



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE  
LEÓN (*Taraxacum officinale*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON  
HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO.”**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR**

**MERCEDES DE JESÚS ASQUI LALÓN**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2012**



## **DEDICATORIA**

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

*A mis padres, María Dolores y Gonzalo, 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: Anita, Piedad, Fabiola y Alfonso que siempre tienen la palabra justa en mis desaciertos y alegrías.*

*A mis sobrinos que con su encanto y diversión son la alegría de mi hogar.*

*Al amor de mi vida, Jaime por su amor infinito que ha trascendido el tiempo y la distancia.*

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Alma Máter del Conocimiento, a la Escuela de Bioquímica y Farmacia, que forjó mis conocimientos y despertó inquietudes de superación.

Al Director de esta tesis Dr. Oswaldo Duque y colaborador BQF. Faustito Contero gracias por sus enseñanzas, doctrinas y apoyo incondicional en la coordinación de este trabajo.

A mis amigas y amigos por su apoyo y solidaridad y hacer de mi vida estudiantil más llevadera.

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

El Tribunal de Tesis certifica que El trabajo de investigación: “**ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO.**” de responsabilidad de la señorita egresada Mercedes de Jesús Asqui Lalón, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dra. Yolanda Díaz DECANA FAC. CIENCIAS	-----	-----
Dr. Luis Guevara DIRECTOR ESCUELA	-----	-----
Dr. Oswaldo Duque DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
BQF. Fausto Contero MIEMBRO DEL TRIBUNAL	-----	-----
Dra. Susana Abdo MIEMBRO DEL TRIBUNAL	-----	-----
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	-----	-----
NOTA DE TESIS	-----	

Yo, **Mercedes de Jesús Asqui Lalón**, 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

---

MERCEDES DE JESÚS ASQUI LALÓN

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>ASAT</b>	Aspartatoaminotransferasa
<b>ALAT</b>	Alaninaaminotransferasa
<b>°Brix</b>	Grados Brix
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>Conc</b>	Concentrado
<b>Cmax.</b>	Concentración máxima
<b>Cm</b>	Centímetro
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Tetracloruro de carbono
<b>Δ</b>	Densidad Relativa
<b>%H</b>	Porcentaje de Humedad
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido Sulfúrico
<b>kg</b>	Kilogramo
<b>L</b>	Litro
<b>G</b>	Gramo
<b>Log</b>	Logaritmo
<b>Mm</b>	Milímetro
<b>mL</b>	Mililitro
<b>Mg</b>	Miligramo
<b>Min</b>	Minuto
<b>Nm</b>	Nanómetro
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>pH</b>	Potencial hidrógeno
<b>Rf</b>	Franja de referencia
<b>S.T.</b>	Sólidos Totales
<b>Tmax</b>	Temperatura máxima
<b>%</b>	Porcentaje
<b>uL</b>	Micro litro
<b>Xb</b>	Xenobiótico

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

<b>1.</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	- 1 -
1.1.	Hígado .....	- 1 -
1.1.1.	Situación .....	- 1 -
1.1.2	Histología hepática.....	- 2 -
1.1.3	Fisiología del hígado .....	- 4 -
1.1.5	Enfermedades hepáticas .....	- 5 -
1.2.	Hepatotoxicidad .....	- 6 -
1.2.1.	Mecanismo de daño hepático .....	- 7 -
1.2.2	Factores que predisponen al hígado a sufrir toxicidad.....	- 7 -
1.3	Hepatotóxicos .....	- 8 -
1.3.1	Tetracloruro de carbono (CCl <sub>4</sub> ).....	- 8 -
1.3.1.1	Toxicidad .....	- 9 -
1.3.1.2	Mecanismo de acción del tetracloruro de carbono.....	- 10 -
1.3.1.3	Efectos del tetracloruro de carbono en la salud .....	- 11 -
1.3.1.4	Trastornos histopatológicos por tetracloruro de carbono.....	- 11 -
1.3.1.5	Clases de degeneración celular .....	- 11 -
1.4	Transaminasas hepáticas .....	- 12 -
1.4.1	Niveles normales de transaminasas .....	- 13 -
1.4.2	Aumento de las transaminasas .....	- 13 -
1.4.3	Determinación de TGO/TGP en suero.....	- 14 -
1.4.4	Explicación de la reacción bioquímica .....	- 14 -
1.4.5	Causas de aumento de la TGO y TGP .....	- 15 -
1.4.6	Producción de transaminasas .....	- 15 -
1.5	Perfil hepático .....	- 17 -
1.5.1	Valores normales de las enzimas hepáticas en las ratas.....	- 20 -
1.6	Diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ) .....	- 20 -
1.6.1	Taxonomía .....	- 20 -
1.6.2	Origen .....	- 21 -
1.6.3.	Morfología .....	- 21 -
1.6.4	Propiedades biológicas.....	- 21 -

1.6.5	Composición química .....	- 22 -
1.6.5.1	Lactonas sesquiterpénicas .....	- 23 -
1.6.6	Beneficios del diente de león .....	- 25 -
1.6.7	Actividad hepatoprotectora .....	- 25 -
1.6.8	Efectos adversos y/o tóxicos .....	- 25 -
1.6.8.1	Contraindicaciones.....	- 26 -
1.6.8.2	Interacciones medicamentosas.....	- 26 -
1.7	Drogas hepatoprotectoras.....	- 26 -
1.7.1	Simepar .....	- 27 -
1.7.1.1	Composición .....	- 27 -
1.7.1.2	Propiedades .....	- 27 -
1.7.1.3	Acción terapéutica.....	- 27 -
1.7.1.4	Indicaciones .....	- 28 -
1.7.1.5	Contraindicaciones.....	- 28 -
1.7.1.6	Efectos secundarios.....	- 28 -
1.7.1.7	Posología.....	- 28 -
1.7.1.8	Silimarina.....	- 28 -
1.8	Ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	- 29 -
1.8.1	Clasificación taxonómica.....	- 30 -
1.8.2	Descripción de la especie .....	- 30 -
1.8.3	Medidas.....	- 31 -
1.8.4	Ciclo reproductivo .....	- 31 -
1.8.5	Tamaño de la camada.....	- 31 -
1.8.6	Hábitos alimenticios.....	- 31 -
<b>2.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>- 33 -</b>
2.1	Lugar de investigación .....	- 33 -
2.2	Materiales, equipos y reactivos .....	- 33 -
2.2.1	Materiales y reactivos para el estudio fitoquímico y control de calidad de la droga seca y extracto alcohólico del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ).....	- 33 -
2.2.1.1	Materiales de laboratorio .....	- 34 -
2.2.1.2	Reactivos.....	- 34 -
2.2.1.3	Equipos .....	- 35 -
2.2.2	Materiales y reactivos para comprobar la actividad hepatoprotectora.....	- 36 -
2.2.2.1	Materiales.....	- 36 -
2.2.2.2	Reactivo biológico .....	- 36 -
2.2.2.3	Reactivos.....	- 36 -
2.3	Técnicas y métodos.....	- 37 -
2.3.1	Análisis físico – químico .....	- 37 -
2.3.1.1.	Determinación del contenido de humedad.....	- 37 -
2.3.1.2.	Determinación de cenizas totales.....	- 37 -
2.3.1.3.	Determinación de cenizas solubles en agua.....	- 38 -
2.3.1.4.	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico .....	- 39 -
2.4	Tamizaje fitoquímico .....	- 40 -

2.4.1	Ensayo de Dragendorff .....	- 41 -
2.4.2	Ensayo de Mayer.....	- 41 -
2.4.3	Ensayo de Wagner .....	- 42 -
2.4.4	Ensayo de Liebermann-Burchard.....	- 42 -
2.4.5	Ensayo de Borntrager.....	- 43 -
2.4.6	Ensayo de Baljet .....	- 43 -
2.4.7	Ensayo de Sudán .....	- 43 -
2.4.8	Ensayo de Catequinas .....	- 44 -
2.4.9	Ensayo de Resinas.....	- 44 -
2.4.10	Ensayo de la Espuma .....	- 44 -
2.4.11	Ensayo del Cloruro férrico.....	- 44 -
2.4.11	Ensayo de la Ninhidrina.....	- 45 -
2.4.13	Ensayo de Shinoda.....	- 45 -
2.4.14	Ensayo de Antocianidinas .....	- 45 -
2.4.15	Ensayo de Fehling.....	- 46 -
2.4.16	Ensayos de Principios amargos y astringentes.....	- 46 -
2.5	Obtención de los extractos .....	- 46 -
2.5.1	Preparación del extracto alcohólico de diente de león.....	- 46 -
2.5.2	Control de calidad de los extractos .....	- 48 -
2.5.2.1	Determinación del pH. ....	- 48 -
2.5.2.2	Determinación de la densidad relativa .....	- 48 -
2.5.2.3	Determinación del índice de refracción .....	- 49 -
2.5.2.4	Determinación de sólidos totales .....	- 50 -
2.5.2.5	Determinación de los requisitos organolépticos .....	- 51 -
2.5.2.6	Cromatografía en capa fina.....	- 52 -
2.6	Actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ).....	- 52 -
2.6.1	Hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono a ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	- 52 -
2.6.1.1	Animales de experimentación.....	- 52 -
2.6.1.2	Administración de tetracloruro de carbono.....	- 53 -
2.6.1.3	Obtención de sangre de la cola de la rata.....	- 53 -
2.6.1.4	Determinación de enzimas hepáticas en sangre.....	- 53 -
2.6.1.5	Examen anatomopatológico.....	- 54 -
2.6.1.6	Examen histopatológico.....	- 54 -
2.6.1.7	Administración del tratamiento.....	- 54 -
2.6.2	Esquema del diseño experimental.....	- 55 -
2.6.2.1	Definición de los grupos .....	- 55 -
2.6.2.2	Período 1: Aclimatación .....	- 55 -
2.6.2.3	Período 2: Inducción de la hepatotoxicidad.....	- 56 -
2.6.2.4	Período 3: Tratamiento .....	- 56 -
2.6.2.5	Período 4: Evaluación de la actividad hepática .....	- 56 -
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>- 58 -</b>

3.1	Control de calidad de la droga secada diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ).....	58 -
3.1.1	Análisis físico – químico .....	58 -
3.1.1.1.	Determinación del contenido de humedad.....	58 -
3.1.1.2.	Determinación de cenizas totales .....	59 -
3.2	Control de calidad del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ).....	60 -
3.2.1	Tamizaje fitoquímico .....	60 -
3.2.2	Determinación del pH .....	62 -
3.2.3	Determinación de la densidad relativa .....	62 -
3.2.4	Determinación del índice de refracción .....	63 -
3.2.5	Determinación de °brix .....	63 -
3.2.6	Determinación de sólidos totales .....	64 -
3.2.7	Determinación de los requisitos organolépticos .....	64 -
3.2.8	Cromatografía en capa fina .....	65 -
3.3	Actividad hepatoprotectora del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ) en ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) con hepatotoxicidad inducida con tetracloruro de carbono.....	66 -
3.4	Medición de los pesos de las ratas .....	67 -
3.4.1	Análisis estadístico de los pesos de las ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	69 -
3.5	Pruebas bioquímicas para comprobar la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ) .....	70 -
3.5.1	Análisis estadístico de ASAT .....	71 -
3.5.2	Análisis estadístico de ASAT .....	72 -
3.6	Examen histopatológico a ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	78 -
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>81 -</b>
<b>5.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>83 -</b>
<b>6.</b>	<b>RESUMEN</b> .....	<b>84 -</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>86 -</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>94 -</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Valores de transaminasas en ratas .....	- 20 -
TABLA No. 2	Taxonomía del diente de león .....	- 20 -
TABLA No. 3	Composición química del diente de león gramos.....	- 24 -
TABLA No. 4	Composición del simepar.....	- 27 -
TABLA No. 5	Grupos de experimentación para la comprobación de la actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león ( <i>Taraxacum Officinale</i> ).....	- 55 -

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Humedad de la droga seca de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 58 -
CUADRO No. 2	Cenizas totales, solubles en agua e insolubles en HCl de la droga seca de diente de león. ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 59 -
CUADRO No. 3	Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 60 -
CUADRO No. 4	Determinación de pH del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 62 -
CUADRO No. 5	Densidad relativa del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 62 -
CUADRO No. 6	Índice de refracción del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Marzo 2012. ....- 63 -
CUADRO No. 7	<sup>o</sup> Brix del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 63 -
CUADRO No. 8	Sólidos totales del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 64 -
CUADRO No. 9	Requisitos organolépticos del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 64 -
CUADRO No. 10	RF de la cromatografía en capa fina del extracto alcohólico de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 65 -
CUADRO No. 11	Medición del peso de ratas durante la investigación de la actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Abril 2012. ....- 67 -
CUADRO No. 12	Prueba de Tukey del peso de las ratas .....- 69 -
CUADRO No. 13	Valores de ASAT en ratas con intoxicación hepática producida por tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Abril 2012. ....- 70 -
CUADRO No. 14	Prueba de Tukey para la medición ASAT .....- 71 -
CUADRO No. 15	Valores de ALAT en ratas con intoxicación hepática producida por tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad

	hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Abril 2012. ....- 71 -
CUADRO No. 16	Prueba de Tukey para medición de ALAT .....- 72 -
CUADRO No. 17	Porcentaje de elevación de ASAT en ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Abril 2012. ....- 73 -
CUADRO No. 18	Porcentaje de elevación de alat en ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Abril 2012. ....- 74 -
CUADRO No. 19	Promedio de elevación de transaminasas (ASAT y ALAT) en ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Abril 2012. ....- 76 -
CUADRO No. 20	Examen histopatológico a ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Abril 2012. ....- 78 -
CUADRO No. 21	Porcentaje de destrucción hepática en ratas ( <i>Rattus novergicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Abril 2012 .....- 79 -
CUADRO No. 22	Pruebas de ASAT yALAT .....- 102 -
CUADRO No. 23	Datos descriptivos de transaminasas.....- 104 -
CUADRO No. 24	Prueba de homogeneidad de varianzas .....- 105 -
CUADRO No. 25	Anova de un factor de transaminasas .....- 106 -
CUADRO No. 26	Prueba de Tukey para la medición de ASAT .....- 107 -
CUADRO No. 27	Prueba de Tukey para la medición de ALAT .....- 109 -
CUADRO No. 28	Peso basal y final de las ratas.....- 111 -
CUADRO No. 29	Análisis descriptivo del peso de las ratas.....- 112 -
CUADRO No. 30	Análisis de ANOVA del peso de las ratas .....- 113 -
CUADRO No. 31	Prueba de Tukey del peso de las ratas .....- 113 -

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Medición del peso de ratas durante la investigación de la actividad hepatoprotectora del extracto de diente de león. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Epoch. Abril 2012.....- 68 -
GRÁFICO No. 2	Porcentaje de elevación de ASAT en ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Epoch. Abril 2012. ....- 73 -
GRÁFICO No. 3	Porcentaje de elevación de ASAT en ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Epoch. Abril 2012. ....- 75 -
GRÁFICO No. 4	Promedio de elevación de transaminasas (ASAT y ALAT) ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Epoch. Abril 2012. ....- 76 -
GRÁFICO No. 5	Porcentaje de destrucción hepática en ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) administradas tetracloruro de carbono en la investigación de la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Epoch. Abril 2012 .....- 79 -
GRÁFICO No. 6	Resultados estadísticos de transaminasas .....- 103 -
GRÁFICO No. 7	Medición de ASAT .....- 108 -
GRÁFICO No. 8	Medición de ALAT .....- 110 -
GRÁFICO No. 9	Cajas y alambres del análisis del peso de las ratas.....- 114 -

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Representación esquemática del hígado .....- 1 -
FIGURA No. 2	Microfotografía del hígado .....- 2 -
FIGURA No. 3	Células hepáticas.....- 2 -
FIGURA No. 4	Mecanismo de acción del CCl <sub>4</sub> .....- 10 -
FIGURA No. 5	Diente de león .....- 20 -
FIGURA No. 6	Lactonas sesquiterpénicas.....- 24 -
FIGURA No. 7	<i>Rattus novergicus</i> .....- 29 -
FIGURA No. 8	Preparación del extracto alcohólico .....- 40 -
FIGURA No. 9	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico....- 41 -

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Elaboración del extracto del extracto de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....- 94 -
ANEXO No. 2	Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico, etéreo y acuoso de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....- 95 -
ANEXO No. 3	Determinación de humedad, cenizas totales, cenizas insolubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 95 -
ANEXO No. 4	Determinación del índice de refracción, ° brix, pH, sólidos totales del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 96 -
ANEXO No. 5	Cromatografía en capa fina del extracto de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 96 -
ANEXO No. 6	Extractos de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ) al 100%, 50% y 25% y solución de Simepar. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 97 -
ANEXO No. 7	Grupos experimentales de ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ): Control positivo, control negativo, extracto al 100%, 50% y 25%. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....- 97 -
ANEXO No. 8	Administración del extracto de diente león a las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ).Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....- 98 -
ANEXO No. 9	Extracción de sangre de la cola de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....- 98 -
ANEXO No. 10	Disección de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....- 99 -
ANEXO No. 11	Mediciones del hígado de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....- 99 -
ANEXO No. 12	Hígados de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) del extracto al 25%, al 50% y al 100%, blanco, control positivo y control negativo. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....- 100 -
ANEXO No. 13	Muestras de sangre de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) para la determinación de ASAT y ALAT. Laboratorio Clínico Medilab. Riobamba. Marzo 2012.....- 100 -
ANEXO No. 14	Examen histopatológico de los hígados de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). Laboratorio Histopatológico Dr. Oswaldo Duque Andrade. Mayo 2012.....- 101 -
ANEXO No. 15	Pruebas bioquímicas para comprobar la actividad hepatoprotectora del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ).....- 102 -

ANEXO No. 16

Analisis estadístico del peso basal y del peso final de las ratas (*Rattus  
novergicus*).....- 111 -

## ÍNDICE DE FOTOGAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Elaboración del extracto de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 94 -
FOTOGRAFÍA No. 2	Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico, etéreo y acuoso de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 95 -
FOTOGRAFÍA No. 3	Determinación de humedad, cenizas totales, cenizas insolubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....	- 95 -
FOTOGRAFÍA No. 4	Determinación del índice de refracción, ° brix, pH sólidos totales, del diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 96 -
FOTOGRAFÍA No. 5	Cromatografía en capa fina del extracto de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 96 -
FOTOGRAFÍA No. 6	Extractos de diente de león ( <i>Taraxacum officinale</i> ) AL 100%, 50% y 25% y solución de Simepar. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 97 -
FOTOGRAFÍA No. 7	Grupos experimentales de ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ): control positivo, control negativo, extracto al 100%, 50% y 25%. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 97 -
FOTOGRAFÍA No. 8	Administración del extracto de diente león a las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 98 -
FOTOGRAFÍA No. 9	Extracción de sangre de la cola de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....	- 98 -
FOTOGRAFÍA No. 10	Diseción de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012. ....	- 99 -
FOTOGRAFÍA No. 11	Mediciones del hígado de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 99 -
FOTOGRAFÍA No. 12	Hígados de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) del extracto al 25%, al 50% y al 100%, blanco, control positivo y control negativo. Bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Marzo 2012.....	- 100 -
FOTOGRAFÍA No. 13	Muestras de sangre de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ) para la determinación de ASAT y ALAT. Laboratorio Clínico Medilab. Riobamba. Marzo 2012.....	- 100 -
FOTOGRAFÍA No. 14	Examen histopatológico de los hígados de las ratas ( <i>Rattus norvegicus</i> ). Laboratorio Histopatológico Dr. Oswaldo Duque Andrade. Mayo 2012. ....	- 101 -

## INTRODUCCIÓN

Debido a la gran cantidad de funciones que realiza el hígado, a menudo puede ser atacado por diferentes agentes como alteraciones embriológicas, metabólicas, infecciosas, depósito de sustancias tóxicas, daño tóxico directo a la célula por alcohol, disolventes, fármacos, etc. o formación de tumores benignos o malignos. (3)

Las enfermedades hepáticas tienen una importante prevalencia en Latinoamérica, de una manera similar a lo que ocurre en el resto del mundo. (4) Según datos del Centro Latinoamericano y Caribeño de Demografía (CELADE), las enfermedades hepáticas se encuentran entre las veinte primeras causas de mortalidad, ya que por cada 10.000 habitantes se reportan 1.385 casos anuales. (35)

El Ministerio de Salud Pública en el Ecuador (2007), menciona que las enfermedades hepáticas son la novena causa de mortalidad en el país, pues afecta al 3.1% de la población ecuatoriana, mientras que en la provincia de Chimborazo, afecta al 2.2% de la población de esta localidad. (35)

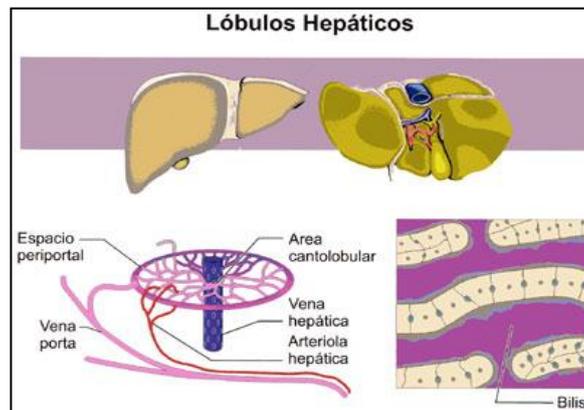
El presente trabajo aborda el estudio de una planta que crecen en nuestro país como es el caso del Diente de león (*Taraxacum officinale*), que ha sido citada para el tratamiento de desórdenes hepáticos por el Protocolo Inglés y la Medicina Tradicional Mexicana (23).

