



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“COMPROBACION DEL EFECTO LAXANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO
DE RAICES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*) EN RATONES
(*Mus musculus*)”.**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICA FARMACEÚTICA

PRESENTADO POR

LAURA PAULINA MOYANO NARANJO

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

Este trabajo fruto de perseverancia y sacrificio se lo dedico en primer lugar a Dios, ejemplo de vida y amor.

A mis padres: Laurita y Heriberto ejes de mi vida e inspiración de mis ideales, quiénes con su apoyo y amor incondicional guían mi camino y me ayudan a consolidar mis metas anheladas.

A mis hermanos: Carlitos, Lucy y Cristian por estar a mi lado siempre, en los buenos y malos momentos de mi vida.

A mis sobrinos: Vivi, Carlita, Rafa y Jean Pierre porque los quiero como mis hijos.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo el mejor templo del saber. A la Escuela de Bioquímica y Farmacia, que forjó mis conocimientos y sembró las bases que ahora son de mucha ayuda en mi desenvolvimiento profesional.

Al Director de esta tesis Dr. Oswaldo Duque y colaborador BQF. Fausto Contero gracias por sus enseñanzas, paciencia y colaboración en la realización de este trabajo.

A la Líder del servicio de farmacia del Hospital Pediátrico “Baca Ortiz”, Dra. Elsy Durán por darme la oportunidad de crecer profesionalmente adquiriendo experiencia y por facilitarme el camino para poder culminar con mis estudios.

A mis amigas y amigos que no menciono porque la lista es larga. Gracias infinitas por los buenos momentos y la ayuda prestada cuando he necesitado.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**COMPROBACION DEL EFECTO LAXANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE RAICES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*) EN RATONES (*Mus musculus*)**”, de responsabilidad de la señorita egresada Laura Paulina Moyano Naranjo ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez
DECANO FAC. CIENCIAS

Dr. Iván Ramos
DIRECTOR DE ESCUELA

Dr. Oswaldo Duque
DIRECTOR DE TESIS

B.Q.F. Fausto Contero
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Tc. Carlos Rodríguez
DIRECTOR CENTRO
DE DOCUMENTACIÓN

NOTA DE TESIS

Yo, **Laura Paulina Moyano Naranjo**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

LAURA PAULINA MOYANO NARANJO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza
HSD	Diferencia Estadísticamente Significativa
M	Molar
Ac.	Acido
DL ₅₀	Dosis letal media
°C	Grados Celsius
g	Gramo
Kg	Kilogramo
L	Litro
m	Metro
mg	Miligramo
min	Minuto
ml	mililitro
DL	Dosis Letal
R	Radical
Rf	Factor de retención
conc	Concentrado
cm	Centímetro
ug	Microgramo

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	
ÍNDICE DE CUADROS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE GRÁFICOS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
INTRODUCCIÓN	

CAPÍTULO I

1	Marco teórico.....	1
1.1	Estreñimiento o constipación.....	1
1.1.1	Definición.....	1
1.1.2	Causas del estreñimiento.....	2
1.1.3	Consecuencias del estreñimiento.....	3
1.1.4	Medidas preventivas.....	4
1.1.4.1	Medidas generales de educación sanitaria.....	4
1.1.4.2	Normas alimentarias y dietéticas.....	4
1.1.5	Depurativos o laxantes.....	6
1.1.6	Tipos de laxantes por vía de administración.....	6
1.1.6.1	Laxantes por vía oral.....	6
1.1.6.2	Laxantes por vía rectal.....	8
1.2	Taraxaco.....	9
1.2.1	Historia y origen.....	10
1.2.2	Morfología.....	10
1.2.3	Propiedades biológicas.....	11
1.2.4	Composición química.....	12
1.2.5	Beneficios del diente de león.....	13
1.3	Inulina.....	14
1.3.1	La inulina y sus beneficios a la salud.....	15
1.4	Ratones de laboratorio.....	16
1.4.1	Características.....	16
1.4.2	Toxicidad aguda en ratones.....	17
1.4.3	Evaluación de toxicidad aguda.....	17

CAPÍTULO II

2	Parte experimental.....	19
2.1	Lugar de la investigación.....	19
2.2	Materiales, equipos y reactivos.....	19
2.2.1	Material vegetal.....	19
2.2.2	Material biológico.....	19
2.2.3	Materiales de laboratorio.....	19
2.2.4	Equipos.....	20
2.2.5	Reactivos.....	20
2.3	Técnicas y Métodos.....	21

2.3.1	Control de calidad droga cruda.....	21
2.3.1.1	Determinación del contenido de humedad.....	21
2.3.1.2	Determinación de cenizas.....	22
2.3.1.2.1	Determinación de cenizas totales.....	22
2.3.1.2.2	Determinación de cenizas solubles en agua.....	23
2.3.1.2.3	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.....	24
2.3.2	Control de calidad del extracto alcohólico.....	25
2.3.2.1	Determinación de requisitos organolépticos del extracto alcohólico.....	25
2.3.2.2	Determinación del pH.....	25
2.3.2.3	Determinación del índice de refracción.....	26
2.3.2.4	Determinación de la densidad relativa.....	26
2.3.2.5	Determinación de sólidos totales.....	27
2.3.3	Tamizaje fitoquímico.....	28
2.3.3.1	Ensayo de Dragendorff.....	30
2.3.3.2	Ensayo de Mayer.....	30
2.3.3.3	Ensayo de Wagner.....	30
2.3.3.4	Ensayo de Liebermann-Burchard.....	30
2.3.3.5	Ensayo de Sudán.....	31
2.3.3.6	Ensayo de Baljet.....	31
2.3.3.7	Ensayo de Borntrager.....	32
2.3.3.8	Ensayo de resinas.....	32
2.3.3.9	Ensayo del cloruro férrico.....	32
2.3.3.10	Ensayo de catequinas.....	33
2.3.3.11	Ensayo de antocianidinas.....	33
2.3.3.12	Ensayo de la espuma.....	33
2.3.3.13	Ensayo de Shinoda.....	33
2.3.3.14	Ensayo de Fehling.....	34
2.3.3.15	Ensayo de Kedde.....	34
2.3.3.16	Ensayo de mucílagos.....	34
2.3.3.17	Ensayo de ninhidrina.....	34
2.3.3.18	Ensayo de principios amargos.....	35
2.3.4	Preparación del extracto alcohólico de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	35
2.3.5	Comprobación del efecto laxante del extracto etanólico de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	35
2.3.5.1	Animales de experimentación.....	35
2.3.6	Administración a animales de experimentación.....	36
CAPÍTULO III		
3	Resultados y discusión.....	38
3.1	Control de calidad droga cruda.....	38
3.1.1	Determinación de humedad.....	38
3.1.2	Determinación de cenizas.....	39
3.2	Control de calidad del extracto alcohólico de la droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	41
3.2.1	Determinación de requisitos organolépticos del extracto alcohólico.....	41
3.2.2	Determinación de los parámetros físicos del extracto alcohólico.....	42
3.2.3	Tamizaje fitoquímico.....	43

3.2.4	Análisis cromatográfico de la presencia de inulina mediante HPTLC	45
3.3	Pérdida de peso en los animales de experimentación durante el ensayo de actividad laxante.....	47
3.4	Actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	52
3.5	Análisis descriptivo de frecuencia de las evacuaciones.....	56
3.6	Protocolo histopatológico a ratones que se les administro extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	58
CAPÍTULO IV		
4.	Conclusiones.....	60
CAPÍTULO V		
5.	Recomendaciones.....	62
CAPÍTULO VI		
6.	Resumen y summary.....	63
CAPÍTULO VII		
7.	Bibliografía.....	66
CAPÍTULO VIII		
8.	Anexos.....	70

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1	Resultados de la determinación de la humedad de la droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	38
CUADRO N° 2	Resultados de la determinación de cenizas totales de la droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	39
CUADRO N° 3	Resultados de la determinación de cenizas solubles en agua de la droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	40
CUADRO N° 4	Resultados de la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico de la droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	40
CUADRO N° 5	Resultados de la determinación organoléptica del extracto alcohólico de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	41
CUADRO N° 6	Resultados de la determinación de los parámetros físicos del extracto alcohólico de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	42
CUADRO N° 7	Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	43
CUADRO N° 8	Resultados de la determinación de inulina en la muestra de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	46
CUADRO N° 9	Resultados pérdida de peso en los animales de experimentación durante el ensayo de actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	47

CUADRO N° 10	Análisis estadístico de los datos pérdida de peso en los animales de experimentación durante el ensayo de actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	49
CUADRO N° 11	Pérdida de peso en los animales de experimentación durante el ensayo de actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Anova un factor comparaciones múltiples. Método: Tukey hsd al 95.00%. Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	51
CUADRO N° 12	Resultados actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	52
CUADRO N° 13	Análisis estadístico actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	53
CUADRO N° 14	Actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Anova un factor comparaciones múltiples. Método: Tukey hsd al 95.00%. Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	55
CUADRO N° 15	Resultados de evacuaciones por efecto de la actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	57
CUADRO N° 16	Resultados del examen histopatológico después de un ensayo de toxicidad aguda con extracto de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). 100%.....	59
CUADRO N° 17	Datos de pérdida de peso en los animales de experimentación durante el ensayo de actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	73
CUADRO N° 18	Datos de actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>). Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Noviembre del 2012.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1	Composición química del diente de león.....	13
TABLA N° 2	Descripción del diseño experimental.....	37

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1	Espectro completo cromatografía en HPTLC de la muestra de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).	46
GRÁFICO N° 2	Concentración resultados pérdida de peso en los animales de experimentación durante el ensayo de actividad laxante.....	48
GRÁFICO N° 3	Cajas de medias y desviación de los datos pérdida de peso en los animales de experimentación durante el ensayo de actividad laxante.....	50
GRÁFICO N° 4	Actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	53
GRÁFICO N° 5	Cajas de medias y desviación de actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	55
GRÁFICO N° 6	Frecuencia de evacuaciones por efecto de la actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1	Taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	9
FIGURA N° 2	Estructura química de la inulina.....	14
FIGURA N° 3	Ratón (<i>Mus musculus</i>).....	16
FIGURA N° 4	Tamizaje Fitoquímico.....	28
FIGURA N° 5	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto de éter etílico.....	29
FIGURA N° 6	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico.....	29
FIGURA N° 7	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso.....	29

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1	Planta de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	70
FOTOGRAFÍA N° 2	Balanza Analítica.....	70
FOTOGRAFÍA N° 3	Estufa.....	71
FOTOGRAFÍA N° 4	Mufla.....	71
FOTOGRAFÍA N° 5	Desecador.....	71
FOTOGRAFÍA N° 6	pH-metro.....	71
FOTOGRAFÍA N° 7	Refractómetro.....	72
FOTOGRAFÍA N° 8	Inducción de extracto de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	72
FOTOGRAFÍA N° 9	Disecación de ratones (<i>Mus musculus</i>) después de tratamiento.....	72

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1	Materia prima.....	70
ANEXO N° 2	Equipos usados en el control de calidad de la materia prima.....	70
ANEXO N° 3	Equipos usados en el control de calidad del extracto alcohólico.....	71
ANEXO N° 4	Actividad laxante en ratones (<i>mus musculus</i>).....	72
ANEXO N° 5	Base de datos actividad laxante del extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	73
ANEXO N° 6	análisis cromatográfico de la presencia de inulina mediante HPTLC	75
ANEXO N° 7	certificación del análisis cromatográfico de la presencia de inulina mediante HPTLC.....	82
ANEXO N° 8	Protocolo histopatológico a ratones que se les administro extracto de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (<i>Taraxacum officinale</i>).....	83

INTRODUCCIÓN

La historia del tratamiento de la constipación es larga y complicada. En el siglo XVI, Thomas Fayre habló de la constipación como una *detención del vientre*; Walter Harris, en 1742, señaló un concepto erróneo que, lamentablemente, persiste hasta ahora: que los niños constipados se autoenvenenan por el hecho de retener las heces y que, por tanto, se debe conseguir la expulsión de éstas de cualquier modo, ya sea *por la naturaleza o por el arte*.
(1)

Hoy en día, el estreñimiento es una de las molestias gastrointestinales más comunes hasta el punto que los laxantes ocupan uno de los primeros puestos de ventas de las industrias farmacéuticas. Pero a pesar de la magnitud de este problema todavía no es fácil llegar a un acuerdo sobre lo que se considera estreñimiento. Los médicos tienden a definirlo según la frecuencia de las evacuaciones, que es un aspecto sencillo de cuantificar. Pero, también se puede definir como dolor durante el paso de las heces, heces duras o necesidad de esforzarse para evacuar.

El estreñimiento está relacionado con problemas de vesícula, de corazón, venas varicosas, apendicitis, hemorroides, hernia de hiato, artritis, divertículos y cáncer de colon. Las heces que se retienen en el colon liberan toxinas en el organismo causando una autointoxicación que puede producir síntomas tan variados como dolores de cabeza, fatiga o falta de concentración. (2)

Al realizarse un Consenso Latinoamericano de Estreñimiento Crónico se concluyó que el estreñimiento crónico tiene una prevalencia estimada del 5-21% en la región, con una relación mujer: varón de 3:1. El 75% de los sujetos que lo presenta utiliza algún tipo de medicamentos y más del 50% usa medicamentos caseros. El uso de medicamentos es un parámetro importante.

Los estudios de participación del mercado en unidades vendidas en diversos países de Latinoamérica, como Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, México, Perú, Venezuela y otros del área centroamericana, han determinado que hasta un 75% de las personas con estreñimiento toma algún producto para aliviar esta afección, de los cuales el 38% utiliza fibra o agentes formadores de bolo, el 59% laxantes estimulantes y/o irritantes, el 2% tegaserod, el 1% antiespasmódicos y aproximadamente el 0,18% otros procinéticos . El 20% toma tratamientos por prescripción médica, el 53% remedios caseros y el 27% se automedican. Además, el consumo «oculto» de laxantes, como infusiones con senna, taraxaco, aceite de ricino, es relevante en nuestra población. (3)

Al Taraxaco o popularmente conocido como Diente de León, se le atribuyen varias bondades, una de ellas es el efecto laxante, es así que el Dr. José María Gimeno Gasca en la revista Medicina Naturista señala que los principios activos del taraxaco se encuentran principalmente en las hojas y las raíces, además afirma que es un laxante osmótico suave. (4)

La farmacéutica María Tránsito López Luengo en el capítulo de “Plantas de acción laxante en el tratamiento del estreñimiento primario” del libro Fitoterapia expone que el Taraxaco está indicado para el tratamiento de diferentes trastornos digestivos, como el estreñimiento. (5)

En España la Farmacia Victoria Caro, ofrece el Diente de León seco y promociona a este producto como Laxante, este efecto se manifiesta después de las 24 horas de su administración. Los polisacáridos presentan una gran capacidad para captar el agua, formando un gel viscoso y voluminoso que incrementa el volumen de las heces, que además permanecen blandas, promueve el peristaltismo y le confiere el efecto laxante mecánico. Este efecto puede ser potenciado en parte por las lactonas sesquiterpénicas, que presentan ciertos efectos estimulantes del peristaltismo intestinal. (6)

En nuestro entorno contamos con vegetales de uso común que son de fácil alcance, uno de los más destacados es el taraxaco *Taraxacum officinale*.

