrescar los bordes y practicar la sutura de la herida. Cuando se realiza correctamente (eliminando los tejidos inflamados, las zonas sospechosas de contaminación bacteriana, refrescando los bordes apropiadamente, et.), los tiempos de curación se acortan y la calidad de la cicatriz final mejora ostensiblemente. (5)

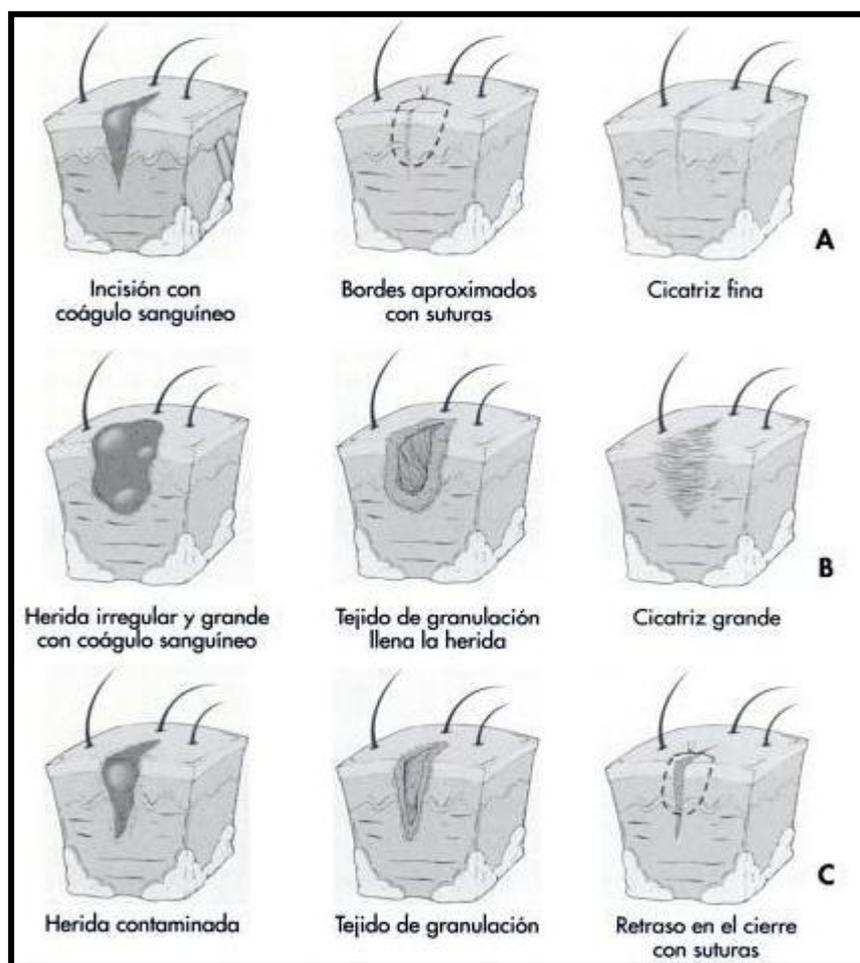


GRÁFICO N°1. TIPOS DE CICATRIZACIÓN DE HERIDAS. A) PRIMERA INTENCIÓN B) SEGUNDA INTENCIÓN. C) TERCERA INTENCIÓN. (11)

Fuente: [http://lamedicinaquirurgica.blogspot.com/2011\\_05\\_01\\_archive.html](http://lamedicinaquirurgica.blogspot.com/2011_05_01_archive.html)

## **1.9.2 CÉLULAS QUE INTERVIENEN EN LA CICATRIZACIÓN**

### **1.9.2.1 Hematíes o eritrocitos:**

Aportan oxígeno a la célula y elimina el CO<sub>2</sub>.

### **1.9.2.2 Plaquetas o trombocitos:**

Inician el proceso de la coagulación de la sangre. Además producen importantes factores de crecimiento necesarios para la cicatrización.

### **1.9.2.3 Leucocitos:**

Tienen como función fundamental la defensa inmunológica.

### **1.9.2.4 Granulocitos y Linfocitos:**

Tienen esencial importancia en el proceso de la cicatrización. Son atraídos por sustancias liberadas en la multiplicación bacteriana (quimiotaxis). Además, los linfocitos segregan otras sustancias que atacan la superficie de las bacterias, preparándolas para ser digeridas por los fagocitos.

### **1.9.2.5 Monocitos o fagocitos:**

Son leucocitos especializados que ingieren y destruyen material muerto o extraño. Se transforman en macrófagos, además de producir enzimas y factores de crecimiento. Estos solo se encuentran en el tejido.

### **1.9.2.6 Fibroblastos:**

Son células responsables de síntesis de colágeno y de la contracción del tejido cicatricial (miofibroblastos). (5)

## **1.9.3 FACTORES QUE AFECTAN LA CICATRIZACIÓN**

Diversos factores afectan el proceso normal de cicatrización de las heridas. Estos son los principales:

1. **Edad**, el avance de la edad interfiere con la cicatrización especialmente con la tasa de crecimiento y de multiplicación de los fibroblastos. El deterioro de la función pulmonar y cardiovascular que acompañan a la edad avanzada resulta en disminución de la circulación y de la provisión de oxígeno, así mismo la edad avanzada con frecuencia se acompaña con depleción de la masa celular y desnutrición proteica. (18) (41)
2. **Nutrición**, desde hace tiempo se reconoce el efecto adverso de la desnutrición proteica sobre el proceso de cicatrización, posiblemente por interferencia sobre la síntesis de colágeno.
3. **Vitaminas y elementos traza**, las vitaminas A y C y el zinc son micronutrientes necesarios para el proceso de cicatrización. El hierro y el cobre son factores esenciales para la síntesis de colágeno.
4. **Hipovolemia y anemia**, su efecto nocivo sobre la cicatrización se debe a la hipooxigenación tisular resultante.
5. **Tensión del oxígeno**; el oxígeno es un elemento esencial para la cicatrización y sus fenómenos constituyentes: migración y proliferación celular, metabolismo intermediario, síntesis proteica, síntesis de colágeno. Todos aquellos factores que incidan sobre provisión de oxígeno a la herida tienen un efecto nocivo sobre la cicatrización.
6. **Esteroides y fármacos citotóxicos**, los esteroides ejercen una profunda acción negativa sobre la cicatrización, porque altera la síntesis proteica, e proceso de neovascularización, la proliferación de fibroblastos y la tasa de reepitalización, su efecto principal es la inhibición global del proceso inflamatorio. Las drogas citotóxicas inhiben la proliferación celular, que es un factor primordial de la cicatrización.

En algunos individuos el proceso de reparación tisular resulta alterado y se produce un queloide, que es una cicatriz dolorosa y pruriginosa que se extiende más allá de los límites y difiere en su forma de la herida original, y que se caracteriza desde el punto de

vista bioquímico por una acumulación exagerada de colágeno. El queloide es diferente de una cicatriz hipertrófica. (18)

#### **1.9.4 FASES DE LA CICATRIZACIÓN DE HERIDAS**

Hay tres fases en el proceso de cicatrización: *la fase inflamatoria, la fase proliferativa, y la fase de remodelación o de maduración.*

##### **1.9.4.1 La fase inflamatoria**

Comienza inmediatamente tras la lesión y dura de 2 a 6 días. Durante ese tiempo el sangrado se detiene, los glóbulos blancos luchan contra la infección bacteriana, y comienza la formación de colágeno. El colágeno es el encargado de cerrar y “pegar” las heridas, y aquello de lo que están hechas las cicatrices. En esta fase, la herida generalmente está inflamada, y es roja, cálida y dolorosa. (39)

##### **1.9.4.2 La fase proliferativa**

Comienza después de unos días, durará de 3 a 4 semanas. Se llama proliferativa porque proliferar significa crecer debido a una rápida producción. En esta fase, continúa produciéndose colágeno, que se encarga de juntar y cerrar los bordes de la herida. También se forman nuevos capilares (pequeños vasos sanguíneos) para ayudar a la cicatrización.

Este proceso puede causar un engrosamiento visible de los bordes de la piel y nuevos bultitos rojos en la herida, llamados tejidos de granulación. Las células que ayudan a mantener la herida limpia a veces expulsan elementos al exterior, haciendo que la herida pueda estar húmeda, que supure, y dándole una apariencia blanca o amarilla. Sin embargo, si aparece pus blanco y espeso, esto es signo de infección que debe ser tratada.

##### **1.9.4.3 La fase de maduración**

Que ocupa un período que va de varias semanas a varios años. En esta fase se forma todavía más colágeno para reforzar las heridas. Luego se produce una “remodelación” de la cicatriz, eliminando el exceso de colágeno presente en la cicatriz. La remodelación

es lo que hace que una cicatriz gruesa, roja y levantada se transforme en una fina, plana, y blanca, en un período que puede durar de meses a años. (39)

### **1.9.5 COMPLICACIONES DE LA CICATRIZACIÓN**

- **HEMORRAGIA:** Dentro de las 24 hs.
  1. **HEMOSTASIA:** Es la interrupción de una hemorragia del vaso sanguíneo lesionado
  2. Debe ser siempre por planos
  3. Cuando falla la hemostasia hay una disminución de la fibrina.
- **INFECCIÓN :** Incorporación de los gérmenes intra hospitalarios
- **DEHISCENCIA :** Separación de los bordes de una herida
  1. Ruptura de los puntos
  2. NO tiene salida de los órganos al exterior
  3. Anastomosis de los órganos con apertura de la herida
  4. En cirugías laparoscópicas se producen dehiscencia
- **EVENTRACION :** Producción de órganos al exterior sin ruptura de la herida  
Se da en cirugías abdominales
- **EVISERACION:** Se produce dehiscencia y salida de los órganos al exterior.
- **SUTURA DEFECTUOSA:** No se acercan los planos idénticos. (40)

## METABOLITOS SECUNDARIOS QUE CONTRIBUYEN A LA CICATRIZACIÓN

### 1.10 FLAVONOIDES

Los flavonoides son metabolitos secundarios de tipo fenilpropano que generalmente se encuentran como O-glicósidos en sus fuentes naturales, aunque también se encuentran de forma natural como C-glicósidos. Poseen como unidad básica un esqueleto de 15 carbonos provenientes de malonil coenzima A y de p-cumaril coenzima A, donde están involucrados numerosas enzimas. (43)

Los flavonoides sin ser metabolitos primarios, se encuentran casi en cualquier vegetal superior, hay más de 8000 compuestos conocidos de plantas vasculares. (24).

Los compuestos fenólicos principalmente son quinonas y xantonas y a estos deben su color. La función de los flavonoides en las plantas son varias. (22)(54)

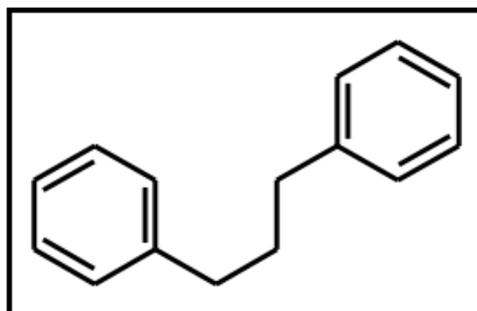


GRÁFICO N°2. ESTRUCTURA BÁSICA DE LOS FLAVONOIDES

Fuente: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>

#### 1.10.1 CLASIFICACIÓN DE LOS FLAVONOIDES

De acuerdo con las variaciones en su estructura química, se reconocen diferentes tipos de flavonoides de los cuales los más importantes desde el punto de vista farmacológico son las flavonas, los flavonoles y las flavanonas.

### **1.10.1.1 Flavonas**

Se encuentran presentes en las hojas de ginkgo, planta cuyo uso en medicina es conocido desde épocas antiguas. Tienen principalmente acción antioxidante, tonificadora y protectora de los vasos sanguíneos; también inhiben la agregación plaquetaria, es decir una acción similar a la de la aspirina. (44)

### **1.10.1.2 Flavonoles**

Entre los flavonoles se encuentra el rutósido, que es la base de fármacos utilizados como tonificantes y protectores vasculares. Gracias a su acción antiespasmódica y antihemorrágica. El rutósido o denominado también rutina se encuentra en las hojas de algunas especies de eucalipto y otras plantas.

La rutina posee propiedades reconocidas como su capacidad para combatir infecciones bacterianas, propiedades antiinflamatorias y además ayuda a la absorción de la vitamina C, impidiendo la oxidación de la misma, contribuyendo a la actividad cicatrizante (55)

La quercetina es otro flavonoide muy interesante dado que es de los principios que presentan más propiedades: analgésicas, antiinflamatorias, antiulcéricas, cicatrizante, antihistamínico, entre otras. (55)

### **1.10.1.3 Flavanonas**

Las flavanonas más conocidas y utilizadas son los citroflavonoides, presentes en la cáscara de las frutas cítricas en general. Su efecto más importante es la protección vascular. (43) (44)

## **1.10.2 EL EFECTO MILAGROSO DE LOS FLAVONOIDES**

Los estudios muestran que los flavonoides regulan el uso de vitamina C por parte del cuerpo, estimulando su efecto benéfico en la cicatrización de heridas. Pero los flavonoides también tienen poderes que les son propios.

Como grupo los flavonoides son poderosos antioxidantes. Además de esto, los flavonoides particulares parecen ser especialmente potentes contra tipos específicos de cáncer. (16)

### **1.11 TANINOS**

Los taninos son compuestos polifenólicos muy astringentes y de gusto amargo.

