



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

“ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO CERRAJA
(*Sonchus oleraceus L.*) EN RATONES (*Mus musculus*)”

Trabajo de titulación para optar al grado académico de:
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA
LOURDES MARIBEL CRIOLLO CHAGLLA

Riobamba – Ecuador
2015



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

“ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO CERRAJA
(*Sonchus oleraceus L.*) EN RATONES (*Mus musculus*)”

Trabajo de titulación para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: LOURDES MARIBEL CRIOLLO CHAGLLA

TUTORA: DRA. ELIZABETH ESCUDERO

Riobamba - Ecuador

2015

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

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO CERRAJA (*Sonchus oleraceus L.*) EN RATONES (*Mus musculus*)**”, de responsabilidad de la señorita egresada Lourdes Maribel Criollo Chaglla, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Félix Andueza
DIRECTOR DE ESCUELA

Dra. Elizabeth Escudero
DIRECTORA DE TESIS

Dr. Félix Andueza
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DOCUMENTALISTA
SISBIB ESPOCH

HOJA DE RESPONSABILIDAD

Yo, **Lourdes Maribel Criollo Chaglla**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el Trabajo de Titulación; y el patrimonio intelectual de Trabajo de Titulación, pertenece a la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo

LOURDES MARIBEL CRIOLLO CHAGLLA

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación va dedicado primeramente a Dios por ser mi guía en todo mi camino de vida.

A mis queridos padres **Alfonso** y **María** por ser el pilar fundamental en mi vida y haberme brindado su amor, cariño, consejos, el apoyo incondicional moral y económico que a diario con su esfuerzo de trabajo supieron entregar todo en su vida e inculcarme buenos valores, principios y me han permitido ante todo que logre mis sueños, metas y a culminar mi carrera.

A mis hermanos y hermanas, sobrinos por siempre brindarme su apoyo y cariño a Roberto por confiar en mí, ser un padre durante mi vida, dándome fuerzas y confianza en sí mismo.

A mis queridas abuelitas Mercedes por ser mi guía durante mi vida e infancia, una madre que cada día supo darme amor, cariño, enseñarme la humildad, confianza, respeto y estará siempre en mi corazón. Alejandrina por ser un gran apoyo moral e incondicional, brindando su cariño, amor y estar pendiente de mí cada día que pasa.

A mis ñañitos Luchito y Yadira quienes con su amor, cariño supieron estar junto a mí, ustedes fueron una gran fuerza y valentía para culminar mi carrera.

AGRADECIMIENTO

Mis emotivos agradecimientos a mis queridos padres por el don de vida y darme la oportunidad para triunfar en la vida y ser gran motivo e inspiración en mi camino de formación.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y mis profesores por haberme brindado sus conocimientos y enseñanza a contribuir mi formación profesional.

Deseo mis más sinceros agradecimientos a la Dra. Elizabeth Escudero y Dr. Félix Andueza por la paciencia y comprensión, donde compartimos sus experiencias, conocimientos sobre todo las materias impartidas durante el periodo académico, por la guía y su valiosa colaboración desinteresado apoyo e incondicional en el desarrollo de la investigación.

A mis amigas(os), Carina, Gabriela, Cristina y Anita por ser parte de mi vida e incondicional apoyo y su valiosa amistad estar siempre en los momentos difíciles durante nuestra vida estudiantil.

A Mayrita, Walter y sus hijos por haberme permitido ser parte su familia que cada día con su enseñanza, cariño y amor fueron un gran apoyo en mi vida.

Me agradezco a mí por poner toda mi dedicación y buena voluntad para lograr mis anhelos.

Lourdes Maribel Criollo Chaglla

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÀFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

CONTENIDO

Páginas

RESUMEN

xviii

SUMARY

xix

INTRODUCCIÒN

1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÒRICO

4

1.1 Medicina Tradicional

4

1.2 Fitoterapia

4

1.3 Piel

5

1.3.1 Definición

5

1.3.2 Componentes de la piel

6

1.3.2.1 Epidermis

6

1.3.2.2 Dermis

7

1.3.2.3 Hipodermis o fascia superficial

7

1.3.4 Herida

8

1.3.4.1 Tipos de heridas

8

1.3.5 Cicatrización

9

1.3.5.1 Concepto de Regeneración y Reparación

10

1.3.5.2. Tipos de cicatrización

10

1.3.5.2.1 Cicatrización de Primera Intención

10

1.3.5.2.2 Cicatrización Por Segunda Intención

11

1.3.5.2.3 Cicatrización Por Tercera Intención

11

1.3.5.2.4 Cicatrización por cuarta intención

12

1.3.5.3 Fases de la Cicatrización

12

1.3.5.3.1 Fase inflamatoria

13

1.3.5.3.2	<i>Fase proliferativa: reconstrucción de los tejidos granulares</i>	15
1.3.5.3.3	<i>Fase Maduración/Remodelación</i>	16
1.3.5.4	<i>Características Histológicas de las Heridas:</i>	17
1.3.5.5	<i>Factores que retardan la cicatrización</i>	17
1.3.5.6	<i>Factores que afectan la cicatrización</i>	17
1.3.6	<i>Planta medicinal: Cerraja (Sonchus oleraceus L.)</i>	18
1.3.6.1	<i>Etimología</i>	19
1.3.6.2	<i>Descripción botánica</i>	19
1.3.6.3	<i>Hábitat y distribución geográfica</i>	20
1.3.6.4	<i>Propiedades Farmacológicas</i>	20
1.3.6.5	<i>Composición Química</i>	20
1.3.7	<i>Metabolitos secundarios relacionados con el efecto cicatrizante</i>	21
1.3.7.1	<i>Tamizaje Fitoquímico</i>	21
1.3.7.2	<i>Flavonoides</i>	21
1.3.7.2.1	<i>Propiedades</i>	22
1.3.7.3	<i>Taninos</i>	23
1.3.8	<i>Métodos de extracción</i>	23
1.3.8.1	<i>Maceración</i>	23
1.3.8.2	<i>Percolación</i>	24
1.3.8.3	<i>Filtración</i>	24
1.3.8.4	<i>Variables de extracción</i>	24
1.3.9	<i>Medicamentos cicatrizantes utilizados en la investigación</i>	24
1.3.9.1	<i>Crema neomicina y prednisolona</i>	24
1.3.9.1.1	<i>Composición química</i>	25
1.3.9.1.2	<i>Dosificación</i>	25
1.3.9.1.3	<i>Propiedades farmacológicas</i>	25
1.3.9.2	<i>Eterol</i>	25
1.3.9.2.1	<i>Composición química</i>	26
1.3.9.2.2	<i>Dosificación</i>	26
1.3.9.2.3	<i>Propiedades farmacológicas</i>	26
1.3.10	<i>Animales de experimentación</i>	26
1.3.10.1	<i>Ratones (Mus musculus)</i>	27
1.3.10.2	<i>Características</i>	27

	CAPÍTULO II	
2.	PARTE EXPERIMENTAL	29
2.1	Lugar de la investigación	29
2.2	Materiales, equipos y reactivos	29
2.2.1	<i>Material vegetal</i>	29
2.2.2	<i>Reactivo biológico</i>	29
2.2.3	<i>Materiales, equipos y reactivos para el análisis de la planta a estudiar</i>	30
2.2.3.1	<i>Materiales</i>	30
2.2.3.2	<i>Equipos</i>	31
2.2.3.3	<i>Reactivos</i>	31
2.2.3.4	<i>Medios de cultivo</i>	33
2.3	Métodos y técnicas	34
2.3.1	<i>Diseño de la investigación de los análisis que se realizó</i>	34
2.3.2	<i>Limpieza de la materia vegetal</i>	34
2.3.3	<i>Obtención de extractos para el análisis del tamizaje fitoquímico</i>	35
2.3.3.1	<i>Proceso de extracción</i>	35
2.3.3.2	<i>Tamizaje Fitoquímico</i>	36
2.3.4	<i>Obtención de extractos hidroalcohólico para el estudio farmacológico (actividad cicatrizante)</i>	39
2.3.5	<i>Pruebas de control de calidad de la droga vegetal cruda</i>	40
2.3.5.1	<i>Contenido de Humedad</i>	40
2.3.5.2	<i>Determinación de Cenizas</i>	41
2.3.5.2.1	<i>Cenizas Totales</i>	41
2.3.5.2.2	<i>Cenizas solubles en agua</i>	41
2.3.5.2.3	<i>Cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	42
2.3.6	<i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico</i>	43
2.3.6.1	<i>Descripción organoléptica</i>	43
2.3.6.2	<i>Determinación del pH del extracto</i>	43
2.3.6.3	<i>Determinación de la densidad relativa</i>	43
2.3.6.4	<i>Determinación del índice de refracción</i>	44
2.3.6.5	<i>Determinación de sólidos totales</i>	44
2.4	Análisis cromatográfico	45
2.4.1	<i>Cromatografía en capa fina (TLC)</i>	45
2.5	Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales (método del	46

	AlCl₃) expresado como porcentaje de rutina	
2.6	Cuantificación de compuestos fenólicos (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)	47
2.7	Cuantificación de compuestos taninos expresados como ácido tánico por (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)	48
2.8	Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos hidroalcohólicos de cerraja (<i>Sonchus oleraceus</i> L.)	48
2.8.1	<i>Protocolo Farmacológico</i>	48
2.8.1.2	<i>Etapa 1: Periodo de aclimatación, ambientación o acondicionamiento.</i>	48
2.8.1.2.1	<i>Depilación de los ratones</i>	48
2.8.1.2.2	<i>Inducción de la herida</i>	49
2.8.1.3	<i>Etapa 2: modelo experimental</i>	49
2.8.1.4	<i>Tratamiento</i>	50
2.8.1.5	<i>Evaluación experimental</i>	51
2.9	Examen histopatológico	51
2.10	Análisis Microbiológico	52
2.10.1	<i>Recuento de aerobios mesófilos</i>	52
2.10.2	<i>Recuento de Coliformes totales (Placa Petrifilm)</i>	52
2.10.3	<i>Hongos y levaduras (Placa Petrifilm)</i>	53
	CAPÍTULO III	
3.	ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	54
3.1	Control de calidad de la droga cruda	54
3.2	Análisis del Tamizaje Fitoquímico	55
3.3	Control de calidad del extracto hidroalcohólico de Cerraja (<i>Sonchus oleraceus</i> L.)	58
3.3.1	<i>Determinación de requisitos organolépticos del extracto hidroalcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus</i> L.)</i>	58
3.3.2	<i>Determinación de parámetros físicos del extracto hidroalcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus</i> L.)</i>	59
3.3.	Análisis cromatográfica en capa fina (TLC)	60
3.4	<i>Determinación de flavonoides</i>	60
3.5	Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales (Método del AlCl₃) expresado como porcentaje de rutina	62
3.6	Determinación de compuestos fenólicos mediante el Método de Folin-	63

	Ciocalteau	
3.7	Control microbiológico	67
3.8	Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico extracto cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en ratones.	67
3.8.1	Proceso de cicatrización de los grupos experimentales	70
<i>3.8.1.1</i>	<i>Medida diaria de la herida de cada ratones (<i>Mus musculus</i>) de los grupos experimentales</i>	<i>70</i>
<i>3.8.1.2</i>	<i>Observaciones de los resultados del proceso de cicatrización hasta el último día del cierre de la herida de los ratones (<i>Mus musculus</i>) de los grupos experimentales.</i>	<i>73</i>
3.8.2	Porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización de cada uno de los tratamientos. Riobamba- ESPOCH. Mayo 2015	79
3.9	Análisis estadístico	80
<i>3.9.1</i>	<i>Análisis de Anova del tamaño de herida (días de cicatrización)</i>	<i>80</i>
3.9.2	Análisis de Postest de Tukey	81
3.10	Análisis histopatológico de los grupos experimentales de ratones (<i>Mus musculus</i>)	82
	CONCLUSIONES	86
	RECOMENDACIONES	88
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

uL	Microlitros
mg	Miligramos
UFC	Unidades formadoras de colonias
Ug	Microgramos
TLC	Cromatografía en capa fina
g	Gramos
UV	Ultravioleta
ppm	Partes por millón
Rf	Factor de retención
%	Porcentaje
pH	Potencial de hidrogeno
NEFT	Norma Ecuatoriana de Fito medicamentos
cm	Centímetro
°C	Grados Celsius

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1-3:	Resultados del % de humedad, % cenizas totales, % cenizas solubles en agua y % de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del control de calidad de la droga cruda cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Febrero 2015	54
Cuadro 2-3:	Resultados de análisis cualitativo (tamizaje fitoquímico) del extracto etéreo cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015	55
Cuadro 3-3:	Resultados de análisis cualitativo (tamizaje fitoquímico) del extracto alcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015	56
Cuadro 4-3:	Análisis cualitativo (tamizaje fitoquímico) del extracto acuoso cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015	57
Cuadro 5-3:	Parámetros de calidad del extracto hidroalcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra seca de la hojas. Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Mayo 2015	58
Cuadro 6-3:	Resultados cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra seca. Laboratorio de instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Mayo 2015.de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico de	59
Cuadro 7-3:	Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra seco de las hojas. Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Abril 2015.	60
Cuadro 8-3:	Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra fresca. Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Abril 2015.	61
Cuadro 9-3:	Cuantificación de flavonoides totales usando como patrón estándar rutina en diferentes concentraciones. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015.	62
Cuadro 10-3:	Determinación de concentración de flavonoides totales (método	63