El presente trabajo aborda el estudio de este vegetal que se llevó a cabo con los siguientes objetivos:

- Comprobar el efecto laxante del extracto etanólico de raíces y hojas del taraxaco (*Taraxacum officinale*). en ratones (*Mus musculus*).
- Dosificar la cantidad de extracto etanólico,
- Determinar los efectos colaterales
- Evaluar el posible efecto neurotóxico y hepatológico del extracto etanólico de raíces y hojas del taraxaco (*Taraxacum officinale*).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEORICO

1.1. ESTREÑIMIENTO O CONSTIPACIÓN

1.1.1. DEFINICIÓN

El estreñimiento es una alteración intestinal que se caracteriza por una dificultad para evacuar las heces, ya sea por el volumen acumulado o por la consistencia de las mismas. Se define con mayor precisión como la expulsión de menos de 35 g de materia fecal por día. En el ambiente clínico, la definición más práctica es la expulsión de menos de tres defecaciones por semana o la sensación de evacuación incompleta, o ambas eventualidades. (7)

Puede presentarse a cualquier edad, desde el nacimiento hasta la ancianidad, pero es más frecuente en mujeres que en hombres, y en adultos que en niños. (8)

En los niños porque la infancia es una etapa en la que se acostumbran a ingerir golosinas y azúcares que favorecen la retención. La alimentación infantil en ocasiones es escasa en fibra porque las verduras y las legumbres les parecen poco apetitosas y otros alimentos les resultan más apetecibles y existe la falsa creencia de que son más nutritivos.

En las mujeres, circunstancias propias del sexo por las que se pasa a lo largo de la vida, tales como el embarazo y el postparto, la falta de ejercicio físico o factores psicológicos

diversos, las hacen el grupo más afectado por el estreñimiento. Las hemorroides suelen ser una consecuencia frecuente del estreñimiento crónico de las mujeres.

Otro grupo que se ve afectado son los ancianos, las causas son dos razones fundamentales: una vida extraordinariamente sedentaria generalmente por motivos de salud, y una dieta pobre en alimentos con elevado contenido en fibra y la falta de ingesta suficiente de líquidos. Asimismo, algunos fármacos habitualmente prescritos a los ancianos causan estreñimiento. (9)

La deposición de heces no se rige por una norma igual para todo el mundo. Si hubiera que definir de algún modo una situación de normalidad, ésta se produciría siempre que la persona evacuara su intestino dentro de un intervalo que oscilara entre tres veces al día y tres veces a la semana. Es decir que tanto un individuo que evacúa dos veces al día como otro que lo haga cuatro veces a la semana, se encuentran dentro de la normalidad. (10)

1.1.2. CAUSAS DEL ESTREÑIMIENTO

A nivel del organismo las causas más comunes del estreñimiento son los malos hábitos de alimentación, el bajo consumo de alimentos con alto contenido de fibra, ingestión insuficiente de líquidos, malos hábitos de defecación, pérdida del tono muscular del intestino, así como el uso excesivo de laxantes.

Otras causas son:

- Cambios hormonales (Embarazo, menopausia).
- La edad, sobre todo en personas mayores debido a alteraciones en el tránsito intestinal, agravado en ocasiones por la inmovilidad y el deterioro mental.
- Cambios de costumbres, como viajes, horarios y alimentos.
- Determinadas enfermedades: Hipotiroidismo, diabetes, enfermedad de Parkinson y otras enfermedades neurológicas.

- Problemas en la circulación sanguínea del colon.
- Algunos medicamentos pueden causar estreñimiento como las pastillas de calcio, algunos antiácidos, pastillas de hierro, diuréticos (para eliminar el agua), y medicamentos para la depresión.
- La Cafeína / Alcohol.
- Tomar líquidos con las comidas. (7)

1.1.3. CONSECUENCIAS DEL ESTREÑIMIENTO

El durar varios días sin defecar, las heces fecales duras y abundantes se van acumulando, el esfuerzo que se tiene que hacer para desalojarlas aumenta la presión sobre las paredes del intestino y no permite la circulación normal de la sangre en la parte inferior del cuerpo, esto trae como consecuencias la dilatación de las venas y la formación de várices en las extremidades inferiores o bien problemas de hemorroides, fisura anal, prolapso anal, divertículos, úlcera estercolar, colon catártico, impactación fecal, colitis isquémica, vólvulo colónico, perforación colónica, incontinencia fecal, retención urinaria, etc.

Tan sólo el gran esfuerzo que se hace para evacuar, puede empujar el estómago hacia arriba un poco por encima del diafragma dando lugar a una hernia hiatal, la cual muchas veces no manifiesta síntomas pero que puede desencadenar problemas de gastritis. (11)

La permanencia de ciertas sustancias en el colon puede intensificar su efecto cancerígeno sobre el intestino grueso (investment).

1.1.4. MEDIDAS PREVENTIVAS

1.1.4.1.MEDIDAS GENERALES DE EDUCACIÓN SANITARIA

- Horario adecuado para la defecación (tras desayuno o comida de mediodía). No es un problema, ni tiene importancia, si no se defeca todos los días o pasan dos o tres días de forma ocasional sin defecar.
- No reprimir las ganas de ir al WC de forma continuada, porque inhibe el reflejo de la defecación.
- Intentar una postura facilitadora sentados en la taza del WC, tipo acucillado: alzas en los pies, para acercar las rodillas al vientre. Hay que tomarse su tiempo, pero además el cuarto de aseo debe ser un lugar privado, limpio, cómodo y cálido.

1.1.4.2.NORMAS ALIMENTARIAS Y DIETÉTICAS:

- En primer lugar un buen desayuno completo, con aporte suficiente de fibra dietética insoluble (como cereales ricos en salvado de trigo) o soluble (con efecto prebiótico), proteínas (huevo, jamón, queso bajo en grasa o yogur –que aporta probióticos–), líquidos abundantes, leche, agua y zumos.
- Las cenas, tempranas, preferiblemente antes de las 20 horas; nunca más allá de las 21 horas, porque se retrasa el vaciamiento del estómago, lo que causa dispepsia y reflujo, y enlentece el tránsito intestinal (de por sí más lento durante la noche). Y similares al desayuno: lácteos, plato de pescado, jamón o carne a la plancha, o huevo con vegetales y fruta o yogur de postre.
- Tomar a diario fibra en formas variadas: cereales integrales (ricos en salvado de trigo), verduras, hortalizas, legumbres crudas o cocidas, purés, sopas, leguminosas y frutas variadas como postre (nada de pasteles o bollería y, en la merienda, tampoco dulces ni

chocolates. Un bocadillo y un zumo de fruta sin azúcar o un vaso de agua). Si no hay sobrepeso ni diabetes se pueden tomar uvas o ciruelas pasas.

- Reducir la ingesta de grasas animales, mantequillas y margarinas; también los productos de bollería industrial (llevan ácidos grasos *trans*). La grasa más saludable es el aceite de oliva en crudo; si es virgen extra tiene además antioxidantes, y si tiene una acidez inferior a 0.5 evita tener acidez de estómago.
- Aumento de la toma de líquidos: agua, bebidas poco o nada calóricas y zumos sin azúcar. Recomendándose una ingesta entre litro y medio y dos litros y medio al día.
- Beber –no engullir– líquidos, porque causa aerofagia; masticar bien. Disfrutar con la comida, tomándose su tiempo (20-25 minutos). No hablar deprisa, ni gritar, evitar las risotadas porque causan también aerofagia, lo que producirá dolor abdominal, hinchazón, eructos y flatulencias.
- Las aceitunas (no más de 8-10 por comida, ya que son muy calóricas) y los encurtidos (pepinillos, col, zanahoria o cebollitas en vinagre) son un aporte de fibra interesante; los encurtidos además contienen *Lactobacillus plantarum*, que ayuda a modular el tránsito intestinal.
- Reducir el consumo de carnes, platos procesados y embutidos, por su cantidad de sal y conservantes, a un máximo de tres veces por semana, así como de alimentos refinados, empanadillas, chocolate, compotas, tartas, dulces y pasteles; suprimir estos últimos si hay sobrepeso.
- Tomar bifidobacterias (se sabe que hacen más efecto en las mujeres) porque mejoran el bienestar digestivo y el hábito intestinal. En realidad los yogures naturales «normales» no estríñen –como algunos suponen–, luego también pueden tomarse.

- Dejar de fumar. No fumar, al contrario de lo que se piensa, mejora el hábito intestinal.
- Reducir drásticamente (o evitar) el consumo diario de alcohol destilado y cerveza; un vasito de 150 ml de vino en la comida o la cena, como máximo.
- Todas estas medidas se complementan con un incremento del ejercicio físico habitual. Se recomienda hacer ejercicio físico moderado pero a diario, aprovechando la ida al trabajo y la vuelta (caminar, andar a buen paso, subir y bajar escaleras) y en el propio lugar del trabajo, así como ejercicios tonificantes de la musculatura abdominal y el suelo pélvico: bicicleta, nadar, bailar, etc.
- Los ejercicios tipo Pilates son muy beneficiosos. En cambio, el ejercicio extenuante envejece el cuerpo, porque aumenta los radicales oxidantes producidos. (12)

1.1.5. DEPURATIVOS O LAXANTES

Los laxantes son todos aquellos medicamentos que producen un aumento del ritmo intestinal generando una mayor frecuencia de las deposiciones. Son productos que generalmente se utilizan para tratar el estreñimiento. (13)

1.1.6. TIPOS DE LAXANTES POR VÍA DE ADMINISTRACIÓN

1.1.6.1. LAXANTES POR VÍA ORAL

Dentro de este conjunto existen productos que actúan mediante mecanismos distintos. Es importante saber cuál se está tomando, ya que las instrucciones de uso y las indicaciones varían en cada caso. Existen diferentes tipos de laxantes por vía oral.

- ✓ **Incrementadores del bolo intestinal.** Absorben líquido en el intestino, que se hincha y aumenta de tamaño, con lo que producen excrementos voluminosos y blandos. También

provocan un aumento del peristaltismo. Estos laxantes incrementadores del bolo intestinal se pueden usar igualmente en el tratamiento de la diarrea.

- ✓ **Hiperosmóticos u osmóticos.** Atraen agua al intestino desde los tejidos que lo rodean. Al igual que los del grupo anterior estimulan el peristaltismo intestinal.
- ✓ **Emolientes o suavizantes de las heces.** Permiten que el agua y los líquidos en general se mezclen con las heces, por lo que evitan la formación de excrementos duros y secos difíciles de evacuar.
- ✓ **Lubricantes o lubricantes.** Recubren las heces y el intestino de una película grasa con lo cual impiden que éstas pierdan agua y consiguen que se mantengan blandas, por lo que facilitan así su expulsión.
- ✓ **Estimulantes.** Activan el peristaltismo intestinal al ponerse en contacto con las paredes del intestino. Son los que actúan más rápidamente, pero también los que tienen más probabilidades de producir efectos secundarios.
- ✓ **Otros.** Existen otros laxantes que no se encuentran incluidos en ninguno de los grupos anteriores, pues se comportan de forma diferente. Son la lactosa y el aceite de ricino.

Utilización

En general todos estos medicamentos, salvo los salinos, se pueden utilizar para tratar y aliviar el estreñimiento en cualquier situación en que éste aparezca, tales como embarazo, periodos postoperatorios, dieta desequilibrada, hemorroides, etcétera.

Los **laxantes salinos** se usan principalmente cuando se necesita una evacuación rápida del intestino, como ocurre en las preparaciones para determinadas pruebas diagnósticas, en las intervenciones quirúrgicas y en el tratamiento de intoxicaciones.

Efectos secundarios

Algunos de los efectos secundarios descritos en la literatura médica son: calambres musculares y abdominales, erupción cutánea, vómitos, coloración de la orina, diarrea y mareos.

Algunos consejos

Hay que recordar que durante un tratamiento con laxantes se debe beber mucha agua, al menos dos litros al día: así las heces serán más blandas.

Una utilización excesiva y prolongada de algunos de estos medicamentos puede ocasionar lo que se conoce como costumbre del laxante, es decir, dejará de hacer efecto, o lo producirá en menos proporción.

1.1.6.2. LAXANTES POR VÍA RECTAL

Se utilizan en forma de supositorio o enema y ejercen su acción de forma rápida.

Son muy parecidos a los que se administran por vía oral y sus mecanismos de acción son también similares:

- Emolientes
- Hiperosmóticos u osmóticos
- Lubricantes o lubricantes
- Estimulantes

Productores de óxido de dióxido de carbono: ejercen su acción mediante la liberación de un gas, el dióxido de carbono, que empuja las paredes del intestino y facilita la evacuación de las heces

Utilización

Tal y como se ha señalado antes, los laxantes rectales ejercen un efecto rápido, por lo que su uso es aconsejable en situaciones de estreñimiento muy concretas tales como: preparación al parto, postparto y situaciones postquirúrgicas.

Los supositorios de glicerina se utilizan para tratar la dependencia de este tipo de productos. (14)

1.2. TARAXACO



Figura N° 1. TARAXACO (*Taraxacum officinale*).
FUENTE: Tomado de <http://www.google.com.ec/>

Nombre Botánico	<i>Taraxacum officinale</i>
Nombre Común	Taraxaco, Diente de león
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta

División	Tracheobionta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Cichorioideae
Tribu	Cichorieae
Subtribu	Hieraciinae
Género	Taraxacum
Especie	T. officinale

1.2.1. HISTORIA Y ORIGEN

El diente de león se cree procede de Europa que es donde se comercializa en su gran mayoría. Es una planta muy utilizada en la actualidad, ya en el siglo XVII, era recomendada por médicos y botánicos, como estomacal, y para curar diarreas.

Las tribus nativas americanas lo han usado habitualmente en su medicina, preparando la raíz para tratar enfermedades renales y estomacales.

Los árabes lo utilizan para tratar enfermedades del hígado y del bazo.