Se dividen en hidrolizables y condensados.

Industrialmente se han utilizado sus propiedades para curtir pieles, al eliminar el agua de las fibras musculares. (36)

En medicina se prescriben por su acción astringente, hemostática, antiséptica y tonificante.

Los taninos cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de 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 tanto contribuyen a la curación de las heridas y además reduce el dolor sobre la piel. (36) (54)

## **CAPÍTULO II**

### **2. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN**

La presente investigación se llevó a cabo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en:

- Laboratorio de Fitoquímica
- Laboratorio de Farmacología
- Laboratorio de Microbiología y
- Bioterio de la Facultad de Ciencias.

#### **2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS**

##### **2.2.1.1 MATERIALES**

##### **2.2.1.2 MATERIAL VEGETAL**

Dos kilos de planta completa seca y pulverizada de Berro (*Nasturtium officinale*) y Llantén (*Plantago major*), adquiridas en las instalaciones de la Asociación de Producción y Comercialización de Plantas Medicinales “Jambi Kiwa” ubicada en la ciudad de Riobamba.

##### **2.2.1.3 MATERIAL BIOLÓGICO**

18 Ratones de la especie *Mus musculus*

#### **2.2.1.4 MATERIAL DE LABORATORIO**

- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Cápsulas de porcelana
- Papel filtro
- Balones esmerilados de 1000mL.
- Balones aforados de 25, 100mL.
- Pipetas de 1, 5 ,10mL
- Pinzas para tubos
- Caja de guantes y mascarilla
- Espátula
- Lámpara de alcohol
- Trípode
- Piceta
- Cajas petri
- Pera de succión
- Gradilla
- Crisol
- Embudo simple y bucher
- Barrilla de vidrio
- Matraces
- Papel aluminio
- Reverbero
- Algodón
- Hojas de bisturí
- Probetas
- Erlenmeyer
- Picnómetro
- Cedazo
- Asa de platino

#### **2.2.2 EQUIPOS**

- Rotavapor
- Balanza analítica
- Desecador
- Refrigerador
- Refractómetro
- Espectrofotómetro
- Autoclave
- Estufa
- Mufla
- pH metro
- UV

#### **2.2.3 REACTIVOS**

- Agua destilada
- Eterol
- Alcohol potable
- Ácido clorhídrico al 1%
- Metanol

- Reactivo Dragendorff
- Reactivo Wagner
- Reactivo Mayer
- Cloroformo
- Anhídrido acético
- Acido sulfúrico concentrado
- Hidróxido de potasio o Sodio
- Reactivo de Baljet
- Solución de carbonato de sodio
- Tricloruro férrico al 5%
- Suero Fisiológico
- Solución de Ninhidrina al 5%
- Acido clorhídrico concentrado
- Cinta de magnesio metálico
- Alcohol amílico
- Éter
- Agares correspondientes para cada determinación de patógenos

## **2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS**

### **2.3.1 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA VEGETAL**

Estas determinaciones son importantes para evaluar las condiciones sanitarias e higiénicas de la droga cruda y se lo realizó considerando los parámetros de organismos encargados de asegurar la calidad de productos farmacéuticos.

#### **2.3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD**

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación debe ser inferior al 10%, para evitar los procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca.

### **Método gravimétrico.**

De la muestra pulverizada se pesan 2g. con desviación permisible de 0.5 mg y se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C durante 3 horas. La cápsula se coloca en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

### **Cálculo:**

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

$\%H$ = pérdida en peso por desecación (%)

$M_2$ = masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

$M_1$ = masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

$M$ = masa de la cápsula vacía (g)

100= factor matemático

### **2.3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS**

Representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga. En condiciones rigurosas, es constante y nos permite descubrir falsificaciones por otras drogas, tierras u otros minerales.

Las cenizas dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5%. Su determinación es importante porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica (por ejemplo, las sales de potasio son responsables de la acción diurética del equiseto, diente de león y ortosifon). (56)

#### **2.3.1.2.1 CENIZAS TOTALES**

Previamente se calcinan las cápsulas en la mufla a 600°C durante 2 horas, se introduce en el desecador hasta que alcanzan la temperatura ambiente y se pesan ( $P_1$ ). A continuación se introducen en las cápsulas aproximadamente 2 g de muestra y se pesa

de nuevo (P<sub>2</sub>). Se introduce en la mufla a 600°C durante 2 horas. Transcurrido dicho tiempo se llevan las capsulas a un desecador hasta que alcancen la temperatura ambiente y se pesan. (P<sub>3</sub>)

### **Cálculos**

$$\% \text{Cenizas} = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} * 100$$

P<sub>1</sub>= peso en g de la cápsula vacía

P<sub>2</sub>= peso en g de la cápsula con la muestra

P<sub>3</sub>= peso en g de la cápsula con la muestra calcinada (55)

#### **2.3.1.2.2 CENIZAS SOLUBLES EN AGUA**

A las cenizas totales obtenidas según el apartado anterior, se le añade de 15 a 20mL de agua. La cápsula se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5min. La solución se filtra a través del papel filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere a la capsula inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera un la mufla de 700-750°C., durante 2 horas. Posteriormente se coloca en desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesa (P<sub>4</sub>). Se repite el procedimiento hasta alcanzar un peso constante.

### **Cálculos:**

$$\% \text{Cenizas solubles en agua} = \frac{P_3 - P_4}{P_2 - P_1} * 100$$

P<sub>1</sub>= peso en g de la cápsula vacía

P<sub>2</sub>= peso en g de la cápsula con la muestra

P<sub>3</sub>= peso en g de la cápsula con la muestra calcinada

P<sub>4</sub>= peso en g de la cápsula con las cenizas insolubles.

### 2.3.1.2.3 CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

A las cenizas totales obtenidas se le añaden de 2 a 3 mL de ácido clorhídrico al 10%. La cápsula se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviendo durante 10min. Se lava el vidrio reloj con 5mL de agua caliente y se une al contenido de la cápsula. La solución se filtra a través de un papel filtro; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1M.

El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 150°C., se transfiere a la cápsula inicial y se incinera en la mufla de 700-750°C., durante dos horas. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. (P<sub>5</sub>) Se repite el procedimiento hasta obtener peso constante.

#### Cálculos:

$$\% \text{Cenizas insolubles en ácido clorhídrico} = \frac{P_3 - P_5}{P_2 - P_5} * 100$$

P<sub>3</sub>= peso en g de la cápsula con la muestra calcinada

P<sub>2</sub>= peso en g de la cápsula con la muestra

P<sub>5</sub>= peso en g de los ensayos (49)

### 2.3.1.3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada se pesa 5g y se transfiere a un frasco cónico con tapa con capacidad de 250mL. Se le añade 100mL.de agua y se agita constantemente durante 6 horas. Dejar en reposo 24 horas, luego se agitan 30 minutos y se filtra por papel. Se toma una alícuota de 20mL., se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada, evaporar sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105°C, durante 3 horas, se enfría en un desecador y se pesa. El ensayo se realiza por triplicado.

**Cálculos:**

$$\%Ss. = \frac{R \times 500 \times 100}{M \times (100 - H)}$$

**%Ss.** = porcentaje de sustancias solubles en base hidratada

**H**= humedad

**R**= Residuo de la muestra en %

**M**= Masa de la muestra de ensayo

#### **2.3.1.4 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES**

- Mezclar 1g de droga en polvo con 10mL de metanol por 5min en un baño de agua (60°C)
- Tomar 5mL de la solución y concentrar hasta sequedad.
- Colocar 2mL de agua y 10mL de acetato de etilo, agitar por 10min.
- Separar la fase de etil acetato y concentrar hasta obtener un volumen de 1mL.
- Usar el concentrado para la cromatografía.
- Se aplica 10ul del concentrado en una placa cromatografica de silica gel 60F254 con la ayuda de un capilar.
- Dejar secar después de cada aplicación
- Se introduce la placa en la cuba cromatografica, hasta que el solvente recorra las  $\frac{3}{4}$  partes de la placa.
- Retirar de la cuba y dejar secar para luego observar en una lámpara de UV 365nm.
- Revelar la placa y dejar secar, calentar la estufa y anotar los Rf.
- Sistema de solventes: Cloroformo-acetona-ácido fórmico (75-16.5-8.5)
- Revelador: Sulfato de Cerio (Acido nítrico concentrado 20mL: cerio 0.06g)

**Adsorbente:** Sílica gel 60F<sub>254</sub>

**Solventes:** Cloroformo acetona-ácido fórmico (75:16.5:8.5)

**Revelado:** Sulfato de cerio

**Cálculo:**

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

### 2.3.1.5 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

- Se pesa 1g de muestra y colocamos en un balón de 250mL.
- Añadir 20mL. de etanol al 50% y 8 mL., de ácido sulfúrico concentrado
- Reflujar por 2 horas en baño de agua
- Dejar enfriar y filtrar a través de filtro Buchner, utilizando papel filtro
- Lavar el residuo con 10mL. de etanol al 50% para desecharlo finalmente
- El filtrado se evapora en baño de agua hasta la mitad del volumen inicial
- Enfriar sobre un baño de agua fría durante 30min
- Filtrar, el papel con el residuo se lava con 70mL. de etanol al 96% caliente a 50°C
- Se trasvasa a un balón volumétrico de 100mL. y se afora con etanol al 96%
- Determinar la absorbancia 377nm
- Como patrón se emplea 0.04g de quercetina, los cuales se debe disolver con etanol al 96% hasta completar un volumen de 50mL., de esta solución tomar 1mL., y se diluye a 100mL., con etanol al 50%.
- El blanco consiste en una solución de etanol al 50%.

**Cálculo:**

$$X = \frac{Am * Pr * 5}{Ar} * 100$$

**Dónde:**

**X**= Contenido de flavonoides expresados como quercetina (%)

**A<sub>m</sub>**= Absorbancia de la solución muestra (nm)

**P<sub>r</sub>**= Peso de la sustancia de referencia (g)

**A<sub>t</sub>**= Absorbancia de la solución de referencia (nm)

### **2.3.2 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS**

Se realizó mediante el proceso de maceración:

- Pesar 200g de planta seca
- Colocar en un frasco de vidrio ámbar
- Empapar con 800mL, de una solución alcohol (EtOH 96° G.L.) /agua proporción (1:1) y dejamos macerar por 7 días protegido de la luz, agitando de vez en cuando.
- Posteriormente procedemos a filtrar en un embudo buschner con bomba al vacío.
- Este producto lo concentramos en un equipo de Rotavapor a 200rpm y a una temperatura de 60°C.
- La cantidad a obtener será por cada gramo de planta un mililitro de extracto.

### **2.3.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS**

#### **1. DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA.**

Para esta prueba se tomo una alícuota de 25mL. del extracto y se colocó en un vaso de precipitación de 50mL., para determinar el análisis sensorial de: color, olor, turbidez, aspecto.

#### **2. DETERMINACIÓN DE pH**

Se toma una alícuota de 25 mL., de la muestra y procedemos a medir directamente en el equipo de pH previamente calibrado.

### 3. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

- Se mide en un refractómetro de Abbe, calibrando el equipo con agua destilada.
- Alzar cuidadosamente la tapa del refractómetro y limpiar con papel filtro.
- Colocar la muestra (extracto)
- Anotar los resultados.

La fórmula utilizada es la siguiente:

$$n_d^{20} = n' + 0.00044 (T - 20)$$

**Donde:**

$(n)^{20}$  = índice de refracción corregido

$(n^T)^d$  = índice de refracción determinado

0.00044 y 20 = factores de corrección matemático

T = temperatura a la que se realiza la lectura.

### 4. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

- Lavar cuidadosamente el picnómetro y secar bien, colocar en la estufa durante una hora. Pesar el picnómetro.(M)
- Enrasar el picnómetro con agua destilada, secarlo y pesarlo (M1)
- Vaciar el contenido del picnómetro y llenarlo nuevamente, pero esta vez con la muestra (extracto).
- Enrasar el picnómetro con el extracto, secarlo y pesarlo. (M2)

**Cálculo:**

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} \frac{M_2 - M}{M_1 - M}$$

$M_1$ =peso del picnómetro en g. con agua destilada

$M_2$ =peso del picnómetro en g. con la muestra de ensayo

**M**=peso del picnómetro vacío

## 5. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

Transferir a una cápsula previamente tarada, 5mL.de muestra y llevar a baño María, completar la evaporación en estufa a 105°C., por 3 horas, pesar las cápsulas, y repetir el procedimiento hasta peso constante con intervalos de 30 minutos. Los resultados se expresan en porcentaje de sólidos totales y se reportan en cifras enteras, según su formula.

**Cálculo:**

$$St = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

**Pr** = masa en g.de la capsula más el residuo

**P** = masa en g.de la cápsula vacía

**V** = volumen de la porción del ensayo en mL.

**100** = factor matemático

### 2.3.4 EVALUACIÓN FITOQUÍMICA

Luego de la preparación de los extractos hidroalcohólicos de Berro y Llantén se realizó diferentes ensayos con reacciones químicas de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados, para determinar la presencia de metabolitos secundarios: flavonoides (*Shinoda*), compuestos fenólicos (cloruro férrico), alcaloides (*Dragendorff y Mayer*), triterpenos y esteroides (*Liebermann-Buchard*), quinonas (*Bortrager*), compuestos lactónicos y cumarinas (*Baljet*), antocianidinas (*Rosemhein*) y azúcares reductores (*Fehling*), presentes en ambos extractos, cuyo propósito es contribuir, con base científica, de los componentes presentes en ellos.