	del AlCl ₃) expresado en ug de rutina /g de muestra en el extracto cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. Febrero 2015.	
Cuadro 11-3:	Cuantificación compuestos fenólicos mediante el (Micrométodo de Folin-Ciocalteu) en diferentes concentraciones para la elaboración de la curva de calibración. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. Febrero –Marzo 2015.	64
Cuadro 12-3:	Determinación de concentración de compuestos fenólicos mediante el (Micrométodo de Folin-Ciocalteu) del extracto cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. Febrero- Marzo 2015.	64
Cuadro 13-3:	Cuantificación de compuestos fenólicos expresado en de ácido tánico en diferentes concentraciones mediante el (Micrométodo de Folin-Ciocalteu). Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. Febrero- Marzo 2015.	65
Cuadro 14-3:	Determinación de concentración de compuestos fenólicos expresado en ug de ácido tánico/g de muestra por el método Folin- Ciocalteu en el extracto cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. Febrero- Marzo 2015.	66
Cuadro 15-3:	Determinación del número de microorganismo aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras en los extractos hidroalcohólicos del extracto cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>). Laboratorio de análisis clínicos y laboratorio de tecnología farmacéutica de la facultad de ciencias. Epoch. Abril –Mayo 2015.	67
Cuadro 16-3:	Examen histopatológico de la piel del ratón (<i>Mus musculus</i>) con heridas inducidas para la investigación de la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>). Aplicados a los grupos experimentales y con cada tratamiento crema neomicina y prednisolona, eterol y el control negativo. Bioterio de la facultad de ciencias. Mayo 2015.	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Tamizaje Fitoquímico de metabolitos secundarios del extracto etéreo	37
Tabla 2-2:	Tamizaje Fitoquímico de metabolitos secundarios extracto alcohólico	37
Tabla 3-2:	Tamizaje Fitoquímico de metabolitos secundarios extracto acuoso	38
Tabla 4-2:	Diseño experimental para el análisis del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico extracto cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en ratones.	50
Tabla 5-3:	Determinación de la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en ratones evaluando mediante los días de cicatrización de cada uno de los grupos experimentales. Bioterio de la Escuela Bioquímica y Farmacia. Espoch. Mayo 2015.	68
Tabla 6-3:	Determinación de la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) y con sus tratamientos. Bioterio de la Escuela Bioquímica y Farmacia. Espoch. Mayo 2015.	68
Tabla 7-3:	Promedio de la medida diaria en cm de la herida hasta el último día que se desprenda la costra de la apertura de la herida de los ratones (<i>Mus musculus</i>) de los grupos experimentales. ESPOCH. Mayo 2015.	70
Tabla 8-3:	Promedio de las longitudes de las cicatrices con respecto a los tratamientos aplicados de los ratones (<i>Mus musculus</i>) de los grupos experimentales. Espoch. Mayo 2015.	71
Tabla 9-3:	Observaciones de los resultados del proceso de cicatrización hasta el último día del cierre de la herida de los ratones (<i>Mus musculus</i>) del grupo experimental control negativo y crema neomicina y prednisolona. Espoch. Mayo 2015.	73
Tabla 10-3:	Observaciones de los resultados del proceso cicatrización hasta el último día de los ratones (<i>Mus musculus</i>) del grupo experimental control positivo eterol y el extracto al 20 % .Espoch. Mayo 2015.	75
Tabla 11-3:	Observaciones de los resultados del proceso cicatrización hasta el último día del cierre de la herida de los ratones (<i>Mus musculus</i>) del grupo experimental con el extracto al 20 % y 80 % .Espoch. Mayo 2015.	77
Tabla 12-3:	Determinación del porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización de cada uno de los tratamientos tratados con respecto a la ausencia del	78

tratamiento. Riobamba- Espoch. Mayo 2015.

Tabla 13-3:	Resultados de los análisis de Anova en la aplicación de los tratamientos de los grupos experimentales en días de cicatrización. Espoch. Mayo. 2015.	80
Tabla 14-3:	Resultados de los análisis Posttest de Tukey en la aplicación de los tratamientos de los grupos experimentales en días de cicatrización. Espoch. Mayo. 2015.	81

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3:	Curva de calibración de las absorbancia vs concentración del estándar rutina para cuantificación de flavonoides totales en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015.	62
Gráfico 2-3:	Curva de calibración de compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu vs absorbancia del extracto cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero- Marzo 2015.	64
Gráfico 3-3:	Curva de calibración de compuestos fenólicos expresado en ug de ácido tánico/g de muestra por el método Folin- Ciocalteu vs absorbancia del extracto cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero – Marzo 2015.	65
Gráfico 4-3:	Representación del promedio de días de cicatrización con respecto a los grupos experimentales tratados con diferentes tratamientos. Espoch. Mayo.2015.	69
Gráfico 5-3:	Promedio de las longitudes de las cicatrices con respecto a los tratamientos aplicados de los ratones (<i>Mus musculus</i>) de los grupos experimentales. Espoch. Mayo 2015.	72
Gráfico 6-3:	Determinación del porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización de cada uno de los tratamientos tratados con respecto a la ausencia del tratamiento. Riobamba. Espoch. Mayo 2015.	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	Proceso que requiere este proceso de cicatrización	10
Figura 2-1:	Fases de la cicatrización	13
Figura 3-1:	Clasificación taxonómica	19
Figura 4-2:	Diseño del análisis de la investigación	34
Figura 5-2:	Esquema del tamizaje fitoquímico	36
Figura 6-2:	Extractos hidroalcohólico para el estudio farmacológico (actividad cicatrizante)	39

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1-1:	La piel
Fotografía 2-1:	Componentes de la piel
Fotografía 3-1:	Componentes de la epidermis
Fotografía 4-1:	Tipos de heridas
Fotografía 5-1:	Cicatrización de una herida después de una la lesión
Fotografía 6-1:	Cicatrización de primera intención
Fotografía 7-1:	Cicatrización por segunda intención
Fotografía 8-1:	Cicatrización por tercera intención
Fotografía 9-1:	Fases de cicatrización
Fotografía 10-1:	Planta cerraja
Fotografía 11-1:	Eterol
Fotografía 12-1:	Ratón (<i>Mus musculus</i>)
Fotografía 13:	Localización del lugar de la planta Cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) Ambato – Ecuador.
Fotografía 14:	Localización del lugar donde se encuentra la planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>). Ciudad Ambato - Parroquia: Pishilata – Barrio San José
Fotografía 15:	Permiso del medio ambiente
Fotografía 16:	Identificación de la planta (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)
Fotografía 17:	Lugar de Hábitat planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)
Fotografía 18:	Muestra recolectada de la planta cerraja fresca (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)
Fotografía 19:	Selección a las hojas libres de materias extrañas planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)
Fotografía 20:	Limpieza y desinfección del material vegetal planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)
Fotografía 21:	Secamiento de planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)
Fotografía 22:	Muestra seca planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)
Fotografía 23:	Almacenamiento de la muestra seca planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)

Fotografía 24:	Muestra seca molida planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>)
Fotografía 25:	Extracto etéreo planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en seco
Fotografía 26:	Extracto etéreo planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en fresco.
Fotografía 27:	Extracto alcohólico planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en seco.
Fotografía 28:	Extracto alcohólico planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en fresco.
Fotografía 29:	Extracto acuoso planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en seco.
Fotografía 30:	Extracto acuoso planta cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) en fresco.
Fotografía 31:	Determinación de humedad
Fotografía 32:	Determinación de cenizas totales
Fotografía 33:	Determinación de cenizas solubles en agua
Fotografía 34:	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico
Fotografía 35:	Muestras para la medición en fresco y seco
Fotografía 36:	Determinación de pH
Fotografía 37:	Determinación de densidad
Fotografía 38:	Determinación de Índice de refracción
Fotografía 39:	Determinación de Sólidos totales
Fotografía 40:	Placa cromatográfica en extracto seco
Fotografía 41:	Placa cromatográfica en extracto fresco
Fotografía 42:	Preparación del estándar rutina
Fotografía 43:	Estándar rutina a diferentes concentraciones
Fotografía 44:	Reactivos para la reacción de la cuantificación de flavonoides
Fotografía 45:	Muestra en fresca y seca para su posterior lectura por el método de (AlCl ₃)
Fotografía 46:	Muestra en fresca y seca para su posterior lectura
Fotografía 47:	Muestra de los diferentes extractos 20 %, 40 % y 80 %
Fotografía 48:	Siembra de aerobios mesófilos en Caja Petri
Fotografía 49:	Siembra de coliformes totales en Placa Petrifilm

Fotografía 50:	Siembra de mohos y levaduras en Placa Petrifilm
Fotografía 51:	Siembra de coliformes totales y levaduras Placa Petrifilm de la muestra madre
Fotografía 52:	Recuento de aerobios mesófilos
Fotografía 53:	Recuento de Coliformes totales y aerobios mesòfilos
Fotografía 54:	Recuento de mohos y levaduras
Fotografía 55:	Recuento del Control blanco(agua) para aerobios mesofilos, coliformes totales , mohos y levaduras
Fotografía 56:	Preparación del extracto hidroalcohòlico al 40 %
Fotografía 57:	Diluciones del extracto hidroalcohòlico al 20 %, 40 % y 80 %
Fotografía 56:	Preparación del extracto hidroalcohòlico al 40 %
Fotografía 58:	Extracto hidroalcohòlico cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) 20 %, 40 % y 80 %
Fotografía 59:	Crema comercial neomicina y prednisolona
Fotografía 60:	Acondicionamiento de los reactivos biológicos antes de la experimentación Grupo sin tratamiento (control negativo)
Fotografía 61:	Control (+) crema neomicina y prednisolona
Fotografía 62:	Control (+) eterol
Fotografía 63:	Grupo con sus extractos al 20 %, 40 % y 80 %
Fotografía 64:	Materiales para el proceso de la inducción de la herida
Fotografía 65:	Corte de pelaje de los ratones (<i>Mus musculus</i>)
Fotografía 66:	Depilación de la zona dorsal con la crema depiladora Veet
Fotografía 67:	Administración tópica de lidocaína spray 10 % antes de la inducción de la herida
Fotografía 68:	Inducción de la herida
Fotografía 69:	Aplicación de los extractos hidroalcohólicos
Fotografía 70:	Aplicación del tratamiento control positivo tratado con crema neomicina y prednisolona
Fotografía 71:	Aplicación del tratamiento control positivo tratado con eterol
Fotografía 72:	Crema neomicina y prednisolona

Fotografía 73:	Eterol
Fotografía 74:	Control negativo (blanco)
Fotografía 75:	Extractos hidroalcohólicos al 20 %, 40 % y 80 %
Fotografía 76:	Cierre de heridas
Fotografía 77:	Eutanasia a los diferentes grupos experimentales
Fotografía 78:	Medición para el corte histopatológico
Fotografía 79:	Corte histopatológico
Fotografía 80:	Muestras de pieles conservadas en formol 10 %
Fotografía 81:	Preparación de muestras
Fotografía 82:	Fijación de placas
Fotografía 83:	Examen microscópico de pieles tratadas con los extractos hidroalcohólicos cerraja(<i>Sonchus oleraceus L.</i>) 20 %, 40 %
Fotografía 84:	Examen microscópico de pieles tratadas con los extractos hidroalcohólicos cerraja(<i>Sonchus oleraceus L.</i>) 80 %
Fotografía 85:	Examen microscópico de pieles tratadas sin tratamiento (grupo control negativo)
Fotografía 86:	Examen microscópico de pieles tratadas con crema neomicina y prednisolona
Fotografía 87:	Examen microscópico de pieles tratadas con eterol

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo A:** Mapa del Ecuador ubicado la Provincia Tungurahua cantón Ambato
- Anexo B:** Permiso del medio ambiente
- Anexo C:** Identificación de la planta en el herbario de la Espoch
- Anexo D:** Planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)
- Anexo E:** Tamizaje fitoquímico de los extractos planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)
Fresco y seco
- Anexo F:** Control de calidad de la droga vegetal cruda cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)
- Anexo G:** Determinación de parámetros físicos del control de calidad del extracto hidroalcohólico de cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)
- Anexo H:** Análisis cromatográfica en capa fina (TLC) de la planta (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra fresca y seca.
- Anexo I:** Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales (método del $AlCl_3$) de la planta (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra fresca y seca.
- Anexo J:** Determinación de compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu
- Anexo K:** Control microbiológico de la planta (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca
- Anexo L:** Obtención de extractos hidroalcohólicos del extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)
- Anexo M:** Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en ratones (*Mus musculus*).
- Anexo N:** Aplicación de los tratamientos a los grupos experimentales por vía tópica
- Anexo O:** Disminución de la longitud de la cicatriz durante el proceso de cicatrización
- Anexo P:** Cierre de las heridas de todos los grupos experimentales
- Anexo Q:** Análisis histopatológico de los grupos experimentales de ratones (*Mus musculus*)

RESUMEN

La presente investigación se evaluó la actividad cicatrizante de la planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en ratones (*Mus musculus*), en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, con el propósito de rescatar los saberes ancestrales y aprovechar las propiedades medicinales que nos brinda la planta contribuyendo al conocimiento a la sociedad las nuevas alternativas de una posible elaboración de Fito medicamentos. En el análisis cualitativo se determinó que la planta cerraja contiene metabolitos secundarios en muestra seca mayor cantidad flavonoides, taninos, fenoles y en fresco en menor proporción. Se realizó el control de calidad análisis físico químico del extracto hidroalcohólico cerraja en diferentes concentraciones al 20 %, 40 % y 80 % con un pH que va de 6.20 a 6.33, índice de refracción 1.336 -1.347, densidad relativa muestra madre 0.0662 g/mL al 20 % (1.0 g/mL), 40 % (0.0865 g/ml), 80 % (0.0763 g/mL), solidos totales 1 %. El control microbiológico en Placas Petrifilm^{3M} (Coliformes totales, mohos y levaduras), PCA “Plate Count Agar” (aerobios mesófilos) determinando ausencia de microorganismos. Para la evaluación cicatrizante se utilizó 18 ratones (*Mus musculus*) divididos en 3 grupos de experimentación induciendo heridas 2 cm de longitud, 2 mm de profundidad y se les aplico los diferentes tratamientos considerando el tiempo de cicatrización la longitud de cicatriz, los resultados fueron analizados por medio del test Anova y Tukey con un nivel de confianza de 95 %, es decir que al menos dos de los tratamientos tienen diferentes días de cicatrización, para determinar la regeneración celular de la herida se realizó un examen histopatológico como el análisis microscópico y macroscópico. Concluyo que el extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) resulta eficaz y con mayor efecto en concentración al 80% tiene una actividad cicatrizante mayor a los demás tratamientos presentando una cicatrización de 9 días. Recomendamos a las instituciones farmacéuticas que elaboren productos fito medicamentos de calidad comprobada.