En la medicina tradicional china, lo combinan con otras hierbas para tratar enfermedades hepáticas. Y también lo usan en las infecciones respiratorias, como la bronquitis o la neumonía. (15)

1.2.2. MORFOLOGÍA

Esta planta vivaz, anual y perenne con raíz primaria larga y roseta basal. No suele alcanzar más de 40-50 cm. Tiene hojas alternas lanceoladas con una nervadura central, sin peciolo diferenciado, pinnatipartidas con lóbulos en forma triangular de márgenes dentados y agudos, a veces presenta microvellosidades. Pedúnculos de la inflorescencia huecos, que al

romperse emana un jugo lechoso amargo. Flores hermafroditas de un color amarillo dorado que la hacen fácilmente identificable. Corola en lígulas terminada en cinco pequeños dientes, florece en primavera a hasta fines de verano. El fruto es una cipsela o aquenio con vilano (conocidos como "panaderos" (en España como "diente de león"). (16)

Se encuentra fácilmente en los caminos, pastizales, prados, siembra directa, y sobre todo en jardines, tanto que es considerada mala hierba o "maleza", por los jardineros. (17)

1.2.3. PROPIEDADES BIOLÓGICAS

Las hojas del Diente de león son un diurético muy efectivo, pero tienen la ventaja de que no drenan el potasio del organismo, y por lo tanto son más seguros que los diuréticos comerciales. (18)

Las hojas y raíces de esta planta poseen varias propiedades que la convierten en una de gran utilidad terapéutica. Las hojas actúan como un diurético aumentando el flujo de orina. Muchos diuréticos tienen la desventaja de que hacen disminuir los niveles de potasio en la sangre. Sin embargo, el diente de león contiene altos niveles de potasio por lo que no tiene este efecto. (18)

Las raíces contienen dos sustancias llamadas inulina y levulina que ayudan a balancear el nivel de azúcar en la sangre. También contienen otras sustancias que estimulan la digestión, el flujo de bilis del hígado y la vesícula biliar y la producción de ácido hidróclórico en el estómago. Todo esto convierte al diente de león en una gran ayuda para los procesos digestivos y para desintoxicar el colon y el hígado. (23)

Favorece el restablecimiento de las funciones hepatobiliares, y calma las manifestaciones dolorosas con ese origen, tales como la anglicolitis y la colelitiasis. (19)

También es adecuado como depurativo de la sangre. Se le reconocen propiedades contra los altos niveles de colesterol, la ictericia, el estreñimiento (laxante) y la obesidad (20)

1.2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los componentes principales responsables de la acción del diente de león en el hígado y el aparato digestivo, son los principios amargos. Designado previamente taraxacina que se encuentra en las hojas y la raíz, estos componentes son lactonas del sesquiterpenos del tipo del eudesmanolide y del germacranolide y son únicos al diente de león. Es también una fuente rica de vitaminas y de minerales. Las hojas tienen un alto contenido de la vitamina A así como cantidades moderadas de vitamina D, vitamina C, varias vitaminas de B, hierro, silicio, magnesio, cinc, y manganeso. Las hojas son una fuente rica del potasio, que es interesante puesto que las hojas se utilizan para su acción diurética. Esto puede hacer al diente de león un proveedor natural de potasio como diurético, aunque su acción diurética es probablemente diferente de productos farmacéuticos. (21)(22)

Específicamente las raíces contienen:

- Lactonasesquiterpénicas. Eudesmanólidos como glucósidos de taraxinacetina, dihidrotaraxinacetina, taraxacólido, tetrahidroridentina; germacranólidos.
- Triterpenos. Beta-amirina, taraxol, taraxerol, taraxasterol.
- Esteroides. Beta-sitosterol, estigmasterol.
- Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico. Ácidos clorogénico, chicórico, monocateiltartárico.
- Polisacáridos homogéneos. Inulina (2-40%).
- Polisacáridos heterogéneos. Mucílagos.
- Carotenoides. Luteína.
- Sales minerales. Sales potásicas (4.5%).

Las hojas contienen:

- Lactonasesquiterpénicas.
- Flavonoides. Glucósidos de apigenina, luteolina.
- Hidroxicumarinas. Cichorina, esculina.
- Sales minerales. Sales potásicas.
- Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico. Ácidos clorogénico, chicórico, monocateiltartárico. (24)

Tabla 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL DIENTE DE LEÓN CONTIENE EN 100 GRAMOS

SUSTANCIA	PORCENTAJE
Calorías	45,00
Agua	87,50%
Hidratos de carbono	7,00 %
Proteínas	2,70 %
Grasas	0,70%
Sales	2,10%

FUENTE: COMPOSICIÓN QUÍMICA Tomado de. http://www.hipernatural.com/es/pltdiente_de_leon.html. 2012-02-03

1.2.5. BENEFICIOS DEL DIENTE DE LEÓN

Estas son las propiedades del Diente de león:

Depurativo, digestivo y tónico estomacal (25)

Colerético

Insuficiencia hepática, hepatitis y cirrosis: Puede llegar a triplicar la producción de bilis, descongestionando así el hígado y facilitando su función de desintoxicación. (26)

Disquinesias biliares: vesícula perezosa y otros trastornos de su funcionamiento. (27)

Colelitiasis (cálculos en la vesícula biliar): Aunque el Diente de león no es capaz de disolver los cálculos, permite un mejor funcionamiento de la vesícula a la espera de un tratamiento definitivo. (27)

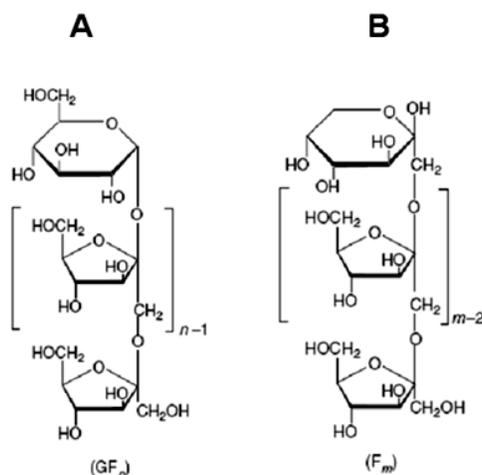
Diurético y laxante suave

1.3. INULINA

La inulina es un carbohidrato de reserva energética presente en más de 36.000 especies de plantas, aislada por primera vez en 1804, a partir de la especie *Inula helenium*, por un científico alemán de apellido Rose. En 1818, Thomson, un científico británico, le dio el nombre actual.

La inulina está constituida por moléculas de fructosa unidas por enlaces β -(2 \rightarrow 1) fructosil-fructosa, siendo el término “fructanos” usado para denominar este tipo de compuestos. Las cadenas de fructosa tienen la particularidad de terminar en una unidad de glucosa unida por un enlace α -(1,2) (residuo -D-glucopiranosil), como en la sacarosa, pero también el monómero terminal de la cadena puede corresponder a un residuo de β -D-fructopiranosil.

Figura N° 2. Estructura química de la inulina: con una molécula terminal de glucosa (β -D-glucopiranosil) (A) y con una molécula terminal de fructosa (β -D-fructopiranosil) (B)



1.3.1. La inulina y sus beneficios a la salud

El uso de la inulina o sus derivados para cumplir funciones tecnológicas, simultáneamente aporta beneficios a la salud, el primero de ellos es su función de fibra dietética, con los efectos fisiológicos atribuibles a este tipo de compuestos, como son la disminución de los niveles lipídicos y glucosa en sangre y la acción laxante. Otro beneficio comprobado ligado al anterior, es la capacidad de la inulina de modular la flora intestinal, esto se debe a su efecto prebiótico. Estudios *in vivo* muestran que solo 4 g de inulina o de sus compuestos relacionados diarios son efectivas para incrementar el número de bacterias beneficiosas en el colon.

La inulina y derivados tienen un aporte calórico reducido (máximo de 1,5 kcal/g), atribuibles a la resistencia a la digestión y posterior hidrólisis y fermentación por la flora intestinal selectiva del intestino grueso. Solo los ácidos grasos de cadena corta obtenidos como producto metabólico de la actividad bacteriana en el intestino grueso contribuyen a proveer energía al individuo. El valor calórico de 1,5 kcal/g es usado para propósitos legales de información en el etiquetado. Por su efecto hipoglicemiante, la inulina se recomienda en la dieta de individuos con diabetes.

Investigaciones con ratas y humanos indican un incremento de la absorción de calcio y otros minerales cuando se usa inulina y sus derivados en la dieta, con consecuencias positivas en el contenido y densidad de los huesos. En adolescentes, la dosis necesaria para observar esos resultados fue 8 g/día de inulina durante 8 semanas. También se demostró el efecto positivo de la inulina y sus derivados en la absorción de magnesio. (32)

1.4. RATONES DE LABORATORIO.



Figura N° 3. Ratón (*Mus musculus*).

FUENTE: Tomado de <http://informaciona.com/raton-de-laboratorio/videos>

El ratón de laboratorio es un roedor, usualmente de la especie *Mus musculus*, que se utiliza para la investigación científica. Su cariotipo está compuesto por 40 cromosomas y suelen ser albinos. (28)

Para cada experimento se escogen ratones de laboratorio que pertenezcan a una misma cepa pura o endogámica. Los individuos de una misma cepa llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos experimentales (fármacos, entorno físico, etc.), sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas (29)

1.4.1. CARACTERÍSTICAS.

Los ratones comunes adultos pesan entre 12 y 40 g, y miden entre 15 y 19 centímetros, incluyendo la cola, que supone algo más de la mitad de su longitud. Su pelaje es corto y de tonos grises, que se aclaran en el vientre. Los ratones de laboratorio y los utilizados como mascotas son generalmente blancos. Su pelo es escaso en la cola y las orejas. Posee unos largos bigotes (vibrisas) que son sensibles al tacto y le proporcionan información sobre el medio. Como su vista es muy débil el ratón, sólo identifica los objetos desde muy cerca. Su olfato en cambio es muy desarrollado, lo ayuda en encontrar los alimentos y a los demás ratones. Su oído es también desarrollado, el ratón oye hasta los sonidos de 100 kHz (80 kHz más que las personas). (28)

1.4.2. TOXICIDAD AGUDA EN RATONES

Entre las pruebas típicas que deben presentarse para el registro de una sustancia activa nueva se encuentran los típicos tests de toxicidad aguda DL50. El acrónimo DL significa «Dosis Letal» en inglés «Lethal Dose» = LD).

Los ensayos de toxicidad aguda implican la administración de la sustancia a evaluar en una sola ocasión para la determinación de la DL50, también conocida como dosis-única y consisten en administrar el compuesto sólo una vez en animales de experimentación. El «50» significa 50%. DL50 o LD50 significa que se determina la dosis en mg/kg (u otras unidades) a la que mueren el 50% de los animales sometidos al tratamiento una vez. Hay ensayos DL50, DL95 y DL100. Un ensayo DL100 significa que se determina la dosis a la que mueren el 100% de los animales tratados.

Los ensayos típicos de DL exigidos para registrar un producto veterinario son, p.ej. el DL50 oral agudo en ratas (machos y hembras) y ratones (machos y hembras), el DL50 dermal agudo en ratas o conejos, el DL50 agudo por inhalación en ratas, etc. (30)

1.4.3. EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA.

Una vez estudiados los efectos in vitro, se procede a evaluar preliminarmente la toxicidad aguda del fármaco (ej. dosis letal 50, y el perfil de toxicidad aguda). Esto se realiza generalmente en ratones, por varios motivos: su pequeño tamaño permite utilizar dosis modestas del nuevo fármaco (punto importante, porque la síntesis de cada gramo debe haber costado decenas de miles de dólares), y hay procedimientos estandarizados para evaluar la toxicidad aguda en esta especie. Uno de estos procedimientos implica la administración de dosis logarítmicamente crecientes a distintos lotes de ratones, de modo de determinar la dosis efectiva 50 o DE 50 (dosis que genera el efecto terapéutico deseado en 50% de los animales) y la dosis letal 50 o DL 50 (la que mata al 50% de ellos). El cociente: DL 50/ DE 50 se conoce con el nombre índice terapéutico. Una droga es considerada más segura cuanto mayor sea su índice terapéutico. Es importante recordar, sin

embargo, que este cociente es generado por estudios de toxicidad aguda, por lo que no brinda información sobre posibles efectos a largo plazo.

A fin de satisfacer los requisitos de las autoridades regulatorias, es frecuente que se realicen estudios de toxicidad aguda en otra especie roedora (típicamente, ratas) y al menos en una especie no-roedora (típicamente, perros), a fin de obtener evidencia preliminar sobre diferencias inter-especies en la respuesta al fármaco. (31)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitoquímica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Bioterio de la ESPOCH. Laboratorio Histopatológico de SOLCA- Riobamba. Laboratorio Histopatológico Dr. Oswaldo Duque

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIAL VEGETAL

Como materia prima se utilizó la hojas, las raíces y los tallos del Diente de león (*Taraxacum officinale*). La materia prima fue obtenida en el mes de Octubre del 2012 en Jambi Kiwa, en el Cantón Riobamba, en la provincia de Chimborazo.

2.2.2. MATERIAL BIOLÓGICO

El ratón de laboratorio (*Mus musculus*) del Bioterio de la Facultad de Ciencias ESPOCH.

2.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO

✓ Probeta

✓ Tubos de ensayo

- ✓ Algodón
- ✓ Bandejas de plástico
- ✓ Caja de guantes y mascarillas
- ✓ Jeringas
- ✓ Cánulas.
- ✓ Vasos de precipitación
- ✓ Balones aforados
- ✓ Cápsulas de porcelana
- ✓ Crisoles
- ✓ Embudo simple
- ✓ Embudo Buchner
- ✓ Embudo de separación
- ✓ Reverbero eléctrico
- ✓ Pinza para tubo
- ✓ Pinza para cápsula
- ✓ Equipo de reflujo
- ✓ Matraces Erlenmeyer
- ✓ Cámara cromatográfica
- ✓ Pipetas
- ✓ Pipetas Volumétricas
- ✓ Espátula
- ✓ Gradilla
- ✓ Atomizador
- ✓ Varilla de agitación
- ✓ Trípode
- ✓ Papel filtro

2.2.4. EQUIPOS

- ✓ Balanza Analítica (BOECO)
- ✓ Cámara UV
- ✓ Rotavapor (HEIDOLPH)
- ✓ Estufa
- ✓ Refractómetro
- ✓ Bomba de vacío
- ✓ Cabina extractora de gases
- ✓ Cámara fotográfica (Sony)
- ✓ Computadora HP Mini
- ✓ Refrigeradora
- ✓ Mufla (OPTIC SYSTEM)
- ✓ Estufa (MEMMERT)
- ✓ pH – metro
- ✓ Espectrofotómetro UV - Visible

2.2.5. REACTIVOS

- ✓ Agua destilada
- ✓ Reactivo de Dragendorff
- ✓ Reactivo de Mayer
- ✓ Reactivo de Wagner
- ✓ Reactivo de Lieberman – Buchard
- ✓ Reactivo de Borntrager
- ✓ Reactivo de Baljet
- ✓ Reactivo de Sudan III

- ✓ Solución de Cloruro Férrico al 5%
- ✓ Solución de Ninhidrina al 5%
- ✓ Solución de Fehling A y B
- ✓ Cloroformo
- ✓ Cloruro de Sodio
- ✓ Hidróxido de Sodio
- ✓ Solución de Sulfato de Cerio
- ✓ Ácido Clorhídrico 1%
- ✓ Ácido Clorhídrico concentrado
- ✓ Granallas de Magnesio Metálico
- ✓ Acetato de Etilo
- ✓ Metanol
- ✓ Ácido Sulfúrico concentrado
- ✓ Vainillina
- ✓ Lactulosa
- ✓ Formol
- ✓ Etanol

2.3. TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.3.1. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA

Para realizar el control de calidad de las hojas, las raíces y los tallos del Diente de león (*Taraxacum officinale*). La materia prima fue obtenida en el mes de Julio del 2012 en Jambi Kiwa, en el Cantón Riobamba, en la provincia de Chimborazo, se consideró parámetros de organismos encargados para asegurar la calidad de productos fitofarmacéuticos en el que se incluyen las siguientes determinaciones