#### **2.3.4.1 Ensayo de Shinoda (Flavonoides)**

Se coloca 20 gotas del extracto en un tubo de ensayo, se agrega de 2 a 3 virutas de Magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. Observe el cambio de coloración de rojo a magenta.

“Se debe tomar en cuenta que si el extracto esta disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo disolver en 1mL de HCl al 1 %. Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de HCl concentrado.”

#### **2.3.4.2 Ensayo de Mayer, Dragendorff y/o Wagner.(Alcaloides)**

La solución acuosa ácida se filtra hasta que el filtrado sea completamente transparente. Se toma una alícuota del filtrado para cada ensayo con los reactivos para alcaloides: Mayer, Dragendorff, Wagner.

Se considera como positiva las pruebas en las que aparecen precipitados.

#### **2.3.4.3 Ensayo de Liberman- Buchard (Triterpenos y/o Esteroides)**

Para realizar este ensayo, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración.

- Rosado – azul muy rápido
- Verde intenso- visible aunque rápido
- Verde oscuro-negro-final de la reacción

Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

#### **2.3.4.4 Ensayo de Borntrager (Quinonas)**

Si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amoníaco al 5 %. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) o rojo, para lo cual se reporta (+++).

#### **2.3.4.5 Ensayo de Baljet (Cumarinas)**

Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolviendo en 1mL de alcohol. Seguidamente, se añade 1mL del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++ y +++) respectivamente.

#### **2.3.4.6 Ensayo de espuma (Saponinas)**

Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10min.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2mm de altura y persistente por más de 2 min.

#### **2.3.4.7 Ensayo de Cloruro Férrico (Taninos)**

Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adiciona 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua). Si el extracto es acuoso el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información:

- Coloración rojo-vino compuestos fenólicos general.
- Coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos
- Coloración azul, taninos tipo pirogalotánicos.

#### **2.3.4.8 Ensayo de Resinas**

Para detectar este tipo de compuestos se adiciona a 2mL., de la solución alcohólica, 10mL., de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

#### **2.3.4.9 Ensayo de Antocianidinas**

Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides.

Se calienta 2mL del extracto etanólico por 10min., con 1mL., de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1mL., del agua y 2mL., de alcohol amílico. Agitar y dejar separar las 2 fases.

La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, indica ensayo positivo

### **2.3.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

#### **2.3.5.1 MÉTODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA**

- Pesar 25g de materia vegetal en un erlenmeyer estéril
- Agregar 250mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de  $10^{-1}$ . Dejar reposar 1 hora.
- De esta dilución tomar 1mL y mezclar con 9mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de  $10^{-2}$ . De este modo realizar otras diluciones.
- Se preparan tubos de ensayo tapa rosca con 15mL de medio de cultivo PCA (Plate Count Agar).

- A cada tubo con agar se adiciona 1mL de la dilución preparada en el agua peptonada al 0.1%.
- Homogenizar y el contenido de cada tubo verter en cajas petri.
- Incubar a 35+/-2°C por 48 horas.
- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura

Contar las colonias que se desarrollan y se anotan el resultado de las placas con mayor número de colonias.

### **2.3.5.2 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES**

#### **A) PRUEBA PRESUNTIVA**

- Pesar 25g de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar. De este modo se obtiene una dilución de  $10^{-1}$ . Dejar reposar 1 hora
- De esta dilución tomar 1mL y mezclar con 9mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de  $10^{-2}$
- Colocar 1mL de cada una de las diluciones en 10mL de caldo lactosado.
- Incubar por 24-48h a 35 +/-2°C
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas)

#### **B) PRUEBA CONFIRMATORIA**

- De los tubos positivo en el caldo lactosado tomar 2 o 3 asadas y sembrar en tubos 10mL de caldo BRILLA.
- Incubar por 24-48h. a 35+/-2°C.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas)

- Los resultados se interpretan según el método AOAC.

El número de microorganismos aceptados para este tipo de material es:

**Para Coliformes totales:**

ACEPTABLE: 10ufc/mL

INACEPTABLE/RECHAZADO: >11ufc/ML

**2.3.6 EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO Y LLANTÉN EN RATONES**

- Aclimatación del animal de experimentación por un periodo de 3 días mediante la dotación de alimento según el peso de cada grupo en una ración de 2g de alimento por cada 10g de peso.
- Depilación del dorso de cada ratón utilizando una crema depilatoria (Veet)
- Después de 24 horas de realizada la depilación se procedió a inducir la herida, en el dorso del animal, mediante un corte en una medida de 1.5cm de largo y aproximadamente 2mm de profundidad utilizando un bisturí.
- Se aplicó los 3 extractos de Berro/Llantén, el Eterol y el alcohol al 50% a cada uno de los grupos experimentales, 2 veces al día.
- Se observó los resultados.

**TABLA Nº 1. EVALUACIÓN DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN CADA GRUPO EXPERIMENTAL MEDIANTE LA APLICACIÓN DE CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS.**

<b>TIPO DE TRATAMIENTO</b>						
<b>GRUPO</b>	<b>BLANCO</b>	<b>CONTROL (+)</b>	<b>CONTROL</b>	<b>Extracto de berro (60%) y extracto de Llantén (40%)</b>	<b>Extracto de berro (40%) y extracto de Llantén (60%)</b>	<b>Extracto de berro (50%) y extracto de Llantén (50%)</b>
G1	B1	C1	D1	X1	Y1	Z1
G2	B2	C2	D2	X2	Y2	Z2
G3	B3	C3	D3	X3	Y3	Z3

**G=** Grupos

**B=** Ratones heridos sin tratamiento

**C=** Ratones heridos tratados con Eterol

**D=** Ratones heridos tratados con alcohol al 50%

**X=** Ratones heridas tratadas con el extracto de Berro y Llantén en una proporción de 60/40

**Y=** Ratones heridas tratadas con el extracto de Berro y Llantén en una proporción de 40/60

**Z=** Ratones heridas tratadas con el extracto de Berro y Llantén en una proporción de 50/50

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se expondrán en cuadros los datos experimentales como una media de los valores obtenidos, al aplicar todo lo descrito en los dos capítulos anteriores.

#### 3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTEN (*Plantago major*)

La droga cruda utilizada posteriormente estudios fitoterápicos se le realizó el control de calidad según lo estipulado en La Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos.

##### 3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

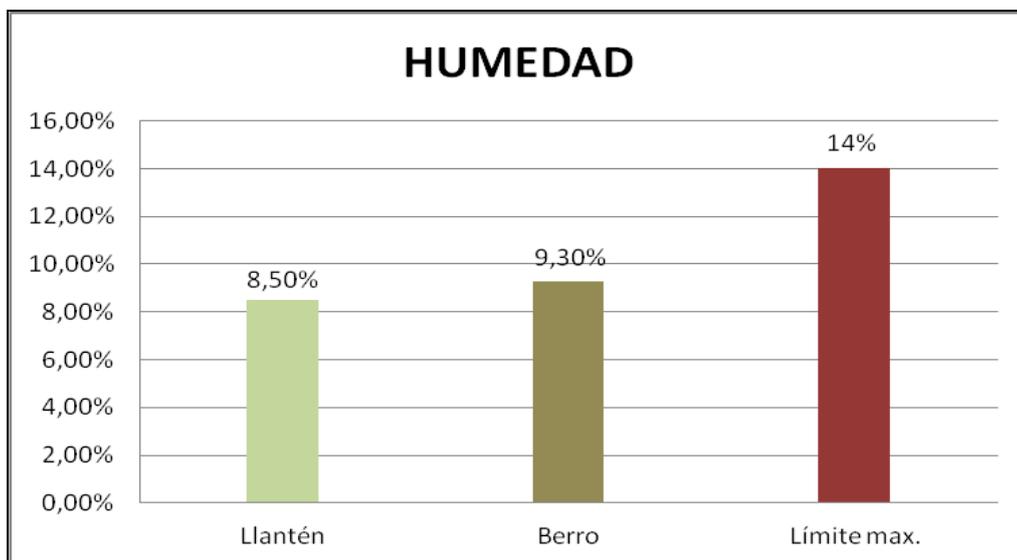
La determinación de humedad realizada a la droga cruda seca por el método gravimétrico presentaron los siguientes resultados:

CUADRO N° 1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*) COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA ESPOCH. OCTUBRE 2011

PLANTA SECA	% HUMEDAD	ESPECIFICACIÓN
Llantén	8.5	
Berro	9.3	Hasta 14%

Los resultados expresados en el cuadro N° 1 nos indica que el porcentaje de humedad en las plantas secas de Berro 9.3% y Llantén 8.5%, son valores que se encuentran dentro

de las especificaciones dadas para materia prima vegetal (hasta 14%) según tesis anteriormente realizadas y consultado en la USP# 25, evitando de este modo el crecimiento bacteriano y dando paso a la utilización en su uso requerido.

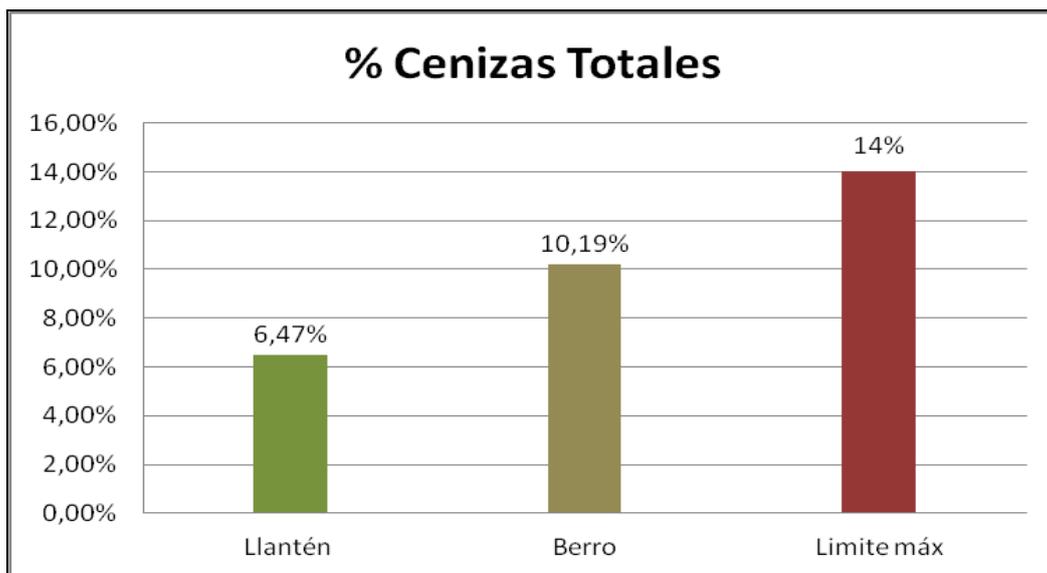


**GRÁFICO N°3: DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN LAS DROGAS CRUDAS DE BERRO Y LLANTÉN. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA .ESPOCH.OCTUBRE 2011**

### 3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

**CUADRO N° 2.DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES EN LAS PLANTAS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*) COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH.OCTUBRE 2011**

PLANTA SECA	% CENIZAS TOTALES	ESPECIFICACIÓN
Llantén	6.47	14%
Berro	10.19	



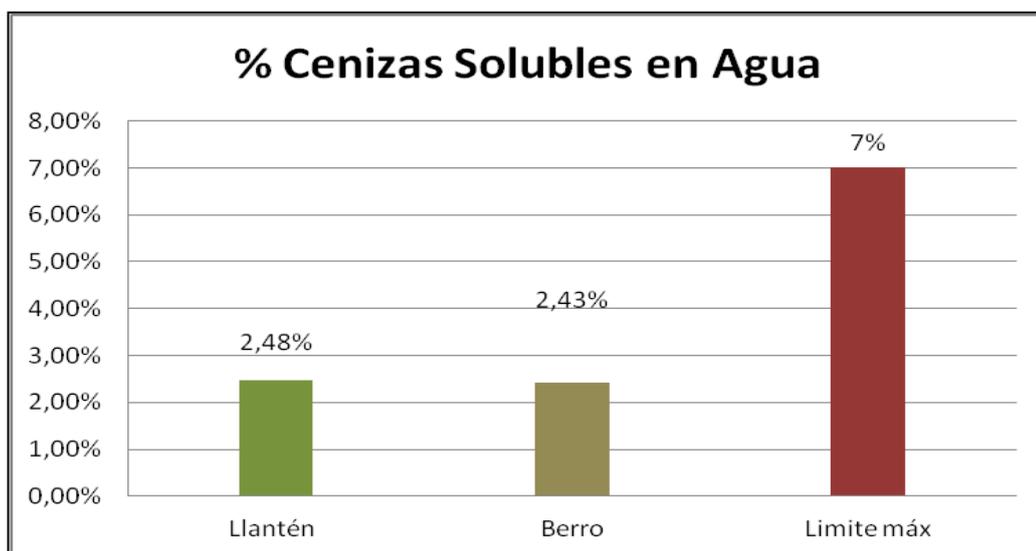
**GRÁFICO N°4: DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES EN LAS DROGAS CRUDAS DE BERRO Y LLANTÉN.REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. OCTUBRE 2011**

Los resultados del cuadro N° 2 muestran un porcentaje de cenizas totales para el Berro 10.19% y para el Llantén 6.47%, respectivamente, valores que se encuentran dentro de los límites establecidos. Esta determinación es un indicativo del contenido de minerales en la muestra.