Palabras clave: <TRATAMIENTOS ><ACTIVIDAD CICATRIZANTE><EVALUACIÓN CICATRIZANTE><CERRAJA [*Sonchus oleraceus L.*]><EXTRACTO HIDROALCÒLICO>< RATONES [*Mus musculus*]><METABOLITOS SECUNDARIOS><ELABORACIÓN DE FITOMEDICAMENTOS>

SUMMARY

This research aims to evaluate the healing activity of sow thistle plant (*Sonchus oleraceus L.*) in mice (*Mus musculus*) of the Vivarium of Science Faculty in Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, with the purpose of rescuing ancient knowledge and take medicinal properties that sow thistle provides the new alternatives for a possible development of phytomedicine which contributes to knowledge on society. In the qualitative analysis it was determined that this plant owns secondary metabolites in dry sample higher flavonoids intake, tannins, phenols and fresh lesser extent. It was performed a quality physicochemical analysis control of water alcohol extract of the sow thistle plant at different concentrations 20 %, 40 % and 80 % with a pH of 6.20 to 6.33, refractive index of 1.336- 1.347, main sample relative density 0.0662 g/ mL 20 % (1.0 g/ mL), 40 % (0.0865 g/mL), 80 % (0.0763 g/mL), total solids 1 %. The microbiological control in plates Petrifilm ^{3M} (total coliforms, molds and yeasts), PCA “Plate Count Agar” (mesophilic aerobic) determining the absence of microorganisms. For the evaluation of healing 18 mice (*Mus musculus*) were used divided into 3 experimental groups inducing wounds 2 cm long, 2 mm deep and different treatments were applied considering the healing time the length of the scar, the results were analyzed by Anova and Tukey test with a confidence level of 95 % to determine the cell regeneration of the wound. It was applied a histopathological through a microscopic and macroscopic analysis. It is concluded that water alcohol extract of sow thistle plant (*Sonchus oleraceus L.*) is effective and with greater effect in concentration with 80 % having a greater healing than the other treatments presenting a healing in 9 days. It is recommended to pharmaceutical companies to develop the production of phytomedicine of proven quality.

Keywords: < TREATMENTS >< HEALING ACTIVITY >< HEALING EVALUATION >< SOW THISTLE [*Sonchus oleraceus L.*] >< WATER ALCOHOL EXTRACT >< MICE [*Mus musculus*] >< SECONDARY METABOLITES >< PRODUCTION OF PHYTOMEDICINE >

INTRODUCCIÓN

Cada año 100 millones de pacientes adquieren problema de heridas ya sea por quemadura, intervenciones quirúrgicas o ruptura de tejidos por accidentes de diferente índole y otras dolencias. (Wanda y Dorsette, 2004: pp. 591-599). Dado estos inconvenientes ha surgido la necesidad de buscar plantas medicinales de origen vegetal que sean baratas eficaz y autosustentable, que ayuden a una pronta cicatrización de la herida y a la vez incentiven a la población a investigar muchas de las plantas que todavía no se conocen pero que podrían llegar a ser una excelente alternativa médica y social. (Redrobán, 2012, pp. 10- 30).

Diversos investigadores y comunidades médicas buscan mejorar la salud de la persona con el uso de plantas medicinales, ya que en nuestro país y en el mundo se las utiliza por los beneficios que estas poseen siendo un medio alternativo con fines curativos desde tiempos inmemoriales que fueron el principal e incluso el único recurso que disponían los médicos. (Velandia, 2009, p.23). Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar su experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen. (Sisalema, 2013, p.40). Por este motivo es necesario que exista un estudio que garantice, adicionalmente investigar los efectos curativos que posee la planta Cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) que puede ser de gran utilidad ya que no han sido objeto de estudio en nuestro país, impulsando así en la constitución de la República del Ecuador en régimen del buen vivir que se basa en la ciencia, tecnología, innovación y saberes ancestrales. (Cordero y Vergara, 2008:pp.14-28)

En todo el mundo, la medicina tradicional es el pilar principal en la prestación de servicios de salud o su complemento. Como alternativa, las plantas medicinales, desde hace años han sido empleadas para tratar problemas inflamatorios u otros problemas relacionados con la salud. (Goodman y Gilman 2002: pp. 698-723)

Según la organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido fito medicina como la aplicación de principios activos de origen vegetal que abarca una amplia variedad de terapias, prácticas que varían entre países y regiones. A partir del año 1975 ha reconocido la importancia de las plantas medicinales en el control de la salud y desde las dos últimas décadas, ha aumentado considerablemente tanto en países desarrollados como vías de desarrollo, el interés por la medicina tradicional y en particular por los medicamentos herbarios (hierbas, preparaciones herbarias que contienen como principios activos partes de la planta. “De acuerdo con la OMS, 80 % de la población mundial depende de las plantas para su atención primaria de la salud, ya

que recurre a la medicina natural por ser ésta la única disponible.” Dentro del 20% de la población que tiene acceso a la medicina convencional presentan un incremento en el uso de medicamentos herbáceos y además de suplementos nutricionales. (Torre et al.,2008: pp. 105-107)

En los países ricos en biodiversidad como es Ecuador, muchas personas recurren a diversos tipos de remedios naturales porque consideran que «natural» es sinónimo de inocuo. (Infante, 2007). Utilizando las plantas como tratamientos para calmar dolencias o evitar molestia. Ya que en nuestro país muchas personas sufren accidentes que pueden ser por caídas, golpes, quemaduras, heridas etc. (Goodman y Gilman 2002: pp. 698-723)

(Campoverde y Verdugo, 2008: p. 70), realizaron un estudio llevando a cabo la investigación de la posible actividad cicatrizante de las hojas de *Jungia cf. rugosa* (carne humana), teniendo como finalidad aportar conocimientos al campo farmacéutico y su aplicación médico clínico. Realizan un estudio con el objetivo demostrar dicho efecto a través de técnicas in vivo con la técnica de lesión inducida por corte en ratones; empleando tinturas de las hojas de “Carne Humana” en las siguientes concentraciones 5 %, 10 %, 20 % y 30 %; evaluando el tiempo de cicatrización en las cuales se les aplico cada extracto en la parte dorsal de los ratones en las cuales la planta si dio un efecto cicatrizante.

Santamaría (2012, p. 80), efectuó un estudio de la comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de malva (*Malva sylvestris L.*) y aguacate (*P. americana*) en ratones (*Mus musculus*), adquiridas en las instalaciones “Jambi Kiwa” ubicada en la ciudad de Riobamba, con la investigación realizada en las diferente fases las dos plantas si poseen actividad cicatrizante respecto al tiempo y la calidad de cicatrización que fue efectiva debido a la presencia de flavonoides y taninos en la malva y en el aguacate taninos que al combinarse presenta sinergia , mientras que el eterol presenta similitud ya que tardo un día más en cicatrizar.

Redrobán (2012, pp-10-30), realizo un estudio de la comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*), va enmarcado al estudio de vegetales con actividad cicatrizante para mejorar este proceso en heridas recientes, creando una alternativa medicinal con plantas existentes en nuestro medio como lo son el Berro, el cual además de poseer propiedades cicatrizantes y el Llantén que debido a su alto contenido de taninos y flavonoides.

Los resultados de los ensayos in vivo, indicando que al tratar a los ratones con el extracto fluido de berro y llantén en una concentración de 60:40 y de 50:50 se obtuvo excelentes resultados de tal manera que su cicatrización se dio en un lapso de 8 y 7 días, debido a la presencia taninos y flavonoides en cada una de las plantas utilizadas y que al combinarse dan mejores resultados y en menor tiempo. (Redrobán, 2012, pp. 10-30)

Con la aplicación del Eterol con una concentración de 40:60 tardaron 9 días en cerrar la herida completamente en cada grupo experimental. En cambio el tratamiento con alcohol al 50%, que actúa como bactericida, los ratones de este grupo tardaron 10 días en cerrar totalmente su herida y en el Blanco al no aplicarse ningún tratamiento y presentar alguna sustancia que acelere la reepitalización de los tejidos, la cicatrización de la herida tardó 12 días en regenerarse. (Redrobán, 2012, pp. 10-30)

De que el investigar las plantas ayuda a solucionar una amplia gama de dolencias así por ejemplo la Cerraja (*Sonchus oleraceus L.*), esta planta según los botánicos, es originaria de Europa y el occidente de Asia, pero ampliamente distribuida en la actualidad en África, Asia, Oceanía, América y en otros países confiere validez para la cicatrización de heridas, especialmente en las heridas al parar el flujo sanguíneo como cataplasma sobre la parte afecta. Esta planta tiene propiedades: cicatrizantes, depurativo, laxante, digestivo, colagogo, hipoglucémico, diurético, astringente, refrescante. Según resultado en la diversidad biológica en Cajamarca sobre estudios fitoquímicos, toxicológicos y farmacológicos, en ratas se observó buena tolerancia sin ningún efecto tóxico considerable a dosis de 2.000 mg/ kg. La presencia de flavonoides, quinonas y taninos permite una buena acción contra el calambre estomacal o antiespasmódico. (Infante, 2007, p.18)

Así en el Ecuador las causas de la utilización de plantas medicinales están relacionadas a varios factores, tales como la cotidianidad de las personas, el coste de medicamentos efectivos y sobre todo los efectos secundarios que producen ciertos medicamentos económicos, como en el caso de los antiinflamatorios y cicatrizante . (Torre et al., 2008: pp. 105-107)

El presente proyecto de investigación se fundamenta en rescatar los saberes ancestrales y aprovechar las propiedades medicinales que nos brinda ya que no sólo son tejidos vegetales sino que sus células esconden compuestos químicos con capacidad terapéutica.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Medicina Tradicional

En otros países a la medicina se denomina complementaria o alternativa, abarcando una amplia gama de terapias y prácticas que varían entre países y regiones. Esto se viene utilizando desde hace miles de años desde tiempos inmemoriales en la cual se ha contribuido a la salud humana, en particular como proveedores de atención primaria de salud al nivel de la comunidad. Ahora en la actualidad la medicina tradicional también estudia los sistemas teóricos acerca de enfermedades y sistemas curativos. (Pollak, 2001, p. 7)

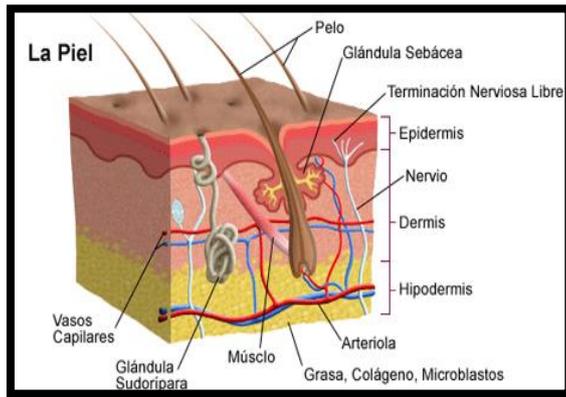
En el conocimiento de las plantas se ha ido desarrollando con la evolución del proceso científico y social, ya que buscaban de remedios que puedan curar enfermedades y calmar el sufrimiento. (Farnsworth y Soejarto, 2000: pp. 4-5)

1.2 Fitoterapia

Básicamente consiste en el empleo de plantas medicinales para fines terapéuticos, constituyendo una de las terapias más antiguas que existen, hoy en día muchos son los fármacos que existen son derivados de plantas medicinales. (Martínez, 2008, p. 11-13)

Según la OMS son *“todo aquel vegetal que contiene uno o varios principios activos que pueden ser utilizados en el tratamiento curativo o paliativo de determinadas enfermedades.”* La fitoterapia se basa en que su capacidad terapéutica depende de los principios activos, hay plantas que combinan los principios activos, se deben conocer las propiedades terapéuticas de cada principio activo y en que especie se hallan.

1.3 Piel



Fotografía 1-1: La piel

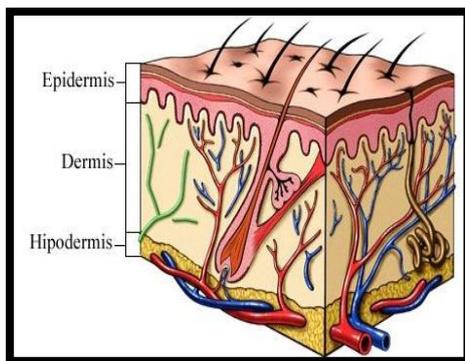
Fuente: Ruiz, 2006.

1.3.1 Definición

Es el órgano mayor de todo nuestro cuerpo casi completamente impermeable que recubre totalmente la superficie corporal y constituye la barrera entre el medio externo e interno y cumple con unas funciones básicas: (Ruiz, 2006, p.119-144)

- Proteger la integridad del cuerpo.
- En regular la temperatura.
- Prevenir las agresiones externas
- Defensa frente a microorganismos patógenos
- Absorber y excretar líquidos
- Absorber RUV. (García, 2012, p. 34)

1.3.2 Componentes de la piel



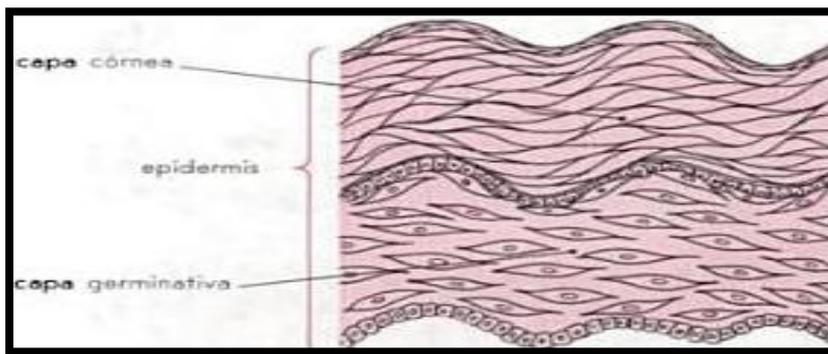
Fotografía 2-1: Componentes de la piel

Fuente: Ruiz, 2006.

Nuestra piel está compuesta de tres capas:

1.3.2.1 Epidermis: es a vascular y la capa más externa de la piel. “Se trata de un epitelio escamoso estratificado queratinizado, que crea una barrera impermeable al agua. “La epidermis a su vez se alimenta por inhibición a partir de la capa dermis. (Ruiz, 2006, p.119-144)

La epidermis está constituida desde el punto de vista histológico (anatomía microscópica) por células gruesas; las más superficiales, cornificadas y las menos superficiales, menos gruesas, no cornificadas y que forman la capa germinativa. (Domínguez et al., 2005: pp. 20-30)



Fotografía3-1: Componentes de la epidermis
Fuente: Domínguez, 2005.

Esta capa está conformada por:

- Por una capa córnea
- La capa lúcida
- La capa granulosa
- La capa basal o germinativo
- La capa espinosa. (Redrobán,2012, pp-28-30)

Funciones de la epidermis

- Protección y aislamiento.
- Participar en las respuestas de inmunidad del organismo. (Redrobán,2012, pp-10-30)

1.3.2.2 Dermis: es un tejido conectivo diferenciado que se forma por fibras, células y sustancia fundamental amorfa. Está ubicada por debajo de la epidermis la misma que proporciona soporte y es la capa de la piel más interna a la capa epidermis.