2.3.1.1. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

Se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida en masa que muestre una droga después de ser desecada en la estufa. Para una buena conservación debe ser inferior al 10%, para evitar procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca. (35)(36)

MÉTODO GRAVIMÉTRICO

Se pesó 2 g. \pm 0.5 mg de droga cruda y se transfirieron a un pesa filtro previamente tarado y se secó a 100°C durante 3 horas. El pesa filtro se puso en un desecador donde se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se pesó; colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora y se repitió el procedimiento hasta obtener masa constante. (33)

Cálculos:

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

Dónde:

%H = Porcentaje de Humedad

M₂= masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

M₁= masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M = masa de la cápsula vacía

100 = factor matemático (33)

2.3.1.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga. 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. (36)

2.3.1.2.1. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

Se denominan cenizas totales al residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga, fundamentalmente en su determinación gravimétrica. (35)

Se determina la masa de no menos de 2.0g ni más de 3.0g de la porción de ensayo pulverizada y tamizada con una desviación permisible de 0.5mg en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calienta carboniza la porción de ensayo y posteriormente se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, durante 2 horas. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta obtener masa constante. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco. (33)

Cálculos:

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

Dónde:

C_t: porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M= masa crisol vacío (g)

M₁= masa del crisol con la porción del ensayo (g)

M₂= masa del crisol con la ceniza (g) (33)

2.3.1.2.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

A las cenizas totales obtenidas según el apartado anterior, se le añadieron de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapó y se calentó suavemente a la llama del mechero durante 5 min. La solución se filtró a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carbonizó en un mechero y luego se incineró en un horno mufla de 700°C – 750 °C, durante 2horas. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repitió el procedimiento hasta alcanzar peso constante. (35)

Cálculos:

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

Dónde:

% Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

M₂= masa del crisol con las cenizas totales (g)

M_a= masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M₁= masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M= masa del crisol vacío (g) (33)

2.3.1.2.3. DETERMINACIÓN DE 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 hirviente 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. Se repite el procedimiento hasta obtener peso constante. (36)

Cálculos

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

Donde:

$\%C_i$ = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada

M = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M_2 = masa del crisol con la ceniza (g)

M_1 = masa del crisol vacío (g) (33)

2.3.2. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO

2.3.2.1. DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO

- **Olor:** Se toma una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto. (33)
- **Color:** Se toma un tubo de ensayo limpio y seco y se llena las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, transparencia, presencia de partículas y la separación en capas. (33)
- **Sabor:** Característico a las plantas y al solvente. (35)
- **Aspecto:** Se determina observando contra luz la presencia de partículas y/o turbidez en el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra. (35)

2.3.2.2. DETERMINACIÓN DEL pH

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Para realizar la determinación se toma una alícuota de 25 mL, de la muestra y procedemos a medir directamente en el equipo de pH previamente calibrado. (33) (36)

2.3.2.3. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente. (33)

- En un refractómetro de Abbe, se realiza la medición calibrando el equipo con agua destilada.
- Se levanta la tapa del refractómetro y se limpia con papel filtro.
- Colocar una o dos gotas de la muestra a analizar (extracto)
- Anotar los resultados

Expresión de los resultados:

Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002. Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$n_d^{25} = n_d^t + 0.00044 (T - 25)$$

Donde:

n_d^{25} = Índice de refracción a 25°C

n_d^t = Valor leído en la escala del aparato a temperatura

0.00044 y 25 = Factor de corrección matemática

T= temperatura a la que se realiza la lectura (35)

2.3.2.4. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. Para realizar la determinación, se debe pesar el

picnómetro vacío y seco a 2 °C y llenar con la porción de ensayo, mantener a la temperatura de 25 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 min y ajustar el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro. Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpiar el picnómetro. (33)

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25°C se calcula por la siguiente fórmula:

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

Donde:

M_1 = peso del picnómetro con la muestra (g)

M_2 = peso del picnómetro con el agua (g)

M = peso del picnómetro vacío (g)(35)

2.3.2.5. 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 fórmula. (36)

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

Cálculo:

St = sólidos totales

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

2.3.3. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico constituye una de las etapas que nos ayuda a determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en las plantas. (34)

La planta fresca, seca o el residuo de una extracción; es sometida a una extracción sucesiva según el esquema de la Figura N° 4, al extracto se le mide el volumen obtenido y se le calcula su concentración, esto es, gramos de sustancias extraídas por ml de extracto. (33)

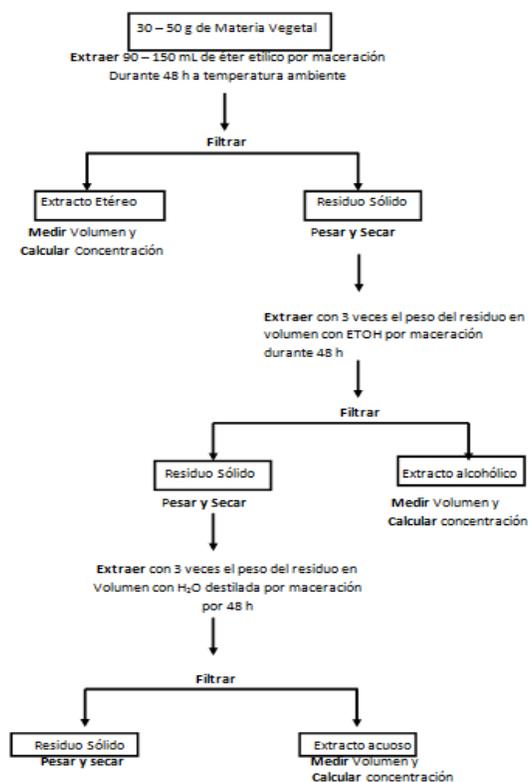
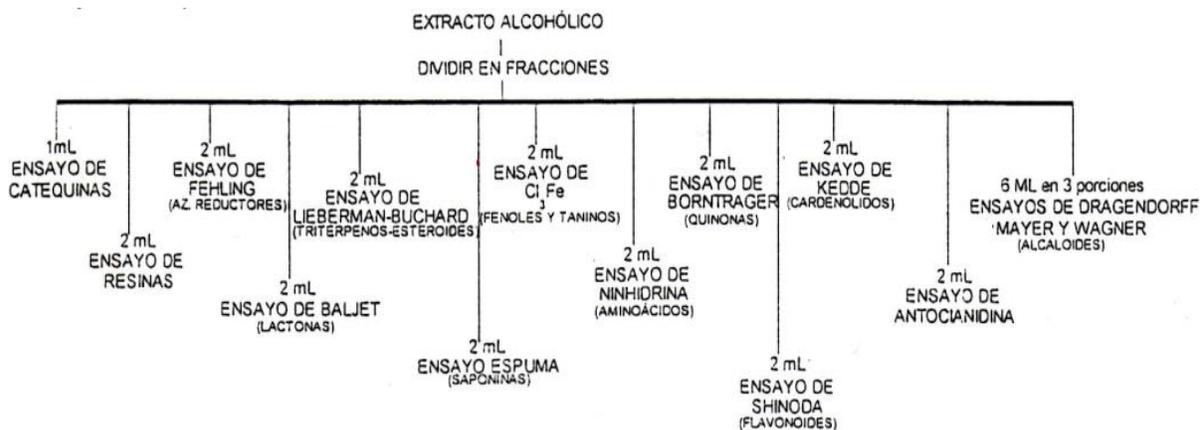


FIGURA N° 4. Tamizaje Fitoquímico (30)



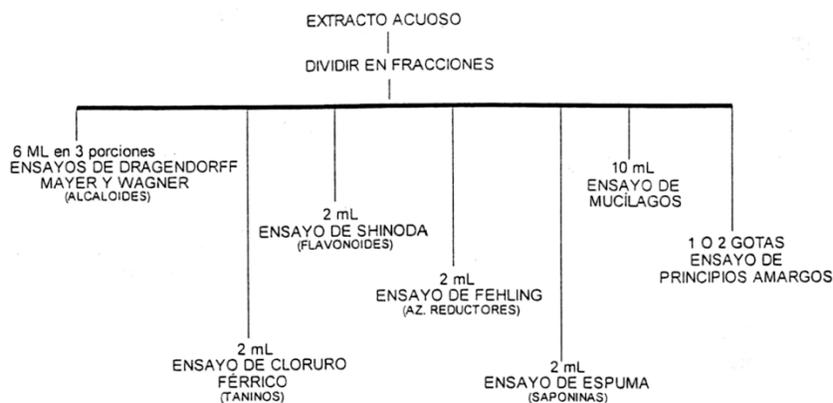
FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.

FIGURA N° 5. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto de éter etílico



FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.

FIGURA N° 6. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico



FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.

FIGURA N° 7. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso

2.3.3.1. Ensayo de Dragendorff

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++). (33)

2.3.3.2. Ensayo de Mayer

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, los resultados se clasifican de la misma forma. (33)

2.3.3.3. Ensayo de Wagner

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma. (33)

2.3.3.4. Ensayo de Liebermann-Burchard

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. (33)

Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

1. Rosado-azul muy rápido.
2. Verde intenso-visible aunque rápido.
3. Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. (33)

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.

2.3.3.5. Ensayo de Sudán

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente. La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente. (35)

2.3.3.6. Ensayo de Baljet

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónicos, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL de reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de una coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente. (35)

2.3.3.7. Ensayo de Borntrager

Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++). (35)

2.3.3.8. Ensayo de resinas

Para detectar este tipo de compuesto, se adiciona 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo. (35)

2.3.3.9. Ensayo del cloruro férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. 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 adicionan 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 tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

1. Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
2. Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
3. Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos. (33)

2.3.3.10. Ensayo de catequinas

Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo. (35)

2.3.3.11. Ensayo de antocianidinas

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 min. con 1 mL de HCL conc. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo. (33)

2.3.3.12. Ensayo de la espuma

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos. (35)

2.3.3.13. Ensayo de Shinoda

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la

adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos. (35)

2.3.3.14. Ensayo de Fehling

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. (35)

2.3.3.15. Ensayo de Kedde

Permite reconocer en un extracto la presencia de glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1 mL del reactivo y se deja reposar durante 5 a 10 minutos. Un ensayo positivo es en el que se desarrolla una coloración violácea persistente durante 1 a 2 horas. (35)

2.3.3.16. Ensayo de mucílagos

Permite reconocer en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría a 0°-5 °C y si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo. (35)

2.3.3.17. Ensayo de ninhidrina

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en

baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2% de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5 – 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo. (35)

2.3.3.18. Ensayo de principios amargos

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal reconociendo el sabor de cada uno de los principios, bien diferenciado por el paladar. (35)

2.3.4. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*)

Para elaborar el extracto alcohólico de raíces y hojas de taraxaco (*Taraxacum officinale*)

Se lo realizó mediante maceración en una proporción de 40 g de planta seca y 120 ml de etanol se colocó en un frasco ámbar de boca ancha y bajo continua agitación durante siete días.

Después del tiempo de maceración se filtra y se procede a concentrar el extracto hasta la tercera parte de su volumen total.

2.3.5. COMPROBACIÓN DEL EFECTO LAXANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*)

2.3.5.1. Animales de experimentación

Para llevar a cabo esta investigación se empleó un lote de 15 ratones (*Mus musculus*) agrupadas en tres lotes de 3.

Se utilizó 3 ratones para la dosis de 100%, 3 ratones para el 70%, 3 ratones para el 40%, 3 ratones como blanco y 3 ratones para control positivo con Lactulosa.

Los animales tenían de 7 a 8 semanas de edad, acondicionados en cajas plásticas de polipropileno y mantenidos en condiciones ambientales controladas (temperatura $20,6 \pm 1,8^{\circ}\text{C}$, humedad relativa $59,8 \pm 5,2\%$ y fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad), por un período de adaptación de 7 días. Se alimentaron con la fórmula peletizada y agua *ad libitum*. La identificación de los animales se realizó mediante marcas con marcador permanente en la cola de cada animal.

2.3.6. ADMINISTRACIÓN A ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Una vez distribuidos los animales en sus grupos y respectivas cajas debe forrarse el fondo de las mismas con papel filtro, en el transcurso de la primera hora si los ratones eliminan heces blandas (mal formadas y manchando el papel) no deben ser retenidos para el experimento.

Los animales retenidos para el experimento deben recibir los productos a investigar en suspensión en agua gomosa al 19% por vía oral (sonda esofágica) los productos han sido administrados lo más común a dosis de 250 mg/kg para una primera selección la observación de las heces emitidas se hace 4, 7 y 24 horas después del tratamiento generalmente el efecto de las sustancias activas comienza a manifestarse en la cuarta hora y el máximo es observado a la séptima hora. Pero algunos productos actuando menos rápidamente el efecto es el más fuerte en la última anotación.

La comparación cuantitativa de los derivados activos en esas condiciones es realizado por el mismo método administrando dosis decrecientes de producto, generalmente a series más numerosas.

La actividad de una sustancia para una dosis ha sido determinada según las tomas individuales sobre el conjunto de 24 horas (para algunos ensayos en los cuales un efecto muy fuerte ha sido notado después de 7 horas la observación no ha seguido después de este tiempo).

TABLA N° 2. DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

EXTRACTOS	ACTIVIDAD LAXANTE (5 DIAS)				
	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5
BLANCO	A1	A1	A1	A1	A1
	A2	A2	A2	A2	A2
	A3	A3	A3	A3	A3
LACTULOSA	B1	B1	B1	B1	B1
	B2	B2	B2	B2	B2
	B3	B3	B3	B3	B3
EXTRACTO 40%	C1	C1	C1	C1	C1
	C2	C2	C2	C2	C2
	C3	C3	C3	C3	C3
EXTRACTO 70%	D1	D1	D1	D1	D1
	D2	D2	D2	D2	D2
	D3	D3	D3	D3	D3
EXTRACTO 100%	E1	E1	E1	E1	E1
	E2	E2	E2	E2	E2
	E3	E3	E3	E3	E3

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSION

En la presente investigación a través de métodos cualitativos y cuantitativos identificamos la presencia de compuestos fitoquímico y su actividad laxante en un sistema biológico complejo, los resultados presentados son el promedio de tres repeticiones para poder realizar una valoración estadística sustentable se analizaran los distintos extractos experimentales en relación a un estandar de acción laxante conocida para poder establecer la actividad resultante del presente análisis.

3.1. CONTROL DE CALIDAD DROGA CRUDA

Para realizar el control de calidad se utilizó raíces y hojas secas y trituradas de taraxaco (*Taraxacum officinale*) con muestras por triplicado para cada prueba, con lo que se obtuvo los siguientes resultados:

3.1.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

CUADRO N° 1. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

	% HUMEDAD	LIMITE DE HUMEDAD
Planta seca	13.20	Hasta 14%

Este parámetro de calidad sirve para determinar la proliferación bacteriana y micótica. Los resultados obtenidos en el cuadro N° 1 indica que el contenido de humedad presente en los raíces y hojas secas y trituradas de taraxaco (*Taraxacum officinale*) es de 13.20% valor que en comparación con el límite máximo admitido (14%) por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos, se encuentra dentro de los valores aceptados, como recomendación general es necesario trabajar con la droga seca en el momento de su obtención y si va a ser almacenada mantenerla en un lugar libre de humedad y de luz.