El valor de las cenizas se considera como una medida general de la calidad y a menudo es un criterio útil para determinar la identidad de un alimento. Cuando hay un alto contenido de cenizas, superior a la especificación se sugiere la presencia de un adulterante inorgánico.

**CUADRO Nº 3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA EN BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*) COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA ESPOCH.OCTUBRE 2011**

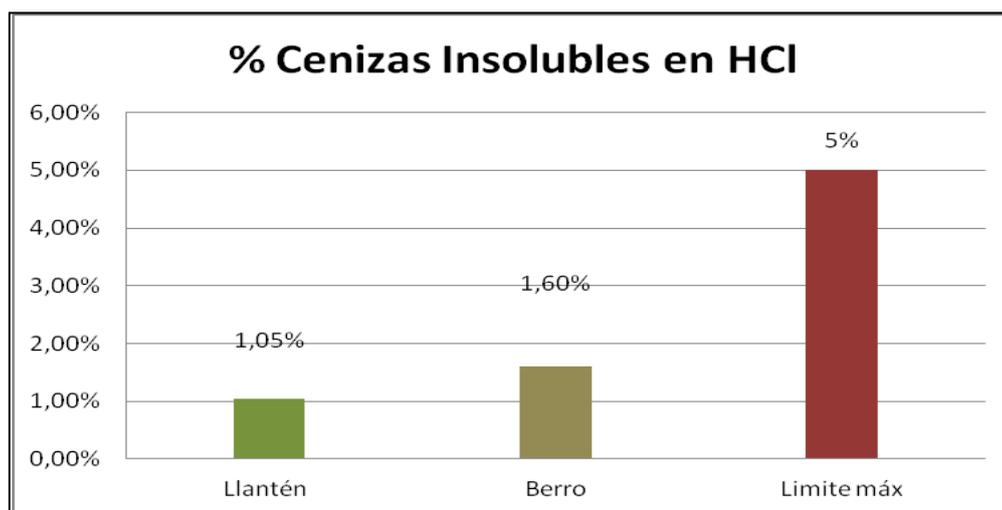
<b>PLANTA SECA</b>	<b>% CENIZAS SOLUBLES EN AGUA</b>	<b>ESPECIFICACIÓN</b>
<b>Llantén</b>	2.48	7%
<b>Berro</b>	2.43	



**GRÁFICO Nº5: DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA BERRO Y LLANTÉN.REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA.ESPOCH.OCTUBRE 2011**

**CUADRO N°4. DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO EN BERRO  
(*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*) COMO MATERIA PRIMA.  
REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA ESPOCH. OCTUBRE 2011**

<b>PLANTA SECA</b>	<b>% CENIZAS INSOLUBLES EN HCl</b>	<b>ESPECIFICACIÓN</b>
<b>Llantén</b>	1.05	
<b>Berro</b>	1.6	5%



**GRÁFICO N°6: DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN HCl EN BERRO Y  
LLANTÉN. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA.ESPOCH.  
OCTUBRE 2011**

En el cuadro N° 3 se expresa el contenido de cenizas solubles en agua, valores que dan un indicativo de la calidad de las hierbas antes de ser utilizadas, que fue de 2.48% y 2.43% respectivamente, mientras que en el cuadro N° 4 se expresa el contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico que es un indicador de materia arenosa, proveniente de la cosecha de las especies vegetales; así para el Berro se determinó el

1.05% y para el Llantén el 1.6%, que comparativamente con valores de referencia estos resultados se encuentran dentro del rango límite (7% cenizas solubles en agua y 5% cenizas insolubles en ácido clorhídrico respectivamente).

### 3.1.3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

**CUADRO N° 5. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE SUSTANCIAS SOLUBLES EN AGUA EN BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*) COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2011**

PLANTA SECA	% SUSTANCIAS SOLUBLES EN AGUA T° = 35°C
Llantén	6.01
Berro	5.82

Los resultados expresados en el cuadro N° 5 nos indica que el porcentaje de sustancias solubles en agua determinado a una temperatura de  $35 \pm 5^\circ\text{C}$  para el Berro es de 5.82% y para el Llantén es de 6.01%, valores que muestran la cantidad de compuestos que serán responsables del efecto farmacológico de los mismos.

### 3.1.4 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFÍA

La cromatografía se realizó en placas de silicagel con sistema de solventes propios para dicha determinación:

Sistema de solventes: cloroformo – acetona- ácido fórmico (75:16.5:8.5)

Revelador: sulfato de cerio

El análisis cromatográfico permite una mejor separación de los componentes y este proceso se puede apreciar mediante la aparición de manchas permitiéndonos identificar los compuestos a través del cálculo de los Rf.

**CUADRO N° 6. DETERMINACIÓN DEL Rf DE UNA MUESTRA DE LLANTÉN (*Plantago major*) COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2011**

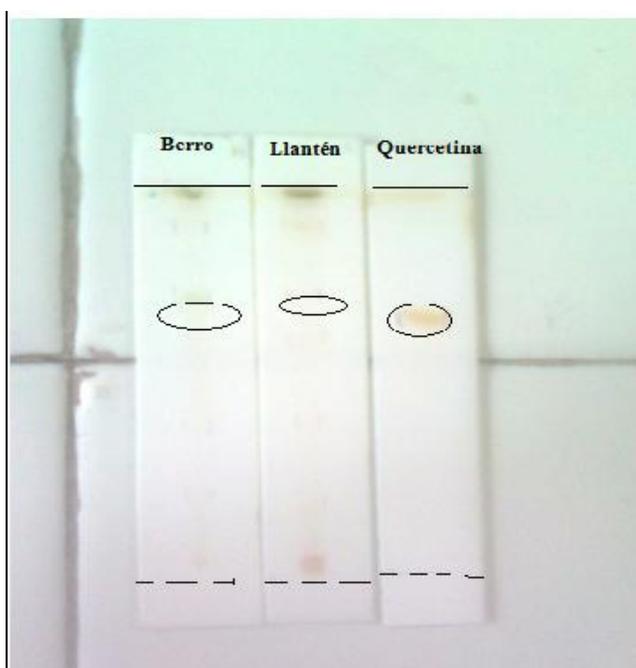
<b>MANCHAS OBSERVADAS</b>	<b>CALCULO Rf</b>	<b>COLOR</b>
A	$Rf = 1.4/8 = 0.18$	Amarillo
B	$Rf = 3.1/8 = 0.39$	Café / amarillo
C	$Rf = 4.7/8 = 0.59$	Amarillo verdoso
<b>D</b>	<b><math>Rf = 5.3/8 = 0.66</math></b>	<b>Amarillo verdoso</b>
E	$Rf = 7.2/8 = 0.90$	Café
F	$Rf = 7.8/8 = 0.96$	Verde

**CUADRO N° 7. DETERMINACIÓN DEL Rf DE UNA MUESTRA DE BERRO (*Nasturtium officinale*) COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2011**

<b>MANCHAS OBSERVADAS</b>	<b>CALCULO Rf</b>	<b>COLOR</b>
A	$Rf = 1.5/8 = 0.19$	Café amarillento
B	$Rf = 2.8/8 = 0.35$	amarillo
<b>C</b>	<b><math>Rf = 5.5/8 = 0.69</math></b>	<b>Amarillo verdoso</b>
D	$Rf = 7/8 = 0.88$	Amarillo
E	$Rf = 7.7/8 = 0.96$	Amarillo verdoso

**CUADRO N° 8. DETERMINACIÓN DEL R<sub>f</sub> DE UNA MUESTRA DE QUERCETINA COMO REFERENCIA PARA LA PRESENCIA DE FLAVONOIDES. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. NOVIEMBRE 2011**

<b>MANCHA OBSERVADA</b>	<b>CALCULO R<sub>f</sub></b>	<b>COLOR</b>
A	$R_f = 5.4/8 = 0.68$	Amarillo



**FOTOGRAFÍA N°4. PLACAS CROMATOGRÁFICAS PARA LA DETECCIÓN DE FLAVONOIDES EN BERRO Y LLANTÉN (Sistema de solventes: cloroformo – acetona- ácido fórmico (75:16.5:8.5) Revelador: sulfato de cerio) COMPARADOS CON LA QUERCETINA. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH.**

Los resultados expresados en el CUADRO N° 6 y 7 nos indican los compuestos que se identificaron por cromatografía en capa fina, siendo similar a los datos base del estándar

de quercetina calculada también por TLC que podemos observar en el cuadro N° 8 y que muestra su  $R_f = 0.68$

Según Wagner H. 1996 (25), los Iridoides se observaron gráficamente en las placas cromatográfica que se encuentran en un rango de  $R_f = 0.45-0.75$  (Llantén  $R_f = 0.39-0.66$ ) de catalpol cuando su  $R_f$  es 0.25. y se presenta el flavonoide rutina cuando su  $R_f$  es 0.4 (Berro  $R_f = 0.35$ )

Del berro se conoce que posee rutina y del llantén que posee Flavonoides como apigenina, luteolina, escutelarina, baicaleina, hispidulina, nepetina, plantamagósido e Iridoides (0.3-2.5%) según Alonso J. 2004 (1)

De acuerdo a ésta información podemos expresar que los compuestos determinados concuerdan con la composición química encontrada en los textos bibliográficos.

## **CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES**

**CUADRO N° 9. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES (% DE QUERCETINA) EN LAS PLANTAS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantag major*) COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011**

<b>PARAMETRO %</b>	<b>BERRO</b>	<b>LLANTÉN</b>
<b>Flavonoides totales</b>		
<b>(% Quercetina)</b>	1.93%	1.02%

Los resultados expresados en el cuadro N° 9 nos indican que existe mayor concentración de flavonoides (% Quercetina) en el Berro, que en el Llantén lo cual garantiza su acción cicatrizante.

## 3.2 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS HICROALCOHÓLICOS

### 3.2.1 DESCRIPCION ORGANOLÉPTICA

CUADRO N°10.DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLÁNTÉN (*Plantag major*).REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011

PARÁMETRO	BERRO	LLÁNTEN
COLOR	Verde oscuro	Verde amarillento
OLOR	Herbal Fuerte	Dulce
TURBIDEZ	No	No
ASPECTO	Líquido	Líquido fluido
SABOR	Amargo	Amargo

Los resultados de la determinación de cada uno de los parámetros organolépticos son propios de cada planta, y estos no poseen estándares para su comparación. El parámetro que sobresalió fue el olor de cada una de ellas siendo para el berro un olor penetrante y débilmente desagradable, mientras que para el llantén era un aroma agradable dulzón.

### 3.2.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARAMETROS FÍSICOS

#### CUADRO N° 11. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS

HICROALCOHÓLICOS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE ALIMENTOS.ESPOCH. DICIEMBRE 2011

PARÁMETRO	EXTRACTO BERRO	EXTRACTO LLANTÉN
pH	5.28	5.13
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1.369	1.374
DENSIDAD RELATIVA	0.8846	0.9107
SÓLIDOS TOTALES	5.250	6.025

En el cuadro N° 11 se expone los resultados de las determinaciones de los parámetros físicos (pH, índice de refracción, densidad relativa y sólidos totales) en el estudio de los extractos hidroalcohólicos de Berro y Llantén, valores que se encuentran acorde a las especificaciones presentadas por la OMS para extractos en general.

El pH de la piel es de 5.5 por lo que si nos aplicamos alguna crema, jabón o sustancia con un pH menor o mayor podría causarnos irritación o quemadura (47). De acuerdo a esta información podemos precisar que tanto el extracto de berro como el de llantén, no posee ningún riesgo para la salud al aplicar tópicamente ya que su pH se encuentra dentro del pH de la piel y por lo tanto posee una alta compatibilidad.

### 3.2.3 EVALUACIÓN FITOQUÍMICA

Se realizaron pruebas de identificación para que mediante cambios de color o formación de precipitados se determine la presencia de metabolitos secundarios presentes en ambos extractos.

**CUADRO N° 12. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS HICROALCOHÓLICOS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA.ESPOCH. NOVIEMBRE 2011**

METABOLITO	ENSAYO	INDICADORES	EXTRACTO	
			BERRO	LLANTÉN
ALCALOIDES	Dragendorff	Opalescencia		
	Mayer	Turbidez definida Precipitado	(+)	(++)
TANINOS	Cloruro férrico	Rojo- vino		
		Verde intenso Azul	(-)	(+++)
FLAVONOIDES	Shinoda	Amarillo		
		Naranja Carmelita o Rojo	(+++)	(++)
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Lieberman -			
	Buchard	Rosado-azul Verde intenso Verde oscuro - negro	(+)	(-)
QUINONAS	Borntrager	Rosado Rojo	(++)	(+++)
CUMARINAS/ GRUPOS LACTONICOS	Baljet	Rojo Precipitado rojo	(-)	(++)

<b>SAPONINAS</b>	Espuma	Espuma por más de 2 min	(+++)	(++)
<b>ANTOCIANIDINAS</b>		Rojo	(++)	(+++)
		Marrón		
<b>RESINAS</b>		Precipitado	(+++)	(+++)

(+++) Alto contenido del metabolito secundario

(++) Contenido leve del metabolito secundario

(+) Bajo contenido del metabolito secundario

(-) Ausencia del metabolito secundario

De acuerdo a los resultados expresados en el cuadro N° 12 del estudio fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos de Berro y Llantén, se determinó la presencia de ciertos metabolitos secundarios como:

Extracto Berro: Predominan flavonoides, saponinas y resinas, en menor concentración Quinonas, Antocianidinas y escasamente Alcaloides y triterpenos.