Se llevó a cabo la evaluación del efecto hepatoprotector en ratas frente a un modelo experimental de lesiones hepáticas inducidas por un poderoso hepatotóxico como es el tetracloruro de carbono, el control de calidad de la planta seca, del extracto y el tamizaje fitoquímico del mismo.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. HÍGADO



FUENTE: HÍGADO <http://www.google.com.ec/imgres?q=h%C3%ADgado&hl=es&gbv=2&tbn=isch&tbnid=EcZLjhrVDk3EM:&imgrefurl>

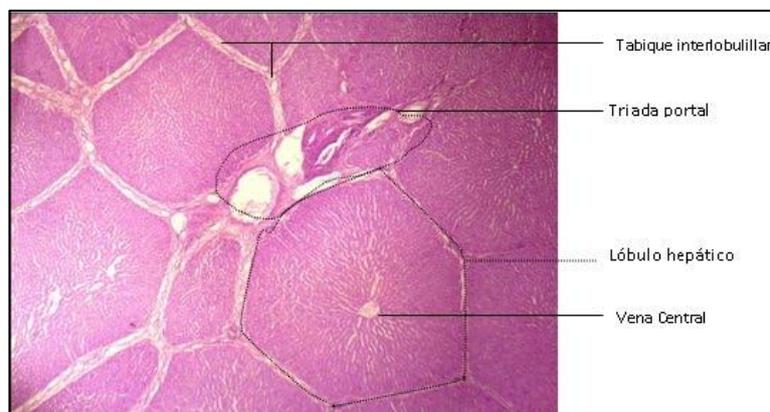
**FIGURA No. 1 EPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL HÍGADO**

#### 1.1.1. SITUACIÓN

El hígado se localiza en casi la totalidad de la región del hipocondrio derecho, el epigastrio y una porción del hipocondrio izquierdo, llenando el espacio de la cúpula diafragmática, donde puede alcanzar hasta la quinta costilla, y se relaciona con el corazón a través del centro frénico, a la izquierda de la vena cava inferior. Como lo muestra la Figura No 1. (4)

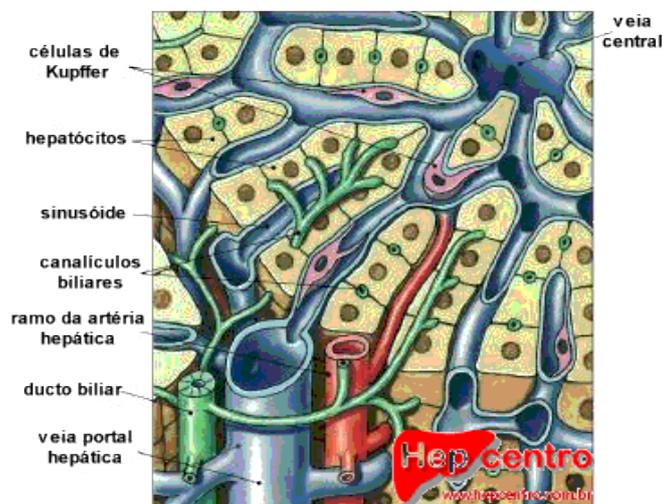
### 1.1.2 HISTOLOGÍA HEPÁTICA

El tejido hepático es un tejido estable. Presenta una gran capacidad de regeneración en respuesta a estímulos externos, como lesiones o procesos tumorales. Sin embargo, las lesiones crónicas como el alcoholismo y las infecciones hepáticas implican una pérdida constante y prolongada del parénquima, sin la proliferación compensatoria necesaria. En consecuencia, el parénquima hepático es reemplazado por tejido fibroso y acúmulos de grasa, produciendo así cirrosis. (8)



FUENTE: HÍGADO. <http://www.google.com.ec/imgres?q=histolog%C3%ADa+del+h%C3%ADgado&hl>

**FIGURA No. 2 MICROFOTOGRAFÍA DEL HÍGADO**



FUENTE: HISTOLOGÍA. <http://www.google.com.ec/imgres?q=histolog%C3%ADa+del+h%C3%ADgado+topic/1071-apuntes-de-biologia-y->

**FIGURA No. 3 CÉLULAS HEPÁTICAS**

El parénquima hepático está formado por:

- Lobulillos hepáticos: son subunidades irregularmente hexagonales formadas por láminas fenestradas de hepatocitos que se disponen en forma radiada en torno a una vena central o vena centrolobulillar, ubicada en el centro del lobulillo.
- Espacios porta o tríadas: son áreas triangulares situadas en los ángulos de los lobulillos hepáticos, constituidas por un estroma conjuntivo laxo; contienen en su interior una rama de la arteria hepática, una rama de la vena porta, un capilar linfático y un conductillo biliar; la bilis producida por los hepatocitos se vierte en una red de canalículos dentro de las láminas de hepatocitos y fluye, en forma centrípeta al lobulillo, hacia los conductillos biliares de los espacios porta.
- Sinusoides hepáticos: son capilares que se disponen entre las láminas de hepatocitos y donde confluyen, desde la periferia de los lobulillos, las ramas de la arteria hepática y de la vena porta. En los sinusoides confluyen la circulación hepática y porta. Éstos drenan su contenido a la vena hepática central, de ésta a las venas hepáticas derecha e izquierda, y finalmente a la vena cava inferior.
- Espacio de Disse: es un estrecho espacio perisinusoidal que se encuentra entre la pared de los sinusoides y las láminas de hepatocitos, ocupado por una red de fibras reticulares y plasma sanguíneo que baña libremente la superficie de los hepatocitos. En el espacio de Disse se produce el intercambio metabólico entre los hepatocitos y el plasma donde se forma la abundante linfa hepática.
- Células de Kupffer: son macrófagos fijos pertenecientes al sistema fagocítico mononuclear que se encuentran adheridos al endotelio y que emiten sus prolongaciones hacia el espacio de Disse. Su función es fagocitar eritrocitos envejecidos (en un 20%, y el 80% en el bazo) y otros antígenos. Además actúan como células presentadoras de antígeno.

- Hepatocitos: constituyen alrededor del 80 por ciento de la población celular del tejido hepático. Son células poliédricas con 1 o 2 núcleos esféricos poliploides y un nucléolo prominente. Las membranas plasmáticas de dos hepatocitos contiguos delimitan un canalículo donde es secretada la bilis.

Las partes del parénquima están representadas en las Figuras No. 2 y 3.

### 1.1.3 FISIOLÓGÍA DEL HÍGADO

El hígado ejecuta un gran número de funciones y entre las más importantes están el almacenamiento y biotransformación de las sustancias que recibe por medio del torrente circulatorio y el sistema portal. (9)

Normalmente biotransforma y acumula sustancias útiles en el organismo tales como la glucosa, en forma de glucógeno, aminoácidos, grasas y vitamina A y vitamina B<sub>12</sub>. (11)  
El hígado está muy propenso a sufrir daños por la exposición a tóxicos debido a que los dos sistemas circulatorios pueden llevar hasta al hígado sustancias tóxicas o que se vuelven tóxicas con las transformaciones que tienen lugar en este órgano, a este proceso se le llama bioactivación. (10)

Algunas de las reacciones que sufren los tóxicos en el hígado de hecho los convierten en sustancias menos tóxicas o no tóxicas y más fáciles de excretar, a este proceso se le llama destoxificación. Para realizar sus funciones, el hígado cuenta con una gran cantidad de enzimas con funciones oxidativas y reductivas, entre las cuales se encuentran el sistema del citocromo de la proteína 450 (P-450), flavin-monooxigenasas, peroxidasas, hidroxilasas, esterasas y amidasas. (4) Otras enzimas también presentes son las glucuroniltransferasas, las sulfotransferasas, metilasas, acetiltransferasas, tioltransferasas. Todas estas enzimas tienen gran importancia en las biotransformaciones de los tóxicos. (10)

El hígado produce y regula la concentración de ciertas sustancias de la sangre. Las sustancias producidas o controladas en el hígado son las albúminas, el fibrinógeno y la

mayoría de las globulinas y proteínas de la coagulación. Cuando hay descontrol de estas sustancias, el individuo se encuentra bajo en defensas y susceptible a problemas de coagulación. Ejemplo de sustancias reguladas por el hígado son los azúcares y los aminoácidos. Cuando se retrasa una ingesta, el hígado utiliza su almacén de glucógeno para producir glucosa y de las proteínas de reserva para producir aminoácidos. El hígado también tiene una función exócrina, produce la bilis por medio de la cual se excretan al intestino un número considerable de metabolitos. (10)

#### 1.1.4 CAPACIDAD FUNCIONAL DEL HÍGADO

La función hepática no puede medirse con porcentajes; no hay exámenes que nos permitan establecer cuál es el porcentaje de hígado sano. Se sabe que una persona sana puede tolerar resecciones de más de la mitad del hígado sin problemas. El hígado tiene la particularidad de regenerarse luego del daño causado por agentes externos o por una cirugía. (28)

Mediante volumetría hepática (técnicas radiológicas para medir el volumen hepático) se ha propuesto que se puede resecar (sacar) hasta dejar el 26% del volumen del hígado residual antes de tener riesgo de insuficiencia hepática post-operatoria. Es así que habitualmente se acepta que 1/3 (33%) del volumen hepático es lo necesario para sobrevivir. (18) (28)

#### 1.1.5 ENFERMEDADES HEPÁTICAS

Las enfermedades hepáticas son:

- Hepatitis: Inflamación de las células hepáticas.
- Hígado graso: Es la condición de la enfermedad en la que se ve la deposición pesada grasa en el hígado.
- Cirrosis hepática: Es la presencia de tejido fibroso en lugar de las células hepáticas muertas.
- Absceso hepático: Es el trastorno que se caracteriza por la presencia de pus en los tejidos del hígado.

- La insuficiencia hepática aguda: Es la enfermedad del hígado caracterizada por la disfunción súbita de los tejidos del hígado. (41)
- El cáncer de hígado: Es la presencia de células cancerígenas en el hígado.
- La enfermedad de Wilson: Esta es una enfermedad hereditaria mejora retener de cobre en el cuerpo.
- Cirrosis biliar primaria: Afecta los pequeños conductos biliares.
- Obstrucción del conducto biliar también causa enfermedades del hígado.
- El síndrome de Budd-Chiari: tiene el síntoma de obstrucción de la vena hepática.
- La hemocromatosis es la enfermedad hereditaria provoca la acumulación de hierro en el cuerpo y finalmente provoca daños en el hígado.
- Enfermedad del hígado inducida por fármacos es la enfermedad del hígado causada por la ingesta de medicamentos farmacológicos, pueden ser recetados por el médico o medicamentos auto.
- Colangitis esclerosante primaria: es una enfermedad inflamatoria de la vía biliar. El síndrome de Gilbert es un hígado que se encuentran muy raramente. (36)

## **1.2. HEPATOTOXICIDAD**

La hepatotoxicidad, también llamada enfermedad hepática tóxica inducida por drogas implica daño sea funcional o anatómico del hígado inducido por ingestión de compuestos químicos u orgánicos. El hígado está especialmente expuesto a toxicidad por razón de su función en la biotransformación, metabolismo y eliminación de agentes potencialmente tóxicos. Ciertos productos medicinales, al tomarse en dosis elevadas o por un largo periodo de tiempo causan daños celulares, aunque la hepatotoxicidad es por lo general independiente de la concentración del fármaco, es decir, algunas drogas pueden causar daño hepático aún en dosis terapéuticas. La hepatotoxicidad puede ser causada por elementos naturales, remedios caseros o industriales, entre otros. Todo producto causante de daño al hígado se conoce como hepatotoxina. (38)

Existen más de 900 drogas que se han implicado en el daño hepático y es la razón más frecuente para retirar un medicamento del mercado. Muchos elementos químicos causan daño subclínico, es decir, que no se manifiesta con alguna sintomatología y que se

presentan solo con resultados anormales de las enzimas hepáticas. La hepatotoxicidad es responsable de un 5% de todos los ingresos hospitalarios y un 50% de todas las causas de insuficiencia hepática aguda. (38)

#### 1.2.1. MECANISMO DE DAÑO HEPATICO

Muchas drogas son retiradas del mercado debido a un descubrimiento tardío de hepatotoxicidad. Debido a su metabolismo peculiar y a su cercana relación con el tracto gastrointestinal, el hígado es tremendamente susceptible a las injurias tóxicas. Cerca de un 75% de la sangre que llega al hígado viene directamente de los órganos gastrointestinales y el bazo por medio de la vena porta, el cual trae drogas y xenobióticos de forma concentrada. Son varios los mecanismos responsables bien sea de la inducción del daño hepático o de empeorar un proceso dañino. (43)

Muchos compuestos dañan a la mitocondria, un orgánulo intracelular que produce energía. Su disfunción libera una excesiva cantidad de oxidantes que, a su vez, causan daño a la célula hepática. La activación de algunas enzimas en el sistema citocromo P450, tales como el CYP2E1 también conllevan a estrés oxidativo. Las lesiones a los hepatocitos y a las células del conducto biliar producen acumulación de bilis dentro del hígado. Ello promueve la aparición de daño adicional hepático. (43)

Las células que no pertenecen al parénquima hepático, como las células de Kupffer, células almacenadoras de grasa o células de Ito y leucocitos pueden tener un papel en estos mecanismos tóxicos. (43)

#### 1.2.2 FACTORES QUE PREDISPONEN AL HÍGADO A SUFRIR TOXICIDAD

Son varios los factores que intervienen, entre ellos destacamos tres, cuya combinación expone al hígado a la toxicidad:

- Recibe una gran cantidad de sangre que puede ser portadora de tóxicos, sobre todo la vena portal que transporta los xenobióticos absorbidos en el tracto gastrointestinal (vía de ingreso de los xenobióticos que penetran al organismo por vía oral).

- La elevada capacidad de biotransformación y diversas concentraciones de oxígeno hacen que tengan lugar tanto reacciones de reducción como de oxidación de diversos xenobióticos.
- La función excretora que hace que se concentren xenobióticos. (43)

### 1.3 HEPATOTÓXICOS

Las sustancias hepatotóxicas son:

- El tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ )
- El cloruro de vinilo (VC)
- Los solventes orgánicos: la dimetilformamida, trinitrotolueno (TNT)
- Los metales pesados: como el Hg
- Hierro y otros metales de transición: tales como cobre, vanadio, níquel, entre otros. (37)

Entre los medicamentos que producen hepatotoxicidad tenemos: metotrexato, bebidas alcohólicas, ron, whisky, sake, vodka, etc, isoniazida, paracetamol o acetaminofén (más de 8 pastillas de 500 mg en 7 horas), aspirina en dosis elevadas, su antídoto N-acetil cisteína, fluconazol, tamoxifeno, glucocorticoides, bloqueantes de los canales de calcio, benceno, amiodorona, cocaína, antivirales, ácido valpróico, hongos venenosos, tolueno, amoxicilina + ácido clavulánico, pirazinamida. (37)

Hay muchos más productos, lo que sucede, es que es el hígado el encargado de metabolizar la gran mayoría de drogas que entran al organismo, por lo cual, el grado de hepatotoxicidad, también va a depender de la cantidad ingerida, si es intoxicación leve, aguda, crónica. Otro factor para la hepatotoxicidad también es la edad, fisiopatologías, situaciones de estrés. (20)

#### 1.3.1 TETRACLORURO DE CARBONO ( $\text{CCL}_4$ )

Pertenece al grupo de los hidrocarburos halogenados, es poco soluble en agua y su descomposición térmica produce Fosgeno ( $\text{Cl}_2\text{CO}$ ), el cual es un tóxico respiratorio. Se

usa como disolvente (aceites, grasas, ceras y limpieza en seco) y, aunque se usa poco por sus propiedades cancerígenas, es quizás el hepatotóxico mejor estudiado y conocido entre aquellos xenobióticos que se sabe causan daño hepático. (37)

Es un organoclorado, no inflamable, antiguamente utilizado como extintor y en la producción de refrigerantes, pero actualmente abandonado debido a su toxicidad. Es un líquido incoloro de olor ligeramente dulce. Se obtiene haciendo pasar cloro ( $\text{Cl}_2$ ) por sulfuro de carbono ( $\text{S}_2\text{C}$ ), en presencia de pentasulfuro de antimonio, y separando el tetracloruro de carbono del monocloruro de azufre formado (p.eb.  $135,6^\circ\text{C}$ ) por destilación fraccionada. Puede encontrarse en pequeñas cantidades en el aire. (29)

### **1.3.1.1 Toxicidad**

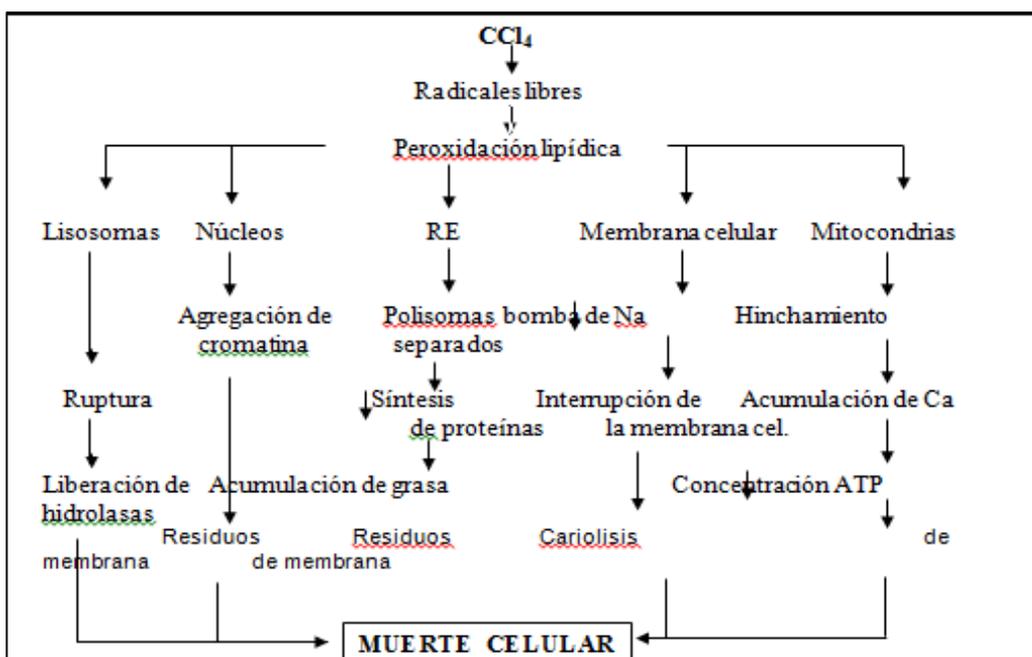
El cloruro de carbono puede entrar al cuerpo por vía endógena o exógena, ya sea por vía inhalatoria o aspirado, por absorción a través de la piel y mucosas, por vía ocular, por vía oral o por heridas abiertas sin cicatrizar. Se elimina por orina o exhalación. Si uno hubiese ingerido depresores del sistema nervioso central como diazepam o clonazepam, o una ingesta abusiva de alcohol, el cuadro clínico se vería mucho más comprometido, pudiendo ocasionar la muerte por falla hepática grave llegando a mostrar una gráfica plana o paro cardiorespiratorio. (29)

Asimismo es un cancerígeno conocido, y puede ser causa de leucemia linfoide, tricoleucemia, cirrosis y cáncer de hígado y cáncer de pulmón. Todos estos daños son irreversibles. Afecta al sistema nervioso siendo depresor del mismo y conllevando leves alucinaciones. También, dependiendo la cantidad ingerida, puede causar mareos, visión borrosa, desmayos, vértigo, vómitos, arcadas, graves alucinaciones con pérdida del conocimiento, bajada en la presión arterial, aumento de la temperatura corporal, fiebres, delirios, agresividad, estados sedativos similares al del coma y dolores de cabeza. (28)

### 1.3.1.2 Mecanismo de acción del tetracloruro de carbono

La vía de ingreso puede ser respiratoria, por inhalación de vapores, digestiva, o piel, concentrándose posteriormente en el tejido adiposo. Aproximadamente el 50% de la dosis absorbida se excreta a través de los pulmones sin metabolizar, y la mayor parte del otro 50% restante se metaboliza en el hígado. Tiene una vida media muy prolongada en el cuerpo. (44)

Es un anestésico capaz de causar la muerte por depresión del SNC. Asimismo es un potente tóxico hepático y renal. En el hígado altera la capacidad de los hepatocitos para ligar los triglicéridos a las lipoproteínas transportadoras, originando acumulación intracelular de lípidos y degeneración grasa. Se forman metabolitos extremadamente tóxicos, que originan muerte celular y necrosis hepática centro lobulillar, mediado por el sistema enzimático microsomal citocromo P450. La lesión renal ocurre por efecto directo del tetracloruro de carbono sobre el túbulo proximal y el asa de Henle, desencadenando una necrosis tubular aguda. Otros efectos atribuidos a la exposición crónica a este tóxico son: dermatitis por destrucción de la grasa de la piel, polineuritis, déficit visual, parkinsonismo, depresión de médula ósea. (28). El mecanismo se muestra en la en la Figura No. 4.



FUENTE: TETRACLORURO DE CARBONO <http://www.scribd.com/doc/6873059/Hidrocarburos20120121>

FIGURA No. 4 MECANISMO DE ACCIÓN DEL CCl<sub>4</sub>

### **1.3.1.3 Efectos del tetracloruro de carbono en la salud**

La exposición a altos niveles de tetracloruro de carbono puede causar daño del hígado, los riñones y el sistema nervioso central. Estos efectos pueden ocurrir después de ingerir o respirar tetracloruro de carbono, y posiblemente a través de contacto con la piel.

### **1.3.1.4 Trastornos histopatológicos por tetracloruro de carbono**

El tetracloruro de carbono que es una sustancia lipoquímica que tiene afinidad por las grasas lo hidroliza a las grasas, se libera y forma el tricloruro de mercurio produciéndose una permeabilidad de la membrana con signo radical. Pueden intoxicarse por la aspiración del tetracloruro de carbono en el hepatocito empieza a alterarse la membrana celular porque como es lipofílica se va diluyendo hidrolizando, se hace permeable y la célula se va hinchando. (32)

Lesiones Reversibles o degeneraciones: Es la lesión subletal o submortal con las siguientes alteraciones estructurales y bioquímicas pero una vez quitado el estímulo la célula vuelve a la normalidad, vuelve a vivir si se le da O<sub>2</sub> y se les quita el tetracloruro de carbono, la célula vuelve a la normalidad, pero si se lesiona el lisosoma ya no se llama degeneración se llama necrosis. (32)

### **1.3.1.5 Clases de degeneración celular**

I. Tumefacción celular, es cuando las células se cargan de agua, se hinchan de agua produciendo una acidofiliacitoplásmica, la célula se va hinchando por la permeabilidad; los órganos afectados son corazón, riñón, hígado, músculo esquelético, piel y mucosas. (32)

II. Degeneración vacuolar o hidrópica, es el proceso que sigue a la tumefacción celular donde la célula empieza a tener en su citoplasma vacuolas, espacios o huecos por aumento de agua, esas vacuolas son organitos membranosos intracitoplasmáticos que se

han dilatado por el agua, las causas son las mismas hipoxia, anoxia, intoxicación por tetracloruro de carbono, la fiebre prolongada, infección, el herpes de la hepatitis, la hipotaxemias cuando hay pérdidas de potasio, sudoraciones, diarreas, vómitos. En ambas degeneraciones el órgano afectado aumenta de volumen, de peso por ej. El hígado se agrandará aumentando el peso por el agua y se cura el Herpes con antiviral y así vuelven las células a la normalidad, también la fiebre con en antitérmico, es decir la degeneración es reversible, la célula vuelve a la normalidad y no se destruye. (32)

III. Degeneración grasa: llamado también infiltración grasa, metamorfosis grasa o esteatosis grasa, porque: la degeneración grasa, es la alteración del metabolismo de los lípidos en una célula lesionada. (32)

#### **1.4 TRANSAMINASAS HEPÁTICAS**

Las transaminasas son unas enzimas, principalmente localizadas en el hígado. Para determinar las transaminasas es necesario un análisis de sangre. Es una prueba sencilla que lo único que requiere es una extracción de sangre del paciente en ayunas y que generalmente se extrae de una vena del antebrazo. Previamente a la extracción es necesario que el paciente, unos días antes, haga una dieta en la que no sobrecargue el hígado, no tomando alcohol, escasas proteínas y grasas, y también es importante no realizar esfuerzos físicos importantes. (54)

En el organismo las enzimas permiten, por ejemplo, transformar sustancias. Dentro del grupo de las transaminasas las más importantes, ya que nos pueden indicar a través de un análisis de sangre que algo pasa en el organismo, son:

- TGO ó ASAT: Transaminasa glutamicooxalacética. Está presente en casi todos los órganos, dentro de las células, y que cuando se encuentra en sangre en niveles muy elevados significa que ha habido destrucción celular.
  