Esta capa está conformada por fibras elásticas y colágenas que hace que la piel tenga elasticidad pero posee una amplia red de nervios y vasos sanguíneos. (Dikes, 2005, p. 6). Las fibras

colágenas es rígida y es la que determina la resistencia a la tracción de la piel en cambio las fibras elásticas: “*onduladas son las responsables de la elasticidad de la piel.*” (Arias et al., 2008: pp.12-15)

Funciones de la dermis

- El control del crecimiento del epitelio
- Varias son las estructuras, fibras y células que la componen, entre ellas el colágeno y fibras elásticas que van a mantener el tono cutáneo.
- Intervienen en la cicatrización, limpieza y defensa de los tejidos y otras responsables de las reacciones de hipersensibilidad.
- Los anexos cutáneos son: los folículos pilosos (pelos), en los que vierten su secreción las glándulas sebáceas (de grasa), que mantienen el pelo y la piel en buen estado. (Santamaría, 2013, p.80)

1.3.2.3 Hipodermis o fascia superficial: está ubicada debajo de la capa dermis tiene la función de amortiguar los traumatismos bajo la piel. Está compuesto por el tejido adiposo subcutáneo y areolar laxo que tiene como objetivo proporcionara la protección a estructuras subyacentes y al aislamiento térmico. (Horton, 2013, p.9-11)

Se la conoce a la hipodermis como tejido celular subcutáneo o panículo adiposo por las grasas que contiene y se disponen en lóbulos apartados por un septo que es el tejido conectivo. (Dikes ,2005, pp.6)

1.3.4 Herida

“*Se denomina herida a una solución de continuidad en la piel y tejidos producida por acto quirúrgico o traumatismo* “*se la refiere más bien como una acción violenta ocasionada en nuestro organismo ejercida sobre el organismo capaz de originar una lesión tisular.* (Lloveras, 2010, p.37)

1.3.4.1 Tipos de heridas



Fotografía 4-1: Tipos de heridas
Fuente: Cabal, 2006.

Heridas según la integridad de la piel

- Herida Abierta: produce suficiente destrucción de tejidos superficiales con la que se comunica directamente con el exterior
- Herida Cerrada: por lo general estas heridas son producidas por un instrumento romo donde las señales externas pueden ser pequeñísima o estar ausentes. (Bell, 2008, p. 17)

Heridas de acuerdo a la gravedad de la lesión

- La Superficial
- La Penetrante (Cabal et al., 2006: pp. 45-47)

Heridas según el agente que los provoca

- Las cortantes o incisivas
- Las punzantes
- Los cortos punzantes
- Las laceradas.
- Las contusas (Bell, 2008, p. 17)

1.3.5 Cicatrización



Fotografía 5-1: Cicatrización de una herida después de una la lesión
Fuente: Redrobán, 2012.

Cicatriz: es la masa de tejido conjuntivo esencialmente fibroso revestido por la epidermis neo formada que ocupa una antigua solución de continuidad producida por el traumatismo. (Valencia, 2010, pp. 85-98)

Cicatrización

Es un mecanismo que tienen los vertebrados en su gran mayoría para generar o reparar las heridas lesionadas que sufren cuando *“si la cicatrización es lenta o la cicatriz es débil, demasiado fuerte o muy abundante, se considera que tanto el proceso de reparación (cicatrización) como su resultado (cicatriz) zona normales o patológicos.”* (Cobos et al, 2011: pp. 71-78)

En esencia del defecto y el exceso de este proceso de reparación, son las causas que producen las siguientes patologías de la cicatrización:

Se considera a la cicatrización como un proceso dinámico que con lleva a cabo por células encargadas de la proliferación celular para el restablecimiento del tejido lesionado.

- Retraso de la cicatrización
- Cicatriz hipertrófica
- Cicatriz queloide
- Cicatriz retráctil

La reparación cutánea se divide en 3 formas fundamentales: 1. Primaria: cierre primario 2. Secundaria: por segunda intención 3. Terciaria: cierre primario tardío. (Valencia, 2010, pp. 85-98)

1.3.5.1 Concepto de Regeneración y Reparación

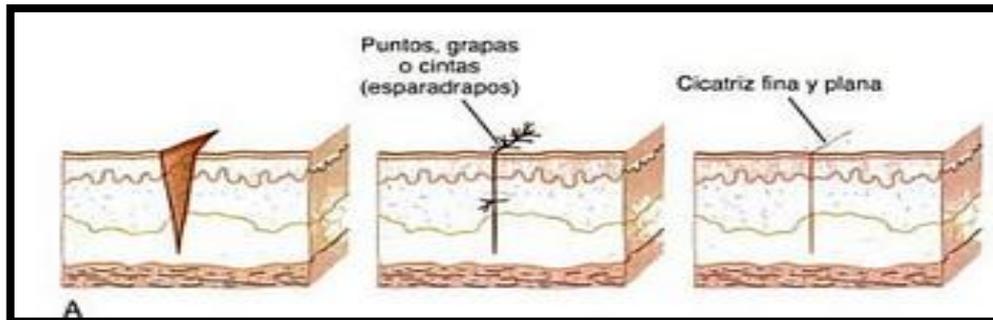
Regeneración: su función es la de sustituir los tejidos dañados por otros que sean histológicamente semejantes. La capacidad de generar será cuanto más especializado sea los

tejidos a su vez puede ser que la regeneración sea defectuosa o insuficiente resultando así a un proceso de cicatrización mixta. (Chiappe, 2013)

Reparación: “es la sustitución de los tejidos destruidos por un tejido conjuntivo neo formado.”

1.3.5.2 Tipos de cicatrización

1.3.5.2.1 Cicatrización de Primera Intención



Fotografía 6-1: Cicatrización de primera intención
Fuente: Chiappe, 2013

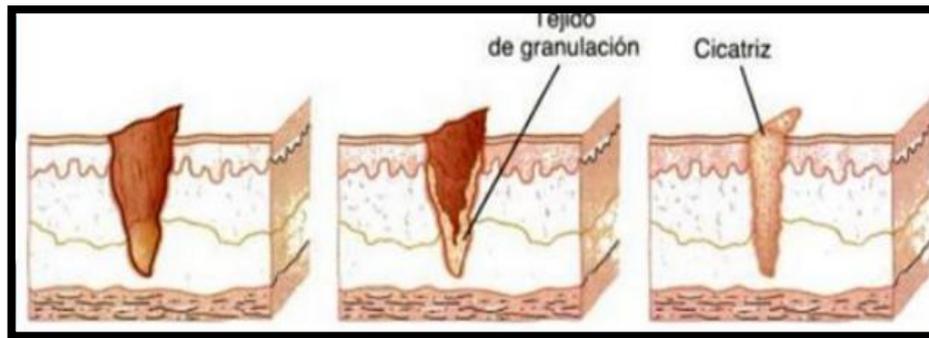
La cicatrización primaria se observa en las heridas incisas y operatorias. La incisión por primera intención que cicatriza sin separación de los bordes de la herida se da en un periodo de un mínimo tiempo y con mínima formación de cicatriz. Debido al “*metabolismo del colágeno y a las enzimas de la matriz extracelular se produce cicatrices estrechas por la remodelación de los tejidos.*” (Chiappe, 2013)

Este proceso requiere de las siguientes condiciones:

1	• La ausencia de infección de la lesión
2	• La hemostasia perfecta
3	• El afrontamiento correcto de sus bordes
4	El ajuste por planos anatómicos de la herida durante la sutura

Figura 1-1: Proceso que requiere este proceso de cicatrización
Fuente: Duce, 2005

1.3.5.2.2 Cicatrización Por Segunda Intención



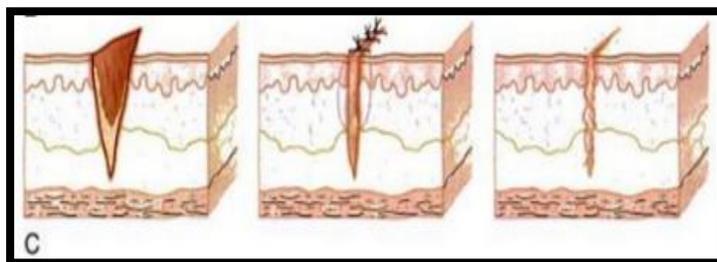
Fotografía 7-1: Cicatrización por segunda intención

Fuente: Horton, 2013

La cicatrización es más prolongada al producirse una mayor destrucción de células y complicada pero su proceso es lento y forma tejido de granulación y cicatriz. Aquí la herida no se cierra formalmente, es decir q se cierra de manera espontaneas por contracción y reepiteliarización, por esta razón este tipo de heridas tienen algunos efectos adversos para el paciente. Este tipo de cicatrización es por 2 da intención causada por un trauma excesivo, infección, pérdida o aproximación imprecisa del tejido. (Horton, 2013, p.9-11)

Aquí la herida puede estar abierta para que de esta forma permitir que cicatrice a partir de las capas profundas hacia la superficie exterior. “Se forma el tejido de granulación que contiene miofibroblastos y cierra por contracción.” La herida disminuye de tamaño por la contracción de los miofibrioblastos que se desaparecen cuando se completa esta contracción. (Martínez, 2008, p. 11-13)

1.3.5.2.3 Cicatrización Por Tercera Intención



Fotografía 8-1: Cicatrización por tercera intención

Fuente: Marini, 2008

Se la conoce como cierre primario diferido, incluye heridas que no pudieron ser cerradas inicialmente y cuando se ha controlado completamente el proceso infeccioso, se cierran intencionalmente, este tipo de cicatrización ocurre cuando 2 superficies de tejido de granulación

son aproximadas. Es un método muy seguro de reparación en heridas sucias, infectadas, contaminadas, traumatizadas y con la pérdida extensa de tejido evitando a una posible infección. (Marini, 2008, pp. 4-9)

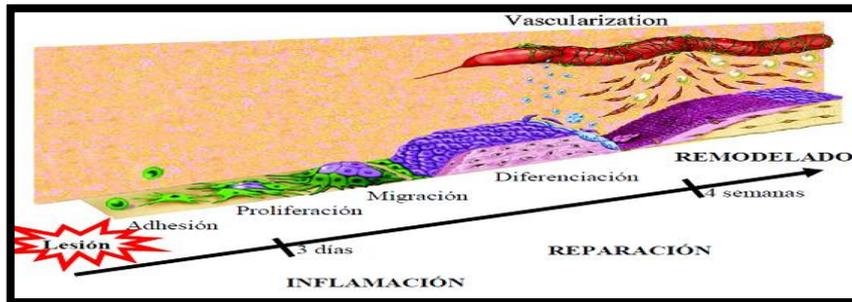
1.3.5.2.4 Cicatrización por cuarta intención

Se acelera a una aproximada curación de una herida por medio de injertos cutáneos de tejidos. (Marini, 2008, pp. 4-9).

Fisiopatología

- **Cicatrización Aséptica:** si es una incisión quirúrgica se dará con un mínimo de traumatismo ya que en esta etapa las heridas se curaran rápidamente con la unión de sus bordes y con la escasa fibrosis conjuntiva.
- **Cicatrización Séptica:** cuando la evolución de la herida es complicada por una infección se puede demorar semanas o meses de tal manera que la cicatrización será prolongada. (Arias et al., 2008: pp.12-15.)

1.3.5.3 Fases de la Cicatrización



Fotografía 9-1: Fases de cicatrización
Fuente: Duce, 2005.

Comienza tras la pérdida de la integridad física de la piel. Y se trata de un “proceso de reparación que conlleva la generación del epitelio y el reemplazo de la dermis por tejido fibroso formado por colágeno.”(Martínez, 2008, p. 53).

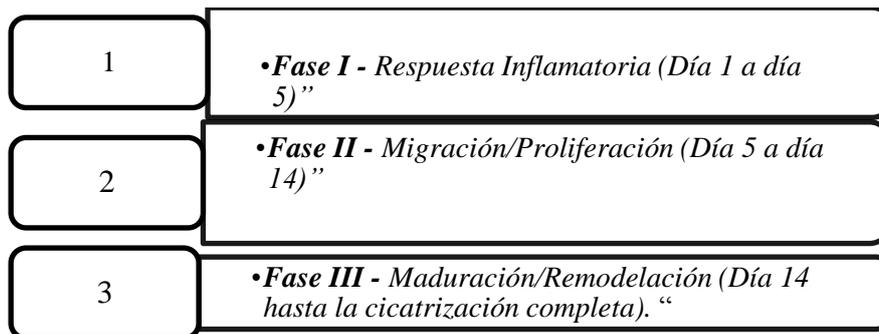


Figura 2-1: Fases de la cicatrización
Fuente: Duce, 2005

1.3.5.3.1 Fase inflamatoria

Esta fase comienza inmediatamente tras la lesión y dura de 1 a 5 días. Durante éste tiempo el sangrado se detiene los glóbulos blancos luchan contra la infección bacteriana y comienza la formación de colágeno. En donde el colágeno se encarga de cerrar y “pegar” las heridas que están hechas las cicatrices. En esta fase la herida está inflamada es roja, cálida y dolorosa. Las primeras reacciones vasculares y celulares consisten en la coagulación y la hemostasia después de haber transcurrido 10 min. (Duce, 2005, pp- 60- 64)

Hemostasia: primera de cicatrización respuesta de los tejidos ante un traumatismo en la que se produce agregación plaquetaria, vasoconstricción y cascada de la coagulación. Gracias a esto se forma una barrera que impide la contaminación bacteriana y la pérdida de fluidos. (Martínez, 2008, p. 11-13).

Inflamación: se produce la liberación de enzimas intercelulares produciendo vasodilatación y aumentos de la permeabilidad de polimorfos nucleares, monocitos, macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y los mastocitos todos liberan factores que estimulan la epitelización y la angiogénesis. En esta fase define clásicamente como de rubor, calor y dolor. (Martínez, 2008, p. 11-13).