Extracto Llantén: Prevalen Taninos, quinonas, antocianidinas y resinas, en menor cantidad Alcaloides, flavonoides, cumarinas y saponinas

Al comparar los resultados del Berro y Llantén obtenidos con referencias bibliográficas éstas concuerdan así:

Según Gracia M. (30), el extracto metanólico de Berro posee compuestos fenólicos en cantidades significativas y también presenta flavonoides totales que van íntimamente relacionada con las propiedades farmacológicas y medicinales de esta planta.

De acuerdo a ésta referencia y los resultados del Tamizaje fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico de Berro en el cual obtuvimos una gran cantidad de este metabolito semejante a los resultados obtenidos por Gracia M., podemos mencionar que el efecto antibacterial y cicatrizante está dado por la presencia de flavonoides.

En el caso de los metabolitos secundarios comprobados en el extracto hidroalcohólico de Llantén existe gran semejanza con los determinados mediante una marcha fitoquímica así como el screening fitoquímico realizado por Sabad V. (32), evidenciándose la presencia de taninos, flavonoides en una concentración moderada, saponinas y alcaloides en una concentración leve.

Alvarado V., y Moromi N., (26) destacan la presencia de flavonoides, fenoles y quinonas en el extracto hidroalcohólico de llantén, resultados semejantes a los obtenidos en este proyectos de tesis.

### 3.2.4 CONTROL MICROBIOLÓGICO

**CUADRO N° 13. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS Y COLIFORMES TOTALES EN LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*). REALIZADO EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. ESPOCH. ENERO 2012**

MICROORGANISMOS	ESPECIFICACIÓN	BERRO	LLANTÉN
Aerobios Mesófilos UFC/mL	$10^5$	$4 \times 10^2$	$1 \times 10^3$
Coliformes totales ufc/mL	10	<1	4

El cuadro N° 13 se expone los valores obtenidos mediante pruebas microbiológicas de los extractos de Berro y Llantén, en base a parámetros establecidos los cuales determinaron que se encuentran dentro de los límites aceptados para ser usadas en la elaboración de fitofármacos debido a que cumplen con límites microbiológicos permitidos para este tipo de materia según la OMS 2007 y la AOAC.

### 3.3 ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO (*Nasturtium officinale*) Y LLANTÉN (*Plantago major*) EN RATONES.

CUADRO Nº 14. ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO Y LLANTÉN EN RATONES EVALUADO MEDIANTE LOS DÍAS DE CICATRIZACIÓN DE CADA UNO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. REALIZADO EN EL BIOTERIO. ESPOCH.FEBRERO 2012

TRATAMIENTO	DÍAS DE CICATRIZACIÓN				
	GRUPOS				
	G1	G2	G3	Media	Desv.Estandar ±
B	11	12	12	12	0.57
C	8	9	8	8	0.57
D	9	9	10	9	0.57
X	8	7	6	7	1
Y	7	9	8	8	1
Z	7	6	6	6	0.57

G= Grupos

B= Ratones heridos sin tratamiento

C= Ratones heridos tratados con Eterol

D= Ratones heridos tratados con alcohol al 50%

X= Ratones heridas tratadas con el extracto de Berro y Llantén en una proporción de 60/40

Y= Ratones heridas tratadas con el extracto de Berro y Llantén en una proporción de 40/60

Z= Ratones heridas tratadas con el extracto de Berro y Llantén en una proporción de 50/50

De acuerdo a los resultados expresados en el CUADRO N° 14 el tratamiento que dio mayor efecto cicatrizante con una baja desviación estándar es el grupo de ratones que se les aplicó el extracto fluido de Berro y Llantén en una concentración del 50% que tardó 6 días en cicatrizar totalmente la herida, a diferencia del resto de tratamientos los cuales tardaron mayor tiempo en sanar.

Estos datos pueden deberse a que el Berro posee mayor cantidad de flavonoides, metabolito secundario encargado de la reepitalización de los tejidos y que posee reconocido efecto antibacterial que junto al contenido de taninos presentes en el Llantén producen un efecto sinérgico al realizar una mezcla de estos dos extractos en una proporción de 50:50

Guamán M. 2010 expresa que los mejores resultados obtenidos para la pronta y efectiva cicatrización de heridas es aquella en la cual se combina plantas para producir un efecto sinérgico.

De acuerdo a nuestros resultados y a los datos obtenidos por Guamán M., podemos afirmar que la combinación de plantas produce un efecto mejor y más eficiente.

Gonzales E. y Jimenez R. (29) expresan que la actividad cicatrizante encontrada su trabajo indican que las hojas de *Plantago major* aceleran el proceso de cicatrización donde los metabolitos activos se encuentran localizados en la fase orgánica que fue la que reportó un porcentaje de actividad del 34%

### 3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

TABLA Nº 2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO, APLICADO A LOS DATOS ARROJADOS DEL ESTUDIO DE CADA TRATAMIENTO EN RATONES.EPOCH. FEBRERO 2012

#### ANOVA DE UN FACTOR

Tipo de Tratamiento	N	Media	Desviación típica	Error típico	DÍAS CICATRIZACIÓN		Mín.	Máx.
					Intervalo de confianza para la media al 95%			
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Blanco</b>	3	11,67	,577	,333	10,23	13,10	11	12
<b>Alcohol 50%</b>	3	9,33	,577	,333	7,90	10,77	9	10
<b>Eterol</b>	3	8,33	,577	,333	6,90	9,77	8	9
<b>Extracto B/LI 40:60</b>	3	8,00	1,000	,577	5,52	10,48	7	9
<b>Extracto B/LI 60:40</b>	3	7,33	,577	,333	5,90	8,77	7	8
<b>Extracto B/LI 50:50</b>	3	6,33	,577	,333	4,90	7,77	6	7
<b>Total</b>	18	8,50	1,823	,430	7,59	9,41	6	12

#### PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

DÍAS CICATRIZACIÓN			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	P-valor
,286	5	12	,912

En la TABLA Nº 2 se realizó un análisis estadístico general descriptivo para los resultados de las aplicaciones de los tratamientos con respecto a los días de cicatrización, así como una prueba de homogeneidad de varianzas aplicando el Test de Levene en el cual obtuvimos que el P-valor dio mayor que el nivel de significancia que

es 0,05 por lo que no se rechaza la hipótesis de homogeneidad, expresando así que los 6 tipos de tratamiento aplicados poseen varianzas homogéneas

**TABLA N°3. ANÁLISIS DE ANOVA REALIZADO A LOS RESULTADOS DE LAS APLICACIONES DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.ESPOCH. FEBRERO 2012**

<b>ANOVA</b>					
<b>DÍAS CICATRIZACIÓN</b>					
	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>P-valor</b>
<b>Inter-grupos</b>	51,167	5	10,233	23,025	,000
<b>Intra-grupos</b>	5,333	12	,444		
<b>Total</b>	56,500	17			

Debido a los resultados en la tabla anterior podemos interpretar ya la TABLAN° 3 en el cual nos indica que el P-valor que le corresponde al estadístico F que es el equivalente al T-student es ,000 muy pequeño, es decir menor que el valor de significancia que es 0,05, rechazando la hipótesis nula e indicándonos que por lo menos los datos de 2 tratamientos aplicados son diferentes, indicándose en la TABLA N°4.

**TABLA N°4. ANÁLISIS POSTEST DE TUKEY REALIZADOS A LOS DATOS DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. ESPOCH. FEBRERO 2012**

<b>COMPARACIONES MÚLTIPLES</b>						
<b>VARIABLE DEPENDIENTE: DÍAS CICATRIZACIÓN</b>						
<b>HSD DE TUKEY</b>						
<b>(I) Tipo de Tratamiento</b>	<b>(J) Tipo de Tratamiento</b>	<b>Diferencia de medias (I-J)</b>	<b>Error típico</b>	<b>Sig.</b>	<b>Intervalo de confianza al 95%</b>	
					<b>Lím. Infer.</b>	<b>Lím. Sup.</b>
<b>Blanco</b>	Alcohol 50%	2,333*	,544	,010	,50	4,16
	Eterol	3,333*	,544	,001	1,50	5,16
	Extracto B/Ll 40:60	3,667*	,544	,000	1,84	5,50
	Extracto B/Ll 60:40	4,333*	,544	,000	2,50	6,16
	Extracto B/Ll 50:50	5,333*	,544	,000	3,50	7,16
<b>Alcohol 50%</b>	Blanco	-2,333*	,544	,010	-4,16	-,50
	Eterol	1,000	,544	,480	-,83	2,83
	Extracto B/Ll 40:60	1,333	,544	,214	-,50	3,16
	Extracto B/Ll 60:40	2,000*	,544	,029	,17	3,83
	Extracto B/Ll 50:50	3,000*	,544	,001	1,17	4,83
<b>Eterol</b>	Blanco	-3,333*	,544	,001	-5,16	-1,50
	Alcohol 50%	-1,000	,544	,480	-2,83	,83
	Extracto B/Ll 40:60	,333	,544	,988	-1,50	2,16
	Extracto B/Ll 60:40	1,000	,544	,480	-,83	2,83
	Extracto B/Ll 50:50	2,000*	,544	,029	,17	3,83
<b>Extracto B/Ll 40:60</b>	Blanco	-3,667*	,544	,000	-5,50	-1,84
	Alcohol 50%	-1,333	,544	,214	-3,16	,50
	Eterol	-,333	,544	,988	-2,16	1,50
	Extracto B/Ll 60:40	,667	,544	,817	-1,16	2,50
	Extracto B/Ll 50:50	1,667	,544	,082	-,16	3,50
<b>Extracto B/Ll 60:40</b>	Blanco	-4,333*	,544	,000	-6,16	-2,50
	Alcohol 50%	-2,000*	,544	,029	-3,83	-,17
	Eterol	-1,000	,544	,480	-2,83	,83
	Extracto B/Ll 40:60	-,667	,544	,817	-2,50	1,16
	Extracto B/Ll 50:50	1,000	,544	,480	-,83	2,83

<b>Extracto B/Ll 50:50</b>	Blanco	-5,333*	,544	,000	-7,16	-3,50
	Alcohol 50%	-3,000*	,544	,001	-4,83	-1,17
	Eterol	-2,000*	,544	,029	-3,83	-,17
	Extracto B/Ll 40:60	-1,667	,544	,082	-3,50	,16
	Extracto B/Ll 60:40	-1,000	,544	,480	-2,83	,83

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

**TABLA N°5. ANÁLISIS SUBCONJUNTOS HOMOGENEOS REALIZADOS A LOS DATOS DE LA**

**APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. ESPOCH. ENERO 2012**

**SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS**

<b>DÍAS CICATRIZACIÓN</b>					
HSD de Tukey					
<b>Tipo de Tratamiento</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto para alfa = 0.05</b>			
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Extracto B/Ll 50:50</b>	3	6,33			
<b>Extracto B/Ll 60:40</b>	3	7,33	7,33		
<b>Extracto B/Ll 40:60</b>	3		8,00	8,00	
<b>Eterol</b>	3		8,33	8,33	
<b>Alcohol 50%</b>	3			9,33	
<b>Blanco</b>	3				11,67
<b>Sig.</b>		,082	,480	,214	1,000

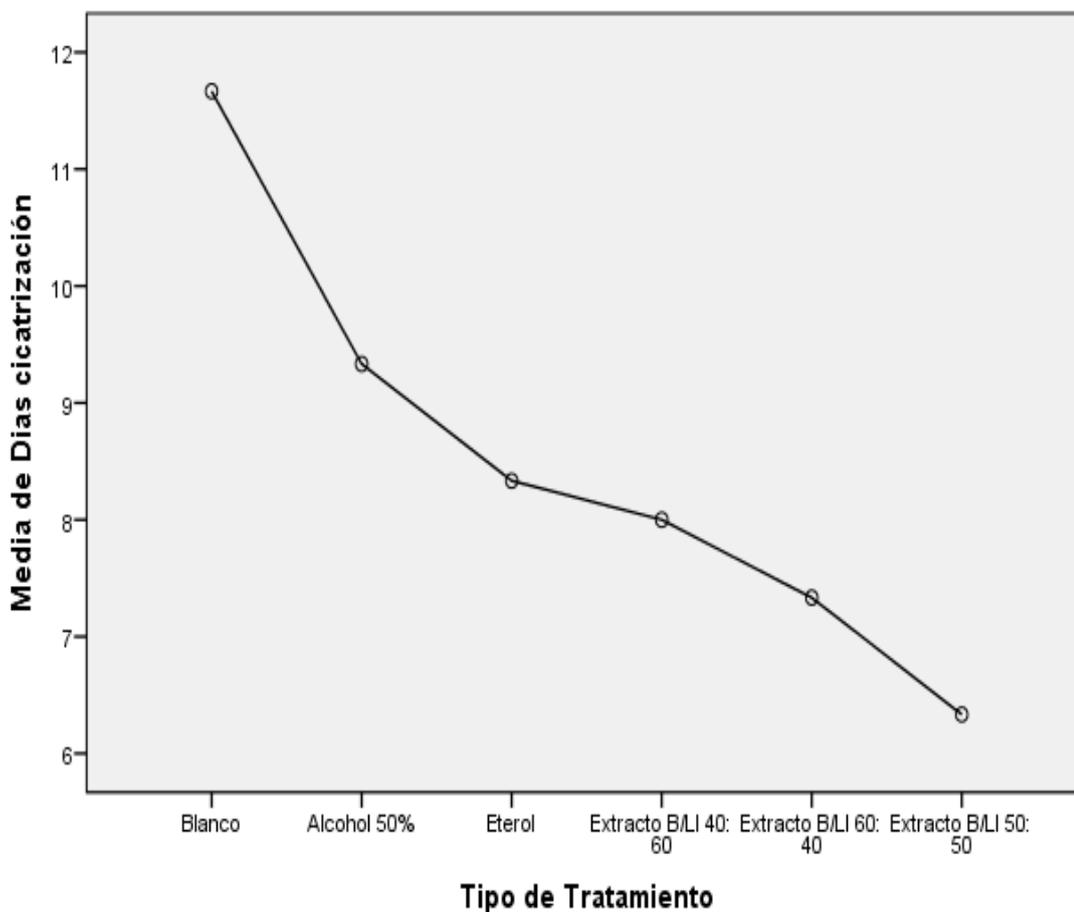
Se muestran las meDÍAS para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