3.1.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Este parámetro de control de calidad da el porcentaje de minerales presentes en las plantas, sirve para establecer el grado de limpieza de materias primas vegetales, las cenizas solubles e insolubles sirven para determinar adulteraciones en los vegetales y las cenizas insolubles en ácido son una medida de la materia arenosa proveniente de la cosecha de las especies vegetales. Cuando hay un alto contenido de cenizas, superior a la especificación se sugiere la presencia de un adulterante inorgánico.

CUADRO N° 2. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

	%CENIZAS TOTALES	ESPECIFICACIÓN
Planta seca	9.54	Hasta 12 %

El cuadro N° 2 indica que el porcentaje del contenido de cenizas totales fue de 9.54 valor que se encuentran dentro de los límites aceptados para drogas vegetales por la USP , el mismo que indica el contenido de minerales presentes en la muestra.

CUADRO N° 3. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

	%CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	ESPECIFICACIÓN
Planta seca	6.31	7 %

El cuadro N° 3 indica que el porcentaje de cenizas solubles en agua fue de 6.31 que corresponde al material de tipo orgánico presente en la muestra, lo que se encuentra dentro de los límites establecidos (7%) dada por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos.

CUADRO N° 4. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

	%CENIZAS INSOLUBLES EN HCl	ESPECIFICACIÓN
Planta seca	2.63	5 %

El porcentaje de cenizas insolubles en HCl indicado en el cuadro N° 4, demuestra que el valor encontrado (2.63) se encuentra dentro de los límites aceptados (5%) en la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos, lo que indica que la droga seca no tiene una presencia considerable de materia arenosa.

3.2. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

El análisis de control de calidad se realizó en el extracto de Taraxaco (*Taraxacum officinale*) obtenido por percolación de la droga seca con alcohol potable (96%).

3.2.1. DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO

CUADRO N° 5. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

Parámetro	Resultado
Olor	Herbal fuerte
Color	Verde oscuro
Sabor	Amargo
Aspecto	Líquido

Los resultados que se observan en el cuadro N° 5 son las características organolépticas del extracto alcohólico de diente de león (*Taraxacum officinale*), siendo líquido en su aspecto, de color verde oscuro, sabor amargo y olor característico de la planta.

3.2.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO

CUADRO N° 6. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

Parámetro	Resultado
pH	5.85
Índice de refracción	1.3332
Densidad relativa	0.838
Sólidos totales	1.95%
°Brix	2.2

De acuerdo con los resultados indicados en el cuadro N° 6, pH expresa la concentración de iones hidronio [H₃O⁺] presentes en determinadas sustancias. En el extracto de taraxaco (*Taraxacum officinale*) el pH es de 5.85 lo que representa un pH ligeramente ácido. En estudios realizados sobre el taraxaco el pH se ha encontrado entre 5.4 - 6.8 lo que indica que se encuentra dentro del rango referencial.

El índice de refracción es un valor útil que establece la pureza de los aceites esenciales presentes en las plantas. El resultado expuesto es de 1.3332.

La densidad relativa obtenida indica que el extracto de taraxaco (*Taraxacum officinale*) es menos denso que el agua por ser su valor menor a 1.

El total de residuos sólidos filtrables (sales y residuos orgánicos). Si su valor es alto el extracto por lo general es de mal agrado al paladar y pueden inducir una reacción fisiológica adversa en el consumidor. Este parámetro sirve para calcular la dosis para la administración a los grupos experimentales

El °Brix indica la cantidad de sólidos solubles presentes en el extracto alcohólico taraxaco (*Taraxacum officinale*), los cuales se encuentran expresados en porcentaje de sacarosa.

3.2.3. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico ayuda a determinar cualitativamente la presencia de los principales metabolitos secundarios, se utilizaron pruebas cualitativas mediante formación de precipitados o cambios de coloración en la muestra de ensayo.

CUADRO N° 7. RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

ENSAYO	METABOLITO	RESULTADOS	TIPO DE EXTRACTO
SUDÁN III	COMPUESTOS GRASOS	(-)	ETÉREO
DRAGENDORFF	ALCALOIDES	(++)	ETÉREO
MAYER	ALCALOIDES	(++)	ETÉREO
WAGNER	ALCALOIDES	(++)	ETÉREO
BALJET	COMPUESTOS LACTÓNICOS	(+)	ETÉREO
LIEBERMAN BUCHARD	TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	(+)	ETÉREO
CATEQUINAS	CATEQUINAS	(-)	ALCOHÓLICO
RESINAS	RESINAS	(-)	ALCOHÓLICO

FEHLING	PRESENCIA DE AZÚCARES	(+++)	ALCOHÓLICO
BALJET	COMPUESTOS LACTÓNICOS	(+)	ALCOHÓLICO
LIEBERMAN BUCHARD	TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	(+)	ALCOHÓLICO
CLORURO FÉRRICO	COMPUESTOS FENÓLICOS Y/O TANINOS	(+++)	ALCOHÓLICO
NINHIDRINA	AMINOÁCIDOS LIBRES O AMINAS	(++)	ALCOHÓLICO
BORNTRAGER	QUINONAS	(++)	ALCOHÓLICO
SHINODA	FLAVONOIDES	(-)	ALCOHÓLICO
ANTOCIANIDINA	FLAVONOIDES	(+)	ALCOHÓLICO
DRAGENDORFF	ALCALOIDES	(+)	ALCOHÓLICO
MAYER	ALCALOIDES	(+)	ALCOHÓLICO
WAGNER	ALCALOIDES	(+)	ALCOHÓLICO
ESPUMA	SAPONINAS	(++)	ALCOHÓLICO
DRAGENDORFF	ALCALOIDES	(++)	ACUOSO
MAYER	ALCALOIDES	(++)	ACUOSO
WAGNER	ALCALOIDES	(++)	ACUOSO
CLORURO FÉRRICO	COMPUESTOS FENÓLICOS Y/O	(+)	ACUOSO

	TANINOS		
SHINODA	FLAVONOIDES	(++)	ACUOSO
FEHLING	PRESENCIA DE AZÚCARES	(+++)	ACUOSO
ESPUMA	SAPONINAS	(++)	ACUOSO
MUCÍLAGOS	MUCÍLAGOS	(-)	ACUOSO

+++ : ALTA EVIDENCIA
++ : EVIDENCIA
+ : BAJA EVIDENCIA
- : NEGATIVO

Los resultados del tamizaje fitoquímico indicados en el cuadro N° 7, del taraxaco (*Taraxacum officinale*) realizado en el extracto alcohólico, etéreo y acuoso se puede apreciar la existencia de alcaloides, flavonoides, triterpenos y/o esteroides, quinonas, compuestos lactónicos, alcaloides y compuestos fenólicos y/o taninos en una proporción representativa vista en el vegetal.

Además también se encontró la presencia de saponinas y azúcares reductores. El análisis fitoquímico comprueba la presencia de flavonoides, compuestos lactónicos, triterpenos y principios amargos.

Estos datos coinciden con el estudio de compuestos fitoquímico del taraxaco realizado por María José Castro M. en la Universidad de Pamplona en Bucaramanga en el 2005.

3.2.4. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LA PRESENCIA DE INULINA MEDIANTE HPTLC.

El análisis cromatográfico permite separar e identificar compuestos contenidos en una mezcla mediante el cálculo de los Rf áreas de los picos de absorbancia referente a un estandar de inulina validado en 7 subniveles.

El análisis cromatográfico revela la presencia del compuesto inulina en el taraxaco presentando un Rf y máxima absorbancia alrededor de 275 nm.

Inulin on all Tracks

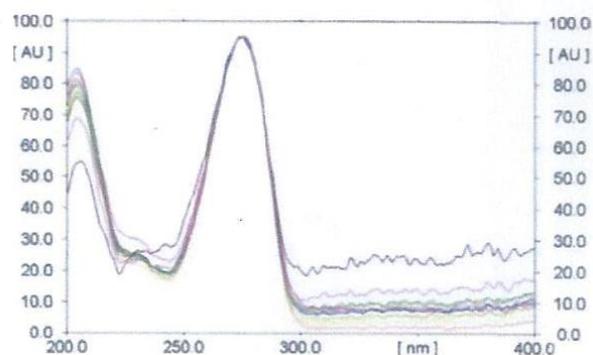


GRAFICO N° 1. ESPECTRO COMPLETO CROMATOGRAFÍA EN HPTLC DE LA MUESTRA DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

CUADRO N° 8. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE INULINA EN LA MUESTRA DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

POSICIÓN DE LA MUESTRA	RF	COMPUESTO ENCONTRADO	ABSORBANCIA MÁXIMA
1	0,63	Inulina	274 nm
2	0,62	Inulina	275 nm
3	0,62	Inulina	275 nm
4	0.62	Inulina	275 nm
5	0.62	Inulina	275 nm
6	0.62	Inulina	275 nm
7	0.62	Inulina	274 nm
8	0.62	Inulina	274 nm
9	0.62	Inulina	274 nm
Porcentaje de concentración de Inulina			2%

Al realizar el análisis descriptivo del espectro de HPTLC es evidente la presencia de inulina en la muestra, posterior al análisis de la misma comparándoles en diferentes niveles de concentración del estandar referencial se presenta el Rf típico de la inulina 0.62 y su absorbancia máxima bajo la radiación ultravioleta 275 nm.

3.3. PÉRDIDA DE PESO EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DURANTE EL ENSAYO DE ACTIVIDAD LAXANTE

Durante el análisis de la actividad laxante del extracto alcohólico de droga seca y triturada de raíces y hojas de taraxaco (*Taraxacum officinale*), los animales experimentaron variaciones en su peso en dependencia de la concentración del extracto administrado, lactulosa o grupo blanco de comparación descriptiva, los datos presentados son el resultado de tres repeticiones durante un periodo de tratamiento de cinco días. El símbolo (-) indica ganancia de peso ANEXO 17.

CUADRO N° 9 RESULTADOS PÉRDIDA DE PESO EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DURANTE EL ENSAYO DE ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

PERDIDA DE PESO	
GRUPOS	PROMEDIO g
BLANCO	-0,033
LACTULOSA	1,100
TARAXACO 40%	0,033
TARAXACO 70%	0,133
TARAXACO 100%	0,233

En este cuadro se observa el resultado final del análisis de pérdida de peso

- Blanco.- No pierde peso al contrario lo gana y es normal puesto que no tiene ningún tratamiento y el signo (-) es porque el resultado de la diferencia de su peso inicial y final arroja valor negativo

- Lactulosa.- Este es el grupo control y es el que más les baja de peso al término de la experimentación
- Taraxaco.- Posee un comportamiento directamente proporcional entre concentración del extracto y pérdida de peso; esto quiere decir a menor concentración hay menor pérdida de peso y lógicamente el de mayor concentración es el que disminuye más el peso al final del ensayo. Al realizar un análisis en los datos calculados la pérdida de peso de los extractos se incrementa en 0.100 g desde el menor al de mayor concentración.

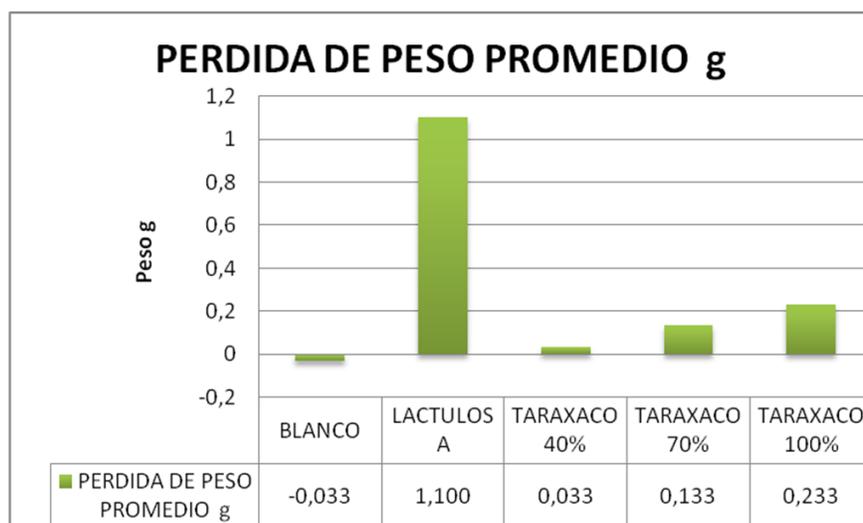


GRÁFICO N° 2. CONCENTRACIÓN RESULTADOS PÉRDIDA DE PESO EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DURANTE EL ENSAYO DE ACTIVIDAD LAXANTE

El Gráfico N° 2 evidencia de mejor manera la pérdida de peso que experimentan los animales durante el transcurso del análisis de la actividad laxante según los datos del Cuadro N° 9

CUADRO N° 10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS PÉRDIDA DE PESO EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DURANTE EL ENSAYO DE ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

GRUPOS	Blanco	Lactulosa	Taraxaco 40%	Taraxaco 70%	Taraxaco 100%
N	3	3	3	3	3
Media	-0.0333	1.1000	0.0333	0.1333	0.2333
Varianza	0.0233	0.0100	0.0233	0.0133	0.0633
Desviación Típica	0.1528	0.1000	0.1528	0.1155	0.2517
Mínimo	-0.2000	1.0000	-0.1000	0.0000	0.0000
Máximo	0.1000	1.2000	0.2000	0.2000	0.5000

De acuerdo a los datos indicados en el Cuadro N° 10, N representa el número de repeticiones del ensayo en cada grupo, En el presente cuadro podemos evaluar los datos obtenidos las medias de pérdida de peso con las que estamos trabajando la varianza y desviación típica sirve para medir la centralización y homogeneidad de los datos mientras más pequeños sean estos datos hay mayor confiabilidad en el ensayo y tenemos:

Blanco.- No pierde peso al contrario lo gana, su varianza es muy pequeña 0.0233 lo que nos indica comportamiento regular del blanco. Y la desviación de 0.1528 significa que los datos poseen una centralización marcada.

Lactulosa.- Posee el menor valor de varianza 0.0100 y desviación típica 0.1000 esto es normal ya que es el grupo control estandarizado que no tiene comportamiento errático o disperso de individuo a individuo de estudio y su media nos indica que al término del ensayo han perdido 1.100 g

Taraxaco 40%.- posee un comportamiento idéntico al del blanco con respecto a la varianza y desviación tiene un valor de 0.1528 y 0.233 respectivamente la pérdida de peso es muy baja con una media de 0.0333 g al final del ensayo

Taraxaco 70%.- Presenta una varianza de 0.1155 y desviación típica de 0.0133 lo que nos indica que su centralización y homogeneidad es mucho mayor que el blanco y que el extracto al 40%. Al final de la experimentación este grupo presenta una pérdida de peso de 0.133 g mayor al extracto al 40% y blanco.