- **Cascada de coagulación**

Se da cuando la piel es herido, la sangre entra en contacto con el colágeno esto hace que las plaquetas que tiene la sangre comiencen a secretar factores inflamatorios. Las plaquetas también forman una sola masa ya que estas tienden a producir glicoproteínas en sus membranas permitiéndoles así unirse unas con otras. La fibrina y fibronectina se enlazan formando una especie de red o tapón aquí atrapa las proteínas y partículas parando la pérdida de sangre que se produce en una herida (Arias, 2000, pp. 320-336)

- **Plaquetas**

Las plaquetas son megacariocitos o pedazos de células que intervienen en el proceso de coagulación a su vez estas aumentan su número en la sangre al producirse y liberan varias sustancias en la sangre incrementando la velocidad de migración de las células al área afectada ayudando a los vasos sanguíneos en su dilatación e incremento de porosidad. (Arias, 2000, pp. 320-336)

- **Vasoconstricción y vasodilatación**

Una vez que un vaso sanguíneo resulte dañado las membranas de las células liberan factores inflamatorios entre los cuales están tromboxanos y prostaglandinas, estos factores permiten que el vaso se contraiga disminuyendo la pérdida de sangre y colaborando en la su aglutinación en el área las células inflamatorias y los factores inflamatorios. Esta contracción de los vasos sanguíneos dura de 5-10 minutos aproximadamente y es seguido por un periodo de vasodilatación, en este periodo los vasos se estiran, este fenómeno dura aproximadamente luego de producirse la herida unos 20 minutos el principal factor que desencadena este fenómeno es la histamina. (Choprack, d. 2012, pp. 103-145)

- **Leucocitos polimorfo nucleares**

Después de 1 hora de producirse una herida llegan un gran número de leucocitos polimorfo nucleares siendo las más abundantes al cabo de 3 días. La fibronectina los factores de crecimiento y los neuropéptidos y quininas son atraídos hacia la herida. Los granulocitos limpian la herida mediante pues fagocitan las bacterias e impurezas además producen proteasas que diseminan el tejido dañado. (Choprack, d. 2012, pp. 103-145).

- **Los Macrófagos**

Aquí las células tienen la función fagocitaria por lo que son indispensables para la cicatrización. Luego de 2 días estas células son abundantes en la zona de cicatrización y los monocitos del torrente sanguíneo son atraídos a la zona de la herida por los factores de crecimiento liberados por las plaquetas y otras células.

Una vez los monocitos en la herida al cabo de un día alcanzan su máxima proporción, luego estos maduran y se transforman en macrófagos estos son aquellas que limpian la zona eliminando bacterias y residuos. Los macrófagos producen factores que incrementan la angiogénesis por el bajo contenido de oxígeno en la zona y a producir la reepitelización del área afectada, creando un tejido granular y formar una nueva matriz extracelular. Estas células

son elementos vitales para producir la cicatrización y pase a la siguiente fase. (Choprack, d. 2012, pp. 103-145)

1.3.5.3.2 Fase proliferativa: reconstrucción de los tejidos granulares

Comienza después de unos días, durará de 3 a 4 semanas. Se llama proliferativa porque proliferar significa crecer debido a una rápida producción. En esta fase, continúa produciéndose colágeno y se encarga de juntar, cerrar los bordes de la herida. También se forman nuevos capilares (pequeños vasos sanguíneos) para ayudar a la cicatrización. (Aynaguano, 2014, pp. 16-18).

- **Angiogénesis**

La neurovascularización tiene lugar simultáneamente con la proliferación de fibroblastos, cuando las células endoteliales migran hacia la zona de la herida. La angiogénesis es vital para que sucedan las siguientes fases como la migración epidérmica y de fibroblastos, contribuyendo el oxígeno que necesitan para desarrollar sus funciones. (Aynaguano, 2014, pp. 16-18)

- **Fibroplasia y formación de tejido granular**

Con la angiogénesis empieza a acumularse los fibroblastos en la herida estos comienzan a aparecer 2 ó 5 días después de producidas las heridas, cuando la fase la fase inflamatoria finaliza su número llega a ser el máximo. Luego ellas son las primordiales células responsables de generar la matriz de colágeno en la cicatriz. (Aynaguano, 2014, pp. 16-18)

Los fibroblastos de los tejidos normales se transforman hacia la herida usan la fibrina que se forma en la fase inflamatoria para transportarse, pegándose a la fibronectina ellos colocan sustancia basal en la base de la herida y posteriormente colágeno, al cual se pueden pegarse para transportarse.

El tejido granular es necesario para reponer una herida que atraviesa la membrana basal. Este comienza a aparecer en la cicatriz generalmente por la fase inflamatoria, en este tejido crece hasta que cubra la base de la cicatriz y se generan nuevos vasos sanguíneos, fibroblastos, células inflamatorias y endoteliales, miofibroblastos. (Aynaguano, 2014, pp. 16-18)

- **Disposición de colágeno**

Los fibroblastos tienen como función principal producir colágeno. Estos comienzan a excretar una cantidad de colágeno unos 2 o 3 días después de que se produzca la herida. La producción de colágeno se mantiene durante unas semanas equiparando lo destruido. La cantidad de colágeno que se disponga es muy importante pues aumenta la resistencia de la herida pues si no hubiera este componente lo único que mantiene cerrada la herida es el coágulo haciendo que la herida sea frágil. (Guillament, 2001, pp. 36-66)

- **Reepitelización**

Al producirse el tejido granular en una herida abierta permite que se desarrolle la fase de reepitelización, durante la cual las células epiteliales migran a través del nuevo tejido para desarrollar una pared entre la herida y el medio ambiente. Las glándulas sebáceas, sudoríparas u los folículos pilosos son las principales células responsables de la fase de reepitelización de la herida. Los queratinocitos son los primeros en transportarse para luego multiplicarse. Esta migración puede producirse unas horas después de producirse la herida, pero las células epiteliales necesitarían de un tejido viable para su transportarse, es por esto que el tiempo para la migración es variable. Las células de los bordes de la herida aumentan al tercer día de producida la herida. (Guillament, 2001, pp. 36-66)

- **Contracción**

Después de los 5 días después de realizarse la herida los fibroblastos ya están diferenciados en miofibroblastos, en este momento la herida comienza a contraerse si una herida es muy profunda tardará 10 días en contraerse. Si la contracción dura mucho tiempo producirá desfiguración e incluso pérdida de la motilidad del área afectada. Esta contracción puede ser aproximadamente unos 0,75 mm por día esto en función de cómo se encuentra el tejido. (Guillament, 2001, pp. 36-66)

1.3.5.3.3 Fase Maduración/Remodelación

Empieza a las tres semanas y que va de varios meses incluso varios años. Reduce la vascularización y la presencia de agua en el tejido granular aquí la herida se contrae, gana consistencia y por último se transforma en tejido cicatricial. En esta fase se forma todavía más colágeno para reforzar las heridas. Después se produce una “remodelación” de la cicatriz, eliminando el exceso de colágeno que está presente en la cicatriz. La remodelación hace que

una cicatriz gruesa, roja y levantada se transforme en una fina, plana, y blanca, en un período que puede durar de meses a años. (Redrobán, 2012, pp. 10- 30)

1.3.5.4 Características Histológicas de las Heridas:

- La epidermis se presenta en forma lisa a excepción del festoneado de las papilas, no tienen glándulas sudoríparas, tampoco formaciones pilosebáceas.
- El tejido conjuntivo está conformado por una serie de planos fibrosos paralelos, a su vez son atravesados por paquetes de fibras perpendiculares a la capa epidermis.
- El tejido de fibrosis cicatricial encierra elementos celulares como fibroblastos, células de tipo linfático y leucocitos, con abundantes polimorfo nucleares. Estos elementos van desapareciendo a medida que la cicatriz envejezca. (García y Roca , 2008: pp. 24-32)

1.3.5.5 Factores que retardan la cicatrización

- **Factores de acción local:** entre estos tenemos a la infección, cuerpos extraños, hematomas, movilización, tensión de la herida por la sutura, edema, vascularización, curaciones repetidas. (García y Roca , 2008: pp. 24-32)
- **Factores de Acción General:** hipoproteinemia, hipovitaminosis C, alergias, infecciones, diabetes. (García y Roca , 2008: pp. 24-32)

1.3.5.6 Factores que afectan la cicatrización

Diversos factores afectan el proceso normal de cicatrización de las heridas. Estos son los principales: (Patiño, 2000, p.56)

- **Edad:** interfiere con la cicatrización especialmente con la tasa de crecimiento y de multiplicación de los fibroblastos.
- **Nutrición:** la desnutrición proteica sobre el proceso de cicatrización, posiblemente por interferencia sobre la síntesis de colágeno.

- **Vitaminas y elementos traza:** las vitaminas A y C y el Zn son micronutrientes necesarios para el proceso de cicatrización. El hierro y el cobre son factores esenciales para la síntesis de colágeno.
- **Anemia e hipovolemia:** su efecto nocivo sobre la cicatrización se debe a la hipo oxigenación tisular resultante.
- **Tensión del oxígeno:** el oxígeno es un elemento importante para la cicatrización y sus fenómenos constituyentes como la migración y proliferación celular, metabolismo intermediario, síntesis proteica, síntesis de colágeno. Todos estos factores que incidan sobre provisión de oxígeno a la herida tienen un efecto nocivo sobre la cicatrización.
- **Fármacos citotóxicos y esteroides:** las drogas citotóxicas inhiben la proliferación celular, que es un factor primordial de la cicatrización. En cambio los esteroides ejercen una profunda acción negativa sobre la cicatrización ya que altera la síntesis proteica. (Patiño, 2000, p.56)

1.3.6 Planta medicinal: Cerraja (Sonchus oleraceus L.)



Fotografía 10-1: Planta cerraja
Fuente: Pshilata, Barrio San José

La familia *Asteraceae* es muy utilizada en la “cultura popular y se cultivan ornamentalmente, también es hortícola sus hojas se consumen en ensaladas.” Su importancia reside en la medicina natural que son usadas en infusiones heridas y jugos. (Román, 2008, pp.4)

1.3.6.1 Etimología

El término “*Sonchus oleraceus L.*” se deriva del griego *Sonchus* significa “hueco”, que hace referencia a su tallo hueco. *Oleraceus* que viene del latín y significa “*hierba usada en la cocina o “la cocina vegetal.*” (Munguía, 2009, pp. 13)

El GÉNERO “*Sonchus oleraceus L.*” es una planta bienal o anual. Sus hojas son pinnatisectas, caulinares, dentadas, amplexicaules. “*Capítulos con todas las flores liguladas, amarillas, con los estigmas verdosos. Las brácteas del involucreo son glabras y en ocasiones presentan glándulas de color claro.*” (Román, 2008, pp.4)

Nombre común:	Cerraja
<ul style="list-style-type: none">•Nombre científico:•Especie:•Familia:•Género:	<ul style="list-style-type: none">•<i>Sonchus oleraceus L.</i>•<i>S. oleraceus</i>•<i>Asteraceae</i>•<i>Sonchus .</i>

Figura 3-1: Clasificación taxonómica

Fuente: Munguía, 2009

1.3.6.2 Descripción botánica

Planta perenne que suele medir de 3 a 4 palmos de altura. Su crecimiento se da en lugares sombríos y húmedos. Las hojas tienen bordes dentados y están divididas en segmentos, sus flores están agrupadas en ramilletes de 4 a 5 y son de color amarillo y al partir las hojas y tallos se observa que fluye un látex. (Munguía, 2009, pp. 13)

“*La cerraja es originaria de Oriente Medio, Europa Oriental y En España se puede encontrar por todo el territorio, principalmente en huertas y ribazos y crecen en cualquier parte de la ribera de un río, tanto en la zona próxima a la orilla del mar como en las montañas de 2.000 metros de altitud.*” Y se encuentra en los bordes de camino y en cunetas. (Ronquillo, 2001, pp. 13-18)

Florece durante el transcurso de todo el año y para sus propiedades medicinales es mejor su recolección en otoño y se lo debe realizar por partes de tal manera que primero deben ser recolectadas las hojas y luego la raíz. Para su secado se lo realiza en sombra o a media sombra. Y por último al estar seco se le debe dar un golpe de sol de una hora y se debe guardar en frascos de vidrio. (Ronquillo, 2001, pp. 13-18)

1.3.6.3 Hábitat y distribución geográfica

Florece todo el año y crece en todas las zonas templadas, prospera en la mayoría de posiciones semisoleadas y soleadas siendo típica de suelos fértiles y de huertas. (Román, 2008, pp.4)

- **Partes utilizadas**

Se utiliza todas las partes de la planta: tallo, hojas, flores

- **Uso medicinal**

- Para tratar problemas hepáticos “hígado.”
- En forma de emplastos sobre heridas con pus que se encuentre infectadas y también sobre el estómago. Sus hojas se aplica como cataplasma sobre la parte de la herida.
- Para el dolor de estómago el jugo es un excelente remedio. (Román, 2008, pp.4)

1.3.6.4 Propiedades Farmacológicas

La planta cerraja presenta varias propiedades “*depurativo, laxante, digestivo, colagogo, hipoglucémico, diurético, astringente, refrescante, carminativa, antipirética, emenagoga y en uso tópico cicatrizante, antiinflamatoria y analgésica.*”

También son utilizadas como:

- **Uso interno:** las hojas y raíz en infusiones y decocciones
 - Infusión para tratar problemas de diarrea y estimular la menstruación
 - Las raíces y hojas a partir de infusión para reducir la fiebre
 - Para estreñimiento se puede tomar el jugo del tallo
 - Para la purificación de la sangre y tratar hemorragias.
- **Uso externo:** aplicado como cataplasmas sobre la parte afectada y en jugo para fricciones.
 - Se efectúa una cocción de las hojas y una vez hervidas machacarlas y sujetarlas caliente entre dos gasas sobre la parte afectada. El látex aparece en los estudios realizados como una alternativa en la industria. (Horton, 2013, p.9-11)

1.3.6.5 Composición Química

Flavonoides: apigenina, kaempferol, luteolina

Otros: oxidasas, terpenoides, linarina, cinarina, isocinarina, cosmosiína, crepidiásido A., vitamina C, pirísidos B y C, taraxasterol. (Torres, 2012, pp. 78-80).