Según los datos arrojados en las TABLAS N° 4 y 5 podemos expresar que los tratamientos que mejores resultados dieron en la pronta cicatrización de la herida en su grupo experimental fueron los extractos hidroalcohólico de Berro y Llantén en una proporción de 50:50 y 60:40, mientras que en el extracto hidroalcohólico de Berro y Llantén en una proporción de 40:60 con el Eterol y el alcohol al 50% poseen una homogeneidad entre dichos tratamientos.

El Grupo experimental denominado Blanco que no se trato con ninguna sustancia no posee homogeneidad con otros.

**GRÁFICO N°7. MEDÍAS DE LOS DÍAS DE CICATRIZACIÓN CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS APLICADOS.ESPOCH. FEBRERO 2012**



En este gráfico se representa una línea descendente, la cual en el eje de las abscisas se encuentra el tipo de tratamiento aplicado y en el eje de las ordenadas el tiempo en días que tardó en cicatrizar la herida, observando que el tratamiento con mejores resultados es el extracto hidroalcohólico de Berro y Llantén en una proporción de 50:50 que tardó 6 días en cicatrizar la lesión.

## PROGRESO DE CICATRIZACIÓN

TABLA N°6. MEDIDA DIARIA EN cm. DE LA APERTURA DE LA HERIDA.ESPOCH. ENERO 2012.

<b>MEDIDA DE LA HERIDA EN cm.</b>						
	<b>TRATAMIENTOS</b>					
<b>DÍA</b>	<b>Blanco</b>	<b>Eterol</b>	<b>Alcohol 50%</b>	<b>Berro/llantén 40:60</b>	<b>Berro/llantén 60:40</b>	<b>Berro/llantén 50:50</b>
1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
2	1,5	1,3	1,4	0,9	1,2	1,0
3	1,3	1,1	1,2	0,6	0,9	0,7
4	1,0	0,7	0,7	0,4	0,5	0,3
5	0,9	0,5	0,4	0,3	0,4	0,3
6	0,7	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1
7	0,6	0,1	0,2	0,2	0,06	0
8	0,4	0,06	0,13	0,06	0	
9	0,3	0	0,03	0		
10	0,2		0			
11	0,06					
12	0					

En la TABLA N° 6 nos muestra los resultados de los ensayos in vivo, indicando que al tratar a los ratones con el extracto fluido de berro y llantén en una concentración de 60:40 y principalmente de 50:50 se obtuvo excelentes resultados en los cuales su cicatrización se dio en un lapso de 8 y 7 días, debido a la presencia de flavonoides y taninos en cada una de las plantas utilizadas y que al combinarse dan mejores resultados y en menor tiempo. La aplicación del Eterol como la del extracto fluido de berro y llantén en una concentración de 40:60 poseen un efecto similar, actuando como un antiséptico pero no como cicatrizante ya que ambos tardaron 9 días en cerrar la herida completamente en cada grupo experimental. En el caso del tratamiento con alcohol al

50%, sustancia que evita la infección de la herida que actúa como bactericida, los ratones de este grupo tardan 10 días en cerrar totalmente su herida y en el Blanco al no aplicarse ningún tratamiento y al no presentar alguna sustancia que acelere la reepitalización de los tejidos, la cicatrización de la herida de este grupo de ratones tardó 12 días.

## **PRODUCCIÓN Y DESPRENDIMIENTO DE COSTRA**

En el gráfico que se presentan a continuación se colocó en el eje de las abscisas los días que tarda en producir y desprenderse la costra y en el eje de las ordenadas el progreso de formación y desprendimiento diario de la costra en cm.

Para graficar el progreso de la producción de la costra se utilizó una escala que se presenta en la TABLA N° 12 y está relacionada con las medidas en cm., de la apertura de las heridas de cada uno de los grupos experimentales.

**TABLA N° 7 ESCALA REFERENCIAL DE LA PRODUCCIÓN DE LA COSTRA EN cm. DE ACUERDO A LA MEDIDA DE LA APERTURA DE LA HERIDA. ESPOCH. ESPOCH. ENERO 2012**

<b>Medida de la apertura de la herida en cm</b>	<b>Medida de producción de la costra en cm</b>
1,5	0,0
1,4	0,1
1,3	0,2
1,2	0,3
1,1	0,4
1,0	0,5
0,9	0,6
0,8	0,7
0,7	0,8
0,6	0,9
0,5	1,0
0,4	1,1
0,3	1,2
0,2	1,3
0,1	1,4
0,0	1,5

**TABLA Nº 8 ESCALA DE PRODUCCIÓN DE LA COSTRA EN cm. DE ACUERDO AL TRATAMIENTO APLICADO EN CADA GRUPO EXPERIMENTAL. ESPOCH. ENERO 2012**

<b>MEDIDA DE PRODUCCIÓN DE LA COSTRA EN cm</b>						
<b>Días</b>	<b>BLANCO</b>	<b>ALCOHOL AL 50%</b>	<b>ETEROL</b>	<b>BERRO / LLANTEN 40:60</b>	<b>BERRO / LLANTEN 60:40</b>	<b>BERRO / LLANTEN 50:50</b>
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0,1	0,2	0,6	0,3	0,5
3	0,2	0,3	0,4	0,9	0,6	0,8
4	0,5	0,8	0,8	1,1	1,0	1,2
5	0,6	1,1	1,0	1,2	1,1	1,2
6	0,8	1,2	1,2	1,3	1,4	1,4
7	0,9	1,3	1,4	1,3	1,5	1,5
8	1,1	1,4	1,4	1,4	1,5	0,7
9	1,2	1,5	1,5	1,5	1,0	0,3
10	1,4	1,5	1,2	1,1	0,6	0,0
11	1,5	1,3	0,9	0,7	0,2	
12	1,5	0,8	0,5	0,4	0,0	
13	1,2	0,5	0,2	0,2		
14	0,9	0,4	0,0	0,0		
15	0,7	0,1				
16	0,7	0,0				
17	0,4					
18	0,2					
19	0,1					
20	0					

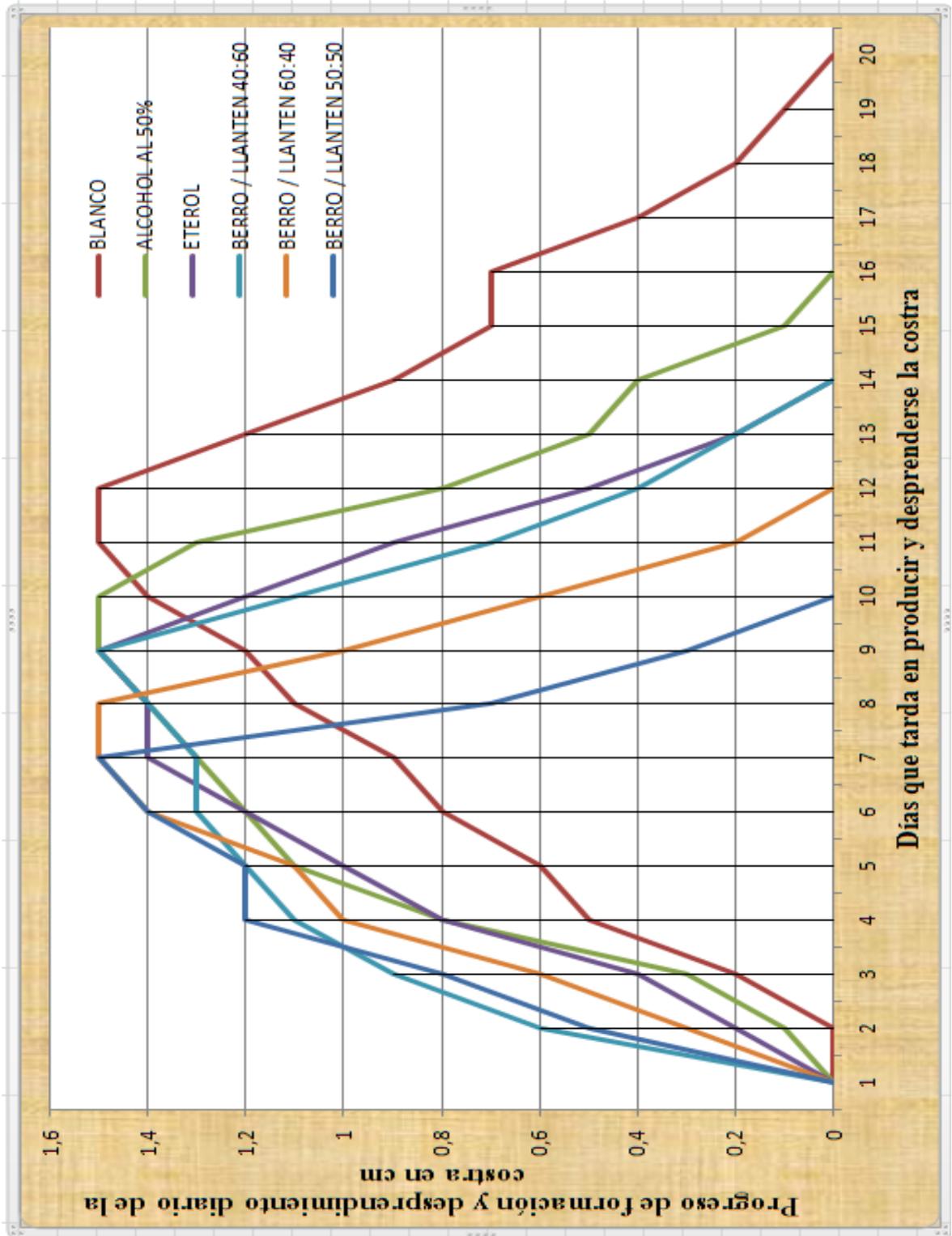


GRÁFICO Nº8. PRODUCCIÓN Y DESPRENDIMIENTO DE LA COSTRA VS AL APLICAR LOS TRATAMIENTOS EN CADA GRUPO EXPERIMENTAL. ESPOCH. ENERO 2012

La producción y desprendimiento de costra que se da con la aplicación de cada tratamiento se muestra en la TABLA N°8 y de forma detallada en el GRÁFICO N°8., indican una vez más que la combinación en una proporción similar 50:50 de las dos plantas (berro y llantén) no solamente son las más eficaces para cicatrizar heridas en menor tiempo por la sinergia de sus compuestos químicos, sino que también acortan el tiempo de caída de la costra regenerando de inmediato una nueva capa de piel, en este caso la formación completa de la costra se dio a los 7 días y su desprendimiento al décimo día.

Al interpretar este gráfico se muestra que los picos representan la formación total de la costra paralelamente al día es decir para el blanco cuya línea es de color rojo y no se aplicó tratamiento se observa que su formación completa de costra termina a los 12 días y su caída a los 20 días, para el Eterol y el extracto fluido de berro y llantén en una concentración de 40:60 su formación completa es de 9 días y su caída a los 14 días, el alcohol al 50% forma una costra completa a los 10 días y se desprende a los 16 días y el extracto fluido en una concentración de 60:40 disminuye el tiempo de cicatrización a 8 días y su desprendimiento al doceavo día.