Taraxaco 100%.- Posee una varianza de 0.633 y desviación típica de 0.2517 este grupo presenta una mayor dispersión que los otros grupos de estudio a pesar de ello la centralización y homogeneidad de los datos es significativa de análisis estadísticamente hablando además este grupo presenta una mayor pérdida de peso con un valor de 0.2333 g.

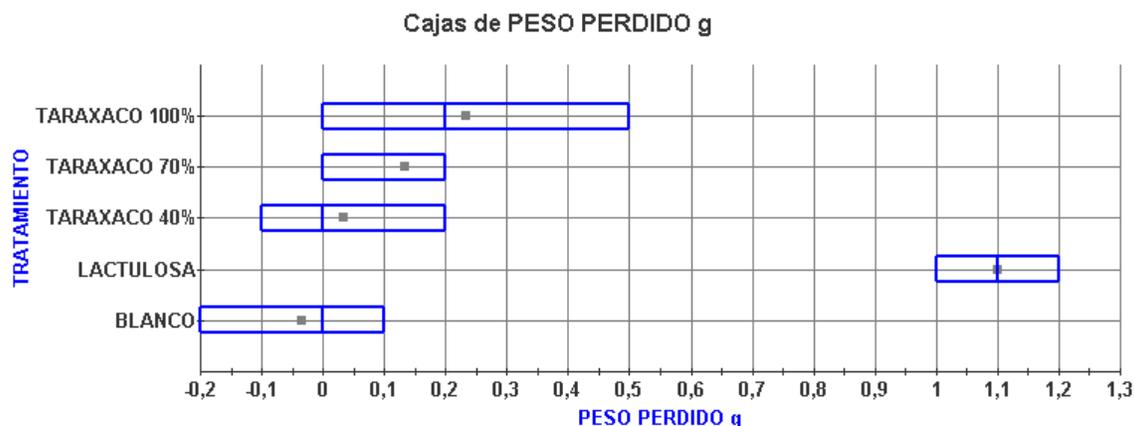


GRÁFICO N° 3. CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE LOS DATOS PÉRDIDA DE PESO EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DURANTE EL ENSAYO DE ACTIVIDAD LAXANTE

El gráfico N° 3 muestra de una mejor manera la tendencia de los datos, los valores de las medias de cada grupo analizado y su interrelación con respecto al extracto de análisis se observa didácticamente todos los resultados del análisis estadístico de los datos obtenidos mientras más grande la caja mayor dispersión y el punto que se encuentra en la mitad (media) indica la centralización de los datos.

CUADRO N° 11. PÉRDIDA DE PESO EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DURANTE EL ENSAYO DE ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). ANOVA UN FACTOR COMPARACIONES MÚLTIPLES. MÉTODO: TUKEY HSD AL 95.00%. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

TRATAMIENTO	N	Media	Grupos Homogéneos	
Blanco	3	-0.0333	X	
Taraxaco 40%	3	0.0333	X	
Taraxaco 70%	3	0.1333	X	
Taraxaco 100%0	3	0.2333	X	
Lactulosa	3	1.1000	X	
Entre grupos	P – Valor		0.0004	
Contraste			Diferencia	+/- Límite
Blanco VS Lactulosa			*-1.1333	*0.4388
Blanco VS Taraxaco 40%			-0.0657	0.4388
Blanco VS Taraxaco 70%			-0.1667	0.4388
Blanco VS Taraxaco 100%			-0.2667	0.4388
Lactulosa VS Taraxaco 40%			*1.0667	*0.4388
Lactulosa VS Taraxaco 70%			*0.9667	*0.4388
Lactulosa VS Taraxaco 100%			*0.8667	*0.4388
Taraxaco 40% VS Taraxaco 70%			-0.1000	0.4388
Taraxaco 40% VS Taraxaco 100%			-0.2000	0.4388
Taraxaco 70% VS Taraxaco 100%			-0.1000	0.4388

*Diferencia estadísticamente significativa.

El P-valor es de 0.0004 menor a 0.05 por lo que se acepta la hipótesis alternativa que determina que al menos uno de los grupos presenta diferencias estadísticamente significativas con respecto al resto en función de la acción de perder peso en los animales de experimentación durante el transcurso del ensayo.

El cuadro N° 11 indica la homogeneidad entre grupo es decir los tratamientos que estadísticamente hablando tienen el mismo comportamiento y se observa que el blanco y el taraxaco en sus diferentes concentraciones tienen el mismo comportamiento en el momento de bajar peso

El único grupo que posee una diferencia significativa es el del grupo control Lactulosa que no está en la misma fila que los demás y es el único que presenta diferencia estadística.

3.4. ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

En función de la concentración de los extractos de taraxaco (*Taraxacum officinale*), se va a evidenciar la actividad laxante que presentan los mismos en un periodo de estudio de 5 días teniendo como patrón referencial un grupo bajo tratamiento de Lactulosa y para evidenciar los cambios fisiológicos en relación a un comportamiento normal de los animales de experimentación se mantendrá un grupo de comparación blanco que no presentara ningún tratamiento.

CUADRO N° 12. RESULTADOS ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

ACTIVIDAD LAXANTE	
TRATAMIENTO	HECES g
BLANCO	0,130
LACTULOSA	0,286
TARAXACO 40%	0,159
TARAXACO 70%	0,195
TARAXACO 100%	0,257

Para valorar la actividad laxante de los distintos extractos se toma como factor de comparación el peso de las heces promedio en un día después de realizar un seguimiento de 5 días.

Los extractos ensayados presentan un comportamiento directamente proporcional a mayor concentración existe una mayor actividad laxante así tenemos que para el Taraxaco al 40% hay un peso de heces de 0159 g, para el Taraxaco al 70% se establece un peso de 0.195 g de heces y mientras que el Taraxaco al 100% alcanzo un peso de 0.257 g de heces colocándolo como el extracto de mayor rendimiento si lo comparamos frente al estandar de Lactulosa que presento un peso de 0.286 g de heces. ANEXO 18

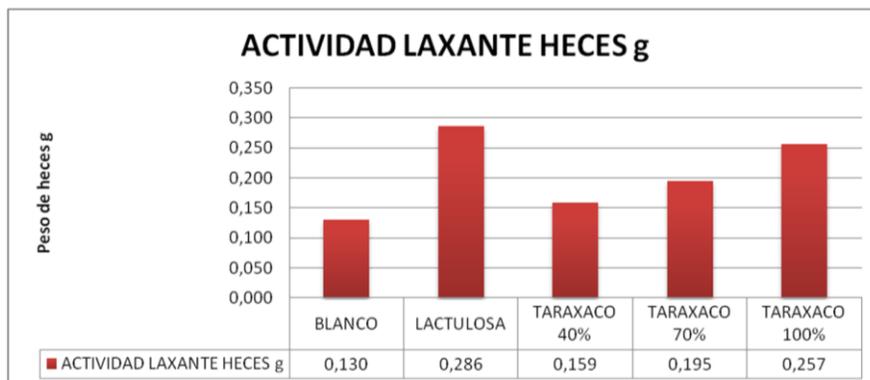


GRÁFICO N° 4. ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

El Gráfico N° 4 evidencia de mejor manera la actividad laxante de cada extracto utilizado para el ensayo en relación al estandar de Lactulosa según los datos del Cuadro N° 12.

CUADRO N° 13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

GRUPOS	Blanco	Lactulosa	Taraxaco 40%	Taraxaco 70%	Taraxaco 100%
N	5	5	5	5	5
Media	0.1302	0.2860	0.1592	0.1952	0.2574
Varianza	0.0001	0.0001	0.0007	0.0007	0.0001
Desviación Típica	0.0035	0.0039	0.0008	0.0008	0.0011
Mínimo	0.1260	0.2810	0.1580	0.1940	0.2560
Máximo	0.1350	0.2900	0.1600	0.1960	0.2590

El presente estudio demuestra una gran confiabilidad puesto que los datos de varianza y desviación típica son mínimos en todos los grupos de análisis de esta manera se garantiza la homogeneidad y centralización de los mismos al evaluar los datos del estadístico cuadro N° 13 el comportamiento es bastante lógico:

Blanco.- La media de los pesos de las heces de los ratones en este grupo es de 0.1302 lo que nos indica el punto de partida es la referencia de actividad laxante nula para los extractos ensayados a distintas concentraciones.

Lactulosa.- posee una media de 0.286 g es el control positivo y es el que más acción laxante tiene como puede verse duplica aproximadamente el peso de las heces del grupo Blanco.

Taraxaco 40%.- se presenta una media de 0.1592 g se evidencia una actividad laxante ligeramente por encima de la media del grupo Blanco pero este valor no es significativo en el análisis estadístico.

Taraxaco 70%.- la media presenta un valor de 0.1952 g ligeramente por encima de los valores de blanco y concentración del 40%, este valor ya posee una significancia estadística aunque muy mínima.

Taraxaco 100%.- presenta un valor medio del peso de las heces de ratones de 0.2574 g que ya presenta una gran significancia estadística, el presente grupo es el de mejor accionar en la actividad laxante aunque no alcanza los valores del estandar, su desempeño es muy considerable.

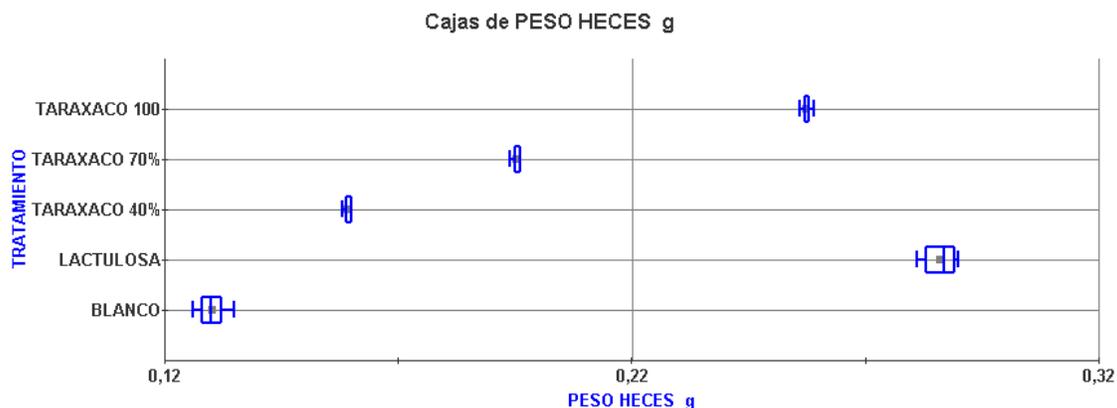


GRÁFICO N° 5. CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

El gráfico N° 5 expresa de mejor manera la dispersión de los datos dentro de los grupos de análisis y su respectivo comportamiento de la actividad laxante de esta manera tenemos que la centralización de los datos y homogeneidad de los mismos presenta un comportamiento idealizado arrojando como resultado de máxima eficacia el extracto de concentración 100%

CUADRO N° 14. ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). ANOVA UN FACTOR COMPARACIONES MÚLTIPLES. MÉTODO: TUKEY HSD AL 95.00%. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

TRATAMIENTO	N	Media	Grupos Homogéneos	
Blanco	5	0.1302	X	
Taraxaco 40%	5	0.1592	X	
Taraxaco 70%	5	0.1952	X	
Taraxaco 100%0	5	0.2574	X	
Lactulosa	5	1.2860	X	
Entre grupos	P – Valor		0.0003	
Contraste			Diferencia	+/- Límite
Blanco VS Lactulosa			*-0.1558	*0.0046
Blanco VS Taraxaco 40%			*-0.0290	*0.0046

Blanco VS Taraxaco 70%	*-0.0650	*0.0046
Blanco VS Taraxaco 100%	*-0.1272	*0.0046
Lactulosa VS Taraxaco 40%	*0.1268	*0.0046
Lactulosa VS Taraxaco 70%	*0.0908	*0.0046
Lactulosa VS Taraxaco 100%	*0.0286	*0.0046
Taraxaco 40% VS Taraxaco 70%	*-0.0360	*0.0046
Taraxaco 40% VS Taraxaco 100%	*-0.0982	*0.0046
Taraxaco 70% VS Taraxaco 100%	*-0.0622	*0.0046

En este análisis se nota que no existe homogeneidad entre grupos puesto que cada uno con respecto a la actividad laxante posee su propio desempeño presentando un valor mínimo otorgado por el blanco y un límite máximo dado por el estandar lactulosa, dentro de esta escala marcada se desarrolla el comportamiento del taraxaco a diferentes concentraciones presentando una evolución jerárquica a mayor concentración mayor efecto laxante. Obviamente por la heterogeneidad entre grupos existen diferencias significativas entre todos ellos y como valor estadístico de aceptación tenemos un P – valor de 0.0003

3.5. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE FRECUENCIA DE LAS EVACUACIONES

Con este análisis se puede respaldar lo obtenido en el análisis de la actividad laxante ya que entre el grupo Blanco y Estandar se describe una escala de referencia dentro del cual el Taraxaco 40% presenta una frecuencia de 4 evacuaciones diarias, el Taraxaco a 70% y 100% a pesar de que tienen la misma frecuencia de 5 si cotejamos los datos el peso de las heces obtenido con Taraxaco al 100% es mayor lo que indica que en este grupo hay mayor concentración de heces.

CUADRO N° 15. RESULTADOS DE EVACUACIONES POR EFECTO DE LA ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

**FRECUENCIA DE LAS
EVACUACIONES**

TRATAMIENTO	EVACUACIONES
BLANCO	3
LACTULOSA	6
TARAXACO 40%	4
TARAXACO 70%	5
TARAXACO 100%	5

En el Cuadro N° 15 podemos observar que el comportamiento del extracto etanólico y metanólico es el mismo posee una inhibición de la oxidación bastante considerable con un 69.57% de inhibición de la oxidación estos extractos son los que mejor desempeño de la actividad antioxidante presentan frente a la del estandar Ac. Ascórbico, los porcentajes de inhibición del extracto acuoso y acetónico 46.96% y 3.48% respectivamente son superiores a los presentados cuando se realizó el ensayo a 10 ppm aun no son considerables ya que el extracto acuoso todavía no marca siquiera el 50 % de la inhibición y el extracto acetónico presenta un porcentaje de inhibición muy ínfimo.

FRECUENCIA DE LAS EVACUACIONES

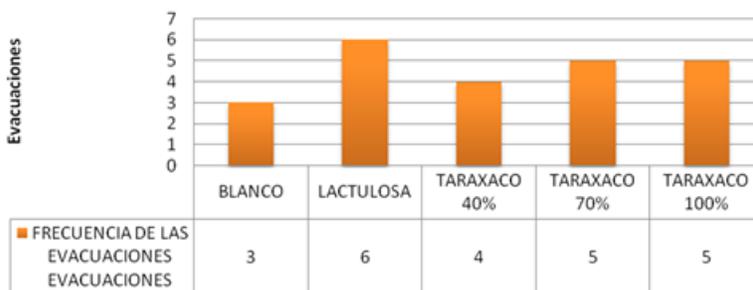


GRÁFICO N° 6. FRECUENCIA DE EVACUACIONES POR EFECTO DE LA ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

El Gráfico N° 6 evidencia de mejor manera la frecuencia de evacuaciones de cada extracto utilizado para el ensayo en relación al estandar de Lactulosa según los datos del Cuadro N° 15.