Los componentes activos en el látex contienen fitosferina. La fitosferina es un componente natural que se encuentra en cereales y verduras. Según estudios la fitosterina vegetal regula los niveles de colesterol y en el equilibrio de la próstata. Por este motivo se recomienda incluir betasitosterina en la alimentación debido a la acción protectora de la fitosterina sobre la próstata. Las principales fitosterinas son: betasitosterina, campesterina y estigmasterina. (Marini, 2008, pp. 4-9)

Años atrás los investigadores de las “*Universidades de Auckland y Otago, descubrieron que la cerraja tiene 3 veces el nivel de antioxidante de los arándanos*”, la cual es de gran importancia para la lucha del cáncer. (Munguía, 2009, pp. 13)

La planta cerraja posee: “*esteroides, quinonas, cardenólidos, compuestos fenólicos derivados del pirogalol, taninos, flavonoides y el látex la fitosferina.*” (Guerrero, 2012, pp. 96)

2.3.7 Metabolitos secundarios relacionados con el efecto cicatrizante

Para la cicatrización los metabolitos primordiales son los flavonoides y taninos

1.3.7.1 Tamizaje Fitoquímico

También screening fitoquímico determina cualitativamente los grupos químicos principales que se encuentra presentes en la planta y es una de las etapas intermedias de la investigación fitoquímica a partir de esto se basa en orientar en los extractos o fraccionamientos para el aislamiento de grupos que son de gran mayor interés. (Acosta, 2003, pp. 38)

También consiste en la extracción de la planta con solventes adecuado y la aplicación de reacciones de precipitación y color, donde permite la evaluación rápida con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo precio. (Albornoz, 2009, pp. 3-6)

1.3.7.2 Flavonoides

Los flavonoides son un grupo de sustancias vegetales (metabolitos secundarios) que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares. Estas sustancias son responsables de una gran parte de la pigmentación de los vegetales. (Barberán et al., 2010, p. 15)

Según Markham (2006, p.116), los flavonoides son importantes para el desarrollo normal de las plantas y para su defensa frente a infecciones por microorganismos que pudieran penetrar por las heridas, u otras vías. Además estos productos naturales constituyen el principio activo de medicamentos que son empleados en la medicina tradicional que todavía son utilizados en muchas partes del mundo. Como Estados Unidos, la ingestas diaria de flavonoides es de alrededor de 1gr, pues estos compuestos están presentes en las frutas, hortalizas, granos, semillas, hojas, tallos, flores y vino, entre otros alimentos.

Estas sustancias son de naturaleza fenólica y se caracteriza por poseer dos anillos aromáticos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono, con la estructura general C6-C3-C6. También los flavonoides naturales presentar por lo menos tres hidroxilos fenólicos, y se encuentran generalmente combinados con azúcares en forma de glicósidos, aunque también se presentan con relativa frecuencia como agliconas libres. (Uga., 2008., pp. 114-1994). Las estructuras características de flavonoides son la flavonas que están presentes en muchos vegetales, los antocianos que siempre se encuentran como glicósidos presentes en flores y frutos que proporciona el color rojizo, azulado, los isoflavonoides, que están distribuidos en menor cantidad en las plantas. Las funciones de los flavonoides en las plantas, las podríamos agrupar en tres grandes grupos: papel de defensa, papel de señal química y efecto sobre enzimas. (Barberà et al., 2010, p. 15)

1.3.7.2.1 Propiedades

- **Cicatrización:** se encuentra flavonoides en presencia de vitamina C, produciendo un aumento en la síntesis de fibronectina extracelular y colágeno, al producir la proliferación de fibroblastos normales de la piel. Las antocianidinas favorecen la angiogénesis en las heridas y en los problemas de cicatrización al acelerar la contracción de la herida y su posterior cierre. Aumenta la expresión del factor de crecimiento endotelial del borde de la herida. (Redrobán, 2012, pp- 10- 30)
- **Fragilidad capilar:** incrementan la fortaleza de los vasos capilares, previniendo así que éstos se cierren con facilidad y evitando que se rompan de tal manera previniendo el sangrado. Al tener ciertos flavonoides una acción similar a la de la vitamina C, protegen a los vasos sanguíneos de infecciones y enfermedades. (Muñoz, 2014, pp. 37-40)

- **Antiinflamatoria y analgésica:** debido a su actividad antioxidante y su capacidad de actuar contra mediadores de procesos inflamatorios como las prostaglandinas y leucotrienos.
- **Antioxidante:** tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres y de esta forma impide los efectos dañinos que pueden ocasionar en el organismo. (Muñoz, 2014, pp. 37-40)

1.3.7.3 Taninos

Son compuestos polifenólicos muy astringentes y de gusto amargo. Los taninos se dividen en hidrolizables y condensados. Industrialmente se han utilizado sus propiedades para curtir pieles, al eliminar el agua de las fibras musculares. En medicina se prescriben por su acción: hemostática, astringente, antiséptica y tónica. Cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y al detener el sangrado. La cicatrización se produce por la formación de costras al unirse las proteínas con los taninos y crear un medio “seco” que impide el desarrollo de las bacterias. Al constreñir los vasos sanguíneos ayudan a la coagulación de la sangre y por tanto contribuyen a la curación de las heridas y por lo tanto reduce el dolor sobre la piel. (Redrobán, 2012, pp. 10-30)

1.3.8 Métodos de extracción

“La extracción sólido-líquido es una operación que está presente prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica” dentro los métodos más utilizados son extracción por percolación, maceración, lixiviación. (Infante, 2007, p.18)

Dependiendo del grado de concentración de los extractivos, los extractos pueden clasificarse en: extractos fluidos o líquidos, extractos semisólidos o blandos, extractos secos. (Proaño, 2013, pp. 61-66)

1.3.8.1 Maceración

Es un proceso en el cual se consigue extraer y disolver en un líquido las sustancias activas de una planta. Estas sustancias se encuentran protegidas dentro de células de tejidos vegetales que pueden ser la raíz, corteza, hojas, flores y frutos. Para este proceso se debe colocar el material vegetal en trocitos o polvo según sea conveniente puede ser en un recipiente lleno del menstruo

luego se deja en reposo de 3 o más días, con una agitación frecuente incluso hasta completar la extracción del material vegetal. (Játiva, 2010, pp. 9-15)

1.3.8.2 Percolación

Este método se la utiliza para preparación de extractos fluido y tinturas. “*El procedimiento general de la percolación se utiliza un percolador recipiente cónico abierto en ambos extremos.*” Se debe humedecer el material vegetal para la colocación en el **percolador** con una cantidad adecuada del menstruo en un recipiente que permanezca cerrado y se deja en reposo durante 4 horas aproximado. (Olaya y Méndez, 2003: p. 78)

1.3.8.3 Filtración

Es el proceso de separación de un sólido que se encuentra suspendido en un líquido a través de un medio poroso pues este retiene el sólido y atraviesa el líquido. Este método de separación es utilizado muy usual desde la vida diaria como a nivel industrial. En la actualidad se disponen de múltiples maquinarias para realizar este proceso. (Aynaguano, 2014, pp. 16-18).

1.3.8.4 Variables de extracción

Se ve alterada por distintos factores la eficacia y velocidad de la extracción, por aquellos que tienen relación directa con la solubilidad del componente que se quiere extraer. Entre los factores tenemos: temperatura, concentración del solvente, porosidad tamaño de la partícula, agitación fuerza externa. (Aynaguano, 2014, pp. 16-18).

1.3.9 Medicamentos cicatrizantes utilizados en la investigación

En esta investigación se utilizó dos medicamentos de uso tópico crema neomicina y prednisolona y eterol de uso veterinario.

1.3.9.1 Crema de neomicina y prednisolona

Según la Real Farmacopea Española, 2003 la crema de neomicina y prednisolona es una asociación corticoide-antibiótica utilizada en el tratamiento de uso local para afecciones de la piel de etiología inflamatoria y/o bacteriana.

Vademécum Farmacoterapéutico del Ecuador 2009. **Indicaciones:** es utilizado en casos de dermatosis y dermatitis alérgicas infectadas o no, eczemas en general, picaduras de insectos,

acné vulgar infectado lastimaduras de cicatrización lenta que no corresponda al tratamiento normal y en general cualquier condición anormal de la piel debida a un factor alérgico, inflamatorio o infeccioso.

1.3.9.1.1 Composición química

Cada 100g contiene

Acetato de Prednisolona ----- 0.5g

Sulfato de neomicina ----- 0.5g

- **Acetato de prednisolona:** democroticoide que en la forma micronizada ha demostrado un intenso efecto antialérgico y antiinflamatorio sobre la piel.
- **Sulfato de neomicina:** antibiótico de amplio espectro, que no es inactivado por los exudados y no produce síntomas de hipersensibilidad.

1.3.9.1.2 Dosificación

Según el Vademécum Dermatológico. Se aplica 2 ò 3 veces diarias sobre las regiones enfermas de la piel, friccionando suavemente para conseguir una distribución uniforme y estimular la absorción. En caso de heridas infectadas se extiende una pequeña cantidad de crema en una gasa y se coloca sobre la herida.

1.3.9.1.3 Propiedades farmacológicas

Antiinflamatorio, antiinfecciosa y cicatrizante

1.3.9.2 Eterol



Fotografía 11-1: ETEROL

Fuente: Indufar Cia. Ltda. ,2015

El eterol es un antiséptico de uso externo utilizado de uso veterinario.

Vademécum, 2012. **Indicaciones:** está recomendado utilizar en el tratamiento de estomatitis vesicular, fiebre aftosa, difteria. En el tratamiento de fístulas, cortes, abscesos, mataduras y cicatrizante de ombligo en los recién nacidos, úlceras, escoriaciones de la piel y heridas.

1.3.9.2.1 Composición química

Cada 100mL contiene

Fenol..... 0,1 g

Violeta de genciana..... 0,4 g

Excipiente alcohólico..... 100 mL (Vademécum veterinario, 2012)

1.3.9.2.2 Dosificación

Vademécum veterinario, 2012 indica que se debe aplicarse diariamente sobre la superficie afectada y para mejores resultados se recomienda la limpieza, el lavado del área afectada y aplicar desinfectante tópico en el área afectado hasta que esté totalmente cubierto.

1.3.9.2.3 Propiedades farmacológicas

Antiinflamatoria, antibiótica, astringente, bactericida, cicatrizante, desinfectante, fungicida, suavizante y antiséptico de uso externo.

1.3.10 Animales de experimentación

Como se trata de un sujeto experimental, también nace el concepto de reactivo biológico: un animal de experiencia, en función del tema de estudio capaz de dar una respuesta fiable y reproducible.

Desde el punto de vista anatómico y fisiológico y debido a la considerable similitud que tiene con el ser humano, los ratones y ratas constituye un excelente modelo de estudio para una gran cantidad de fenómenos fisiológicos. (Proaño, 2013, pp. 61-66)

Gracias a la investigación con animales el Cartel del Departamento de Salud de EEUU. Según sus estudios, la investigación realizada en animales ha permitido aumentar la esperanza de vida de los seres humanos (en Occidente). (Torres, 2011, pp. 17-20)

1.3.10.1 Ratones (*Mus musculus*)



Fotografía 12-1: Ratón (*Mus musculus*)

Fuente: Bioterio Espoch, 2015

Es un roedor, usualmente de la especie (*Mus musculus*), que se utiliza para la investigación científica. Suelen ser albinos. Para cada experimento se escogen ratones de laboratorio que pertenezcan a una misma cepa pura o endogámica. Los individuos de una misma cepa llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos experimentales (fármacos, entorno físico, etc.), sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas. (Proaño, 2013, pp. 61-66)

1.3.10.2 Características

Las características que han hecho de los ratones de laboratorio un excelente modelo biológico y biomédico utilizado en las investigaciones científicas son: (Torres, 2011, pp. 17-20)

- Poseen una vida media de 4 a 6 meses cuando se encuentran en libertad, por el contrario si permanecen en cautiverio pueden llegar a vivir varios años.
- La longitud aproximada de los ratones es de 7-11 cm sin contar con la cola, pueden pesar de 15 a 20 g.
- Las hembras llegan a su madurez sexual precozmente ya que a las 5-6 semanas son sexualmente activas, mientras que los machos precisan de unos días más.
- Tienen el sentido del olfato muy desarrollado, su visión es muy pobre y no pueden percibir los colores.
- Por su tamaño pequeño son susceptibles a cambios ambientales, con una variación de temperatura de 2 a 3 °C puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología.
- Su fácil manejo (animales tranquilos, nobles y menos propensos a morder)
- Su tamaño apropiado para la crianza y manipulación (toleran aglomeración)
- No requieren demasiados cuidados

- Tienen un alto número de crías
- Poseen un breve periodo de gestación (24-25 días) y el destete es rápido
- Al ser mamíferos euterios, poseen un genoma muy similar al de los seres humanos. Sistema inmune similar al de los seres humanos, etc.(Torres, 2011, pp. 17-20)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Lugar de la investigación

Para la realización del proyecto de investigación se obtuvo un certificado de aprobación por el Ministerio del ambiente. Su respectiva investigación se llevó a cabo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en la Facultad de Ciencias en los siguientes laboratorios:

- Comprobación e identificación taxonómica: Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH)
- Laboratorio de Fitoquímica e Instrumental: control de calidad de la droga
- Laboratorio de Microbiología: control microbiológico del extracto hidroalcohólico de la planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)
- Bioterio de la Facultad de Ciencias: evaluación de la actividad cicatrizante
- Laboratorio Histopatológico SOLCA (Riobamba): Análisis histopatológico del proceso de cicatrización

2.2 Materiales, equipos y reactivos

2.2.1 *Material vegetal*

La materia prima Cerraja (*Sonchus oleraceus L.*), se recolectó en el mes de Diciembre del 2014 en la provincia de Tungurahua, Cantón Ambato, Parroquia - Pishilata, Barrio San José, en las horas de la mañana a una altitud 2800 m.s.n.m. a una temperatura promedio 18⁰ C, en suelo húmedo las cuales se las puede recoger durante épocas de todo el año en el momento vegetativo anterior a la floración.

2.2.1 *Reactivo biológico*

Para el estudio in vivo para evaluar la actividad cicatrizante se utilizó 18 ratones (*Mus musculus*) de ambos sexos distribuidos en 5 grupos con peso corporal de 35-40 gramos, edad 2 meses.