- TGP ó ALAT: Transaminasa glutamicopirúvica. Se localiza principalmente en el hígado y su misión es la fabricación de glucosa. (54)

#### 1.4.1 NIVELES NORMALES DE TRANSAMINASAS

- Los niveles normales de ASAT en sangre son: 5-40 U/ml.
- Los niveles normales de ALAT son: 5-30 U/ml.

Cuando realizamos un análisis de sangre la proporción que nos encontramos de ASAT en relación con ALAT es: ASAT/ ALAT: 1/3.

Se utilizan en la clínica para la confirmación diagnóstica del infarto agudo de miocardio (junto con la determinación de otras sustancias) y para el estudio de enfermedades hepáticas o musculares. (54)

#### 1.4.2 AUMENTO DE LAS TRANSAMINASAS

Las causas más frecuentes son las:

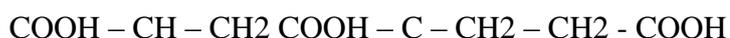
- Enfermedades del hígado: Destacan las hepatitis, el excesivo consumo de alcohol, cirrosis y todas aquellas enfermedades en las que se depositan sustancias en el hígado de forma excesiva, como la grasa (esteatosis hepática o hígado graso).
- Enfermedades del páncreas: Cuando se inflama el páncreas, ya sea por el alcohol o por infecciones víricas, se produce también un aumento de las transaminasas.
- Enfermedades del corazón: Es muy frecuente la elevación de las transaminasas en el infarto agudo de miocardio y en la insuficiencia cardíaca aguda.
- Alteraciones musculares: Sobre todo, cuando hay destrucción de nuestros músculos por quemaduras, ejercicio excesivo etc. (57)

Podríamos enumerar más causas de elevación de transaminasas pero las anteriores son las más frecuentes y sería excesivo añadir una lista de 20 enfermedades más y encima poco frecuentes que producen un aumento de estas enzimas. (57)

#### 1.4.3 DETERMINACION DE TGO/TGP EN SUERO

La administración de un aminoácido con nitrógeno isotópico va seguida de la aparición de dicho nitrógeno en numerosos aminoácidos de las proteínas tisulares; es decir, el organismo utiliza el nitrógeno de un aminoácido para las síntesis de otros. Esta reacción general de traspaso de nitrógeno de uno a otro aminoácido se denomina transaminación y en ella participan un aminoácido y un cetoácido. (58)

Las reacciones de transaminación más frecuentes son aquellas en las que participa en alfa-cetoglutarato cuya aminación produce glutamato. Por consiguiente, casi todos los aminoácidos pueden ceder grupo amino al alfa-cetoglutarato, a través de una reacción de transaminación para formar el cetoácido correspondiente y glutamato. La reacción es de la siguiente forma:



La reacción precedente corresponde a la catalizada por la Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP) siendo igual para la que cataliza la Transaminasa Glutámico Oxaloacética (TGO), solamente cambiando el aminoácido por aspartato y el cetoácido por oxaloacetato, es por eso que se les llama también AlaninoAminotransferasa (ALAT) y AspartatoAminotransferasa (ASAT), respectivamente, por el aminoácido utilizado. (58)

#### 1.4.4 EXPLICACIÓN DE LA REACCIÓN BIOQUÍMICA

La TGO y la TGP son importantes en la clínica y su aumento se debe a un proceso necrótico en órganos con alta funcionalidad como lo es el hígado y el miocardio. En lesiones hepáticas aumentan ambas transaminasas en el suero; cuando sobreviene la mejoría clínica ambas descienden en forma paralela, y si aparece una recaída, las dos suben nuevamente. Sus modificaciones son muy precoces y se puede hacer el diagnóstico de la hepatitis hasta 3 semanas antes de la aparición de los síntomas y signos clínicos. (57)

Las transaminasas también se elevan en casos de cirrosis e ictericia por obstrucción; en las ictericias por lesión hepatocelular, su elevación es muy marcada, coincidiendo con una elevación muy baja o nula de fosfatasa alcalina, mientras en las obstrucciones las transaminasas suben de modo discreto y la fosfatasa alcalina se encuentra elevada.

El tejido miocárdico es muy rico en TGO y el ascenso de esta enzima acompaña a los procesos destructivos del corazón; sube al máximo entre las 12 y 48 horas y suele volver a lo normal a los 4 ó 7 días. El ascenso es, en general, proporcional a la extensión del infarto; a veces da datos positivos en casos con datos electrocardiográficos de difícil interpretación, pero tiene el inconveniente de elevarse en diversos cuadros, sobre todo en la congestión hepática. (57)

#### 1.4.5 CAUSAS DE AUMENTO DE LA TGO Y TGP

Aunque estas enzimas se encuentran en todos los tejidos, se relacionan preferentemente, en los procesos de escape de enzimas del miocardio o el hígado. Estas enzimas siempre están presentes en el suero pero en concentraciones muy bajas, por lo tanto su elevación nos indicaría que hay un proceso anormal en estos órganos, lo cual las hace muy útiles en los diagnósticos. (57)

#### 1.4.6 PRODUCCIÓN DE TRANSAMINASAS

TGO ó AST y SGOT o GOT normalmente es encontrado en una diversidad de tejidos inclusive el hígado, corazón, músculos, riñones, y cerebro. Es liberado en la sangre cuando cualquiera de estos tejidos se encuentra con algún problema. Por ejemplo, su nivel en la sangre sube con ataques de corazón y con desordenes en los músculos. Por lo tanto no es un indicador altamente específico de daño en el hígado.

Las transaminasas se encuentran en su mayor parte en el hígado. No son producidas exclusivamente por el hígado, pero es donde se encuentran más concentradas. Son liberadas en la circulación sanguínea como resultado de daño hepático. Sirve entonces como un indicador bastante específico del estado del hígado. (13)

#### 1.4.7 ELEVACIÓN DE TGO Y TGP

TGP y TGO son indicadores sensibles de daño hepático en diferentes tipos de enfermedades. Más debe ser enfatizado que tener niveles más altos que lo normal de estas enzimas no indica, necesariamente, una enfermedad hepática establecida. Ellas pueden indicar algún problema o no. La interpretación de los niveles altos de TGO e TGP depende del cuadro clínico en general y así lo mejor es que esto sea determinado por médicos experimentados en hepatología. (58)

Los niveles de estas enzimas no miden a extensión de daño en el hígado o muestran un pronóstico de la marcha futura. Así, los niveles de TGO y TGP no pueden ser usados para determinar el grado de daño hepático o indicar el futuro. En pacientes con hepatitis A aguda, las TGO y TGP son muy altos (algunas veces alcanzan millares de unidades), pero la mayoría de estos pacientes con la hepatitis A recupera completamente el hígado, no quedando ningún daño. (13)

En la hepatitis C solo es observada una pequeña elevación en las TGO y TGP, siendo que algunos de estos pacientes pueden haber avanzado para una enfermedad crónica con fibrosis o cirrosis. (57)

#### 1.4.8 ENFERMEDADES QUE CAUSAN NIVELES DE TRANSAMINASAS ANORMALES

Son encontrados niveles más altos de TGO y TGP en desórdenes que causan la muerte de numerosas células (necrosis hepática extensa). Esto acontece en las hepatitis agudas A y B, en el daño pronunciado infligido por toxinas como la de una sobredosis de acetaminofén o cuando el hígado es privado de sangre fresca que trae oxígeno y nutrientes. Las transaminasas en estas situaciones pueden variar de diez veces los límites superiores a lo normal para millares de unidades por mililitro. (16) Moderadas elevaciones de las transaminasas son comunes. Ellas son encontradas frecuentemente en pruebas de sangre de rutina en individuos saludables. Los niveles de las transaminasas en tales casos normalmente se sitúan entre 2 veces los límites

superiores a lo normal y varias centenas de unidades. Es siempre importante hacer la media de los últimos cuatro resultados encontrados, para saber al cierto como están las transaminasas. (16)

La causa más común de moderadas elevaciones de estas enzimas es el hígado graso (esteatosis). La causa más frecuente de hígado graso es el abuso de alcohol. Otras causas de hígado graso pueden ser la diabetes y la obesidad. La hepatitis C también está se tornando una causa importante de elevaciones de las transaminasas. (16)

## **1.5 PERFIL HEPÁTICO**

Las pruebas clínicas o de laboratorio son eficaces para el diagnóstico de la actividad del hígado, entre los exámenes de sangre realizados más comúnmente se incluyen los siguientes:

### **- Examen de bilirrubina sérica**

Este examen mide los niveles de bilirrubina en la sangre. La bilirrubina es producida por el hígado y es excretada en la bilis. Los niveles elevados de bilirrubina a menudo indican una obstrucción del flujo biliar o un problema en el procesamiento de la bilis por parte del hígado. (49)

### **- Examen de albúmina sérica**

Este examen se usa para medir el nivel de albúmina (una proteína presente en la sangre) y contribuye al diagnóstico de la enfermedad del hígado. (49)

### **- Examen de fosfatasa alcalina sérica**

Este examen se usa para medir el nivel de fosfatasa alcalina (una enzima) en la sangre. La fosfatasa alcalina se encuentra en muchos tejidos, con una mayor concentración en el hígado, el tracto biliar y los huesos. Este examen puede realizarse para evaluar el

funcionamiento del hígado y para detectar lesiones del hígado que pueden causar obstrucción biliar, como tumores o abscesos. (49)

- **Aminotransferasas séricas (transaminasas)**

Esta enzima se libera de las células dañadas del hígado. (49)

- **Examen de tiempo de protrombina (su sigla en inglés es PTT)**

El examen de tiempo de protrombina mide el tiempo que tarda la sangre para coagular. La coagulación de la sangre requiere vitamina K y una proteína fabricada por el hígado. La demora en la coagulación puede ser un indicador de enfermedad del hígado o de otras deficiencias de los factores de coagulación específicos. (49)

- **Examen de alaninaaminotransaminasa (su sigla en inglés es ALT)**

Este examen mide el nivel de alaninaaminotransferasa (una enzima hallada predominantemente en el hígado) que se libera al torrente sanguíneo como consecuencia de un daño celular agudo del hígado. Este examen puede realizarse para evaluar la función del hígado y, o para evaluar el tratamiento de una enfermedad aguda del hígado, como la hepatitis. (49)

- **Examen de aspartatoaminotransaminasa (su sigla en inglés es AST)**

Este examen mide el nivel de aspartatoaminotransaminasa (una enzima que se encuentra en el hígado, riñones, páncreas, corazón, sistema músculo esquelético y glóbulos rojos) que se libera al torrente sanguíneo cuando existen problemas en el hígado o el corazón. (49)

- **Examen de gamma-glutamyltranspeptidasa**

Este examen mide el nivel de gamma-glutamyltranspeptidasa (una enzima que se produce en el hígado, el páncreas y el tracto biliar). Este examen suele realizarse para evaluar la función del hígado, obtener información acerca de las enfermedades del hígado y detectar la ingestión de alcohol. (49)

- **Examen de lactato deshidrogenasa**

Este examen detecta el daño tisular y contribuye al diagnóstico de las enfermedades del hígado. La lactato deshidrogenasa es un tipo de proteína (también llamada isoenzima) que participa en los procesos metabólicos del organismo. (49)

- **Examen de 5'-nucleotidasa**

Este examen mide los niveles de 5'-nucleotidasa (una enzima específica del hígado). El nivel de 5'-nucleotidasa se encuentra elevado en las personas con enfermedades del hígado, especialmente en las enfermedades asociadas con la colestasis (alteración en la formación de bilis u obstrucción del flujo biliar). (49)

- **Examen de alfa-fetoproteína**

La alfa-fetoproteína (una proteína de la sangre específica) es producida por los tejidos fetales y por los tumores. Este examen puede realizarse para monitorear la efectividad de la terapia en algunos cánceres, como los hepatomas. (49)

- **Examen de anticuerpos mitocondriales**

La presencia de estos anticuerpos puede indicar cirrosis biliar primaria, hepatitis crónica activa y algunos trastornos autoinmunitarios. (49)

## 1.5.1 VALORES NORMALES DE LAS ENZIMAS HEPÁTICAS EN LAS RATAS

**TABLA No. 1 VALORES DE TRANSAMINASAS EN RATAS**

ESPECIE	VALORES NORMALES	
	ASAT (u/mL)	ALAT (u/mL)
<i>Rattus norvegicus</i>	39-92	17-50

FUENTE: TRANSAMINASAS EN RATAS. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-479620060005&script=sci\\_arttext20120308.2012-01-28](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-479620060005&script=sci_arttext20120308.2012-01-28)

Los valores normales están dados en animales en condiciones normales, libre de cualquier situación de estrés. Los valores están expuestos en la Tabla No. 1. (48)

## 1.6 DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*)

### 1.6.1 TAXONOMÍA



FUENTE: TARAXACO [http://www.hipernatural.com/es/pltdiente\\_de\\_leon.html](http://www.hipernatural.com/es/pltdiente_de_leon.html)

**FIGURA No. 5 DIENTE DE LEÓN**

**TABLA No. 2 TAXONOMÍA DEL DIENTE DE LEÓN**

<b>Reino:</b>	<u><i>Plantae</i></u>
<b>Orden:</b>	<u><i>Asterales</i></u>
<b>Familia:</b>	<u><i>Asteraceae</i></u>
<b>Género:</b>	<u><i>Taraxacum</i></u> <u><i>Cass.</i></u>
<b>Especie:</b>	<i>T. officinale</i> (34)

FUENTE: DIENTE DE LEÓN. [http://www.euroresidentes.com/Alimentos/dientede\\_leon.htm](http://www.euroresidentes.com/Alimentos/dientede_leon.htm). 2011-12-14

### 1.6.2 ORIGEN

Hay indicios serios sobre una procedencia europea. En la actualidad se ha extendido prácticamente por todos los continentes. (2) Esta hierba ha sido utilizada desde la antigüedad por alquimistas y astrólogos. Consta que en el siglo XVI se utilizaba para sanar el hígado y así ha venido siendo a lo largo de los siglos, por sus propiedades curativas. (1)

### 1.6.3. 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. Como lo muestra la Figura No. 5. El fruto es una cipsela o aquenio con vilano (conocidos como "panaderos" (en España como "diente de león"). (6)

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. (1)

### 1.6.4 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. (10)

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. (10)

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 hidrocólico 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. (47)

Favorece el restablecimiento de las funciones hepatobiliares, y calma las manifestaciones dolorosas con ese origen, tales como la anglocolitis y la colelitiasis. (15) También es adecuado como depurativo de la sangre.

Se le reconocen propiedades contra los altos niveles de colesterol, la ictericia, el estreñimiento y la obesidad. (24)

#### 1.6.5 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 de sesquiterpenos del tipo del eudesmanólido y del germacranólido y son únicos al diente de león. Es también una fuente rica de vitaminas y de minerales. (23)

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. (7) (23)

Específicamente las raíces contienen:

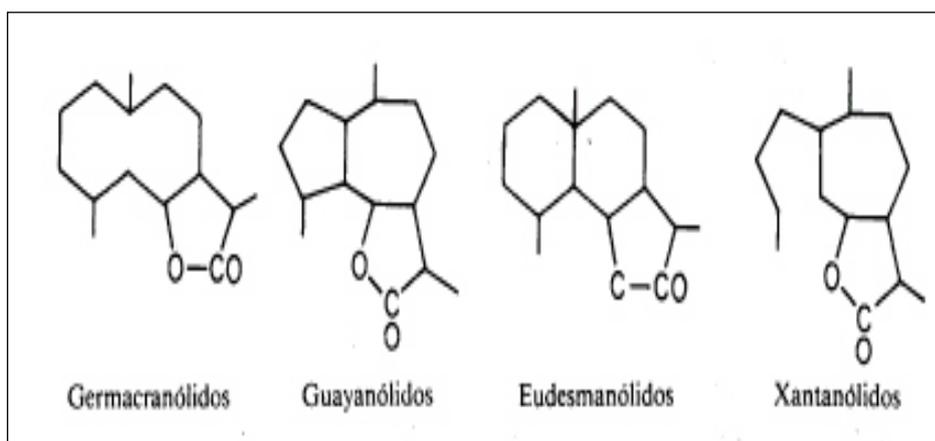
- Lactonas sesquiterpénicas. Son compuestos muy amargos: Eudesmanólidos como glucósidos de taraxinacetina, dihidrotaraxinacetina, taraxacólido, tetrahidroridentina; germacranólidos.
- Alcaloide: Taraxina
- Triterpenos. Beta-amirina, taraxol, taraxerol, taraxasterol.
- Esteroides. Beta-sitosterol, estigmasterol.
- 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%). (17)(30)

Las hojas contienen:

- Lactonas sesquiterpénicas.
- Flavonoides. Glucósidos de apigenina, luteolina.
- Hidroxicumarinas. Cichorina, esculina.
- Sales minerales. Sales potásicas.
- Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico. Ácidos clorogénico, chicórico, monocateiltartárico. (30) (48)

#### **1.6.5.1 Lactonas sesquiterpénicas**

Las lactonas sesquiterpénicas poseen un esqueleto fundamental de 15 átomos de carbono, que teóricamente deriva de la unión de tres fragmentos de isopreno (2-metilbutadieno-1,3), cabeza, cola y algunos productos de transposición; parte del esqueleto es un anillo de metilbutenólido. Como lo muestra la figura No. 6. (16)



FUENTE: LACTONAS. [http://www.Lactonas.com/es/pltdiente\\_de\\_leon.html](http://www.Lactonas.com/es/pltdiente_de_leon.html)

**FIGURA No. 6 LACTONAS SESQUITERPÉNICAS**

Son sustancias amargas, de farmacología poco estudiada pero provenientes de plantas usualmente reportadas como medicinales, por lo que se les atribuye beneficios como: antioxidantes porque inhiben a los radicales libres, evitan la pérdida del glutatión que es un antioxidante natural. Se le atribuye efecto hepatoprotector porque aumenta la producción y eliminación de la bilis. (23)

Por lo general, las sesquiterpenolactonas son lo suficientemente polares para ser insolubles en éter de petróleo, aunque también son insolubles en agua. El etanol o metanol caliente las disuelve, pero son aún más solubles en cloroformo o éter etílico; estas propiedades son utilizadas para extraerlas y separarlas de otros compuestos. (23)

En la Tabla No. 3 se muestra la composición del diente de león.

**TABLA No. 3 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. [http://www.hipernatural.com/es/pltdiente\\_de\\_leon.html](http://www.hipernatural.com/es/pltdiente_de_leon.html). 2012-02-03

### 1.6.6 BENEFICIOS DEL DIENTE DE LEÓN

Estas son las propiedades del Diente de león:

- Aperitivo, digestivo y tónico estomacal (30)
- Colerético
- Insuficiencia hepática, hepatitis y cirrosis: Puede llegar a triplicar la producción de bilis, descongestionando así el hígado y facilitando su función de desintoxicación. (44)
- Disquinesias biliares: vesícula perezosa y otros trastornos de su funcionamiento. (45)
- 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. (45)
- Diurético y depurativo
- Laxante suave

### 1.6.7 ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA

Las hojas y flores de esta planta contienen buena cantidad de lactonas sesquiterpénicas, que se considera importante para recuperar las células hepáticas dañadas por procesos inflamatorios. (30)

### 1.6.8 EFECTOS ADVERSOS Y/O TÓXICOS

No observados en las dosis usuales. Puede existir una leve hipotensión arterial si se administra en el verano debido a su efecto diurético. Como sucede con cualquier droga vegetal que contenga principios amargos, puede producir malestar gástrico debido a la hiperacidez. Se han documentado algunas reacciones de dermatitis de contacto en personas hipersensibles a las lactonas sesquiterpénicas del diente de león o al polen de las flores. (10)

La estructura  $\alpha$ -metilen- lactónica del glucósido del ácido taraxínico a menudo es el responsable de estos cuadros.

Los estudios de toxicidad aguda en ratones determinaron una  $DL_{50}$  por vía intraperitoneal de 36,8 g/kg para extractos de la raíz, y de 28,8 g/k para extractos totales, lo cual se considera toxicológicamente muy bajo. Otros estudios de toxicidad aguda y subaguda en ratas demostraron ausencia de toxicidad del polvo total por vía oral en dosis de 3 g/k, 300 mg/ k y 600 mg/k. Tampoco se hallaron señales de toxicidad en conejos a los cuales se les administró diente de león por vía oral en dosis de 3 a 6 g/k durante siete días consecutivos. (6)

#### **1.6.8.1 Contraindicaciones**

Obstrucciones de vías biliares, íleo paralítico en niños menores de 2 años. La administración de diente de león durante el embarazo no ha generado problemas tóxicos ni teratológicos en las dosis usuales. (6)

#### **1.6.8.2 Interacciones medicamentosas**

El diente de león puede potenciar la actividad de otros diuréticos y puede interferir con la actividad de algunos hipoglucemiantes orales. Administrado simultáneamente con relajantes musculares puede aumentar la respuesta a la tubocuranina y gallamina en caso de producirse pérdidas de potasio. La depleción de sodio por el efecto diurético puede aumentar la toxicidad del litio durante tratamientos antidepresivos. (10)

### **1.7 DROGAS HEPATOPROTECTORAS**

Aparte de los mecanismos de protección celular vistos anteriormente (tema 16), existen varias drogas que se usan para proteger el parénquima hepático en pacientes expuestos a hepatotóxicos. Así, la droga prometacina (una fetotiacina) fue la primera que se demostró que tenía un efecto hepatoprotector contra la acción necrogénica del  $CCl_4$ . La acción parece ser por secuestro de  $CCl_3OO\cdot$  (radicales peroxilclorocarbonados) que pueden iniciar la peroxidación lipídica en membranas hepáticas.