3.6. PROTOCOLO HISTOPATOLOGICO A RATONES QUE SE LES ADMINISTRO EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

Una vez culminado el ensayo se realizó una prueba de toxicidad aguda tomando como dosis de interés el extracto al 100% para ello fue necesario sacrificar a los animales de experimentación y extraer sus órganos vitales para identificar posibles anomalías después del examen histopatológico se delevó que el extracto ensayado no dañaba los órganos estudiados por lo tanto se garantizaba su uso y se descartaba posibles efectos toxicos.

EXTRACTO ADMINISTRADO	ÓRGANOS	EXÁMENES
TARAXACO <i>(Taraxacum officinale)</i> . 100%	ESTOMAGO	Microscópico Mucosa gástrica íntegra; glándulas de estructura histológica normal; no se observa áreas hemorrágicas en lámina propia.
		Macroscópico Mide 1.5 cm en su curvatura mayor. Mucosa pálida.
	HÍGADO	Microscópico Lobulillos hepáticos de arquitectura normal; hepatocitos morfológicamente normales; espacios porta con vasos adecuados.
		Macroscópico Mide 2.3 cm con aspecto normal. Color rojo vinoso.
	RIÑÓN	Microscópico Glomérulos renales con integridad de la capsula de Bowman; integridad epitelial normal; túbulos de calibre conservado: no se observan depósitos en su interior.
		Macroscópico Mide 1.5 cm con aspecto normal. Color rojo. Al corte corteza y medula normales.

CUADRO N° 16. RESULTADOS DEL EXAMEN HISTOPATOLOGICO DESPUES DE UN ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA CON EXTRACTO DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). 100%

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Se comprobó científicamente in vivo, que el extracto etanólico de hojas y raíces de taraxaco (*Taraxacum officinale*) tiene un efecto laxante. Al ser administrado por vía oral a los animales de experimentación se pudo observar el aumento en la frecuencia de realizar la deposición. Cuadro N° 15.
2. Con los resultados obtenidos en el cuadro N° 12 se demostró que a mayor concentración de extracto hay mayor efecto laxante, es decir que el extracto al 100 % resultó más eficaz que la concentración al 40% y 70%.
3. Los resultados de la prueba de toxicidad aguda reflejaron que el extracto de taraxaco al 100% no resulta tóxico al ser administrado y puede ser utilizado sin restricciones. Cuadro N° 16.
4. El compuesto que le proporciona el efecto laxante al taraxaco es la inulina, lo cual se comprobó mediante la cualificación y cuantificación de este polisacárido en HPTLC que dio como resultado que en el taraxaco se encuentra presente en un 2%. Cuadro N° 8.
5. El tamizaje fitoquímico del taraxaco (*Taraxacum officinale*) reveló que los metabolitos secundarios que presenta son: flavonoides, alcaloides, triterpenos, esteroides, quinonas, compuestos fenólicos, taninos, aminas, saponinas y principios amargos en general es destaca en dicha planta. Cuadro N° 7.

6. En el control de calidad de la droga seca de taraxaco (*Taraxacumofficinale*) los resultados de humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en HCl que se obtuvieron demuestran que están dentro de los límites establecidos respecto a la USP. Cuadro N° 1 al 4.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Antes de llevar a cabo un estudio in vivo, se recomienda primero acondicionar al ambiente al que se vaya a manipular a los animales de experimentación, lo cual permite un manejo adecuado con resultados más reales.
2. Mientras se realiza el control de calidad de la materia prima, se debe utilizar la misma materia prima para todas las determinaciones, pues de esta sencilla forma se evitara tener variaciones significativas en los resultados.
3. Se recomienda realizar un estudio avanzado para extraer inulina del taraxaco que puede ser aprovechada para formulaciones farmacéuticas.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

“Comprobación del efecto laxante del extracto etanólico de raíces y hojas de taraxaco (*Taraxacum officinale*) en ratones (*Mus musculus*)” en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en el periodo del 20 de Octubre a 24 de Noviembre del 2012.

Se llevó a cabo un método experimental utilizando extracto de raíces y hojas del taraxaco en tres grupos de tres ratones, cada uno denominados según la concentración del extracto que se administró al 40%, 70% y 100% respectivamente, para lo cual se empleó una cánula y tres jeringuillas.

Para evaluar la actividad laxante se administró a los animales de experimentación extracto de taraxaco al 40%, 70% y 100% durante 5 días. Se cuantificó el peso de las heces de los ratones por día. Obteniendo los siguientes resultados: Taraxaco 40% 0.159 g, taraxaco 70% 0.195 g y taraxaco 100% 0.257 g. Estos datos fueron analizados estadísticamente mediante la aplicación del programa G-Stat 2.0 usando el método ANOVA un factor comparaciones Múltiples. Método: Tukey HSD al 95.00% de sensibilidad.

Se demostró que a mayor concentración de extracto hay mayor efecto laxante, es decir que el extracto al 100 % resultó más eficaz que la concentración al 40% y 70%.

El extracto al 100 % no arrojó ningún resultado en el ensayo de toxicidad aguda, por lo que su administración es segura en animales.

Se recomienda realizar un estudio avanzado para extraer inulina del taraxaco que puede ser aprovechada para formulaciones farmacéuticas.

SUMMARY

“Checking the laxative effect of ethanolic extract of roots and leaves of dandelion (*Taraxacum officinale*) in mice (*Mus musculus*)” at the biotery, Biochemistry and Pharmacy School, Sciences Faculty, Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, during October 20th to November 24th, 2012.

An experimental method was carried out by using extract of dandelion roots and leaves in three groups of three mice, each known according to the extract concentration that was administered at 40%, 70% and 100% respectively, for which purpose, a cannula and three syringes were employed.

The dandelion extract at 40%, 70%, and 100% was administered to experimental animals for 5 days, to evaluate the laxative activity. The weight of mice feces was quantified by day. The results were: dandelion 40%:0.159g, dandelion 70%: 0.195g y dandelion 100%: 0.257g. Such data were statistically analyzed by applying the G-Stat 2.0 program by using ANOVA method, a factor of multi-comparisons. Method: Tukey HSD at 95% sensitivity.

It was demonstrate that the higher the concentration of the extract, the greater laxative effect, that is, 100% extract proved to be more effective than the 40% concentration an 70%. The extract 100% came up with nothing at the acute toxic test, so its administration is secure in animals.

It is recommended to carry out an advanced study to extract dandelion inuline that can be exploited for pharmaceutical formulations.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALBORNOZ, A.**, Productos Naturales., Caracas - Venezuela., Publicaciones UCV., 1980., Pp. 16-58.
2. **BELLUCCI, S.**, Remington Farmacia., 20a ed., Washington - USA., 2000., Pp. 1431 – 1460.
3. **BUENO, R.**, Historia de las hierbas mágicas y medicinales., Madrid – España., Ediciones Nowtilus., 2008., Pp. 32–33.
4. **CONTRERA, E.**, Retorno a las Plantas Medicinales., Madrid – España., Ed Ciencia y Técnica., 2004., Pp. 56-58.
5. **DOMÍNGUEZ, X.**, Métodos de investigación fitoquímica., México DF – México., Ed Limusa., Pp. 973.
6. **ESCUADERO, A.**, Guía para prevenir y tratar el estreñimiento., 1a ed., Madrid – España., Fundación española del aparato digestivo., 2009., Pp. 22-27.
7. **GUÍMARO, A.**, Enciclopedia de las Plantas que curan., 2a edición. Sao Paulo – Brasil., Editorial Conselho., 1994., Pp. 184-185.
8. **LÓPEZ, M.**, Plantas de acción laxante en el tratamiento del estreñimiento primario Fitoterapia., 4a ed., Bogotá – Colombia., 2003., Pp. 24-25.

9. **MEDWAVE.,** Constipación: repercusiones nutricionales y enfrentamiento., 9a ed., México DF - México ., 2008., Pp. 123-132
10. **MONES, J.,** El médico en casa. Comprender el estreñimiento y la diarrea., 5a ed., Barcelona - España., 2009., Pp. 24-26.
11. **OSORIO, D.,** Plantas Aromáticas y Medicinales., Bogotá – Colombia., Editorial Grupo Latino LTDA., 2003., Pp. 13-14.
12. **REY, E.,** Trastornos motores del aparato digestivo., 2a ed., Buenos Aires – Argentina., 2007., Pp. 219–239.
13. **SALAZAR, M.,** Tratado de Psicofarmacología., 2a ed., 2009., México DF – México., Pp. 618.
14. **TREASE. G.,** Farmacognosia Interamericana., 3a ed., McGraw – Hill., 1991; Pp. 220 – 253.
15. **WAGNER, K., BLADT, S.,** Plant Drug Analysis., 2a ed., ReBerlin - Alemania. Springer., 1996., Pp. 96-97
16. **GIMENO. J.,** Revista Diente de León. Medicina Naturista., 2000., Volumen N° 1., Madrid - España., Pp. 20–23.
17. **PARRA, M.,** Tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad laxante de los Tallos y semillas de pitajaya (*Hilocerius triangularis*)., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Bioquímica y Farmacia., Riobamba - Ecuador., TESIS., 2010., Pp. 1–41.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

18. CENTRO PRIVADO DE CIRUGIA Y COLOPROGTOLOGÍA

<http://www.coloproctologia.com.ar/infopaconstipacion.htm>

2012/08/20

19. CONSENSO LATINOAMERICANO DE ESTREÑIMIENTO CRÓNICO.

http://parasitosdelganado.net/index.php?option=com_content&view=article&

2012/08/30

20. DIENTE DE LEÓN

<http://farmaciavictoriacar.com/index.php/>

2012/09/10

21. DIENTE LEON ZEA MAIS 40 G. FARMACIAS VICTORIA CARO.

<http://saludquillota.cl/vademecumdientedeleon/ACCIONES/A42.HTM>

2012/09/16

22. EVALUAR LA TOXICIDAD AGUDA

<http://www.cancerteam.com.ar/etch001.html>

2012/09/22

23. PARTICULARIDADES DEL CULTIVO DE TARAXACO

<http://www.euroresidentes.com/Alimentos/hierbas/diente-de-leon.htm>

2012/09/27

24. ESTREÑIMIENTO CAUSAS Y SOLUCIONES.

www.nutricionortomolecular.com

2012/09/27

25. PLANTAS MEDICINALES

<http://www.webdehogar.com/salud-familiar/05060104.htm> 20111102

2012/09/30

26. PRINCIPALES CAUSAS Y CONSECUENCIAS DEL ESTREÑIMIENTO.

<http://www.medicina21.com/doc.php?apartat=Dossier&id=19>

2012/10/05

27. PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL DIENTE DE LEÓN

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102847962009000300005&script=sci_art

2012/10/08

28. PROPIEDADES DEL DIENTE DE LEÓN

<http://www.vitadelia.com/miscelanea/propiedades-del-diente-de-leon>

2012/10/15

29. TOXICIDAD AGUDA EN RATONES

www.carloshaya.net/biblioteca/...12/consenso_latinoamericano.pdf

2012/10/25

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO N° 1 MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA N°1 planta de taraxaco (*Taraxacum officinale*)

ANEXO N° 2 EQUIPOS USADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA N°2 Balanza Analítica



FOTOGRAFÍA N°3 Estufa



FOTOGRAFÍA N°4 Mufla



FOTOGRAFÍA N°5 Desecador

ANEXO N° 3 EQUIPOS USADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ALCOHOLICO



FOTOGRAFÍA N°6 pH-metro



FOTOGRAFÍA N°7 Refractómetro

ANEXO N° 4 ACTIVIDAD LAXANTE EN RATONES (*Mus musculus*)



FOTOGRAFÍA N° 8 Inducción de extracto de taraxaco (*Taraxacum officinale*)



FOTOGRAFÍA N° 9 Disección de ratones (*Mus musculus*) después de tratamiento

ANEXO Nº 5. BASE DE DATOS ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*).

CUADRO Nº 17. DATOS DE PÉRDIDA DE PESO EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DURANTE EL ENSAYO DE ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

COMPORTAMIENTO DEL PESO DE LOS RATONES DURANTE EL ENSAYO

GRUPOS	PESO INICIAL g	PESO FINAL g	DIFERENCIA g	PROMEDIO g
BLANCO	75,3	75,5	-0,2	-0,033
	78,5	78,4	0,1	
	80,9	80,9	0,0	
LACTULOSA	80,4	79,2	1,2	1,100
	83,4	82,3	1,1	
	78,2	77,2	1,0	
TARAXACO 40%	78,3	78,3	0,0	0,033
	75,5	75,3	0,2	
	84,1	84,2	-0,1	
TARAXACO 70%	80,9	80,9	0,0	0,133
	78,7	78,5	0,2	
	83,8	83,6	0,2	
TARAXACO 100%	79,7	79,5	0,2	0,233
	85,0	85,0	0,0	
	78,8	78,3	0,5	

CUADRO N° 18. DATOS DE ACTIVIDAD LAXANTE DEL EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. NOVIEMBRE DEL 2012.