### **PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN**

**TABLA N°9 PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN DE CADA TRATAMIENTO CON RESPECTO A LA AUSENCIA DE TRATAMIENTO. ESPOCH. FEBRERO 2012**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>DÍAS DE CICATRIZACIÓN</b>	<b>PORCENTAJE DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE CICATRIZACIÓN</b>
BLANCO	12	100
ALCOHOL AL 50%	10	83,3
ETEROL	9	75
EXTRACTO DE BERRO/LLANTÉN 40:60	9	75
EXTRACTO DE BERRO/LLANTÉN 60:40	8	67
EXTRACTO DE BERRO/LLANTÉN 50:50	7	58

De acuerdo a la TABLA N° 9 nos indica que al tomar los resultados del grupo blanco como referencia, a los 12 días de cicatrización en este grupo experimental se expresan como el 100% , observándose que al tratar la herida con alcohol al 50% el tiempo de cicatrización se reduce a un 83.3% , al aplicar el Eterol y el extracto hidroalcohólico de berro y llantén en una proporción de 40:60 el tiempo de cicatrización se reduce a un 75%, mientras que aplicando el extracto hidroalcohólico de berro y llantén en una proporción de 60:40 su reducción del porcentaje de tiempo de cicatrización con respecto al blanco es del 67%, igualmente sucede al aplicar el extracto hidroalcohólico de berro y llantén en una proporción de 50:50 con una reducción del porcentaje del tiempo de cicatrización con respecto el blanco muy notoria siendo del 58% mucho menos que todos los tratamientos anteriores.

## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES

1. Acorde a los resultados obtenidos en el control de calidad de la droga cruda de Berro y Llantén se pudo determinar que existió un correcto manejo durante la cosecha, pos cosecha y almacenamiento de los vegetales, demostrando así que se cumplen especificaciones de calidad para ser utilizada en ésta investigación y por tanto no representar un riesgo para la salud, según se puede ver en el CUADRO N°1 hasta el CUADRO N° 9.
2. En el extracto fluido de Berro y Llantén predominan flavonoides, taninos y otros compuestos como Alcaloides, triterpenos, quinonas, saponinas, Antocianidinas, cumarinas y resinas, en menor cantidad, de acuerdo al Tamizaje fitoquímico realizado sobre dichos extractos, según lo observado en el CUADRO N° 12
3. En el control Microbiológico de los extractos hidroalcohólicos de *Nasturtium officinal* y *Plantago major*, se pudo determinar que los Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales se encuentran dentro de los parámetros de referencia de la AOAC y de la OMS 2007, indicando que dichos extractos poseen óptimas condiciones higiénicas, de acuerdo a lo indicado en el CUADRO N° 13
4. De acuerdo al Análisis Estadístico SPSS aplicado a los resultados finales y a la evaluación mediante observación , se concluye que el extracto fluido de berro y llantén en una proporción de 50:50 y 60:40 poseen actividad cicatrizante efectiva

5. debido a la presencia de taninos del llantén, y flavonoides del berro que al combinarse presentan sinergia , mientras que el Eterol y el alcohol al 50% no poseen efecto cicatrizante sino que actúan simplemente como antibacterianos, Indicando detalladamente en las TABLAS N° 2,3,4 y 5
6. Los extractos aplicados en forma tópica a los grupos experimentales no presentan efectos adversos a nivel cutáneo.
7. Se afirma la Hipótesis planteada, ya que los extractos hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium officinal*) y Llantén (*Plantago major*) poseen actividad cicatrizante en heridas cutáneas menores.

## **CAPÍTULO V**

### **5. RECOMENDACIONES**

1. Utilizar cremas depilatorias para rasurar el dorso del ratón ya que al hacerlo con rasuradoras o cualquier otro instrumento puede causar irritación en la piel de estos animales.
2. Aplicar BPL en el bioterio para el manejo de ratones y evitar contaminación.
3. Probar el efecto cicatrizante de los extractos fluidos en forma individual y realizar otras combinaciones determinando si presentan mejores resultados.
4. Realizar estudios mayores de la planta de Berro debido a que existe escasa información de este vegetal.

## CAPÍTULO VI

### 6. RESUMEN

La presente investigación pretende comprobar la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) y Llantén (*Plantago major*) en ratones de la especie *Mus musculus*, con el fin de proveer productos naturales frente al arraigado uso de fármacos existentes, este estudio se realizó en los laboratorios de fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

La actividad cicatrizante de los extractos fluidos se evaluó a través de la prueba de inducción de una herida en el dorso de 18 ratones (*Mus musculus*) previamente rasurados, de 1.5cm de largo por 2mm de profundidad realizados con un bisturí, para la posterior aplicación de los 6 tratamientos siendo estos: **C (Control +)** = Tratados con Eterol, **D (control)** = Tratados con alcohol al 50%, **X, Y y Z (Dosificaciones)** = Tratados con el extracto fluido de Berro y Llantén en una proporción de dosificación 60:40, 40:60 y 50:50 respectivamente, administrados vía tópica con hisopos estériles y 2 aplicaciones cada día por el lapso de 20 días, supervisando la infección mediante observación.

Los resultados fueron sometidos a un análisis estadístico, para lo cual se aplicó el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) con un intervalo de confianza del 95 %, y se concluyó que el extracto fluido de berro y llantén en una proporción de dosificación 50:50 y 60:40 poseen actividad cicatrizante efectiva en un lapso de 6 a 7 días debido a la presencia de taninos del llantén, y flavonoides del berro que al combinarse presentan sinergia, mientras que el Eterol medicamento patrón, el alcohol al 50% y el extracto fluido de berro y llantén en una proporción de 40:60 no poseen efecto cicatrizante sino que actúan simplemente como antibacterianos, tardándose de 8-10 días en cerrar la herida completamente.

Se concluye que los extractos hidroalcohólicos de Berro (*Nasturtium officinal*) y Llantén (*Plantago major*) poseen actividad cicatrizante en heridas cutáneas menores afirmando la Hipótesis planteada, y estos al ser aplicados en forma tópica a los grupos experimentales no presentan efectos adversos a nivel cutáneo.

Se recomienda elaborar un fitofármaco con la dosificación del tratamiento Z y una forma farmacéutica adecuada para facilitar su almacenamiento y administración.

Probar el efecto cicatrizante de los extractos fluidos en forma individual y realizar otras combinaciones determinando si presentan mejores resultados.

## ABSTRACT

This research aims to verify the healing activity of hydroalcoholic extracts of watercress (*Nasturtium officinale*) and plantain (*Plantago major*) in mice of the species *Mus musculus*, to provide natural products against the entrenched use of existing drugs, this study done in the laboratories of phytochemistry of the Faculty of Sciences ESPOCH. The healing activity of the fluid extracts was evaluated by testing induction of a wound in the back of 18 mice (*Mus musculus*) previously shaved, 1.5 cm long and 2mm deep made with a scalpel. for subsequent application 6 treatments of these being: C (Control+) = Treated Eterol, D (control) = Treated with 50% alcohol X, Y and Z (dosages) = Treated with fluid extract of watercress and Plantain in a proportion dosing 60:40, 40:60 and 50:50 respectively, administered topically with sterile swabs and 2 applications every day for a period of 20 days. monitoring the infection by observation.

The results were subjected to statistical analysis, which was applied to the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) with a confidence interval of 95%, and concluded that the fluid extract of watercress and plantain in a dosage rate 50:50 and 60:40 have effective healing activity within 6 to 7 days due to the presence of tannins plantain and watercress when combined, while the Eterol standard drug, alcohol 50% and the fluid extract, watercress and plantain in a ratio of 40:60 not possess healing effect but act simply as antibacterial delaying 8 to 10 days to close the wound completely. It is concluded that hydroalcoholic extracts of watercress (*Nasturtium officinale*) and plantain (*Plantago major*) have wound healing activity in minor skin affirming the hypothesis. and these when applied topically to the experimental groups, no adverse effects on the skin.

It recommends developing and using the medicine treatment dosing Z and a suitable dosage form for ease of storage and administration.

Try the healing effect of the fluid extracts individually and perform other combinations determining the best performers.

## CAPÍTULO VII

### 7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALONSO., J.**, Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos., Buenos Aires-Argentina., s.edt; 2004., Pp. 218 – 220, 684 - 689
2. **ARIAS., J.**, y otros., Fisiopatología Quirúrgica., Traumatismos, Infecciones, Tumores. s.ed; Publico. 2000., P.p. 121-122
3. **BLANCO., B.**, **GARRO., A.**, Y **SABORIO., G.**, Descripción Anatómica, Propiedades Medicinales y Uso Potencial de *Plantajo mayor* (Llantén mayor). México D.F-Mexico; s.edt., 2008 P.p. 17-24
4. **DIKES., Y AMERERALLY.,** Lo esencial en Anatomía., 2da ed., Madrid-España., Elsevier., 2005., p.6
5. **DOMINGUEZ, M.**, **GALIANA, J.A.**, Y **PÉREZ, F.**, Manual de Cirugía Menor., Madrid-España., Arán. 2002., P.p.31, 35-36)
6. **GUILLAMET., A.**, **HERNANDEZ, J.M.**, Enfermería Quirúrgica., Planes de cuidados., Barcelona-España., Springer., 2000., P.p. 126-127.
7. **HASEGAWA, M.**, **MARCANO, D.** Fitoquímica Orgánica. 2da.ed., Caracas-Venezuela., Torino. 2002., p.138
8. **HERNANDEZ, R.**, **GALLY, M.** Plantas medicinales. s.ed. Sta.Cruz Atoyac-Mexico., Árbol., 1981., p. 36.

9. **HOOGESTEGER., C.,** Uso de plantas medicinales., s.ed. México D.F-México., Árbol., 1994., P.p. 19-22
10. **KOHLER, P.,** El poder curativo del ginkgo salud natural desde los pies a la cabeza. s. ed. Buenos Aires-Argentina., Sirio., 1999., P.p. 60-61-67-69
11. **LANDIVAR., J., LANDIVAR, E. Y PRIETO., M.,** Historia de la medicina guía de clases., s.ed., s.edt., 2004., p. 51.
12. **LEWIS., S., HEITKEMPER, M. Y RUFF, S.,** Enfermería Medico Quirúrgica Valoración y cuidados de problemas clínicos., 6ta. ed., Madrid-España. Elsevier., 2004., P.p. 219-221.
13. **LIFCHITZ., A.,** Plantas medicinales guía práctica de Botánica Universal., Buenos Aires-Argentina., Kier. 2006., p.47
14. **MENDIVE., F.,** El Poder Curativo de las plantas Transformado en Medicina., s.edt., Lima-Perú., P.p. 2-4.
15. **MUÑOZ., F.,** Plantas Medicinales y Aromáticas., Estudio cultivo y procesado., Mundi-Prensa., Madrid-España., 2002., p. 22
16. **NETZER., C.T. E.,** El gran libro de las Curas Milagrosas., 6ta.ed., Madrid-España., Edaf., 2008., P.p. 133-135
17. **ORTIZ., A.,** Patología dual., Barcelona-España., Masson., 2010., p.4.
18. **PATÍÑO., J.F.** Lecciones de Cirugía., s.ed. Bogotá-Colombia., Panamericana., 2000., p.101.
19. **PEÑA., A.,** Atlas de Dermatología del Pie., s.ed. Buenos Aires-Argentina., Panamericana., 2007., p.208.

- 20. SERRANO., V.,** Ciencia Andina., 2da.ed., Quito-Ecuador., Abya Yala., 1995., Pp. 185-186.
- 21. SHARAPIN., N.,** Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéutico., Santafé de Bogotá-Colombia., Cytel., 2000., p.17.
- 22. TORRES., L., TAPIA M., Y AGUILAR A.,** Plantas Medicinales de la Medicina Tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales., Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico., s.ed. Barcelona-España., Masson., 2005., P.p. 16-18.
- 23. VANACLOCHA., B., CAÑIGUERAL., S.,** Fitoterapia Vademécum de Prescripción., 4ta. ed., Barcelona-España., Masson., 2003., p. 33.
- 24. VIVAR., A.R.,** Química de la Flora Mexicana., Mexico D.F-Mexico. CV., P.p. 63-70.
- 25. WAGNER, H. Y BLADT, S.** Plant Drug Analysis: Saponin Drugs., 2a.ed., Germany-Germany., s.edt., 1996., p. 88
- 26. ALVARADO V., NAKATA H.,** Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major*, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica., Artículo Original., Odontología Sanmarquina., Germany-Germany 2010 P.p. 21-25.
- 27. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION (NTE: INEN) .,** Fitoterápico Droga Cruda Especificaciones Generales., Quito-Ecuador: INEN., 1999., P.p. 6-12
- 28. GONZALES E., JIMENEZ D.,** Estandarización de un modelo biológico in

vivo para la detección de actividad cicatrizante de extractos vegetales.,  
Universidad Mayor de San Andres., Facultad de Ciencias Farmacia y  
Bioquímica, La Paz- Bolivia., Instituto de investigaciones Farmacia-  
Bioquímicas., 2001., P.p.19-22

**29. ARIAS, M.D.**, Caracterización físico-química y sensorial de nabiza y grelo  
(*Brassica rapa*)., Universidad de Santiago de Compostela., Facultad de  
Farmacia., Santiago de Compostela-España; Tesis de Doctorado en  
Farmacia., 2009., Pp. 124-125

**30. GRACIA M.**, Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos  
naturales., Universidad Autónoma de Querétaro., Escuela de  
Bioquímica y Farmacia., Querétaro-México., Tesis de Bioquímica y  
Farmacia., Pandomi., 2012., P.p.1-4

**31. RAMIREZ.,,** Efectividad del *Plántago Major* (Llantén) en la  
cicatrización de heridas tórpidas., Universidad Nacional de Lima.,  
Escuela de Farmacia., Lima-Perú., Tesis de Farmacia., Essalud., 1998.,  
Pp. 23-25

**32. SABAD V.,et al.**, Formulación de un Fitomedicamento con actividad  
gastroprotectora a partir del extracto de Llantén., Universidad Mayor de  
San Simón Cochabamba., Escuela de Bioquímica y Farmacia.,  
Cochabamba-Bolivia., Tesis de Bioquímicos Farmaceuticos., Árbol., p.  
25

**33. SANTAMARIA., A.**, Estudio experimental en ratas sobre la cicatrización,  
Universidad de Navarra., Escuela de Medicina., Navarra-España., Tesis  
de Medico General., 1994.