La N-acetilcisteína, al ser un precursor del GSH (cisteína) protege contra agentes oxidantes, como el acetaminofén. (39) (40)

### 1.7.1 SIMEPAR

Simepar es un medicamento de la Industria Farmacéutica Mepha de Aesch-Basilea-Suiza. Su forma farmacéutica son cápsulas que contienen silimarina y vitaminas, es utilizado como hepatoprotector. (52)

#### 1.7.1.1 Composición

La composición se describe en la tabla No. 4.

**TABLA No. 4 .COMPOSICIÓN DEL SIMEPAR**

<b>Silimarina</b>	<b>70 mg</b>
Vitamina B1	4 mg
Vitamina B2	4 mg
Vitamina B6	4 mg
Vitamina B12	1.2 mcg
Pantotenato de calcio	8 mg
Nicotinamida	12 mg

FUENTE: SIMEPAR.<http://www.medicamentos.com.mx/DocHTML/27095.htm>. 2012-05-18

#### 1.7.1.2 Propiedades

En el año 1959, B. Janiak y R. Haensel aislaron la silimarina de una planta medicinal que era conocida desde hace más de 2 000 años: el cardo mariano. (52)

#### 1.7.1.3 Acción terapéutica

Se basa en su influencia sobre la permeabilidad de la membrana hepática y sobre la función excrecional y el rendimiento del metabolismo del hígado.

Las vitaminas del complejo B constituyen una unidad funcional en el metabolismo intermedio. Además de que influyen sobre la función enzimática en el metabolismo de la albúmina y de los hidratos de carbono, posee también una acción protectora del hígado.

Por otra parte, aceleran la recuperación del parénquima hepático dañado, lo que facilita la función desintoxicadora del hígado.

Además de esto, la considerable disminución de vitaminas del complejo B en el tejido hepático que se dan en las hepatopatías a causa de la pérdida de la capacidad de almacenamiento, se ve compensada por las vitaminas del complejo B que Simepar contiene. (52)

#### **1.7.1.4 Indicaciones**

Coadyuvante en las enfermedades del hígado, cirrosis hepática, hígado graso. En la protección del hígado en intoxicaciones, como exceso de alcohol, y enfermedades crónicas que recargan al hígado. (19)

#### **1.7.1.5 Contraindicaciones**

A dosis terapéuticas no hay constancia de contraindicación alguna. (20)

#### **1.7.1.6 Efectos secundarios**

No se han reportado. (19)

#### **1.7.1.7 Posología**

Salvo prescripción facultativa, se reconoce la dosis de tres cápsulas diarias, una después de cada comida. El tratamiento puede continuarse reduciéndola a 2 ó 1 cápsulas diarias. (19)

#### **1.7.1.8 Silimarina**

Diferentes estudios han demostrado la actividad terapéutica de la Silimarina, basada en los siguientes mecanismos de acción.

1- La silimarina es una mezcla de flabolignanos, potentes antioxidantes.

2- Cambia la estructura de la membrana externa o pared celular de la célula hepática (hepatocito), previniendo que las toxinas u otros contaminantes entren a la célula.

3- Estimula la síntesis de proteínas en la célula hepática y la regeneración de células hepáticas dañadas. La silimarina estimula el crecimiento de tejido hepático maligno.

4- Inhibe la enzima lipoxigenasa, que cataliza la reacción para la formación de grasas oxidadas poli-insaturadas que dañan al hígado.

5- Como antioxidantes es 10 veces más potente que la vitamina E y aumenta los niveles de glutatión en la célula hepática. El glutatión es un antioxidante natural intracelular, muy importante para evitar mutaciones del DNA y RNA.

6- Aumenta la enzima superóxidodismutasa. Esta enzima en conjunto con la enzima glutatión peroxidasa son fundamentales en la detoxificación y regeneración de la célula hepática. (51)

### **1.8 RATAS (*Rattus norvegicus*)**



FUENTE: RATAS. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Rattusnorvegicus00pdf>

**FIGURA No. 7 *Rattus norvegicus***

### 1.8.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

**Superreino:** Eucariota

**Reino:** Animalia

**Subreino:** Eumetazoa

**Superphylum:** Deuterostomia

**Phylum:** Chordata

**Subphylum:** Vertebrata

**Infraphylum:** Gnathostomata

**Superclase:** Tetrapoda

**Clase:** Mammalia

**Subclase:** Theria

**Infraclase:** Placentalia

**Orden:** Rodentia

**Suborden:** Myomorpha

**Superfamilia:** Muroidea

**Familia:** Muridae

**Subfamilia:** Murinae

**Género:** Rattus

**Especie:** norvegicus

**Nombre binomial:** *Rattus norvegicus*

**Subspecies:** R. n. albinicus - R. n. albus - R. n. norvegicus. (50)

### 1.8.2 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

La rata noruega presenta un pelaje áspero y grueso con prominentes orejas desnudas y cola prácticamente desnuda, que generalmente es más corta que el cuerpo y cabeza. De color blanco. Las hembras tienen 12 mamas. Posee cuatro incisivos, dos superiores y dos inferiores, carece de caninos y premolares anteriores lo que ocasiona que haya un diastema. Como lo muestra la Figura No. 7. (50)

Sus incisivos crecen durante toda su vida a partir de la base, que va sustituyendo la porción desgastada por la actividad de cortar y roer materiales duros. La parte exterior del diente es más dura y carece de nervio, salvo en la base.

Fórmula dental: I (1/1), C (0,0), P (0/0), M (3/3) (50)

### 1.8.3 MEDIDAS

Longitud total: 80 a 480 mm.

Longitud de la cola: 187 mm en promedio 153 a 218 mm.

Longitud de la pata trasera: 37 a 44 mm promedio.

Peso: 200 a 500 g. (50)

### 1.8.4 CICLO REPRODUCTIVO

Puede ser a lo largo de todo el año, aunque se han reportado picos en primavera y otoño; las hembras son poliéstricas y pueden tener entre 1 y 12 camadas al año; presentan estro posparto. Las hembras son receptivas por un período de 20 horas, cada 4 a 6 días (51)42  
Tiempo de gestación: De 21 a 26 días. (50)

### 1.8.5 TAMAÑO DE LA CAMADA

Desde 2 hasta 22 crías; promedio 8 a 9. Las crías nacen ciegas y desnudas, pero pueden ver y están completamente cubiertas de pelo a los 15 días, dejando el nido a los 22 días, aproximadamente. Madurez sexual: Entre 2 y 3 meses. (50)

### 1.8.6 HÁBITOS ALIMENTICIOS

Omnívora, comiendo desde materia vegetal, hasta animal y en particular semillas, granos, nueces, vegetales y frutas, aunque también comen insectos y otros invertebrados. Esta especie come todo lo que el ser humano y más, incluyendo papel, cera de abejas, jabón, etc.

La comida comúnmente es llevada para almacenar a sus guaridas. En particular prefiere alimentarse de productos animales, tales como pájaros y huevos, y es excelente cazadora de peces. También se pueden alimentar de ratones, pollos y crías de cerdos y borregos, atacando en ocasiones animales mayores. La principal limitante es la presencia de agua.  
(50)

## CAPÍTULO II

### 2. PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en:

- Laboratorio de Productos Naturales de la ESPOCH.
- Laboratorio de Fitoquímica de la ESPOCH.
- Bioterio de la ESPOCH.
- Laboratorio Histopatológico de SOLCA- Riobamba.
- Laboratorio Histopatológico Dr. Oswaldo Duque Andrade.

#### 2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

##### 2.2.1 MATERIALES Y REACTIVOS PARA EL ESTUDIO FITOQUÍMICO Y CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA SECA Y EXTRACTO ALCOHÓLICO DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*)

- 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 Marzo del 2012 en Jambi Kiwa, en el Cantón Riobamba, en la provincia de Chimborazo.

- Extracto

1. Alcohol potable (96%)

2. Hojas, tallos y raíces de Diente de león (*Taraxacum officinale*). (100 gramos)

### **2.2.1.1 Materiales de laboratorio**

1. Vasos de precipitación
2. Trípode
3. Termómetro
4. Crisol
5. Embudo simple
6. Papel filtro
7. Reverbero
8. Varilla de agitación
9. Pipetas volumétricas
10. Cápsulas de porcelanas
11. Matraces
12. Probetas
13. Embudo simple
14. Embudo de separación
15. Balones esmerilados
17. Papel aluminio
18. Equipo de destilación
19. Aspersor (atomizador)
20. Cámara cromatográfica
21. Cuba cromatográfica
22. Placa de sílica gel

### **2.2.1.2 Reactivos**

- 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
- Agua
- Ácido Sulfúrico concentrado
- Vainillina

### **2.2.1.3 Equipos**

1. Balanza analítica (BOECO)
2. Desecador
3. Estufa (MEMMERT)
4. Mufla (OPTIC IVYMEN SYSTEM)
5. Espectrofotómetro
6. Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-VAP)
7. pH – metro (HANNA INSTRUMENT)
8. Refractómetro
9. Bomba de vacío
10. Cabina extractora de gases (Memmrt)
11. Cámara fotográfica (Sony)
12. Computadora HP Mini
13. Refrigeradora

## 2.2.2 MATERIALES Y REACTIVOS PARA COMPROBAR LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA

### 2.2.2.1 Materiales

1. Algodón
2. Bandejas de plástico
3. Caja de guantes y mascarillas
4. Jeringas
5. Balones aforados
6. Cánulas.
7. Vaselina pura

### 2.2.2.2 Reactivo biológico

Ratas (*Rattus norvegicus*) del Bioterio de la Facultad de Ciencias Espoch.

### 2.2.2.3 Reactivos

1. Extracto alcohólico de Diente de león (*Taraxacum officinale*) a dosis diferentes (100%, 50% y 25%).
2. Simepar (Mepha)
3. Tetracloruro de carbono
4. Solución salina (suero fisiológico)
5. Formol al 10%
6. Agua destilada
7. Alcohol antiséptico
8. Gel desinfectante

## 2.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS

### 2.3.1 ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO

#### 2.3.1.1. Determinación del contenido de humedad

##### Método Gravimétrico

Se pesó 2 g. ± 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. El ensayo se realizó por triplicado.

Cálculos:

$$\%H = \frac{M2 - M1}{M} \times 100$$

FÓRMULA N° 1.

H = Porcentaje de Humedad

M = masa de la muestra de ensayo (g).

M1= masa del pesa filtro con la muestra desecada (g)

M2 = masa del pesa filtro con la muestra de ensayo (g).

100 = factor matemático para los cálculos.

#### 2.3.1.2. Determinación de cenizas totales

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 o platino (en dependencia de la sustancia analizada) previamente tarado. Caliente suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y

posteriormente incinere en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante 2 horas.

Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5mg por g (masa constante).

Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min.

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.

Expresión de los resultados:

$$C = \frac{M2 - M}{M1 - M} \times 100$$

FÓRMULA N° 2.

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g)

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

M2= masa del crisol con la ceniza (g)

100= factor matemático para los cálculos.

Los valores se aproximan hasta las décimas.

### **2.3.1.3. Determinación de cenizas solubles en agua**

A las cenizas totales obtenidas en A, se le añaden de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5min. La solución se filtra a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol

inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 700-750 °C, durante 2h.

Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados:

$$Ca = \frac{M2 - Ma}{M1 - M} \times 100$$

FÓRMULA N° 3.

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

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

Ma = 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.

100 = factor matemático.

Los valores se aproximan a las décimas.

#### **2.3.1.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico**

A las cenizas totales obtenidas según la técnica, se le añaden de 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol 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 del crisol. La solución se filtra a través de un papel de filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico p.a; al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1mol/L, no muestre presencia de cloruros. El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105 ° C, se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750 ° C durante 2 h (si no se señala otra temperatura en la norma específica). Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados:

$$B = \frac{M2 - M}{M1 - M} \times 100$$

**FÓRMULA N° 4.**

B= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

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

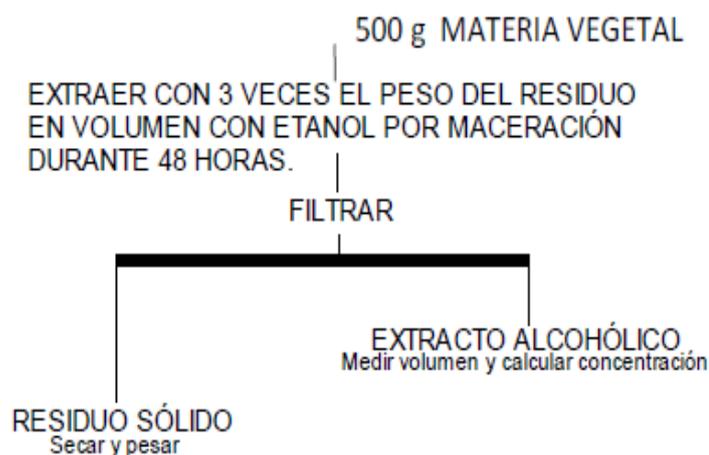
M2= masa del crisol con la ceniza (g)

100= factor matemático.

Los valores se aproximan hasta las décimas.

## 2.4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

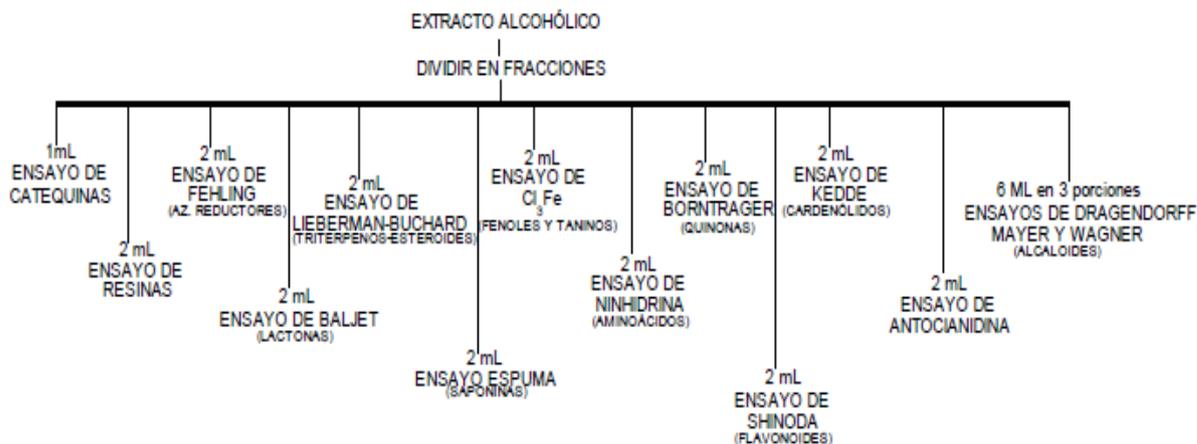
La planta fresca, seca o el residuo de una extracción; es sometida a una extracción sucesiva según el esquema de la Figura. 8, al extracto se le mide el volumen obtenido y se le calcula su concentración, esto es, gramos de sustancias extraídas por mL de extracto.



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

**FIGURA No. 8 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO**

Al extracto alcohólico se procede de la siguiente manera ilustrada en la figura 9.



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

**FIGURA No. 9 ESQUEMA DE LAS REACCIONES A REALIZAR EN EL EXTRACTO ALCOHÓLICO.**

#### 2.4.1 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 (+++).

#### 2.4.2 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, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++).

Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++)

ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

#### 2.4.3 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.

#### 2.4.4 ENSAYO DE LIEBERMANN-BURCHARD

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

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. 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.

**IMPORTANTE:** 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.

La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

#### 2.4.5 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 (+++).

#### 2.4.6 ENSAYO DE BALJET

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Coumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo.

Para ello, si la alícuota del extracto no 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 del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.

#### 2.4.7 ENSAYO DE SUDÁN

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos.

#### 2.4.8 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.

#### 2.4.9 ENSAYO DE RESINAS

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

#### 2.4.10 ENSAYO DE LA ESPUMA

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal comotriterpénica. 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.

#### 2.4.11 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. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos.

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.

#### 2.4.11 ENSAYO DE LA 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.

#### 2.4.13 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.

#### 2.4.14 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.

#### 2.4.15 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. El reactivo se prepara de la siguiente forma:

Solución A: Se pesan 35 g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Solución B: Se pesan 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar. También pueden realizarse otros ensayos no comprendidos en este esquema de tamizaje, para la detección de otros compuestos.

#### 2.4.16 ENSAYOS DE PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar.

### 2.5 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

#### 2.5.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN

Los extractos blandos son líquidos espesos o masas semisólidas, que se obtienen por concentración de los licores extraídos sin llegar a sequedad. Generalmente cada gramo de licor extractivo es equivalente a 2-6 g de droga.

Las principales técnicas extractivas son: maceración, lixiviación o percolación, digestión, infusión, destilación y extracción continua.

En esta investigación el método utilizado para realizar el extracto fue por percolación.

#### **Método por Percolación:**

- Se parte de 100 g de droga cruda (*Taraxacum officinale*) pulverizada, la cual se coloca en un recipiente amplio y cerrado y se humedece con 120 mL de alcohol potable para que este penetre la estructura celular y disuelva las sustancias.
- Poner alcohol hasta sobrepasar 5 cm de la planta, esto es un volumen aproximado de 200 mL
- Macerar por 24 horas.
- Armar el equipo de percolación.
- Regular a 30 gotas por minuto la filtración del extracto.
- Recoger los primeros 30 mL del filtrado en un envase ámbar, y ponerlo en refrigeración.
- Seguir con la percolación y adición de alcohol potable, hasta que el filtrado sea un líquido claro.
- Recoger el todo el filtrado en un envase ámbar, se refrigera para decantar las clorofilas y luego utilizar el extracto para las investigaciones planteadas.

#### **Concentración del extracto alcohólico**

- Concentrar en el rotavapor el segundo extracto recogido que fue aproximadamente de 400 mL hasta obtener un volumen de 70 mL.
- Recoger el alcohol recuperado y poner en un envase etiquetado.
- Unir el extracto concentrado más el primer extracto recogido de la percolación.
- El volumen obtenido fue de 100 mL de extracto alcohólico a partir de 100 mL de droga cruda (*Taraxacum officinale*).
- Finalmente se filtra el extracto alcohólico para eliminar las impurezas.

## 2.5.2 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS

### 2.5.2.1 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. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$\text{pH} = - \log a [\text{H}^+]$$

$$[\text{H}^+ ] = \text{actividad de los iones hidrógeno}$$

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Se ajusta el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente determínese el valor del pH de la muestra.

### 2.5.2.2 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.

Primeramente pésese el picnómetro vacío y secos 2° C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25 °C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) durante 15 min y ajústesele 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.

### **Expresión del resultado:**

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

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

FÓRMULA N° 5.

M<sub>1</sub> = peso del picnómetro con la muestra (g)

M<sub>2</sub> = peso del picnómetro con la muestra (g)

M = peso del picnómetro vacío (g)

### **2.5.2.3 Determinación del índice de refracción**

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Esta relación viene dada por la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{\text{Sen } i}{\text{Sen } r}$$

FÓRMULA N° 6.

Así 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.

Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada. Utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajusta el equipo seleccionando la zona

del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro.

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma y se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua.

### **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:

$$Nd_{25} = Ndt + 0.00044 (t-25)$$

#### **FÓRMULA N° 7.**

$Nd_{25}$  = índice de refracción a 25 °C.

$Ndt$  = Valor leído en la escala del aparato a la temperatura.

$T$  = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C).

0.00044 = factor de correlación por Grados Celsius.

Los valores se aproximan hasta las milésimas.

#### **2.5.2.4 Determinación de Sólidos totales**

La determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales. 5.0 mL del extracto se llevan a una cápsula previamente tarada a 105 °C, se evapora sobre baño de agua hasta que el residuo esté aparentemente seco. Se pasa entonces hacia una estufa y se deja hasta peso constante (aproximadamente 3 horas).

Se retira la cápsula de la estufa y se coloca, en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente. Para obtener la masa constante entre una pesada y otra se mantendrá un tiempo de secado de 60 minutos.

### **Expresión de los resultados:**

La cantidad de sólidos totales, expresado en %, R, se calcula por la siguiente fórmula;

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

**FÓRMULA N° 8.**

Pr = masa de la cápsula más el residuo (g).

P == masa de la cápsula vacía (g).

V = volumen de la porción de ensayo.

100 == factor matemático para el cálculo.

### **2.5.2.5 Determinación de los requisitos organolépticos**

#### **1. Determinación del 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.

#### **1. Determinación del color**

Se toma un tubo de ensayos bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas. Se informa los resultados.

### **2.5.2.6 Cromatografía en capa fina**

1. Una vez que se ha concentrado el extracto de diente de león se aplica 10uL del concentrado en una placa cromatografía de sílica gel 60 F254 con la ayuda de un capilar.
2. Se deja secar después de cada aplicación.
3. Se introduce la placa en la cuba cromatográfica, hasta que el solvente recorra las  $\frac{3}{4}$  partes de la placa.
4. Se retira de la cuba y dejar secar para luego observar en la lámpara UV 365 nm.
5. Finalmente se revela la placa y dejar secar, calentar en la estufa y anotar los Rf.

Absorbente: Sílica gel 60 F254

Sistema de solventes: Acetato de etilo; Metanol; Agua

Proporción: (77:15:8)

Revelador: Ácido sulfúrico - vainillina

Se utiliza este sistema de solvente y este revelador para determinar lactonas sesquiterpénicas: glicósidos iridoides.

## **2.6 ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*)**

### **2.6.1 HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO A RATAS (*Rattus norvegicus*)**

#### **2.6.1.1 Animales de experimentación**

Para llevar a cabo esta investigación se empleó un lote de 18 ratas (*Rattus norvegicus*), (9 machos y 9 hembras) agrupadas en tres lotes de 3.

Se utilizó 3 hembras para la dosis de 100%, 3 machos para el 50%, 3 machos para el 25%, 3 hembras como blanco, 3 hembras para control positivo con simepar y 3 machos para control negativo).

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 fotoperiodo 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.

#### **2.6.1.2 Administración de Tetracloruro de Carbono**

Se administró a las ratas del control positivo, control negativo y a los 3 grupos de experimentación 0,1 mL de tetracloruro de carbono los dos últimos días de experimentación, ya que este compuesto es el mejor agente hepatotóxico que causa un daño hepático severo.