2.2.2 *Materiales, equipos y reactivos para el análisis de la planta a estudiar*

2.2.3.1 *Materiales*

- Vasos de precipitación de 50 mL y 100 mL
- Tubos de ensayo
- Pinzas de tubo ensayo
- Pipeta graduadas 10 mL
- Pizetas
- Probetas
- Equipo de destilación
- Espátula Varilla de agitación
- Matraces
- Trípode
- Cápsula de porcelana
- Pinza para cápsula
- Mortero y pistilo
- Embudo simple
- Balón de aforo de 10 mL
- Balón de aforo de 25 mL
- Balón de aforo de 100 mL
- Pipetas graduadas 1mL
- Mechero de alcohol
- Micro pipetas automáticas de 100 y 500 μ L
- Puntas plásticas azules para pipetas
- Envases estériles de vidrio ámbar
- Tijeras
- Asa
- Envases estériles de vidrio ámbar
- Jaulas de ratones
- Botiquin
- Frascos estériles con tapa
- Cajas Petri
- Cinta
- Vidrio reloj
- Termómetro
- Algodón

- Bisturí
- Guantes
- Mascarillas
- Papel filtro
- Cofia
- Papel de aluminio
- Mandil
- Reverbero
- Varilla de agitación
- Gradilla
- Canasta

2.2.3.2. *Equipos*

- Ultrasonido
- pH-métro
- Bomba de flujo
- Balanza analítica
- Mufla
- Refractómetro
- Picnómetro
- Rota vapor
- Cámara fotográfica
- Estufa
- Refrigerador
- Autoclave

2.2.3.3. *Reactivos*

- Gel desinfectante
- Alcohol antiséptico
- Cloro

❖ **Reactivos para la obtención de extractos**

- Alcohol al 96 %
- Éter dietílico
- Agua destilada

❖ **Reactivos para la actividad cicatrizante**

- Formol 10 %
- Crema neomicina y prednisolona
- Eterol
- Lidocaína spray 10 %
- Alcohol 40 %

❖ **Reactivos para cromatografía de capa fina**

- Acetona
- Ácido fórmico
- Sulfato de cerio
- Cloroformo
- Metanol

❖ **Reactivos para tamizaje fitoquímico**

- Reactivos para el tamizaje fitoquímico
- Reactivo de Sudan III
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Fehling
- Reactivo Shinoda
- Magnesio metálico
- Cloruro férrico
- Ácido clorhídrico
- Alcohol amílico
- Reactivo de Wagner

❖ **Reactivos para cuantificación de flavonoides, fenoles y taninos**

- Solución de carbonato de sodio
- Ácido tánico
- Tricloruro de aluminio
- Nitrito de sodio
- Hidróxido de sodio
- Rutina
- Reactivo de Folin-Ciocalteu

2.2.3.4 Medios de cultivo

- Placas Petri film para Coliformes totales
- Placas Petri film para mohos y levaduras
- Caja Petri que contiene agar PCA

2.3 Métodos y técnicas

2.3.1 Diseño de la investigación de los análisis que se realizó

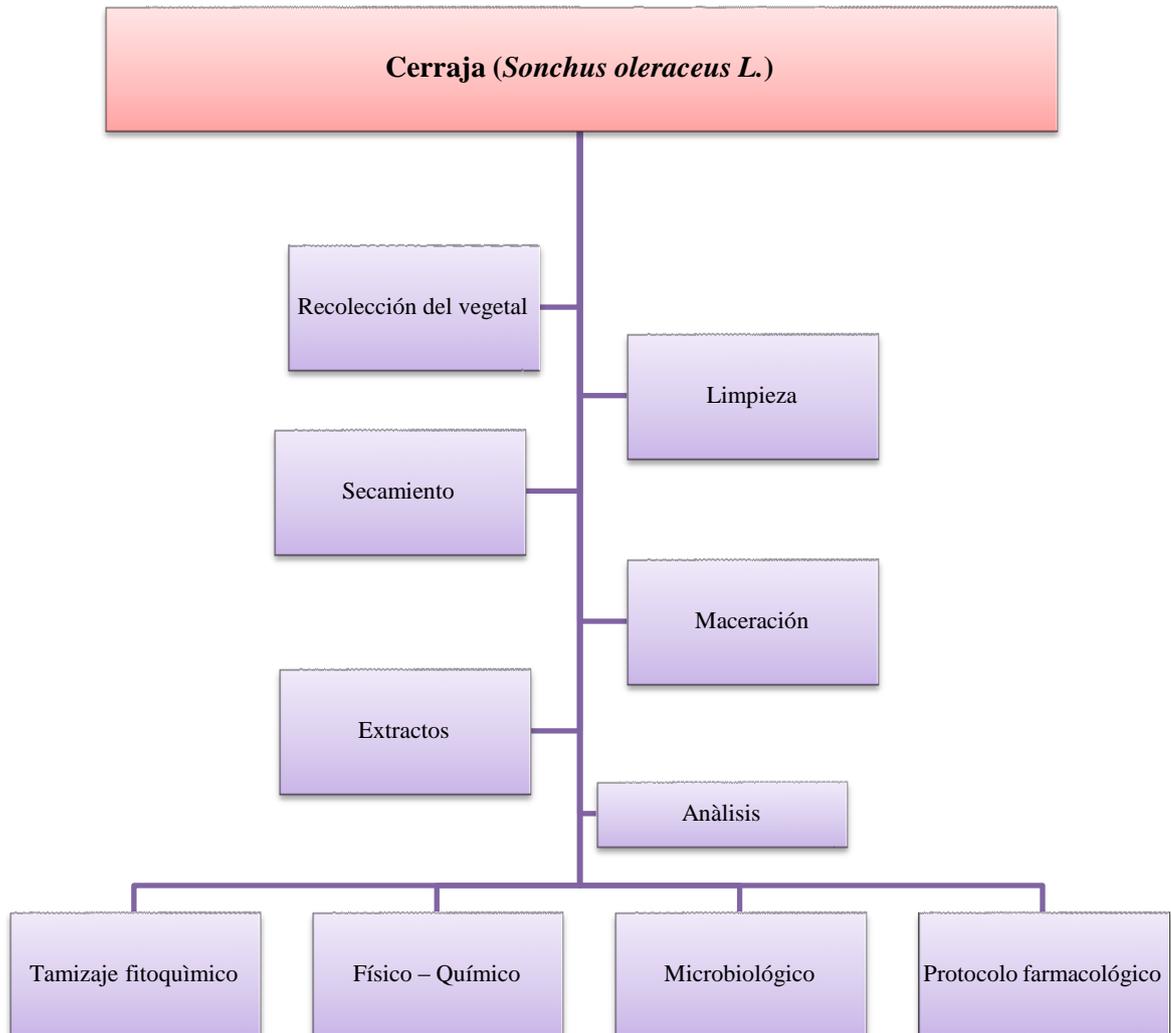


Figura 4-2: Diseño del análisis de la investigación

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

2.3.2 Limpieza de la materia vegetal

- Se recolectó la planta Cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en horas de la mañana en la Provincia Tungurahua del cantón Ambato, Parroquia Pishilata - Barrio San José.
- Luego se seleccionó a las hojas libres de materias extrañas.
- Para eliminar las impurezas y cuerpo extraños se realizó la limpieza y desinfección del material vegetal.

- Se debe lavar con abundante agua destilada realizando 3-4 repeticiones de lavado
- Se escurrió exponiendo al ambiente por aproximadamente de 15 a 20min hasta estilarla.
- Se almaceno el vegetal en recipientes adecuados cuidando que no penetra impurezas y la luz solar directa durante el trascurso de desecamiento para lo cual se las colocó en papel periódico
- Una vez seca las hojas, se las almaceno en un recipiente adecuado en bolsa de papel para de esta manera no alcance la humedad y este en ausencia de luz
- Se molió las hojas para reducir en pequeños fragmentos
- La muestra se guardó en un recipiente adecuado para sus respectivos análisis.(Criollo, 2015)

2.3.3 Obtención de extractos para el análisis del tamizaje fitoquímico

2.3.3.1 Proceso de extracción

- Se utilizó las hojas secas y frescas para lo cual en lo seco se procedió a moler en un molino.
- Para la realización de los análisis de la planta se realizó el extracto en fresco y seco que fueron sometida a tres extracciones sucesivas según el esquema de la Fig. 5-2, lo cual primero se pesó 30 g de las hojas de la planta seco y fresco.
- Se colocó en un envase de vidrio la muestra seca, para adicionar el éter etílico se utiliza la sorbona por lo que es volátil el reactivo al cual se añadió un volumen de 200 mL en la muestra seca y el fresco 150 mL hasta cubrir la planta en su totalidad cubriendo el envase con papel aluminio.
- Se dejó macerar en el ultrasonido por cierto tiempo 3 horas a una temperatura ambiente. Pasado el tiempo requerido se filtró el extracto etéreo y el residuo se le dejó secar a temperatura ambiente hasta que esté totalmente seca y después se lo pesó.
- Después de la desecación se pesó el residuo y se volvió a colocar en un envase de vidrio con alcohol al 96 % con un volumen de 200 ml en la muestra seca y en la fresca 100 mL hasta cubrir la planta en su totalidad.
- Se dejó macerar en el ultrasonido por cierto tiempo 3 horas a una temperatura ambiente.
- Después del tiempo requerido se filtró el extracto alcohólico y el residuo se le dejó secar hasta que esté totalmente seca y después se lo pesó.
- En el extracto acuoso una vez que este seco la muestra anterior obtenido del extracto alcohólico se colocó en un envase de vidrio y se adiciono 300 mL de agua destilada y 100 mL en la muestra fresca dejando macerar en ultrasonido por cierto tiempo de 3 horas a una temperatura ambiente, pasado el periodo de tiempo se filtró el extracto acuoso y se colocó

en un envase de vidrio y al residuo de la planta se lo dejó secar y una vez que este seco se lo pesó y se lo desecho. (Criollo, 2015)

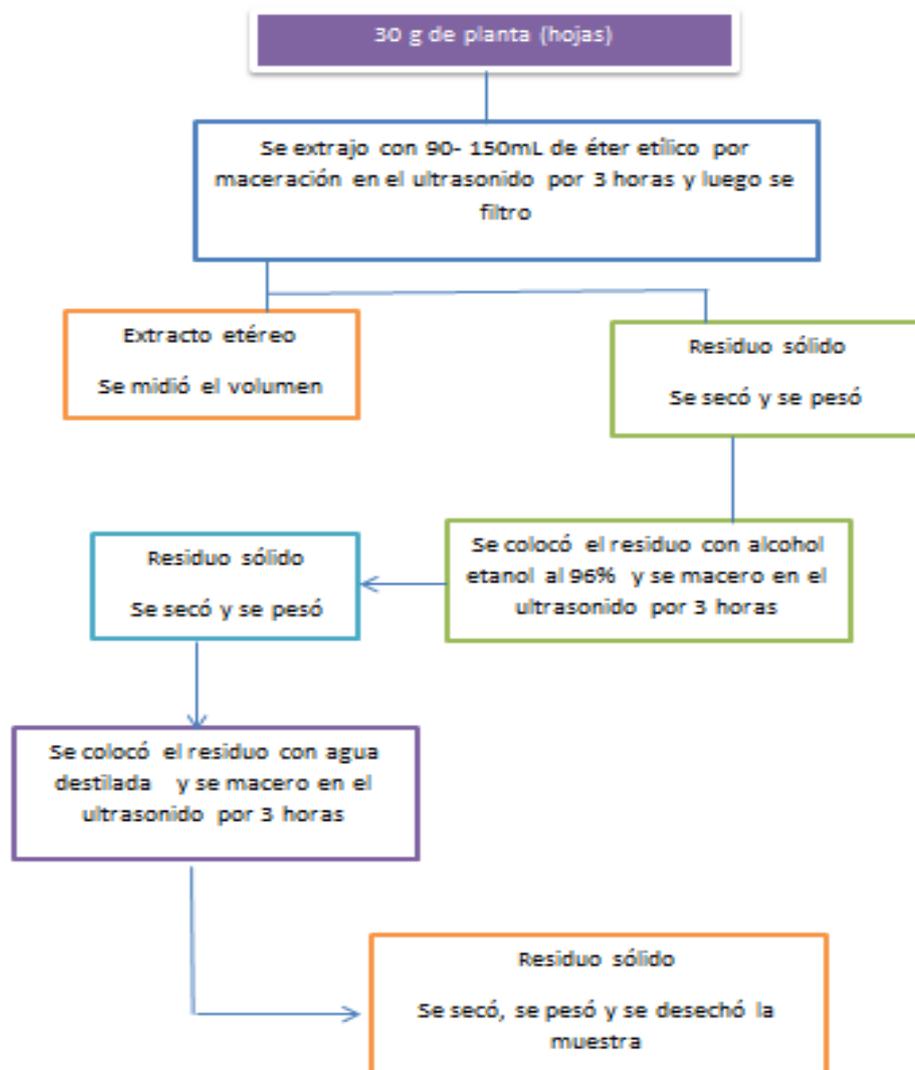


Figura 5-2: Esquema del tamizaje fitoquímico

Fuente: NEF, 2001(Norma Ecuatoriana de Fito medicamentos)

2.3.2.2 Tamizaje Fitoquímico

Para el estudio del tamizaje fitoquímico se lo realizó siguiendo un esquema de extracciones sucesivas tomando como base la Norma Ecuatoriana de Fito medicamentos (2001). Este análisis cualitativo se realizó para los siguientes metabolitos secundarios.

Tabla 1-2: Tamizaje Fitoquímico de metabolitos secundarios del extracto etéreo

Extracto etéreo	
Metabolito	Ensayo
Aceites y grasas	5 mL Sudan
Lactonas y cumarinas	5 mL Baljet
Alcaloides	15 mL (dividir 3 porciones) Dragendorff, Mayer y Wagner
Triterpenos- esteroides	Liebermann-Buchard

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Tabla 2-2: Tamizaje Fitoquímico de metabolitos secundarios extracto alcohólico

Extracto alcohólico	
Metabolito	Ensayo
Resinas	2 mL Resinas
Azucares reductores	2 mL Fehling
Saponinas	2 mL Espuma
Fenoles y taninos	2 mL Cloruro de hierro
Flavonoides	2 mL Shinoda
Grupo de flavonoides	2 mL Antocianidina
Alcaloides Lactonas	6 mL en 3 porciones Dragendorff, Mayer y Wagner 2 mL Baljet

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Tabla 3-2: Tamizaje Fitoquímico de metabolitos secundarios extracto acuoso

Extracto Acuoso	
Metabolito	Ensayo
Flavonoides	2 mL Shinoda
Azucares reductores	2 mL Fehling
Alcaloides	15 mL (dividir 3 porciones) Dragendorff, Mayer y Wagner
Saponinas	2 mL Espuma
Mucílagos	10 mL Mucílagos
Sabor	Principios amargos