ACTIVIDAD LAXANTE (5 DIAS)		
TRATAMIENTO	PESO DE HECES g	PROMEDIO g
BLANCO	0,135	0,130
	0,128	
	0,130	
	0,126	
	0,132	
LACTULOSA	0,283	0,286
	0,281	
	0,287	
	0,290	
	0,289	
TARAXACO 40%	0,158	0,159
	0,160	
	0,159	
	0,160	
	0,159	
TARAXACO 70%	0,195	0,195
	0,195	
	0,196	
	0,194	
	0,196	
TARAXACO 100%	0,257	0,257
	0,256	
	0,257	
	0,259	
	0,258	

**ANEXO Nº 6 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LA PRESENCIA DE INULINA
MEDIANTE HPTLC.**

winCATS Planar Chromatography Manager

Analysis report

Method C:\CAMAG\winCATS\Data\Inulin in dandelion extract.cme
 Created by Last modified by Jan Masthoff Jueves, 04 de Mayo de 2006 4:27:07
 SOP document Validated Jan Masthoff Jueves, 04 de Mayo de 2006 4:28:54
 Description: Design

Analysis C:\CAMAG\winCATS\Data\Inulin in dandelion extract.cna
 Created/used by Current user Jan Masthoff Jueves, 04 de Mayo de 2006 5:55:03
 HPTLC SYSTEM

Stationary phase

Executed by supervisor Jueves, 04 de Mayo de 2006 5:51:13
 Platesize(XxY) 20.0 x 10.0 cm
 Material HPTLC plates silica gel 60 F 254
 Manufacturer E. MERCK KGaA
 Batch OB526793
 GLP code
 Pre-washing
 Modification No
 No

Definitions - Quantification

Executed by Jan Masthoff Jueves, 04 de Mayo de 2006 4:47:48

Calibration parameters

Calibration mode Multi level
 Statistics mode CV
 Evaluation mode Peak Height & Area

Samples

Sample ID: Dandelion extract

Amount	Volume Solution	Dilution	factorReference	Amount
1375.000 mg	50.0000 mL	5.0000	1000.000 mg	

Samples

Sample ID: Control standard

Amount	Volume Solution	Dilution	factorReference
500.000 mg	250.0000 mL	100.0000	500.000 mg

Substance name	Rf	Window size	Regression	Deviation	Manufacturer	Batch number	Product number
Inulin	0.62	0.7 mm	Polynomial	0.00%	Merck	03645	1.02584

Standards absolute

Standard level	Substance	Amount/fraction
Standard level1	Inulin	40.0000 ng
Standard level2	Inulin	80.0000 ng
Standard level3	Inulin	120.0000 ng
Standard level4	Substance	Amount/fraction

winCATS Planar Chromatography Manager

	Inulin	160.0000 ng
Standard level5	Substance Inulin	Amount/fraction 200.0000 ng
Standard level6	Substance Inulin	Amount/fraction 240.0000 ng
Standard level7	Substance Inulin	Amount/fraction 280.0000 ng

Sample application - CAMAG Linomat 5

Instrument CAMAG Linomat 5 "Linomat5_080224" S/N 080224 (1.00.12)
Executed by Jan Masthoff

Linomat 5 application parameters Jueves, 04 de Mayo de 2006 5:07:45

Spray gas: Inert gas
Sample solvent type: Ethanol
Dosage 100 nl/s
Predosage volume: 0.2 ul

Sequence

Syringe size: 100 Mi
Number of tracks: 13
Application position Y: 8.0 mm
Band length: 8.0 mm

No.	ApDI. Dositjon	Appl. volume	Vial*	Sample ID	Active
>1	30.0 mm	2.0 Mi	1		Yes
>2	41.6 mm	2.0 ul	2	Dandelion extract	Yes
>3	53.2 mm	4.0 Mi	1		Yes
>4	64.8 mm	2.0 Mi	2	Dandelion extract	Yes
>5	76.4 mm	6.0 Mi	1		Yes
>6	88.0 mm	2.0 Mi	2	Dandelion extract	Yes
>7	99.6 mm	8.0 Mi	1		Yes
>8	111.2 mm	6.0 Mi	3	Control standard	Yes
>9	122.8 mm	10.0 Mi	1		Yes
>10	134.4 mm	6.0 Mi	3	Control standard	Yes
>11	146.0 mm	12.0 Mi	1		Yes
>12	157.6 mm	6.0 Mi	3	Control standard	Yes
>13	169.2 mm	14.0 Mi	1		Yes

Development - Glass tank

Chamber type	Twin Trough Chamber 20x1 Ocorr
Executed by	Jan Masthoff Jueves, 04
Comment	
Pre-conditioning	Standard configuraron
Mobile phase	2-propanol - ethyl acetate 40:60
Solvent front position	50.0 mm
Volume	10.0 ml
Drying device	Hair Dryer
Temperature	40 °C
Time	3 Minutes
Notes	

winCATS Planar Chromatography Manager

Detection - CAMAG TLC Scanner 3

Information

Application position	8.0 mm
Solvent front position	50.0 mm

Instrument

Executed by	CAMAG TLC Scanner 3 "Scanner3_090201" S/N 090201 (1.14.26)
Number of tracks	supervisor Jueves, 04 de Mayo de 2006 5:51:13
Position of first track	13
X Distance between tracks	30.0 mm
Sean start pos. Y	11.6mm
Sean end pos. Y	5.0 mm
Slit dimensions	50.0 mm
Optimize optical system	4.00 x 0.30 mm, Micro
Scanning speed: Data resolution:	Light 20 mm/s 100 um/step

Measurement Table

Wavelength	
Lamp	275
Measurement Type	D2&W
Measurement Mode	Remission
Optical filter	Absorption
Detector mode	Second order
PM high voltage	Automatic 300 V

Detector properties

Y-position for 0 adjust	
Track # for 0 adjust	
Analog Offset	5.0 mm 0
Sensitivity	10% Automatic (21)

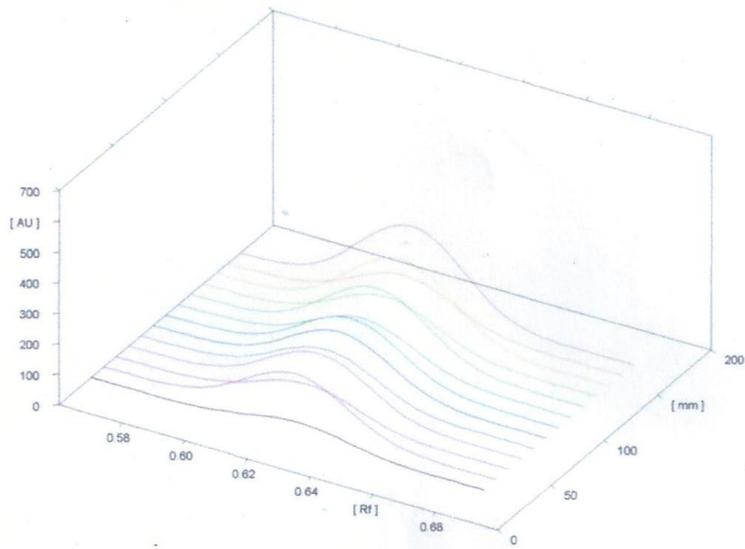
Integration

Properties

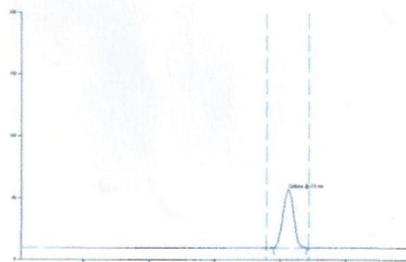
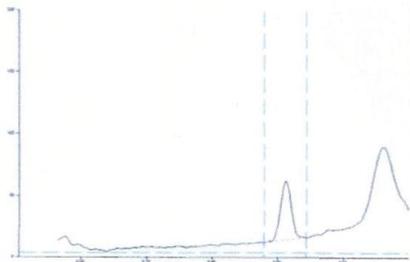
Data filtering	Baseline
correction	Lowest Slope
Peak threshold	5
min. slope	10 AU
Peak threshold	50
min. height	990 AU
Peak threshold	31.6 mm
min. area	990 AU
Peak threshold	37.0 mm
max. height	Automatic
Track start position	
Track end position	
Display scaling	
display	

winCATS Planar Chromatography Manager

All tracks at Wavelength



Track 1, ID: Standard1



Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.58	0.3	0.63	47.8	100.00	0.68	0.3	768.7	100.00	Inulin

winCATS Planar Chromatography Manager

Spectrum scan

Executed by	Jueves, 04 de Mayo de 2006 5:39:43
Mode	Jan Masthoff
Slit dimensions	All detected peaks
Optimize optical system	4.00 x 0.30 mm, Micro
Scanning speed	Resolution
Data resolution	100nm/s
Reference spectrum, pos X	1 nm/step
Reference spectrum, pos Y	10.0 mm
	5.0 mm

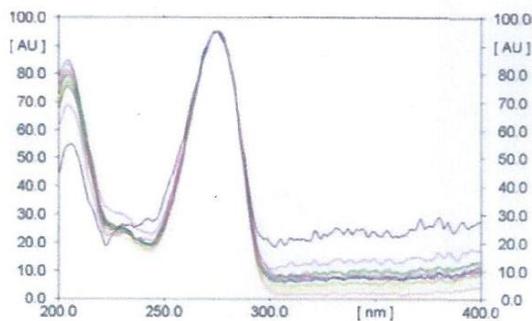
Measurement Table

Lamp	D2&W 200
Start wavelength	nm 400 nm
End wavelength	Remission
Measurement type	Absorption
Measurement Mode	Second order
Optical filter	Detector
Mode	Automatic

Detector properties

Y-position for 0 adjust	0.0 mm 0
Track# for 0 adjust	10%
Analog Offset	Automatic (15)
Sensitivity	

Inulin on all Tracks



T	Rf	Substance	Max. @
1	0.63	Rf Inulin	274 nm
2	0.62	Rf Inulin	275 nm
3	0.62	Rf Inulin	276 nm
4	0.62	Rf Inulin	275 nm
5	0.62	Rf Inulin	275 nm
6	0.62	Rf Inulin	275 nm
7	0.62	Rf Inulin	274 nm
8	0.62	Rf Inulin	274 nm
9	0.62	Rf Inulin	274 nm
1	0.62	Rf Inulin	275 nm
1	0.62	Rf Inulin	274 nm
1	0.62	Rf Inulin	274 nm
1	0.61	Rf Inulin	274 nm

Evaluation resulte

winCATS Planar Chromatography Manager

Evaluation Sequence

Track	Track type	Vial	Sample ID
1	Standard1	1	
2	Sample	2	Dandelion extract
3	Standard2	1	
4	Sample	2	Dandelion extract
5	Standard3	1	
6	Sample	2	Dandelion extract
7	Standard4	1	
8	Sample	3	Control standard
9	Standard5	1	
10	Sample	3	Control standard
11	Standard6	1	
12	Sample	3	Control standard
13	Standard7	1	

Results per track

Substance: inulin @ 275 nm

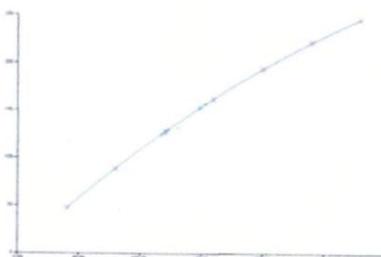
Regression via height: polynomial
Regression via area: polynomial

$$Y = 2.168 + 1.174 * X + -0.001085 * X^2$$

$$Y = 21.16 + 19 * X + -0.01474 * X^2$$

r = 0.99997 sdv = 0.44
r = 0.99993 sdv = 0.68

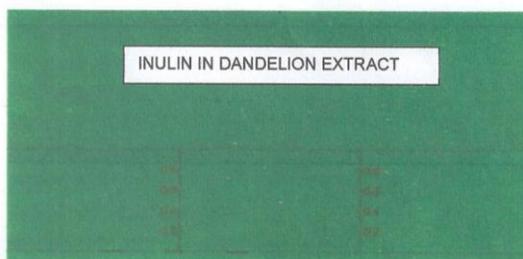
Track	Via	Rf	Amount	Height	X(Calc)	Area	X(Calc)	SampleID/Remark
1	1	0.62	40.00ng	47.77		768.71		
2	2	0.62		156.86	153.57ng	2617.13	155.30ng	Dandelion extract
3	1	0.62	80.00ng	88.26		1433.07		
4	2	0.62		153.22	149.26ng	2545.59	150.36ng	Dandelion extract
5	1	0.62	120.00ng	128.14		2090.19		
6	2	0.62		152.69	148.64ng	1513.04	148.13ng	Dandelion extract
7	1	0.62	160.00ng	161.70		2668.46		
8	3	0.62		127.22	119.78ng	2101.98	120.81ng	Control standard
9	1	0.62	200.00ng	193.88		3254.80		
10	3	0.62		129.55	122.35ng	2139.51	123.24ng	Control standard
11	1	0.62	240.00ng	221.52		3740.21		
12	3	0.62		124.87	117.22ng	2030.66	116.21ng	Control standard
13	1	0.61	280.00ng	245.64		4176.92		



winCATS Planar Chromatography Manager

Image information - 254 nm - Imager

Illumination instrument	CAMAG Reprostar 3 : 070705 (Repro3_070705)		
Digital camera type : snr & Lens	DXA252 : 062951505, Computar, 12 mm, f4.0		
Created by: on	supervisor: Jueves, 04 de Mayo de 2006 5:49:52		
Resolution	Standard		
Plate border size	-3 mm		
Automatic capture	Off		
Save mode	Lossy (JPG)		
Exposure mode	Automatic, digital level: 80 %, Band		
Capture settings:			
Image size:	723	x 351 Pxl	(0.27 mm/Pxl)
Exposure:	260.59	ms gain:	1.00
White balance	R: 1.40	G: 1.00,	B: 1.20
Illumination type / correction type :	254 nm remission	: Default correction	
Display settings:	R: 1.00 G: 1.00 B: 1.00		
White balance:			
Contrast enhancement:	1.00		
Brightness:	0.00		
Accentuation:	0.80		
Color saturation:	1.30		
Blank plate compensation :	N/A		



ANEXO Nº 7 CERTIFICACIÓN DEL ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LA PRESENCIA DE INULINA MEDIANTE HPTLC.

1	
2	
3	Quito, 26 de diciembre de 2012
4	
5	
6	
7	
8	Ha pedido de la Srta. Laura Paulina Moyano con cédula de identidad No
9	060333576-1, certifico que realizó en este laboratorio, la cromatografía en
10	HPTLC (Cromatografía en Capa Fina de Alta Resolución) incluida la
11	cuantificación de inulina contenida en extracto de taraxaco.
12	Se emite el presente documento, con el fin de validar el trabajo realizado en
13	éste laboratorio, cabe indicar que se adjunta los resultados de la
14	cuantificación de Inulina.
15	
16	
17	
18	Verónica Medina Canseco
19	Ayudante de Cátedra del Laboratorio de Química Orgánica
20	FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
21	UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	

CATEGORÍA
A

" TODOPODEROSA ES LA SABIDURÍA "



Nº 2019809

1.00 USD.



**ANEXO Nº 8 PROTOCOLO HISTOPATOLOGICO A RATONES QUE SE LES ADMINISTRÓ
EXTRACTO DE DROGA SECA Y TRITURADA DE RAÍCES Y HOJAS DE TARAXACO
(*Taraxacum officinale*).**

PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO A RATONES QUE SE LES ADMINISTRÓ EXTRACTO DE TARAXACO
(*Taraxacum Officinale*) PARA COMPROBAR EL EFECTO LAXANTE. MES DE NOVIEMBRE 2012.

EXTRACTO ADMINISTRADO	ORGANOS	EXAMENES
TARAXACO (<i>Taraxacum officinale</i>) al 100 %	ESTÓMAGO	MICROSCÓPICO: 1.- Mucosa gástrica íntegra; glándulas de estructura histológica normal; no se observa áreas hemorrágicas en lámina propia.
		MACROSCÓPICO: Mide 1.5 cm en su curvatura mayor. Mucosa pálida
	HÍGADO	MICROSCÓPICO: 2.- Lobulillos hepáticos de arquitectura normal; hepatocitos morfológicamente normales; espacios porta con vasos adecuados.
		MACROSCÓPICO: Mide 2.3 cm con aspecto normal. Color rojo vinoso
	RIÑÓN	MICROSCÓPICO: 1.-Glomérulos Renales con integridad de la cápsula de Bowman; integridad epitelial normal; túbulos de calibre conservado: no se observan depósitos en su interior.
		MACROSCÓPICO: Mide 1.5 cm con aspecto normal. Color rojo. Al corte corteza y médula normales.

Dr. Oswaldo Duque Andrade
HISTOPATOLOGO