#### **2.6.1.3 Obtención de Sangre de la Cola de la Rata**

Previo ayuno de 14 horas se colocó al animal en cuba cromatográfica que contenía éter etílico, el cual sirve para anestesiarlo. Se introdujo al animal en esta cuba por unos segundos, enseguida se lo sacó y se sujetó firmemente la cola para su desinfección, se pinchó el extremo de la misma presionando hasta aspirar la cantidad necesaria de sangre y se coloca en un tubo de tapa roja para realizar las correspondientes pruebas bioquímicas como son ASAT y ALAT.

#### **2.6.1.4 Determinación de Enzimas Hepáticas en Sangre**

Se evaluaron los niveles de Aspartatoaminotransaminasa (AST) y Alaninaminotransaminasa (ALT) al finalizar el período de tratamiento y de inducción de la hepatotoxicidad. La muestra sanguínea fue extraída de cada una de las ratas del extremo de la cola en un volumen aproximado de 3 mL, después se colocó en los tubos de tapa roja para su respectivo análisis de enzimas hepáticas.

### **2.6.1.5 Examen Anatomopatológico**

Al culminar el ensayo las ratas fueron sacrificadas por el método de eutanasia con éter etílico. Se realizó la necropsia y se procedió a la extracción del hígado, al cual se le observaron sus características macroscópicas como el color, aspecto, consistencia, forma, peso y medidas tanto de largo, ancho y profundidad.

Posteriormente se colocaron los hígados en envases que contenían formol diluido al 10% para su correspondiente examen histopatológico.

### **2.6.1.6 Examen Histopatológico**

Se realizaron los cortes histológicos de cada hígado, luego se prepararon las placas y por último se realizó la observación microscópica para determinar el porcentaje de protección y/o daño.

### **2.6.1.7 Administración del Tratamiento**

Se administró vía oral 2 mL del extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*) en una concentración de 200 mg/kg al Grupo A, B y C en las concentraciones de 100%, 50% y 25% respectivamente a cada lote durante 9 días. La administración fue una vez al día por la mañana después de la alimentación de los animales.

Al grupo control positivo se le administró vía oral 2 mL de solución de simepar en una concentración de 150 mg/kg durante 9 días, una vez al día por la mañana después de la alimentación.

Al grupo control negativo se le administró vía oral 0.1mL de tetracloruro de carbono a partir del octavo día de tratamiento, durante 2 días. La administración fue una vez al día por la mañana después de la administración del extracto de las hojas de diente de león.

Al grupo blanco no se le administró ningún tratamiento y se los mantuvo en condiciones normales de agua y comida.

## 2.6.2 ESQUEMA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

### 2.6.2.1 Definición de los grupos

**TABLA No. 5 GRUPOS DE EXPERIMENTACIÓN PARA LA COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*).**

<b>GRUPOS</b>	<b>TRATAMIENTO</b>
Blanco:	Agua <i>ad libitum</i>
Control (+)	Simepar +CCl <sub>4</sub>
Control (-)	CCl <sub>4</sub>
Grupos experimentales	
Grupo A (100%)	Extracto de diente de león + CCl <sub>4</sub>
Grupo B (50%)	Extracto de diente de león+ CCl <sub>4</sub>
Grupo C (25%)	Extracto de diente de león + CCl <sub>4</sub>

Los grupos experimentales se muestran en la Tabla No. 5.

### 2.6.2.2 Período 1: Aclimatación

- Aislamiento de las ratas (machos y hembras) una semana previo a la experimentación.
- Peso de las ratas: 280-320 g.
- Edad: Dos meses

#### **Condiciones ambientales:**

- Temperatura: 18°C
- Dieta: normocalórica, normoproteica.
- Comida: 3 g de pellets/100 g peso de la rata; agua *ad libitum*.

### **2.6.2.3 Período 2: Inducción de la hepatotoxicidad**

#### **Control (-):**

Inducción con CCl<sub>4</sub>

-Dosis: A partir del octavo día de experimentación administramos 0,1 mL de CCl<sub>4</sub> por 2 días.

- Intervalo: Una administración diaria por vía oral.

### **2.6.2.4 Período 3: Tratamiento**

#### **Control (+):**

Dosis: Administrar 2 mL de solución de simepar a una concentración 150 mg/kg de peso durante 9 días. A partir del octavo día administramos 0,1 mL de CCl<sub>4</sub> por 2 días.

Intervalo: Una administración diaria por vía oral.

#### **Grupos experimentales:**

Este procedimiento se aplica de forma simultánea para los tres grupos experimentales.

Dosis: Administrar 2 mL de extracto del Diente de león a una concentración de 200 mg/kg de peso durante 9 días. A partir del octavo día administramos 0,1 mL de CCl<sub>4</sub> por 2 días.

Intervalo: Una administración diaria por vía oral.

### **2.6.2.5 Período 4: Evaluación de la actividad hepática**

#### **a. Pruebas Histopatológicas**

Observación macroscópica y microscópica:

- Extraer el hígado de las ratas.
- Realizar el examen macroscópico del hígado, en donde valoramos los siguientes parámetros:
  - Color del hígado
  - Tamaño del hígado
  - Forma del hígado
  - Peso del hígado
  
- Colocar el hígado en un frasco con formol diluido al 10% por 48 horas.
- Realizar los cortes histológicos para la microscopía.
- Análisis microscópico del tejido hepático.
- Diagnóstico.

#### **b. Pruebas Bioquímicas**

- Luego de la experimentación, tomamos muestras sanguíneas de las colas de las ratas.
- Realizamos las siguientes pruebas enzimáticas:
  - Aspartatoaminotransaminasa (AST)
  - Alaninaminotransaminasa (ALT)

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA SECA DE DIENTE DE LEÓN

*(Taraxacum officinale)*

Previa utilización de la droga vegetal en la investigación del efecto hepatoprotector, se realizó el control de calidad de la droga seca de diente de león (*Taraxacum officinale*).

##### 3.1.1 ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO

##### 3.1.1.1. Determinación del contenido de humedad

En la droga seca de diente de león (*Taraxacum officinale*), mediante el método gravimétrico se obtuvieron los siguientes resultados.

**CUADRO No. 1 HUMEDAD DE LA DROGA SECA DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

	<b>%HUMEDAD</b>	<b>LIMITE DE HUMEDAD USP</b>
<b>Droga seca</b>	13.20	Hasta 14%

Los resultados expresados en el Cuadro No. 1 nos indica que el contenido de humedad es de 13.20% en droga seca de diente de león (*Taraxacum officinale*) con lo que comprobamos que se encuentra dentro del límite establecido por la USP. Este parámetro

es muy importante porque evidencia la estabilidad de la planta, ya que habiendo menor cantidad de agua se evita la proliferación bacteriana.

### 3.1.1.2. Determinación de cenizas totales

En la droga seca de diente de león (*Taraxacum officinale*), mediante el método gravimétrico de la determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en HCl se obtuvieron los siguientes resultados.

**CUADRO No. 2 CENIZAS TOTALES, SOLUBLES EN AGUA E INSOLUBLES EN HCL DE LA DROGA SECA DE DIENTE DE LEÓN. (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

	% C.T	% C. sol en agua	% C .ins.HCl	LIMITES DE ACEPTABILIDAD USP
<b>Droga seca</b>	9.54	6.31	2.63	C.T 12% C. SOL. AGUA 7% C.INS. HCl 5%

El resultado expresado en el Cuadro No. 2, indica que en la droga seca de diente de león (*Taraxacum officinale*) el contenido de cenizas totales es 9.54 %, cenizas solubles en agua 6.31% y cenizas insolubles en ácido clorhídrico 2.63%.

Estos porcentajes son aceptados ya que están dentro de los límites de la USP. Este análisis es muy importante pues nos permite descubrir falsificaciones por otras drogas, tierras u otros minerales. Si en la determinación el contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico es alto puede ser indicador que en la recolección existió contaminación de materia mineral (sílice).

### 3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*)

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

#### 3.2.1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico constituye una de las etapas que nos permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta. La información obtenida de la investigación de compuestos de origen vegetal, ayuda a comprender la fisiología y bioquímica de los organismos que los producen y a lograr su mejor aprovechamiento con fines científicos, medicinales y económicos.

El tamizaje fitoquímico se realizó en el extracto alcohólico, etéreo y acuoso simultáneamente.

**CUADRO No. 3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH MARZO 2012.**

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

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

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

En el análisis del tamizaje fitoquímico del diente de león (*Taraxacum officinale*) realizado en el extracto alcohólico, etéreo y acuoso se puede apreciar mediante el Cuadro No. 3 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 compuestos lactónicos y principios amargos que le otorgan la cualidad de hepatoprotector al diente de león.

Estos datos coinciden con el estudio de compuestos fitoquímicos del diente de león realizado por María José Castro M. en la Universidad de Pamplona en Bucaramanga en el 2005. Los metabolitos encontrados en esta investigación fueron: compuestos lactónicos, flavonoides, taninos, triterpenos, quinonas, compuestos amargos. Además la taraxina que es un alcaloide. (5)

### 3.2.2 DETERMINACIÓN DEL pH

**CUADRO No. 4 DETERMINACIÓN DE pH DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

Parámetro	Resultado
pH	5.85

El pH expresa la concentración de iones hidronio [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] presentes en determinadas sustancias. En el extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*) el pH es de 5.85 lo que representa un pH ligeramente ácido como lo muestra en Cuadro No. 4. En estudios realizados sobre el diente de león el pH se ha encontrado entre 5.4.-6.8, lo que indica que se encuentra dentro del rango referencial con respecto a un estudio realizado por Héctor Jiménez, en la Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, cuyo valor de pH fue de 6.3. (12)

### 3.2.3 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

**CUADRO No. 5 DENSIDAD RELATIVA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

Parámetro	Resultado
Densidad	0.838

El resultado expuesto en el Cuadro No. 5 indica que el extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*) es menos denso que el agua por ser su valor menor a 1.

### 3.2.4 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

**CUADRO No. 6 ÍNDICE DE REFRACCIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). MARZO 2012.**

Parámetro	Resultado
I. Refracción	1.3332

El índice de refracción es un valor útil que establece la pureza de los aceites esenciales presentes en las plantas. El resultado expuesto en el Cuadro No. 6 es de 1.3332.

En valor obtenido por Héctor Jiménez, en la Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, fue de 1.3432. (12)

El diente de león tiene bajas cantidades de aceites esenciales que contienen vitamina C, potasio y calcio entre otros componentes, este aceite ayuda en casos de debilidad por carencia de alguno de ellos. (12)

### 3.2.5 DETERMINACIÓN DE °BRIX

**CUADRO No. 7 °BRIX DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

Parámetro	Resultado
°Brix	2.2

Indica la cantidad de sólidos solubles presentes en el extracto alcohólico del diente de león (*Taraxacum officinale*), los cuales se encuentran expresados en porcentaje de sacarosa. El resultado expuesto en el Cuadro No. 7 es de 2.2

### 3.2.6 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

**CUADRO No. 8 SÓLIDOS TOTALES DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>
Sólidos totales	1.95%

El resultado expuesto en el Cuadro No. 8 mide el total de residuos sólidos filtrables (sales y residuos orgánicos). Este parámetro sirve para calcular la dosis para la administración a los grupos experimentales.

El valor obtenido se aproxima al obtenido por Héctor Jiménez, en la Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, que fue de 1,98%. (12)

### 3.2.7 DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS

**CUADRO No. 9 REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

<b>Parámetros</b>	<b>Extracto</b>
Aspecto	Líquido
Color	Verde oscuro
Olor	Amargo
Sabor	Amargo

Los resultados que se observan en el Cuadro No. 9 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.

### 3.2.8 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

**CUADRO No. 10 Rf DE LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.MARZO 2012.**

MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULOS $R_f$	COMPUESTOS PROBABLEMENTE IDENTIFICADOS	COLOR	PLACA
1	$Rf1 = 2.1/7.9 = 0.27$	Harpagósidos	Violeta	
2	$Rf2 = 3.8/7.9 = 0.48$	Catalpol	Violeta	
3	$Rf3 = 5.1/7.9 = 0.64$	Rehmanniósidos	Violeta	
4	$Rf4 = 6.3/7.9 = 0.79$	Procúmbidos	Violeta	

FUENTE: HILDEBERT WAGNER. SABINE BLADT. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas.

Absorbente: Sílica gel 60 F254

Sistema de solventes: Acetato de etilo; Metanol; Agua

Proporción: (77:15:8)

Revelador: Ácido sulfúrico – vainillina

En la cromatografía en capa fina los metabolitos encontrados son los que se describen en el Cuadro No. 10, previamente calculados los  $R_f$  para identificarlos, estos metabolitos han sido comparados con una cromatografía en capa fina para lactonas sesquiterpénicas donde son citados con sus respectivos  $R_f$ . (WAGNER.H, BLADT S. (1996).

De acuerdo a los Rf de bibliografía con los encontrados en la investigación, las lactonas sesquiterpénicas presentes en el diente de león (*Taraxacum officinale*) podrían ser:

- ✓ Rf = 0.25 Catalpol
- ✓ Rf = 0.45 Harpáidos
- ✓ Rf = 0.60 Rehmanniósidos
- ✓ Rf = 0.75 Harpagósidos

Estas lactonas sesquiterpénicas poseen actividad citoprotectora porque inhiben la formación de radicales libres y evitan la pérdida de glutatión que es un antioxidante. Además se ha demostrado científicamente que ejerce una acción beneficiosa sobre la función hepática: la secreción de bilis aumenta entre dos y cuatro veces. (22)

### **3.3 ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA CON TETRACLORURO DE CARBONO.**

Al extracto alcohólico se le evaporó el etanol hasta sequedad y se le reconstruyó con suero fisiológico para evitar gastritis de las ratas. Se les administró en dosis del El extracto de diente de león fue administrado en dosis de 200 mg/kg, realizando diluciones al 100%, 50%, y 25%. La solución de simepar fue administrada en dosis de 150 mg/kg.

El peso se evaluó al inicio de la investigación y al término de la misma para conocer de qué manera interactuaron los pesos con respecto al extracto administrado; viéndose una depreciación en los pesos adquiridos.

### 3.4 MEDICIÓN DE LOS PESOS DE LAS RATAS

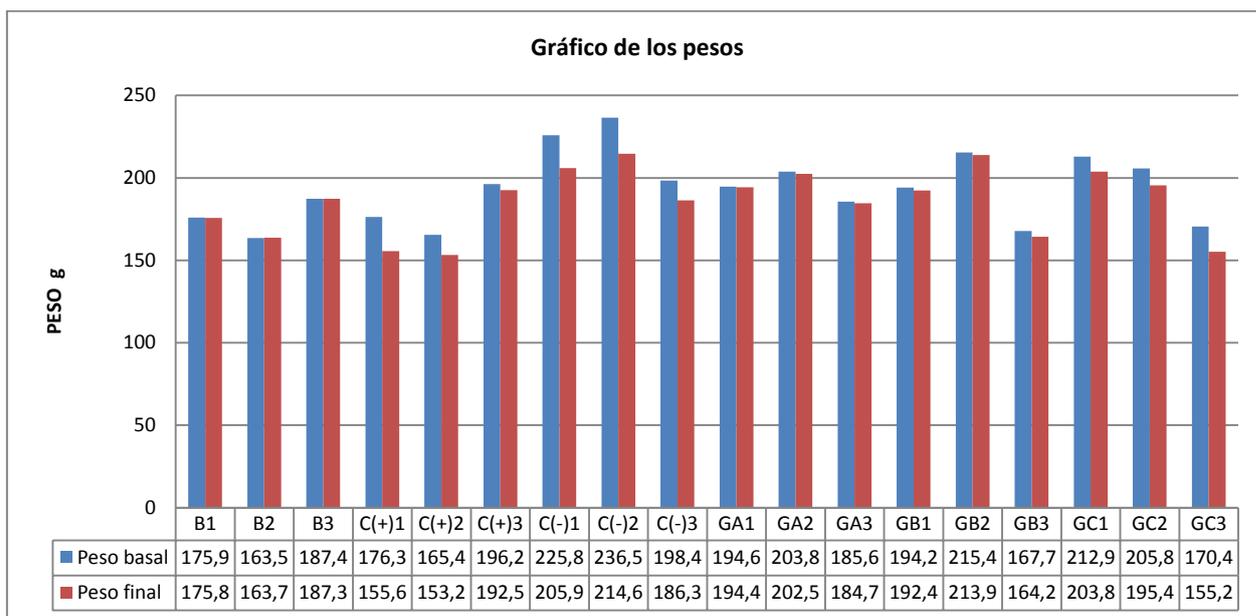
**CUADRO No. 11 MEDICIÓN DEL PESO DE RATAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL DE 2012.**

<b>GRUPOS EXPERIMENTALES</b>	<b>No</b>	<b>Media</b>	<b>Error típico</b>
BLANCO	6	175,6000 ( $\pm$ 10,62337)	4,33697
CONTROL POSITIVO	6	173,2000 ( $\pm$ 18,33957)	7,48710
CONTROL NEGATIVO	6	211,2500 ( $\pm$ 18,31248)	7,47604
GRUPO A	6	194,2667 ( $\pm$ 8,06763)	3,29360
GRUPO B	6	191,3000 ( $\pm$ 21,87492)	8,93040
GRUPO C	6	190,5833 ( $\pm$ 22,74559)	9,28585
Total	36	189,3667 ( $\pm$ 20,68917)	3,44819

$\pm$ : DESVIACIÓN ESTÁNDAR

P < 0.01

Como lo muestra el Cuadro No. 11 con el valor de la significancia inferior a 0,01, confirmamos que existen diferencias altamente significativas en los pesos promedio. Por lo tanto la administración del tetracloruro de carbono y del extracto de diente de león influyó en los pesos de las ratas, produciendo un descenso con relación al peso basal principalmente de las ratas del control negativo y del grupo del extracto al 25%.



**B:** ALIMENTACIÓN AD LÍVITUM  
**C+:** SOLUCIÓN DE SIMEPAR  
**C-:** TETRACLORURO DE CARBONO  
**GA:** DOSIS 100% DE EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN  
**GB:** DOSIS 50% DE EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN  
**GC:** DOSIS 25% DE EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN

**GRÁFICO No. 1 MEDICIÓN DEL PESO BASAL Y FINAL DE LAS RATAS. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL DE 2012.**

En el Gráfico No. 1 se observó una notoria disminución de peso en los animales de experimentación correspondientes al control negativo, al control positivo, y al grupo C, esto se debió a que el extracto de diente de león y la solución de simepar según corresponda ejercieron menos efecto hepatoprotector en estos grupos, afectando así en su alimentación lo que conllevó a la disminución de peso.

En tanto que en los grupos restantes no se evidencia una diferencia significativa entre los pesos pre-experimentales y post-experimentales.

3.4.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PESOS DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*)

**CUADRO No. 12 PRUEBA DE TUKEY DEL PESO DE LAS RATAS**

GRUPO DE TRATAMIENTO		N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD de Tukey	CONTROL POSITIVO	6	173.2000	
	BLANCO	6	175.6000	
	GRUPO C	6	190.5833	190.5833
	GRUPO B	6	191.3000	191.3000
	GRUPO A	6	194.2667	194.2667
	CONTROL NEGATIVO	6		211.2500
	Sig.			.324

En el Cuadro No. 12 los valores se agrupan en dos grupos diferentes: En el grupo 1 se encuentra el control positivo, el blanco y los grupos A, B, C. En el segundo grupo se encuentran los grupos A, B, C y el control negativo.

### 3.5 PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA COMPROBAR LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*)

**CUADRO No. 13 VALORES DE ASAT EN RATAS CON INTOXICACIÓN HEPÁTICA PRODUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL, 2012.**

<b>GRUPOS</b>	<b>No</b>	<b>Media</b>	<b>Error típico</b>
<b>EXPERIMENTALES</b>			
BLANCO	3	65,1333 ± (14,75071)	8,51632
CONTROL NEGATIVO	3	141,0333 ± (1,62583)	,93868
CONTROL POSITIVO	3	123,7333 ± (4,93592)	2,84976
EXTRACTO AL 100%	3	93,8000 ± (5,38145)	3,10698
EXTRACTO AL 50%	3	131,2667 ± (1,60104)	,92436
EXTRACTO AL 25%	3	138,0000 ± (2,19317)	1,26623
Total	18	115,4944 ± (28,70607)	6,76608

±: DESVIACIÓN ESTÁNDAR

P < 0.05

En el Cuadro No. 13 los estudios y análisis estadísticos nos muestran que el valor de P (Sig.) es inferior al 0,05 y por tal razón rechazamos la hipótesis nula y tomamos la alternativa que nos dicen que existe diferencia entre las medias de las mediciones de ASAT. Con lo que se comprueba que el extracto de diente de león, si ejerce acción hepatoprotectora, pues en nivel de transaminasas, está en dependencia de la dosis.

### 3.5.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ASAT

**CUADRO No. 14 PRUEBA DE TUKEY PARA LA MEDICIÓN ASAT**

	GRUPOS DE TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
			1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup>	BLANCO	3	65,1333		
	EXTRACTO AL 100%	3		93,8000	
	CONTROL POSITIVO	3			123,7333
	EXTRACTO AL 50%	3			131,2667
	EXTRACTO AL 25%	3			138,0000
	CONTROL NEGATIVO	3			141,0333
	Sig.			1,000	1,000

Según el Cuadro No. 14 existen tres grupos (al 95%), el primer grupo está formado por el blanco, el segundo por el extracto al 100% y el tercer grupo está formado por el control positivo, por los extractos al 50%, 25% y por el control negativo.