**34. ARTICULOS DE CIRUGIA PARA MEDICOS Y PACIENTES., Fisiología de la cicatrización.,**

[http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos/1/fisiologia de la cicatricacion.htm](http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos/1/fisiologia_de_la_cicatricacion.htm)

2011/09/22

**35. BERRO (*Nasturtium officinale*)**

<http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/berros-nasturtium-officinale.htm>

2011/09/22

**36. CARACTERÍSTICAS DE LOS TANINOS**

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

2011/09/23

**37. CASTELLANO, P.M. Control de Calidad en la Industria Farmacéutica.**

Universidad Nacional de Rosaring. pp. 7-9

[http://www.fbioyf.unr.edu.ar/rrii/varios/pdf2010sharapin/sharapin2010\\_castellano.pdf](http://www.fbioyf.unr.edu.ar/rrii/varios/pdf2010sharapin/sharapin2010_castellano.pdf)

2011/09/23

**38. CICATRIZACIÓN**

<http://es.wikipedia.org/wiki/Cicatrizaci%C3%B3n>

2011/09/25

**39. CICATRIZACIÓN Y CICATRICES**

[http://www.tuimagenpersonal.com/contenidos/cirugia plastica/articulos/cicatrices.php](http://www.tuimagenpersonal.com/contenidos/cirugia_plastica/articulos/cicatrices.php)

2011/09/25

#### **40. COMPLICACIONES DE LA HERIDA (CICATRIZACION)**

[http://ar.geocities.com/anatomia\\_basica](http://ar.geocities.com/anatomia_basica)

2011/09/23

#### **41. FACTORES QUE MODIFICAN LA CICATRIZACIÓN**

<http://es.scribd.com/doc/50566826/Factores-que-modifican-la-cicatrizacion>

2011/09/23

#### **42. FITOTERAPIA**

<http://www.zonadiet.com/salud/fitoterapia.htm>

2011/09/21

#### **43. FLAVONOIDES DERIVADOS VEGETALES ALIADOS DE LA SALUD**

[http://www.clinicoonline.com.ar/default.asp?pagina=publico/dieta/art\\_004.asp](http://www.clinicoonline.com.ar/default.asp?pagina=publico/dieta/art_004.asp)

2011/09/24

#### **44. FLAVONOIDES Y SUS ACCIONES ANTIOXIDANTES**

<http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no52-2/RFM052000207.pdf>

2011/09/24

#### **45. HORTICOM News - Periódico digital sobre la industria y el comercio**

hortícola:

<http://www.horticom.com/pd/article.php?sid=64019>

2012/02/29

#### **46. NOTAS SOBRE EL LLANTEN Y CANCER ., LAS INTERESANTES CUALIDADES DE LOS PLANTAJOS.**

<http://www.rochade.cl/?p=132>

2011/09/29

**47. pH EN NUESTRA VIDA.** Portal Educando

<http://www.educando.edu.do/articulos/estudiante/el-ph-en-nuestra-vida/>

2010/02/29

**48. PLANTAS MEDICINALES , FITOFÁRMACOS Y**

**FITOMED/ICAMENTOS: HACIA UNA FITOMEDICINA  
(FITOTERAPIA MODERNA Y RACIONAL, BASADA EN LA  
EVIDENCIA CIENTÍFICA)**

<http://www.sochifito.cl/files/publicacion/Plantas%20Medicinales,%20Fitofarmacos%20y%20Fitomedicamentos.pdf>

2011/09/21

**49. PLANTAS MEDICINALES: FITOTERAPIA**

<http://www.elergonomista.com/fitoterapia/definiciones.htm>

2011/09/21

**50. POLLAK, E. A.** La medicina tradicional venezolana. 1era. ed. Montalbán.

UCAB. 2001. p.7

**51. PRIMEROS AUXILIOS. Heridas.**

<http://www.salohogar.com/ciencias/salud/primerosaux/heridas.htm>

2011/09/25

**52. PROPIEDADES DE LOS BERROS**

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

2011/09/22

**53. PROPIEDADES DEL LLANTEN**

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

2011/09/22

**54. PROPIEDADES DE LOS TANINOS. NATURALEZA EDUCATIVA,**

Portal educativo de ciencias naturales y aplicadas

[http://www.natureduca.com/med\\_sustanc\\_taninos.php](http://www.natureduca.com/med_sustanc_taninos.php)

2012/02/29

**55. QUERCETINA**

Natural Standard Monografía ([www.naturalstandard.com](http://www.naturalstandard.com))

<http://holadoctor.com/es/hierbas-y-suplementos-a-z/quercetina>

2012/02/29

**56. USO INDUSTRIAL DE PLANTAS AROMATICAS Y MEDICINALES**

<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>

2011/09/27

## CAPÍTULO VIII

### 8. ANEXOS

**ANEXO N°1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN LAS DROGAS CRUDAS DE BERRO (*Nasturtium officinal*). Y LLANTÉN (*Plantago major*)**



**FOTOGRAFÍA N°5. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD DE LAS DROGAS CRUDAS COMO MATERIA PRIMA APLICANDO EL MÉTODO GRAVIMÉTRICO. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH.**

**ANEXO N°2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN LAS DROGAS CRUDAS DE BERRO (*Nasturtium officinal*) Y LLANTÉN). (*Plantago major*)**



**FOTOGRAFÍA N°6. DETERMINACIÓN DE CENIZAS EN BERRO Y LLANTÉN COMO MATERIA PRIMA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH**

**ANEXO N°3. IDENTIFICACIÓN COMPUESTO QUIMICO REPRESENTATIVO.**



**FOTOGRAFÍA N°7. APLICACIÓN DEL CONCENTRADO DE BERRO Y LLANTÉN EN LA PLACA CROMATOGRÁFICA Y RECORRIDO DE LA FASE MÓVL.LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH.**

**ANEXO N°4. EVAPORACIÓN DEL CONTENIDO DE ALCOHOL DE LOS EXTRACTOS HIDROALCÓHOLICOS DE BERRO (*Nasturtium officinal*). Y LLANTÉN (*Plantago major*)**



**FOTOGRAFÍA N°8. EVAPORACIÓN DEL CONTENIDO DE ALCOHOL DE LOS EXTRACTOS MEDANTE LA UTILIZACIÓN DEL ROTAVAPOR. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH.**

**ANEXO N°5. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO  
(*Nasturtium officinal*). Y LLANTÉN (*Plantago major*)**



**FOTOGRAFÍA N°9. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS MEDIANTE: EL ÍNDICE DE  
REFRACCIÓN (Método de Abbe), pH Y DENSIDAD RELATIVA.**

**ANEXO Nº6. CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BERRO (Nasturtium officinal) REALIZADO EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS TÉCNICOS ÁREA DE MICROBIOLOGÍA.**

		<b>ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO</b> <b>FACULTAD DE CIENCIAS</b> <b>LABORATORIO DE ANALISIS TECNICOS</b> <b>AREA DE MICROBIOLOGIA</b> Panamericana Sur Km 1 ½ Tel/Fax 03-2960591	
<b>EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTO 007-12</b>			
Solicitado por: Karina Redroban			
Dirección: Alvarado y Argentinos . Riobamba.		Teléfono: 2951170	
Tipo de muestra: Extracto hidroalcoholico de berro			
Marca: NA		Lote:	
Fecha de Recepción: 16 de Enero de 2012		Código: 007-12	
<b>01 EXAMEN FISICO</b>			
Color: pardo		Olor: Herbal característico, normal	
Aspecto: liquido, normal.			
<b>02 DETERMINACIONES</b>	<b>METODO USADO Y CONDICIONES DE INCUBACION</b>	<b>VALORES DE REFERENCIA *</b>	<b>VALORES ENCONTRADOS</b>
Determinación del número de Microorganismos Aerobios Mesófilos UFC/mL.	Método AOAC ( 990.12 Recuento de aerobios en alimentos, film seco rehidratable) 35±1 °C / 48 horas ±3h	10 <sup>5</sup>	4x10 <sup>2</sup>
Determinación de Microorganismos Coliformes totales ufc/mL	Método AOAC (998.08 Recuento de coliformes totales, film seco rehidratable) 35±1 °C / 24±2h	10	<1
*Concentración máxima para Other herbal materials for internal use. WHO Guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. OMS 2007			
<b>03 OBSERVACIONES:</b>			
<b>FECHA DE ANÁLISIS</b>			
Inicio	Final	 Maritza Yanez Navarrete Tecnica de Laboratorio	
16/01/12	18/01/12		
			
NOTA: El informe solo afecta a la muestra solicitada a ensayo. El informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización del laboratorio.			

**ANEXO N°7. CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LLANTÉN  
(*Plantago major*) REALIZADO EN EL LABORATORIO DE ANÁLISIS TÉCNICOS ÁREA  
DE MICROBIOLOGÍA.**

		<b>ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO</b> <b>FACULTAD DE CIENCIAS</b> <b>LABORATORIO DE ANALISIS TECNICOS</b> <b>AREA DE MICROBIOLOGIA</b> Panamericana Sur Km 1 ½ Tel/Fax 03-2960591	
<b>EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTO 008-12</b>			
Solicitado por: Karina Redroban			
Dirección: Alvarado y Argentinos . Riobamba.		Teléfono: 2951170	
Tipo de muestra: Extracto hidroalcoholico de Llanten			
Marca: NA		Lote: NA	
Fecha de Recepción: 16 de Enero de 2012		Código: 008-12	
<b>01 EXAMEN FISICO</b>			
Color: pardo		Olor: Herbal característico, normal	
Aspecto: liquido, normal.			
<b>02 DETERMINACIONES</b>	<b>METODO USADO Y CONDICIONES DE INCUBACION</b>	<b>VALORES DE REFERENCIA *</b>	<b>VALORES ENCONTRADOS</b>
Determinación del número de Microorganismos Aerobios Mesófilos UFC/mL	Método AOAC ( 990.12 Recuento de aerobios en alimentos, film seco rehidratable) 35±1 °C / 48 horas ±3h	10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>3</sup>
Determinación de Microorganismos Coliformes totales ufc/mL	Método AOAC (998.08 Recuento de coliformes totales, film seco rehidratable) 35±1 °C / 24±2h	10	4
*Concentración máxima para Other herbal materials for internal use. WHO Guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. OMS 2007.			
<b>03 OBSERVACIONES:</b>			
<b>FECHA DE ANÁLISIS</b>			
Inicio	Final	 Maritza Yanez Navarrete Tecnica de Laboratorio	
16/01/12	18/01/12		
			
NOTA: El informe solo afecta a la muestra solicitada a ensayo. El informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización del laboratorio.			

**ANEXO Nº8. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE LOS EXTRACTOS  
HIDROALCOHÓLICOS DE BERRO Y LLANTÉN EN RATONES (*Mus musculus*)**



**FOTOGRAFÍA Nº10. ACLIMATACIÓN DE LOS RATONES PREVIA LA APLICACIÓN DE LOS  
TRATAMIENTOS EN CADA GRUPO EXPERIMENTAL. BIOTERIO. ESPOCH.**



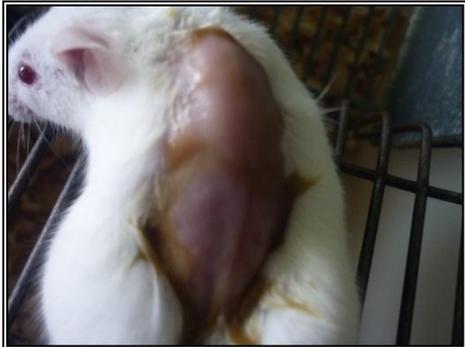
**FOTOGRAFÍA Nº11. DEPILADO DE LOS RATONES CON CREMA DEPILATORIA. PREVIA LA  
APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN CADA GRUPO EXPERIMENTAL.  
BIOTERIO. ESPOCH.**



**FOTOGRAFÍA Nº12. INDUCCIÓN DE LA HERIDA EN EL DORSO DE LOS RATONES CON BISTURÍ. BIOTERIO. ESPOCH.**



**FOTOGRAFÍA Nº13. APLICACIÓN DE ALCOHOL AL 50% Y ETEROL EN LA HERIDA DE LOS RATONES. BIOTERIO. ESPOCH.**



**FOTOGRAFÍA Nº14. APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS EN UNA PROPORCIÓN DE BERRO/LLANTÉN 40:60, 60:40 Y 50:50 EN LA HERIDA DE LOS RATONES. BIOTERIO. ESPOCH.**



**FOTOGRAFÍA Nº15. MEDICIÓN DIÁRIA DE LA CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS Y PRODUCCIÓN DE COSTRA EN LOS RATONES CON LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN CADA GRUPO EXPERIMENTAL. BIOTERIO. ESPOCH.**



**FOTOGRAFÍA Nº16. CICATRIZACIÓN DE LA HERIDA A LOS 6 DÍAS DE APLICACIÓN CON CADA TRATAMIENTO. BIOTERIO. ESPOCH.**