**CUADRO No. 15 VALORES DE ALAT EN RATAS CON INTOXICACIÓN HEPÁTICA PRODUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL, 2012.**

GRUPOS EXPERIMENTALES	N	Media	Error típico
BLANCO	3	42,2333 ± (3,55293)	2,05129
CONTROL NEGATIVO	3	95,6000 ± (2,60576)	1,50444
CONTROL POSITIVO	3	83,5667 ± (4,34665)	2,50954
EXTRACTO AL 100%	3	55,8333 ± (4,23596)	2,44563
EXTRACTO AL 50%	3	80,3667 ± (1,49778)	,86474
EXTRACTO AL 25%	3	92,3667 ± (3,76475)	2,17358
Total	18	74,9944 ± (20,22350)	4,76672

±: DESVIACIÓN ESTÁNDAR

P < 0.05

En el Cuadro No. 15 los estudios y análisis estadísticos nos muestran que el valor de P (Sig.) es inferior al 0,05 y por tal razón rechazamos la hipótesis nula y tomamos la alternativa que nos dicen que existe diferencia entre las medias de las mediciones de ALAT. Con lo que se comprueba que el extracto de diente de león, si ejerce acción hepatoprotectora, pues en nivel de transaminasas, está en dependencia de la dosis

### 3.5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ASAT

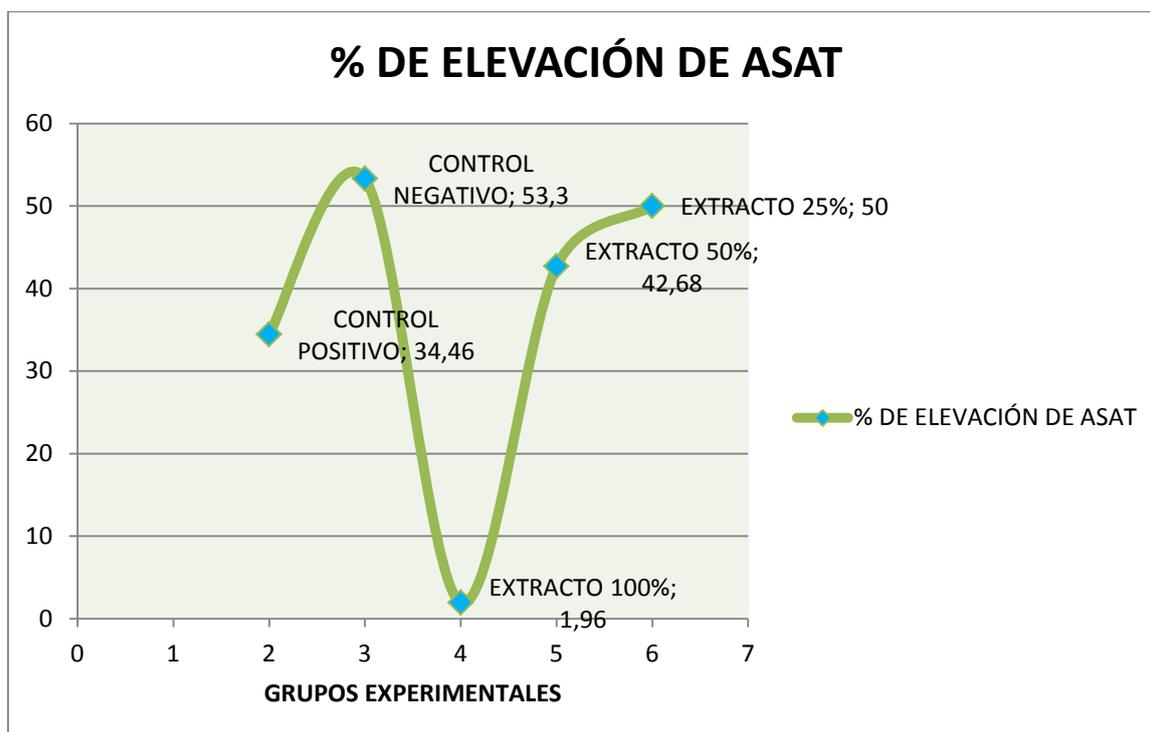
**CUADRO No. 16 PRUEBA DE TUKEY PARA MEDICIÓN DE ALAT**

	GRUPOS DE TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
			1	2	3	4	5
HSD de Tukey <sup>a</sup>	BLANCO	3	42,2333				
	EXTRACTO AL 100%	3		55,8333			
	EXTRACTO AL 50%	3			80,3667		
	CONTROL POSITIVO	3			83,5667	83,5667	
	EXTRACTO AL 25%	3				92,3667	92,3667
	CONTROL NEGATIVO	3					95,6000
	Sig.			1,000	1,000	,862	,077

Según el Cuadro No. 16 se forman cinco grupos, las mediciones de blanco se encuentra en el primer grupo, el extracto al 100% forma el segundo grupo, el tercer grupo está formado por el extracto al 50% y el control positivo, el control positivo y el extracto al 25% forman el cuarto grupo y el último grupo está formado por el extracto al 25% y control negativo, es decir no hay diferencia en aplicar el extracto al 25% o únicamente hacerle el daño hepático sin dar ninguna dosis.

**CUADRO No. 17 PORCENTAJE DE ELEVACIÓN DE ASAT EN RATAS (*Rattus norvegicus*) ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012.**

GRUPOS EXPERIMENTALES	ASAT MEDIA	DIFERENCIA	% DE ELEVACIÓN DE ASAT
CONTROL POSITIVO	123,7	31,7	34,46
CONTROL NEGATIVO	141,03	49,03	53,30
GA EXTRACTO 100%	93,8	1,8	1,96
GB EXTRACTO 50%	131,27	39,27	42,68
GC EXTRACTO 25%	138,00	46	50



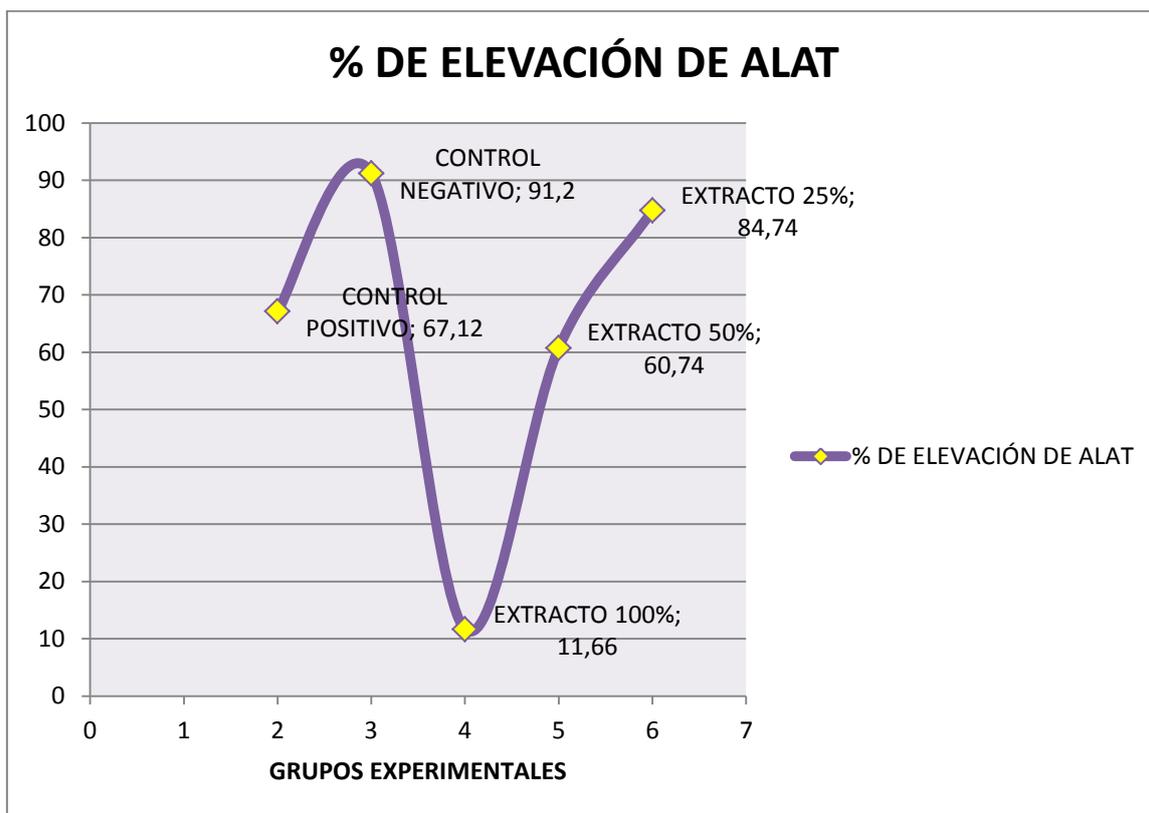
**GRÁFICO No. 2 PORCENTAJE DE ELEVACIÓN DE ASAT EN RATAS (*Rattus norvegicus*) ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012.**

Como lo muestra el Cuadro No. 17 y el gráfico No. 2 el porcentaje de elevación de ASAT del control negativo es el más alto pues asciende a 53,3%, seguido por el extracto al 25% cuyo porcentaje de elevación es de 50%. Con el extracto al 50% es de 42,68%. El control positivo presentó una elevación del 34,46% de ASAT.

Con el extracto de diente de león al 100% en nivel de elevación de ASAT fue el más bajo con un valor de 1,96%, con lo que se determina que a esta concentración el extracto de diente de león tiene actividad hepatoprotectora.

**CUADRO No. 18 PORCENTAJE DE ELEVACIÓN DE ALAT EN RATAS (*Rattus norvegicus*) ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012.**

<b>GRUPOS EXPERIMENTALES</b>	<b>ALAT MEDIA</b>	<b>DIFERENCIA</b>	<b>% DE ELEVACIÓN DE ALAT</b>
<b>CONTROL POSITIVO</b>	83,56	33,56	67,12
<b>CONTROL NEGATIVO</b>	95,6	45,6	91,2
<b>GA EXTRACTO 100%</b>	55,83	5,83	11,66
<b>GB EXTRACTO 50%</b>	80,37	30,37	60,74
<b>GC EXTRACTO 25%</b>	92,37	42,37	84,74



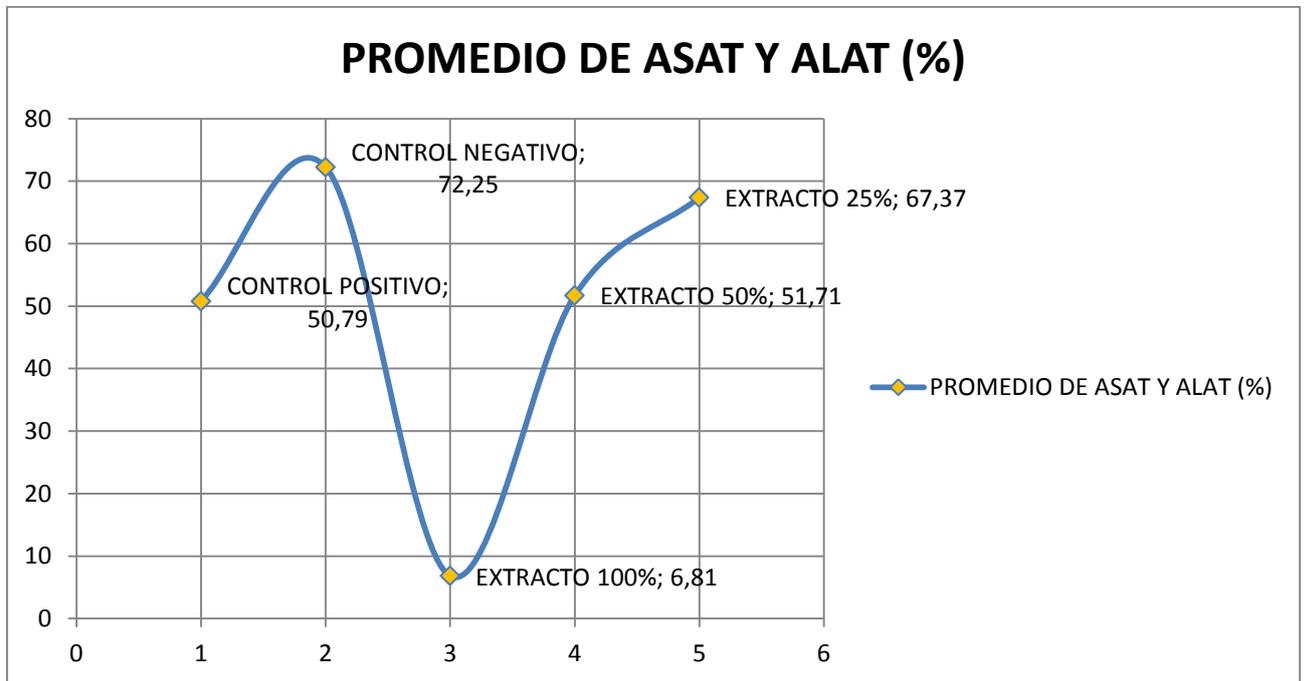
**GRÁFICO No. 3 PORCENTAJE DE ELEVACIÓN DE ALAT EN RATAS (*Rattus norvegicus*) ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012.**

El Cuadro No. 18 y el Gráfico No. 3 indican el porcentaje de elevación ALAT del control negativo es el más alto pues asciende al 91,2%, seguido por el extracto al 25% cuyo porcentaje de elevación es de 84,74%. Con el extracto al 50% es de 60,74%. El control positivo presentó una elevación del 67,12% de ASAT.

Con el extracto de diente de león al 100% en nivel de elevación de ASAT fue el más bajo con un valor de 11,66%, con lo que se determina que a esta concentración el extracto de diente de león tiene actividad hepatoprotectora.

**CUADRO No. 19 PROMEDIO DE ELEVACIÓN DE TRANSAMINASA (ASAT y ALAT) RATAS (*Rattus norvegicus*) ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012.**

GRUPOS EXPERIMENTALES	% DE ELEVACIÓN DE ASAT	% DE ELEVACIÓN DE ALAT	PROMEDIO DE ASAT Y ALAT
CONTROL POSITIVO	34,46	67,12	50,79
CONTROL NEGATIVO	53,3	91,2	72,25
GA EXTRACTO 100%	1,96	11,66	6,81
GB	42,68	60,74	51,71
EXTRACTO 50%			
GC EXTRACTO 25%	50	84,74	67,37



**GRÁFICO No. 4 PROMEDIO DE ELEVACIÓN DE TRANSAMINASA (ASAT y ALAT) RATAS (*Rattus norvegicus*) ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012.**

El Cuadro No. 19 y el Gráfico No. 4 indican que el promedio más alto de elevación de transaminasas hepáticas corresponde al control negativo cuyo valor es de 75,25%, seguido por el extracto al 25% cuyo valor es 67,37, con el extracto al 50% el promedio fue de 51,71%.

En tanto que con el control positivo fue de 50,79%. Con el extracto de diente de león al 100% el promedio de elevación de transaminasas fue de 6,81%, por lo que se comprueba que con esta dosis, hubo menor daño hepático causado por el tetracloruro de carbono en ratas (*Rattus novergicus*).

### 3.6 EXAMEN HISTOPATOLÓGICO A RATAS (*Rattus norvegicus*)

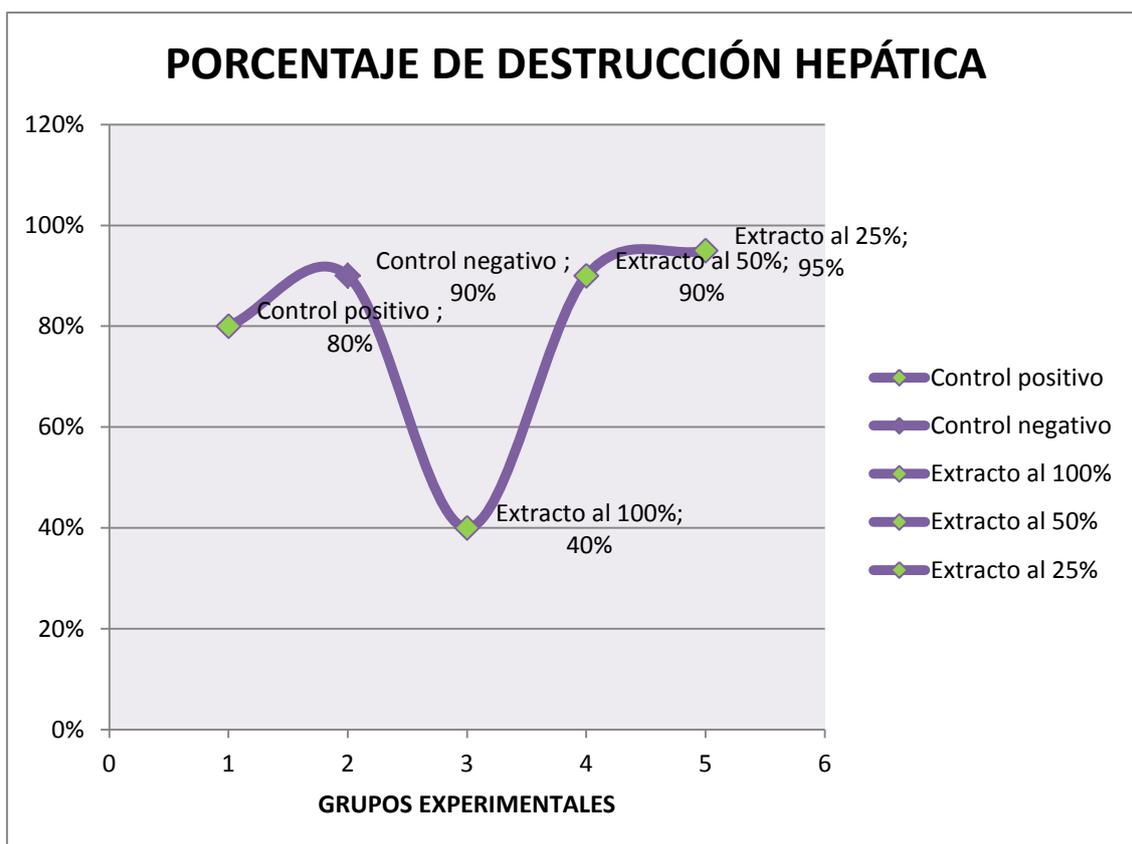
**CUADRO No. 20 EXAMEN HISTOPATOLÓGICO A RATAS (*Rattus norvegicus*)  
ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO. BIOTERIO DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012**

MUESTRA	EXAMEN MACROSCÓPICO	EXAMEN MICROSCÓPICO
*Blanco (Rb -12)	Hígado: Color: Rojo Vinoso Ancho:4.2 cm Largo: 6.4 cm Profundidad: 2cm Peso: 9,9 g	Hígado con lobulillos de arquitectura y disposición normal.
*Control Positivo (Rcs-12)	Hígado: Color: Rojo Vinoso Ancho:4.9 cm Largo: 5.8 cm Profundidad: 1.8 cm Peso:5.7 g	Dstrucción de un 80% del hígado. Dstrucción de los hepatocitos. Extensas áreas hemorrágicas en los sinusoides. Vasos portales congestivos.
*Control Negativo (Rct-12)	Hígado: Color: Rojo Pálido Ancho: 4.6 cm Largo: 6.2 cm Profundidad: 2.5 cm Peso: 7.6 g	Dstrucción de un 90% del hígado. Dstrucción de los hepatocitos. Extensas áreas hemorrágicas en los sinusoides. Vasos portales congestivos. Degeneración hidrópica.
*Extracto 100% (Re1-12)	Hígado: Color: Rojo Vinoso Ancho: 3.5 cm Largo: 5.1 cm Profundidad: 1.6 cm Peso: 7.4 g	Dstrucción de un 40% del hígado. Hígado con lobulillos con arquitectura semiconservada. Áreas hemorrágicas en los sinusoides.
*Extracto 50% (Re2-12)	Hígado: Color: Rojo Pálido Ancho: 3.9 cm Largo: 5.2 cm Profundidad: 1.4 cm Peso: 6.8 g	Dstrucción de un 90% del hígado. Dstrucción de los hepatocitos. Dstrucción de la arquitectura del lobulillo Extensas áreas hemorrágicas en los sinusoides. Vasos portales congestivos.
*Extracto 25% (Re3-12)	Hígado: Color: Rojo más Pálido Ancho: 2.7 cm Largo: 4.6 cm Profundidad: 1.4 cm Peso: 5.6g	Dstrucción del 95% del hígado. Degeneración hidrópica. Dstrucción de la arquitectura del lobulillo Extensa necrosis de los hepatocitos. Extensas áreas hemorrágicas en los sinusoides. Vasos portales congestivos.

En el Cuadro No. 20 se muestran los resultados del examen histopatológico.

**CUADRO No. 21 PORCENTAJE DE DESTRUCCIÓN HEPÁTICA EN RATAS (*Rattus novergicus*) ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012**

GRUPOS EXPERIMENTALES	PORCENTAJE DE DESTRUCCIÓN HEPÁTICA
Control positivo (Simepar)	80%
Control negativo (Tetracloruro de carbono)	90%
Extracto de Diente de león al 100%	40%
Extracto de Diente de león al 50%	90%
Extracto de Diente de león al 25%	95%



**GRÁFICO No. 5 PORCENTAJE DE DESTRUCCIÓN HEPÁTICA EN RATAS (*Rattus novergicus*) ADMINISTRADAS TETRACLORURO DE CARBONO EN LA INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2012**

En el Cuadro N° 20 se evidencia que el control negativo presentó un 90% de destrucción hepática, el extracto de diente de león al 25% presentó un 95% de destrucción, el extracto al 50% tuvo una destrucción hepática del 90%, el control positivo presentó una destrucción del 80% y con el extracto al 100% hubo una destrucción del 40%.

La hepatoprotección del extracto de diente de león tuvo efecto en el extracto de diente de león al 100% motivo por el cual el hígado se presentó menor destrucción de los hepatocitos, así como también menor destrucción de los lobulillos, de los sinusoides y de los vasos congestivos.

Algo que es muy importante señalar es que estos resultados están relacionados con la muerte de los animales durante la experimentación. Ya que las ratas del control negativo y del extracto de diente de león al 25% la mayoría murieron antes de la segunda administración del tetracloruro.

Algunas ratas a pesar de poseer un hígado destruido evidenciado en el análisis histopatológico, sobrevivieron esto se explica a que el hígado de las ratas posee una gran "reserva funcional".

Esto significa que se puede perder hasta el 67% o más de las células hepáticas, antes que se hagan evidentes problemas serios. Las enfermedades hepáticas suelen presentarse en dos diferentes formas: agudas y crónicas. En las enfermedades agudas hay un repentino daño que afecta al hígado entero. A corto plazo, la falla hepática amenaza la vida, pero si el paciente sobrevive, el poder de regeneración del hígado le da una buena oportunidad de que se restablezcan las funciones normales. En cambio en las enfermedades crónicas, el daño se va produciendo gradualmente, durante un largo período de tiempo.

## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES

1. El diente de león (*Taraxacum officinale*) tiene actividad hepatoprotectora porque según las pruebas bioquímicas de transaminasas hepáticas realizadas a ratas administradas el extracto de diente de león (*Taraxacum officinale*) al 100% la Aspartatoaminotransaminasa (ASAT) y la Alaninaminotransaminasa (ALAT) se elevaron en un promedio de 6,81% del valor normal; con el extracto al 50% aumentó en un 51,71% y con el mismo extracto al 25% las transaminasas hepáticas se elevaron un 67,37% por encima del valor normal. (Cuadros No. 17, 18 y 19).

2. El diente de león (*Taraxacum officinale*) tiene actividad hepatoprotectora en dosis altas. Según el estudio histopatológico en las ratas que se les administró el extracto al 100% el tetracloruro de carbono provocó un 40% de destrucción hepática; en el extracto al 50% tuvo un 90% de daño; mientras que en el extracto al 25% el tetracloruro de carbono provocó el 95% de destrucción hepática. (Cuadro No 21).

3. Es importante recalcar que en esta investigación la Silimarina + Complejo B (Simepar) tuvo un bajo efecto hepatoprotector, en el caso de destrucción hepática inducida por tetracloruro de carbono, ya que el hígado tuvo un 80% de destrucción en el examen histológico. (Cuadro 20). Mientras que el promedio de elevación de ASAT y ALAT fue de 50,79% por encima del valor normal. (Cuadro 19).

4. En el control de calidad de la droga seca de diente de león (*Taraxacum officinale*) 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. (Cuadros 1, 2)

5. El tamizaje fitoquímico del diente de león (*Taraxacum officinale*) ha demostrado 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 3).

La presencia de flavonoides, compuestos fenólicos y principios amargos tienen relevante importancia en el diente de león, ya que a estos metabolitos secundarios se les atribuye el efecto hepatoprotector de la planta en estudio.

6. En el control de calidad del extracto del diente de león (*Taraxacum officinale*) los resultados de pH, densidad relativa, índice de refracción, ° Brix y sólidos totales demuestran que están dentro de los límites establecidos. (Cuadros 4, 5, 6, 7, 8).

## CAPÍTULO V

### 5. RECOMENDACIONES

1. Elaborar una forma farmacéutica a base de diente de león (*Taraxacum officinale*) ya que tiene acción hepatoprotectora.
2. Utilizar el diente de león (*Taraxacum officinale*) en dosis altas como tratamiento coadyuvante, en las enfermedades hepáticas.
3. Se deben realizar investigaciones de largo aliento y con sustancias menos tóxicas para el estudio de la actividad hepatoprotectora del diente de león (*Taraxacum officinale*).
4. Debe realizarse más investigaciones con el diente de león ya que también se le atribuye propiedades laxantes, diuréticas y antioxidantes. Sería un gran aporte a la ciencia ya que está en auge el uso de fitofármacos en el tratamiento de diversas patologías.

## CAPÍTULO VI

### 6. RESUMEN

En los laboratorios y el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia - ESPOCH. Se realizó una investigación con el objetivo de comprobar la actividad hepatoprotectora del diente de león en ratas con hepatotoxicidad inducida con tetracloruro de carbono,

Se utilizó el extracto de diente de león al cuál se realizó el control de calidad y tamizaje fitoquímico. Se experimentó en ratas divididas en 3 grupos: GA, GB, GC quienes recibieron el extracto, a una concentración de 100%, 50% y 25% respectivamente por 9 días, al octavo día se administró tetracloruro de carbono. Se realizó pruebas de ASAT y ALAT y se extrajo los hígados para el análisis histopatológico. Para el análisis de datos se utilizó el test ANOVA.

En el tamizaje fitoquímico se encontró flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, y principios amargos. En la prueba de ASAT y ALAT en el grupo GA se elevaron en un promedio de 6,81% del valor normal; GB aumentó un 51,71% y GC un 67,37%. En el examen histopatológico el GA tuvo 40% de destrucción hepática, GB 90% y GC 95%. En el análisis estadístico se comprobó que las transaminasas están en proporción directa con la destrucción hepática.

El diente de león es hepatoprotector ya que en las pruebas de transaminasas y en el examen histopatológico se evidenció un leve daño hepático con dosis altas del extracto.

Se recomienda elaborar una forma farmacéutica a base de diente de león que debe ser usado como tratamiento coadyuvante, en personas con enfermedades hepáticas.

## SUMMARY

At the laboratories and Biotery of the Biochemistry and Pharmacy School – ESPOCH an investigation was carried out to test the hepatic protecting activity of the dandelion in rats with hepatitis-toxicity induced with carbon tetrachloride. The dandelion extract was used to which the quality and phyto-chemical sieving control was carried out. The experiment was carried out in rats divided into 3 groups: GA, GB and GC which received the extract at 100%, 50% and 25% concentration respectively for 9 days; at the eight day the carbon tetrachloride was administered. ASAT and ALAT tests were performed and the livers were extracted for the histopathological analysis. For the data analysis the ANOVA test was used. In the phyto-chemical sieving flavonoids, alkaloids, phenolic compounds and sour principles were found. In the ASAT and ALAT test, in the GA group they increased by an average of 6.81% of the normal value; GB increased by a 51.71% and GC by a 67.37%. In the histopathological exam the GA had 40% hepatic destruction, 90% GB and 95% GC. In the statistical analysis it was found out that the transaminases are in direct proportion to the hepatic destruction. The dandelion is hepatitis protector as in the tests of transaminases and in the histopathological exam a slight hepatic damage with higt extract dosages was evident. It is recommended to elaborate a pharmaceutical way based on the dandelion to be used as a complement treatment in people with hepatic diseases.

## CAPÍTULO VII

### 7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALBORNOZ, A.**, Productos Naturales., Caracas- Venezuela., Publicaciones UCV., 1998., Pp., 16-58.
2. **ALONSO, J.**, Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos., Buenos Aires- Argentina., CORPUS., 2004., Pp., 110-114.
3. **BERTRAM, G.**, Farmacología Básica y Clínica., 8a ed., México D.F - México., El Manual Moderno., 2003., Pp., 71.
4. **CÁRDENAS, M.**, Farmacología., Riobamba – Ecuador., Workcenter., 2011., Pp., 490-493.
5. **CASTRO, M.**, Determinación de metabolitos en las estructuras de Diente de león., Fitoquímica., 3a ed., Bucaramanga - Colombia., 2005., Pp., 38-44.
6. **CONTRERA, E.**, Retorno a las Plantas Medicinales., Madrid – España., Ciencia y Técnica., 2004., Pp., 56-58.
7. **DOMÍNGUEZ, X.**, Métodos de investigación de Fitoquímica., México D.F - México., Limusa., 2004., Pp., 973.
8. **FINKEL, R.**, Farmacología., Barcelona - España., Lippincott., 2009., Pp., 530-531.

9. **FLOREZ, J.**, Farmacología Humana., México D.F - México., 2003., Pp., 204-205.
10. **GUÍMARO, A.**, Enciclopedia de las Plantas que curan., 2a ed., Sao Paulo - Brasil., Conselho., 1994., Pp., 184-185.
11. **GUYTON, A.**, Tratado de Fisiología Médica., 10a ed., México D.F - México., Mc Graw - Hill Interamericana., 2001., Pp., 961-966.
12. **JIMÉNEZ, H.**, Diente de león: Maleza, alimento o medicamento., Fitoquímica., Xochimilco-México., 2008., Pp., 122.
13. **MEJÍA, G.**, Interpretación Clínica de Laboratorio., 5a ed., Bogotá-Colombia., Médica Panamericana., 1996., Pp., 270-273.
14. **NORMAS RAMALES.**, Drogas crudas y Extractos y tinturas., NRSP., 1992., Pp., 311-315.
15. **OSORIO, D.**, Plantas Aromáticas y Medicinales., Bogotá-Colombia., Grupo Latino., 2003., Pp., 13-14.
16. **PALTÁN, J.**, Anatomía., Fisiología e Higiene., 17a ed., Quito - Ecuador., HOLOS., 2004., Pp., 96-97.
17. **PAMPLONA, J.**, Enciclopedia de las Plantas Medicinales., 2a ed., Buenos Aires-Argentina., Safeliz., 2006., Pp., 378- 380, 397-398.
18. **PRIVES, M.**, Anatomía Humana., 5a ed., Mir-Moscú., 1995., Pp., 238-240.
19. **REMINGTON, N.**, Farmacia de Remington., 24a ed., Buenos Aires - Argentina., Panamericana Lucía., 2003., Pp., 1893, 1895.

20. **ROSETEN, E.**, Diccionario de Especialidades Farmacéutica PLM., 21a ed., 1994., Pp., 528 – 529.
21. **SAMANIEGO, R.**, Fundamentos de la Farmacología Médica., Quito - Ecuador., Universitaria., 1997., Pp., 1343-1347.
22. **SARAVIA, A.**, Manual de Ensayos Toxicológicos y Farmacológicos Experimentales in vivo e in vitro., Guatemala - Guatemala., 2005., Pp., 93.
23. **TREASE, G.**, Farmacognosia., 13a ed., McGraw – Hill., 1996., Pp., 467 - 482.
24. **WAGNER, H.**, Plant Drug Analysis., 2a ed., Munich-Germany., 1996 ., Pp., 96-97.

#### **BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET**

25. **ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DE LAS TINTURAS DE 2 ESPECIES VEGETALES DEL GÉNERO HYPERICUM**  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=678](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=678)  
2012/01/21
26. **ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA DEL EXTRACTO ACUOSO SECO DE *Boerhavia erecta* L. (TOSTÓN) EN RATAS**  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=84796203005&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=84796203005&script=sci_arttext)  
2012/01/21
27. **ANÁLISIS FITOFARMACOLÓGICO DE LOS FRUTOS DE *Luffa acutangula* PARA DETERMINAR SU ACTIVIDAD ANTIHEPATOTÓXICA**  
<http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/397.pdf>  
2012/01/12

**28. CAPACIDAD FUNCIONAL DEL HÍGADO**

<http://www.creces.cl/new/index.asp?tc=1&nc=5&tit=&art=1000&U>

2012/03/20

**29. CLORURO DE CARBONO (IV)**

[http://es.wikipedia.org/wiki/Cloruro\\_de\\_carbono\\_\(IV\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Cloruro_de_carbono_(IV))

2012/03/04

**30. COMPOSICIÓN DE RAÍCES Y HOJAS**

<http://portalfarma.com/pfarma/Documentos /DIENTE LEON.htm>

2011/11/23

**31. DIENTE DE LEÓN**

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

2011/12/12

**32. TRASTORNOS HISTOPATOLÓGICOS POR TETRACLORURO  
DE CARBONO**

<http://es.scribd.com/doc/6745921/PATOLOGiA>

2012/05/29

**33. EFECTO HEPATOPROTECTOR DE LA VERBENA EN LA  
HEPATITIS INDUCIDA CON CCl<sub>4</sub> EN LA RATA**

<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/579/57938304.pdf>

2012/01/23

**34. EFECTO DEL EXTRACTO DE METANOL DE *Achyranthes***

***asperalinn* SOBRE LA HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR  
RIFAMPICINA EN RATAS**

<http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/300.pdf>

2012/01/25

**35. ENFERMEDADES HEPÁTICAS CENTRO LATINOAMERICANO Y  
CARIBEÑO DE DEMOGRAFÍA (CELADE)**

<http://www.cepar.org.ec/estadisticas/pubsalud/salind1c.html>

2012/02/13

**36. ENFERMEDADES DEL HÍGADO- MSP**

<http://www.intramed.net/contenidover.asp?contenidoID=40234>

2011/11/21

**37. FÁRMACOS HEPATOTÓXICOS**

<http://apuntes.rincondelvago.com/hepatoprotectores.html>

2011/12/13

**38. HEPATOTOXICIDAD**

<http://es.wikipedia.org/wiki/Hepatotoxicidad>

2011/12/15

**39. HEPATOPROTECTORES**

<http://www.tupincho.net/los-hepatoprotectoresuso-correcto-html>

2012/01/21

**40. HEPATOPROTECTORES EFICACES**

<http://www.hierbitas.com/sintomas/Hepato-protectores.htm>

2011/11/21

**41. HEPATOTÓXICOS**

[http://escuela.med.puc.cl/publ/dha/dha\\_12814.html](http://escuela.med.puc.cl/publ/dha/dha_12814.html)

2011/02/21

**42. HÍGADO**

<http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/c1-1-3-5.html>

2011/11/23

**43. MECANISMO DEL DAÑO HEPÁTICO**

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47961](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961)

2011/11/25

**44. MECANISMO DE ACCIÓN DEL TETRACLORURO DE CARBONO**

<http://www.scribd.com/doc/6873059/Hidrocarburos>

2012/01/21

**45. PARTICULARIDADES DEL CULTIVO DE TARAXACO**

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

2011/10/25

**46. PLANTAS MEDICINALES**

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

2011/11/02

**47. PROPIEDADES DEL DIENTE DE LEÓN**

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

2011/11/21

**48. PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL DIENTE DE LEÓN**

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S147962300005&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S147962300005&script=sci_arttext)

2011/10/27

**49. PERFIL HEPÁTICO**

[http://www.labyes.com.ar/espanol/trihepat\\_pruebas.html](http://www.labyes.com.ar/espanol/trihepat_pruebas.html)

2011/11/22

**50. RATTUS NOVERGICUS**

<http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/ /Rattusnorvegicus00pdf>

2012/05/23

**51. SILIMARINA**

<http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/higado.htm>

2012/04/22

**52. SIMEPAR**

<http://www.medicamentos.com.mx/DocHTM/27095.htm>

2012/04/23

**53. TAXONOMÍA DEL DIENTE DE LEÓN**

<http://www.euroresidentes.com/Alimentos/dientede leon.htm>

2011/11/02

**54. TRANSAMINASAS**

[http://www.saludalia.com/docs/Salud/web\\_saludalia/pruebas\\_diagnosticastransaminasas/doc/doc\\_tras.htm](http://www.saludalia.com/docs/Salud/web_saludalia/pruebas_diagnosticastransaminasas/doc/doc_tras.htm)

2012/01/04

**55. TRASTORNOS HEPÁTICOS**

<http://www.fundhepa.org.mx/enfermedades.cfm>

2011/09/17

**56. VALORES ANORMALES DE TRANSAMINASAS**

<http://boards2.melodysoft.com//que-son-las-transaminasas>

2012/01/15

**57. VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEPÁTICA**

<http://www.neogymonline.com/foro/.php?9330-Gu%EDa-b%E1sica-sobre-el-uso-de-los-hepatoprotectores>

2011/11/25

**58. VALORES NORMALES DE LAS ENZIMAS HEPÁTICAS EN  
LAS RATAS**

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-sci_arttext)

2012/03/08

## CAPÍTULO VIII

### 8. ANEXOS

**ANEXO No. 1 ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 1 ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO, ETÉREO Y ACUOSO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO, ETÉREO Y ACUOSO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 3 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD, CENIZAS TOTALES, CENIZAS SOLUBLES EN AGUA Y CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 3 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD, CENIZAS TOTALES, CENIZAS SOLUBLES EN AGUA Y CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 4 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN, ° BRIX, pH SÓLIDOS TOTALES DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 4 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN, ° BRIX, pH SÓLIDOS TOTALES DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 5 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 5 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 6 EXTRACTOS DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) AL 100%, 50% Y 25% Y SOLUCIÓN DE SIMEPAR. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 6 EXTRACTOS DE DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) AL 100%, 50% Y 25% Y SOLUCIÓN DE SIMEPAR. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 7 GRUPOS EXPERIMENTALES DE RATAS (*Rattus norvegicus*): CONTROL POSITIVO, CONTROL NEGATIVO, EXTRACTO AL 100%, 50% Y 25%. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 7 GRUPOS EXPERIMENTALES DE RATAS (*Rattus norvegicus*): CONTROL POSITIVO, CONTROL NEGATIVO, EXTRACTO AL 100%, 50% Y 25%. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 8 ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE DIENTE LEÓN A LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



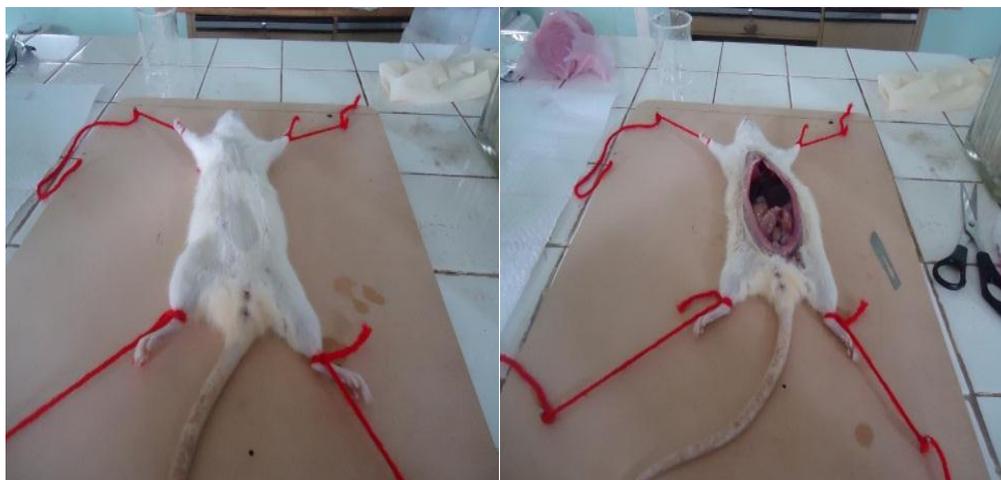
**FOTOGRAFÍA No. 8 ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO DE DIENTE LEÓN A LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 9 EXTRACCIÓN DE SANGRE DE LA COLA DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



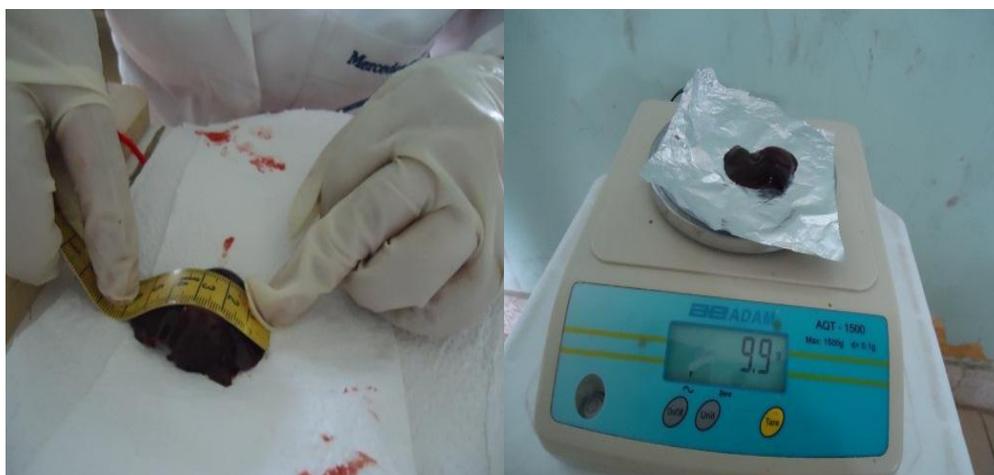
**FOTOGRAFÍA No. 9 EXTRACCIÓN DE SANGRE DE LA COLA DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 10 DISECCIÓN DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 10 DISECCIÓN DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 11 MEDICIÓN DEL HÍGADO DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 11 MEDICIÓN DEL HÍGADO DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*). BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 12 HÍGADOS DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*) DEL EXTRACTO AL 25%, AL 50% Y AL 100%, BLANCO, CONTROL POSITIVO Y CONTROL NEGATIVO. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 12 HÍGADOS DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*) DEL EXTRACTO AL 25%, AL 50% Y AL 100%, BLANCO, CONTROL POSITIVO Y CONTROL NEGATIVO. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2012.**

**ANEXO No. 13 MUESTRAS DE SANGRE DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*) PARA LA DETERMINACIÓN DE ASAT Y ALAT. LABORATORIO CLÍNICO MEDILAB. RIOBAMBA. MARZO 2012.**



**FOTOGRAFÍA No. 13 MUESTRAS DE SANGRE DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*) PARA LA DETERMINACIÓN DE ASAT Y ALAT. LABORATORIO CLÍNICO MEDILAB. RIOBAMBA. MARZO 2012**

**ANEXO No. 14 EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE LOS HÍGADOS DE LAS RATAS (*Rattus novergicus*). LABORATORIO HISTOPATOLÓGICO Dr. OSWALDO DUQUE ANDRADE. MAYO 2012.**

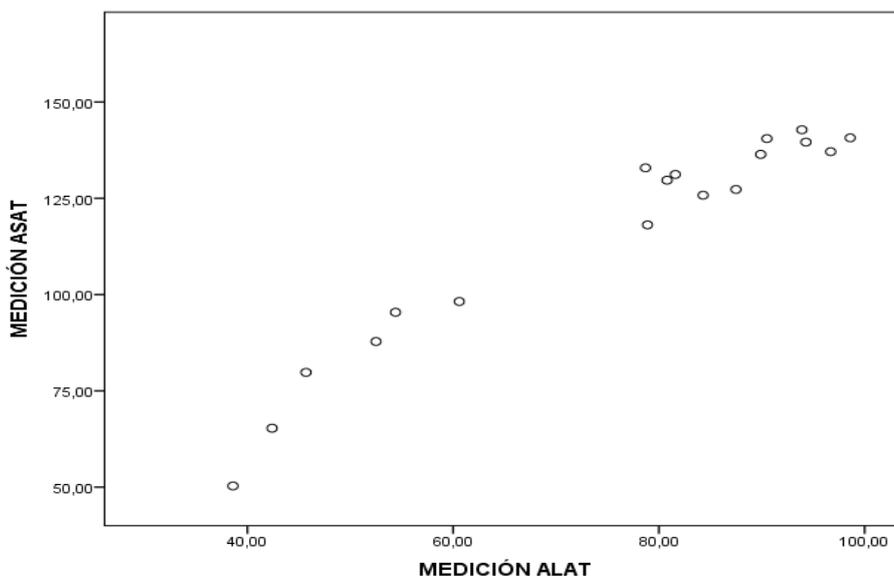


**FOTOGRAFÍA No. 14 EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE LOS HÍGADOS DE LAS RATAS (*Rattus novergicus*). LABORATORIO HISTOPATOLÓGICO Dr. OSWALDO DUQUE ANDRADE. MAYO 2012.**

**ANEXO No. 15 PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA COMPROBAR LA ACTIVIDAD  
HEPATOPROTECTORA DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*)**

**CUADRO No. 22 PRUEBAS DE ASAT Y ALAT**

GRUPO	GRUPO	ASAT (u/L)	ALAT (u/L)
BLANCO	B1	50,3	38,6
	B2	79,8	45,7
	B3	65,3	42,4
CONTROL POSITIVO	C(+1)	118,1	78,9
	C(+2)	125,8	84,3
	C(+3)	127,3	87,5
CONTROL NEGATIVO	C(-1)	140,7	98,6
	C(-2)	142,8	93,9
	C(-3)	139,6	94,3
GRUPO A	GA1	98,2	60,6
EXTRACTO 100%	GA2	95,4	54,4
	GA3	87,8	52,5
GRUPO B	GB1	131,2	81,6
EXTRACTO 50%	GB2	132,9	78,7
	GB3	129,7	80,8
GRUPO C	GC1	140,5	90,5
EXTRACTO 25%	GC2	137,1	96,7
	GC3	136,4	89,9



**GRÁFICO No. 6 RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE TRANSAMINASAS**

Mediante una gráfica de dispersión podemos observar la relación lineal positiva que tienen las mediciones de ALAT y ASAT, es decir tienen una relación directamente proporcional, si la medición en ASAT sube ocurrirá lo mismo con ALAT.

A través de mínimos cuadrados ordinarios se puede determinar que su coeficiente de correlación es de 0,972 y el de Determinación es de 0,944, por tanto su explicación es muy fuerte.

**CUADRO No. 23 DATOS DESCRIPTIVOS DE TRANSAMINASAS**

GRUPOS EXPERIMENTALES	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	Varianza entre componentes
					Límite inferior	Límite superior			
MEDICIÓN ASAT									
BLANCO	3	65,133	14,75071	8,51632	28,4905	101,7761	50,30	79,80	
		3							
CONTROL NEGATIVO	3	141,03	1,62583	,93868	136,9945	145,0721	139,60	142,80	
		33							
CONTROL POSITIVO	3	123,73	4,93592	2,84976	111,4718	135,9948	118,10	127,30	
		33							
EXTRACTO AL 100%	3	93,800	5,38145	3,10698	80,4317	107,1683	87,80	98,20	
		0							
EXTRACTO AL 50%	3	131,26	1,60104	,92436	127,2895	135,2439	129,70	132,90	
		67							
EXTRACTO AL 25%	3	138,00	2,19317	1,26623	132,5519	143,4481	136,40	140,50	
		00							
Total	1	115,49	28,70607	6,76608	101,2193	129,7696	50,30	142,80	
		8	44						
Modelo			6,84255	1,61281	111,9804	119,0084			
	Efectos fijos								
	Efectos aleatorios			12,22329	84,0735	146,9154			880,84667
MEDICIÓN ALAT									
BLANCO	3	42,233	3,55293	2,05129	33,4074	51,0593	38,60	45,70	
		3							
CONTROL NEGATIVO	3	95,600	2,60576	1,50444	89,1269	102,0731	93,90	98,60	
		0							
CONTROL POSITIVO	3	83,566	4,34665	2,50954	72,7690	94,3643	78,90	87,50	
		7							
EXTRACTO AL 100%	3	55,833	4,23596	2,44563	45,3106	66,3560	52,50	60,60	
		3							
EXTRACTO AL 50%	3	80,366	1,49778	,86474	76,6460	84,0873	78,70	81,60	
		7							
EXTRACTO AL 25%	3	92,366	3,76475	2,17358	83,0145	101,7188	89,90	96,70	
		7							
Total	1	74,994	20,22350	4,76672	64,9375	85,0514	38,60	98,60	
		8	4						
Modelo			3,48010	,82027	73,2072	76,7817			
	Efectos fijos								
	Efectos aleatorios			8,69706	52,6379	97,3509			449,79604

En esta tabla puede ver los estadísticos descriptivos de cada una de sus mediciones, los intervalos de confianza son al 95%, lo más rescatable de aquí son las medias, pues para hacer el siguiente paso se deben ordenar de manera ascendente para poder determinar mediante una prueba de tukey que tratamientos pueden ser agrupados.

Antes de pasar a realizar un ANOVA debemos tener la seguridad que los datos sean homocedásticos (varianzas iguales), para lo cual utilizamos la prueba de Levene.

**CUADRO No. 24 PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS**

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
MEDICIÓN	2,471	5	12	,092
ASAT				
MEDICIÓN	,821	5	12	,558
ALAT				

Los valores P (Sig.) son mayores al 0,05 que es el valor crítico, por tal razón podemos determinar que existe una homogeneidad de varianzas en las mediciones de ASAT y ALAT.

Como ya tenemos el visto bueno para poder realizar el ANOVA pues lo hacemos, de igual manera están hechos para las dos mediciones.

**CUADRO No. 25 ANOVA DE UN FACTOR DE TRANSAMINASAS**

		Suma de cuadros	gl	Media cuadrática	F	Sig.
MEDICIÓN ASAT	Inter-grupos	13446,803	5	2689,361	57,440	,000
	Intra-grupos	561,847	12	46,821		
	Total	14008,649	17			
MEDICIÓN ALAT	Inter-grupos	6807,496	5	1361,499	112,417	,000
	Intra-grupos	145,333	12	12,111		
	Total	6952,829	17			

Las hipótesis son:

H<sub>0</sub>: Las mediciones promedio de ASAT son iguales.

H<sub>1</sub>: Al menos una de las mediciones promedio de ASAT no son iguales.

H<sub>0</sub>: Las mediciones promedio de ALAT son iguales.

H<sub>1</sub>: Al menos una de las mediciones promedio de ALAT es diferente.

Al fijarnos en los valores P (Sig.) son inferiores al 0,05 y por tal razón rechazamos las hipótesis nulas y tomamos las alternativas que nos dicen que existe diferencia entre las medias de las mediciones de ASAT y ALAT.

Ahora queda saber que tratamientos son los diferentes así que para eso utilizaremos la prueba de Tukey.

Los resultados son los siguientes:

**CUADRO No. 26 PRUEBA DE TUKEY PARA LA MEDICIÓN ASAT**

		GRUPOS DE TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
				1	2	3
HSD de Tukey <sup>a</sup>		BLANCO	3	65,1333		
		EXTRACTO AL 100%	3	93,8000		
		CONTROL POSITIVO	3	123,7333		
		EXTRACTO AL 50%	3	131,2667		
		EXTRACTO AL 25%	3	138,0000		
		CONTROL NEGATIVO	3	141,0333		
		Sig.			1,000	1,000

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

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

Las conclusiones que podemos obtener de las mediciones de ASAT es:

BLANCO    EXT. AL 100%    EXT. AL 50%    CONTROL POSITIVO    EXT. AL 25%    CONTROL NEGATIVO

---

Existen tres grupos (al 95%), donde en promedio la medición de ASAT del grupo blanco tienen el menor valor, le sigue el tratamiento del extracto al 100%, el extracto al 50%, control positivo y extracto al 25% no presentan una diferencia estadística y entre el control positivo, extracto al 25% y el control negativo tampoco difieren estadísticamente.

Visto de otra manera tenemos:

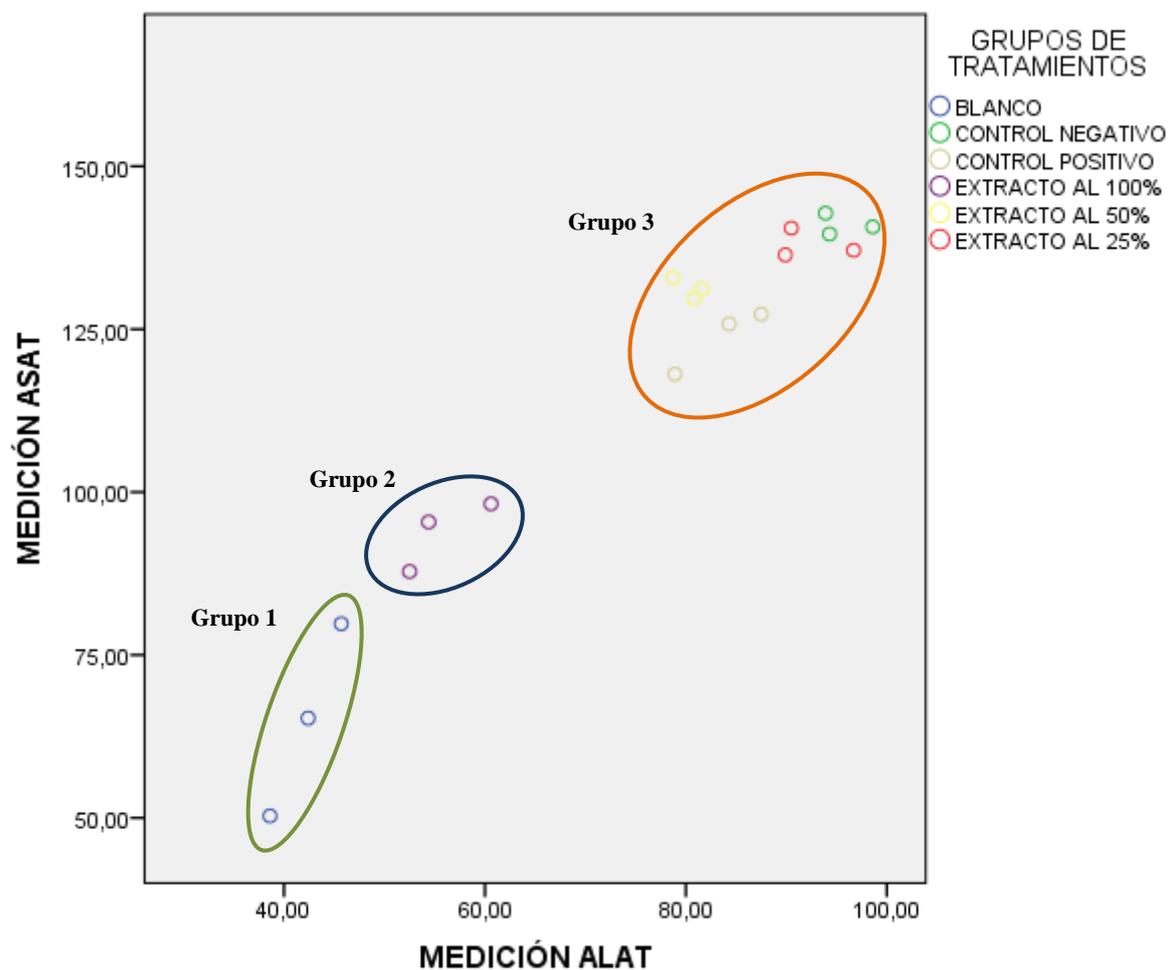


GRÁFICO No. 7 MEDICIÓN DE ASAT

En lo que respecta a la medición del ALAT tenemos los siguientes resultados.

**CUADRO No. 27 PRUEBA DE TUKEY PARA MEDICIÓN DE ALAT**

		GRUPOS DE TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
				1	2	3	4	5	
HSD de Tukey <sup>a</sup>		BLANCO	3	42,233					
		EXTRACTO AL 100%	3		55,833				
		EXTRACTO AL 50%	3			80,366			
		CONTROL POSITIVO	3				83,566	83,566	
		EXTRACTO AL 25%	3					92,366	92,366
		CONTROL NEGATIVO	3						95,600
		Sig.			1,000	1,000	,862	,077	,857

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

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

BLANCO	EXT. AL 100%	EXT. AL 50%	CONTROL POSITIVO	EXT. AL 25%	CONTROL NEGATIVO
--------	--------------	-------------	------------------	-------------	------------------

Se forman cinco grupos, entre las mediciones de blanco y el extracto al 100% no existe una diferencia estadística significativa y forman el primer grupo, el segundo grupo está

formado por el extracto al 50% y el control positivo, el control positivo y el extracto al 25% forman el tercer grupo y el último grupo está formado por el extracto al 25% y control negativo, es decir no hay diferencia en aplicar el extracto al 25% o únicamente hacerle el daño hepático sin dar ninguna dosis.

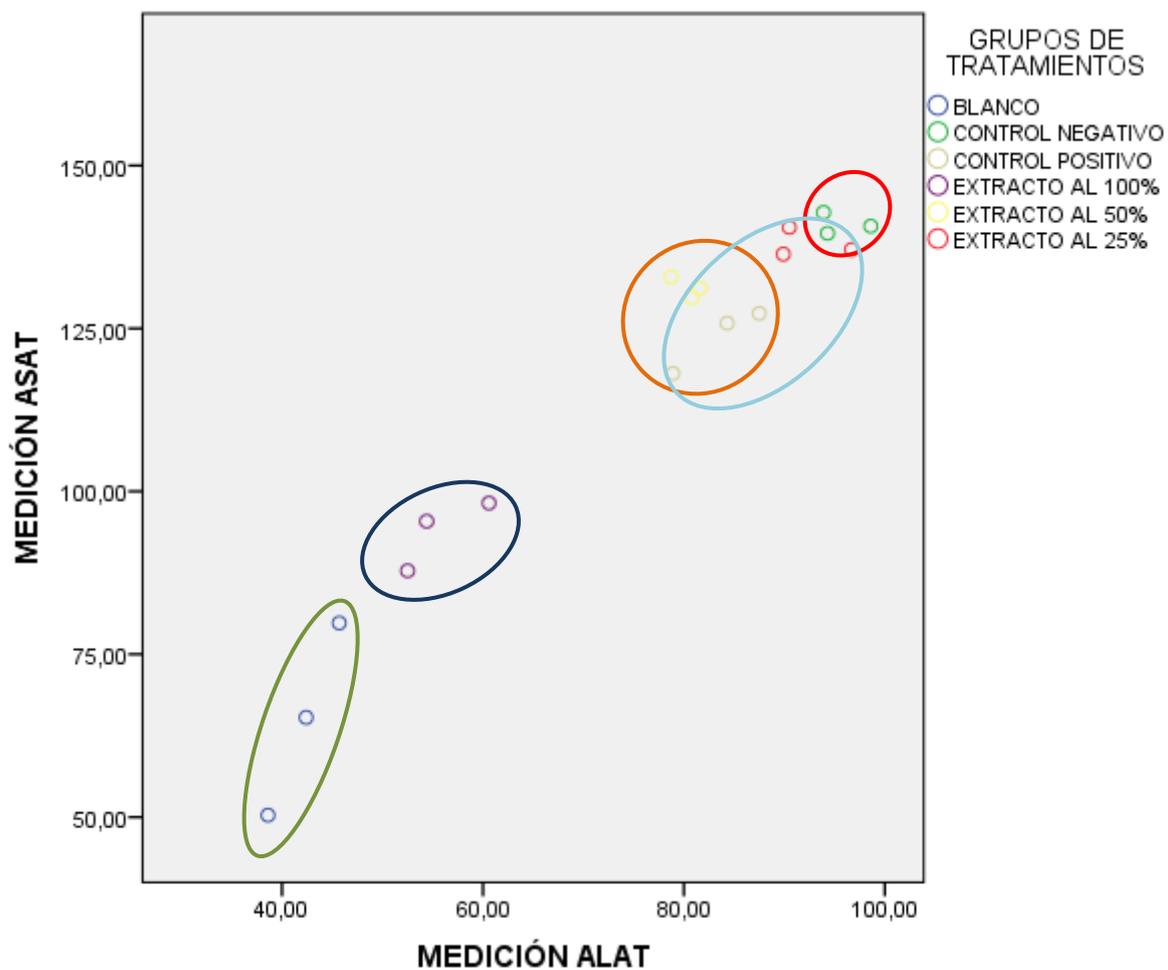


GRÁFICO No. 8 MEDICIÓN DE ALAT

**ANEXO No. 16 ANALISIS ESTADÍSTICO DEL PESO BASAL Y DEL PESO FINAL DE LAS RATAS (*Rattus norvegicus*).**

Para iniciar el análisis y determinar la existencia de diferencias en los pesos promedios de las ratas en sus diferentes grupos se analizarán las estadísticas descriptivas detalladas a continuación.

**CUADRO No. 28 PESO BASAL Y FINAL DE LAS RATAS**

GRUPO	SEXO	PESO EN g	
		Peso inicial	Peso final
<b>BLANCO</b>	FEMENINO	175.9	175.8
	FEMENINO	163.5	163.7
	FEMENINO	187.4	187.3
<b>CONTROL</b>	FEMENINO	176.3	155.6
<b>POSITIVO</b>	FEMENINO	165.4	153.2
	FEMENINO	196.2	192.5
<b>CONTROL</b>	MASCULINO	225.8	205.9
<b>NEGATIVO</b>	MASCULINO	236.5	214.6
	MASCULINO	198.4	186.3
<b>GRUPO A</b> (CONC. 100%)	FEMENINO	194.6	194.4
	FEMENINO	203.8	202.5
	FEMENINO	185.6	184.7
<b>GRUPO B</b> (CONC. 50%)	MASCULINO	194.2	192.4
	MASCULINO	215.4	213.9
	MASCULINO	167.7	164.2
<b>GRUPO C</b> (CONC. 25%)	MASCULINO	212.9	203.8
	MASCULINO	205.8	195.4
	MASCULINO	170.4	155.2

**CUADRO No. 29 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DEL PESO DE LAS RATAS**

GRUPOS EXPERIMENTALES		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	Varianza entre componentes
						Límite inferior	Límite superior			
BLANCO		6	175,6000	10,62337	4,33697	164,4515	186,7485	163,50	187,40	
CONTROL POSITIVO		6	173,2000	18,33957	7,48710	153,9538	192,4462	153,20	196,20	
CONTROL NEGATIVO		6	211,2500	18,31248	7,47604	192,0322	230,4678	186,30	236,50	
GRUPO A		6	194,2667	8,06763	3,29360	185,8002	202,7331	184,70	203,80	
GRUPO B		6	191,3000	21,87492	8,93040	168,3437	214,2563	164,20	215,40	
GRUPO C		6	190,5833	22,74559	9,28585	166,7133	214,4534	155,20	212,90	
Total		36	189,3667	20,68917	3,44819	182,3665	196,3669	153,20	236,50	
Mod	Efectos fijos			17,53807	2,92301	183,3971	195,3363			
elo	Efectos aleatorios				5,65388	174,8329	203,9004			140,53413

En promedio las ratas sometidas al control negativo son aquellas que poseen mayor peso, seguidas por aquellas que están en el grupo A. Las ratas que presentan menor peso promedio son las que pertenecen al control positivo.

Para identificar si existe diferencia estadística en el peso promedio de las ratas, las estudiaremos mediante un análisis de varianza (ANOVA), si existiera diferencia seguiremos con una prueba de Tukey para conocer cómo se agrupan los valores, así tenemos las hipótesis:

$H_0$ : Los pesos promedios de las ratas en los diferentes grupos son iguales.

$H_1$ : Los pesos promedios de las ratas en los diferentes grupos no son iguales.

Por lo cual tenemos los siguientes resultados.

**CUADRO No. 30 ANÁLISIS DE ANOVA DEL PESO DE LAS RATAS**

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5753,943	5	1150,789	3,741	,009
Intra-grupos	9227,517	30	307,584		
Total	14981,460	35			

Con el valor de la significancia inferior a 0,01, confirmamos que existen diferencias altamente significativas en los pesos promedio. Para identificar los grupos se realiza una prueba de Tukey, así

**CUADRO No. 31 PRUEBA DE TUKEY DEL PESO DE LAS RATAS**

	GRUPO DE TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
			1	2
HSD de Tukeya	CONTROL	6	173.2000	
	POSITIVO			
	BLANCO	6	175.6000	
	GRUPO C	6	190.5833	190.5833
	GRUPO B	6	191.3000	191.3000
	GRUPO A	6	194.2667	194.2667
	CONTROL NEGATIVO	6		211.2500
	Sig.			.324

Los valores se agrupan en dos grupos diferentes

GRUPO C    C. POSITIVO BLANCO    GRUPO B    GRUPO A    C.NEGATIVO

También se puede apreciar las diferencias existentes en el siguiente gráfico:

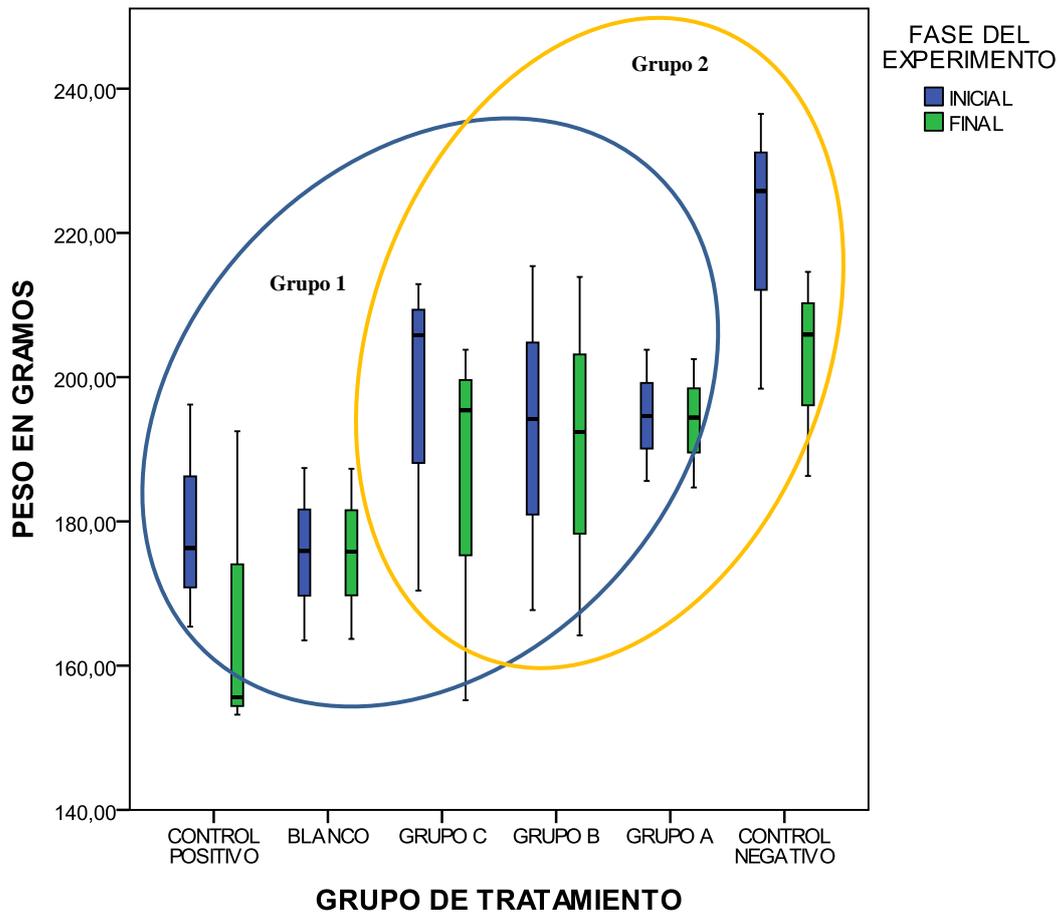


GRÁFICO No. 9 CAJAS Y ALAMBRES DEL ANÁLISIS DEL PESO DE LAS RATAS