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

2.3.4 Obtención de extractos hidroalcohólico para el estudio farmacológico (actividad cicatrizante)

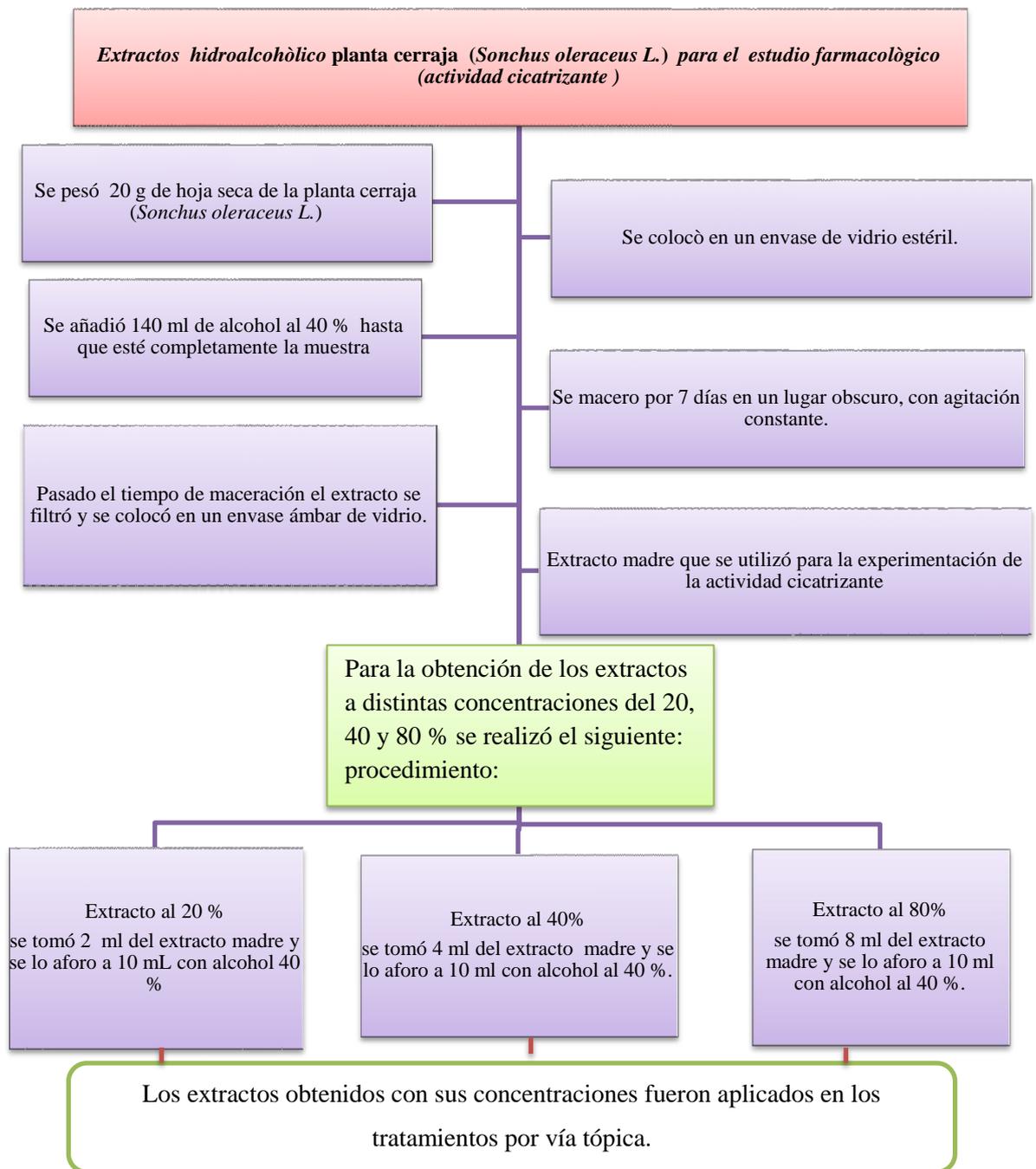


Figura 6-2: Extractos hidroalcohólico para el estudio farmacológico (actividad cicatrizante)

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

2.3.5 Pruebas de control de calidad de la droga vegetal cruda

Estas determinaciones son importantes para evaluar las condiciones sanitarias e higiénicas de la droga cruda y se lo realizó considerando los parámetros de organismos encargados de asegurar la calidad de productos farmacéuticos. Y se basó en la Norma Ecuatoriana de Fito medicamentos (2001).

2.3.5.1 Contenido de Humedad

Se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida en masa que muestra una droga después de ser desecada en la estufa.

Método gravimétrico

- Se pesó 2 g de muestra pulverizada y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C durante 3 horas.
- Se colocó la cápsula en la desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora y se pesó hasta obtener una masa constante (Miranda, 2006., pp. 32- 62)

Cálculos:

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

H = pérdida en peso por desecación (%).

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

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

M = masa de la cápsula vacía.

100 = factor matemático. (Santamaría, 2012, p. 80)

2.3.5.2 Determinación de Cenizas

Representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga. En condiciones rigurosas, es constante y nos permite descubrir falsificaciones por otras drogas, tierras u otros minerales. (Miranda, 2006., pp. 32- 62)

2.3.5.2.1 Cenizas Totales

Se denominan cenizas totales al residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga. Norma Ecuatoriana de Fito medicamentos (2001).

Método gravimétrico.

- Se pesó 2.0g de la porción de ensayo pulverizada en una cápsula de porcelana (en dependencia de la sustancia analizada) previamente tarado.
- Se calentó suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incinero en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante 2 h.
- Se enfrió la cápsula de porcelana en una desecadora y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5 mg por g (masa constante).

Cálculos:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

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.

2.3.5.2.2 Cenizas solubles en agua

- De las cenizas totales obtenidas según los datos anteriores

- Se añadió 15 mL de agua, la cápsula se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5 min.
- Se filtró la solución a través del papel filtro libre de cenizas.
- Se transfirió el filtro con el residuo a la capsula inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en la mufla de 700-750°C., durante 2 horas.
- Se colocó en desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesó. Se repite el procedimiento hasta alcanzar un peso constante. (Licuy, 2013, pp. 80-85)

Cálculos:

$$Ca = \frac{M_2 - Ma}{M_1 - M} \times 100$$

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.

2.3.5.2.3 Cenizas insolubles en ácido clorhídrico

- A las cenizas totales obtenidas se añadió de 2 a 3 mL de ácido clorhídrico al 10 %. Se tapó la cápsula con un vidrio reloj y se calentó sobre un baño de agua hirviente durante 10 min.
- Se lavó el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente.
- Se filtró la solución a través de un papel filtro; se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al cual se le añadió una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1 M.
- Se deseco el filtrado con el residuo a una temperatura de 100 a 150°C, luego se transfirió a la cápsula inicial y se incinera en la mufla de 700-750°C., durante dos horas.
- Se colocó en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesó. Se repitió el procedimiento hasta obtener un peso constante.

Cálculos:

$$B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

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.

2.3.6 Control de calidad del extracto hidroalcohólico

Para la determinación de los parámetros de control de calidad se basó en la Norma Ecuatoriana de Fito medicamentos (2001)

2.3.6.1 Descripción organoléptica

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

2.3.6.2 Determinación del pH del extracto

Se tomó una alícuota de 25 mL de la muestra y se procedió a medir directamente en el equipo de pH previamente calibrado.

2.3.6.3 Determinación de la densidad relativa

- Se lavó cuidadosamente el picnómetro y se colocó en la estufa durante una hora. Se pesó el picnómetro.(M)
- Se enraso el picnómetro con agua destilada y se pesó (M1)
- Se vació el contenido del picnómetro y se llenó nuevamente, pero esta vez con la muestra (extracto).
- Se enraso el picnómetro con el extracto y se pesó. (M2) (Muñoz, 2014, pp. 37-40)

Cálculo:

$$D_{25} = \frac{M1-M}{M2-M} \frac{M2-M}{M1-M}$$

M1=peso del picnómetro en g. con agua destilada

M2=peso del picnómetro en g. con la muestra de ensayo

M=peso del picnómetro vacío

2.3.6.4 *Determinación del índice de refracción*

- Se midió en un refractómetro de Abbe, calibrando el equipo con agua destilada.
- Se alzó cuidadosamente la tapa del refractómetro y se limpió con papel filtro.
- Se colocó la muestra (extracto)
- Se anotó los resultados obtenidos.

La fórmula utilizada es la siguiente:

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

Dónde:

Nd25= índice de refracción a 25°C

Ndt = valor leído en la escala del aparato a la temperatura

0.00044 = factor de correlación por grados Celsius

T = temperatura a la que se realiza la lectura.

2.3.6.5 *Determinación de sólidos totales*

- Se transfirió 5 mL de muestra a una cápsula previamente tarada y llevar a baño María, completar la evaporación en estufa a 105°C., por 3 horas, pesar las cápsulas y se repitió el procedimiento hasta peso constante con intervalos de 30 minutos.
- Se expresó los resultados en porcentaje de sólidos totales y se reportó en cifras enteras, según su fórmula. (Redrobán, 2012, pp- 10- 30).

Cálculo:

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

Pr = masa en g de la capsula más el residuo

P= masa en g de la cápsula vacía

V = volumen de la porción del ensayo en mL

100 = factor matemático

2.4 Análisis cromatográfico

Para el análisis cromatográfico y cuantificación de principios activos se preparó el extracto metanólico con 25 g de muestra en 100 mL de metanol de planta seca y fresca para su respectivo análisis.

2.4.1 Cromatografía en capa fina (TLC)

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte con 2 fases, la fase móvil es líquida y la fase estacionaria en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares. (Hernández, 2013, pp. 36-40)

Para la determinación de flavonoides se utilizó la técnica de cromatografía de capa fina según de Wagner H. 1996.

PROCEDIMIENTO

- Se utilizó una placa cromatográfica de sílica gel 60 F₂₅₄, de papel ya preparada.
- Se preparó el sistema de solventes para el corrido.
- Se aplicó el extracto con ayuda de capilares a la distancia de 1 cm del borde inferior, 10uL del concentrado metanólico en papel cromatográfico, se repitió la aplicación de 3 a 4 veces dejando secar después de cada aplicación.
- Se introdujo la placa dentro de la cuba cromatográfica, dejando que el solvente recorra las ¾ partes de la placa.
- Se sacó la placa y se dejó secarla.
- Se procedió a revelar la placa con su respectivo revelador

- Se procedió a medir la distancia recorrida por el sistema de solventes y manchas. (Hernández, 2013, pp. 76-40)

Absorbente: Papel Silica gel

Sistema de solventes: Cloroformo- acetona - fórmico-Ácido (7.5:1.7:0.8)

Revelador: Sulfato de cerio

Cálculo:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

2.5 Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales (método del AlCl_3) expresado como porcentaje de rutina

Para la cuantificación de los flavonoides, se utilizó como referencia un estándar de rutina a diferentes concentraciones, mediante la aplicación de una ecuación en la curva de calibración.

Procedimiento

- Se pesó 0.0025 g de rutina (estándar).
- Se aforo a 50 ml con etanol al 96 % (Solución Estándar de Flavonoides 50 ppm).
- Se Instaló la solución estándar en el ultrasonido por 10 min.
- Se tomó 1 ml de esta solución y aforo a 10 ml (Solución a 10 ppm).
- Se procedió a la lectura de la absorbancia de la muestra en una longitud de onda de 400 nm. (Solórzano, 2014, pp. 54-55)

Los flavonoides totales se expresan en μg del flavonoides utilizado como estándar la rutina por gramo de muestra. Para lo cual se siguió el siguiente procedimiento

- Se tomó una alícuota de 250 μL del extracto y se colocó en un vaso con 400 μL de agua destilada.
- Se añadió 38 μL de NaNO_2 al 5 %, se tapó y se dejó en reposo durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Pasado ese tiempo se agregó 38 μL de AlCl_3 al 10 %, nuevamente se tapó y por 6 minutos se dejó en reposo a temperatura ambiente.
- Se adicionó 250 μL de NaOH 1 M y finalmente 24 μL de agua destilada.
- Se midió a una longitud de onda de 400 nm. (Cruz, 2009., p.105)

2.6 Cuantificación de compuestos fenólicos (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)

La concentración de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico se midió por espectrofotometría, basando en una reacción colorimétrica de óxido-reducción, por el Micrométodo de Folin-Ciocalteu; este reactivo se forma por la mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico. Dando de esta forma a los óxidos de tungsteno y de molibdeno por acción de la oxidación de los fenoles, presentando una coloración azul y una absorción a 700 nm. La intensidad del color será proporcional a la concentración de compuestos fenólicos que se encuentre presentes en la muestra.

En el laboratorio se realizó el ensayo en los extractos siguiendo el siguiente procedimiento:

- Se tomó una alícuota de 0.1 μ L del extracto metanólico y se colocó en un balón de aforo de 100 mL y se aforo con agua destilada
- Se tomó 10 ml de la solución aforada
- Se añadió 1.5 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu en ausencia de luz
- Se añadió 2 μ L de Carbonato de sodio al 20 %.
- Se procedió a la lectura de la absorbancia de la muestra a longitud de onda de 700 nm.

(Cabezas, 2014, pp48-50)

2.7 Cuantificación de compuestos taninos expresados como ácido tánico por (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)

- Se tomó una alícuota de 0.1 μ L del extracto metanólico y se colocó en un balón de aforo de 100 mL y se aforo con agua destilada
- Se tomó 10 ml de la solución aforada
- Se añadió 2 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu en ausencia de luz
- Se añadió 1 μ L de Carbonato de sodio al 20 %.
- Se procedió a leer la lectura de la absorbancia de la muestra a longitud de onda de 700 nm.
- La concentración de compuestos fenólicos se obtuvo empleando una curva de calibración con un estándar de ácido tánico a diferentes concentraciones, por lo cual los resultados se representaran como μ g de ácido tánico por g de material vegetal. (Yambay, 2013, pp. 58)

2.8 Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos hidroalcohólico de cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)

En la investigación se utilizó 18 ratones tomados aleatoriamente de ambos sexos distribuidos en 5 grupos de 35-40 gramos de peso corporal, procedentes del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH.

2.8.1 Protocolo Farmacológico

Para evaluar la actividad cicatrizante de extractos cerraja (*Sonchus oleraceus L.*), se realizó mediante cinco etapas:

2.8.1.2 Etapa 1: Periodo de aclimatación, ambientación o acondicionamiento.

A todos los animales se los mantuvo bajo las mismas condiciones planteadas en el protocolo de investigación. (Quiroz, 2013, pp. 76)

- ✓ Aislamiento de los ratones (ambos sexos): 15 días previos a la experimentación.
- ✓ Peso de los ratones: 35-40 g.
- ✓ Edad: dos meses
- ✓ Condiciones microambiente:
 - Temperatura: 22°C±2
 - Humedad Relativa (HR):50%±5
 - Periodo: 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.
 - Comida: pellets 1,5 g/día/ratón; agua ad-libitum.
 - Cambio de camas: pasando un día.

Se ambiente a los animales de investigación tanto al investigador como a la técnica a realizar mediante manipulación y adaptación. Se los mantuvo en periodo de adaptación por un lapso de 15 días, verificando que las condiciones sean las establecidas. (Orozco, 2013, pp. 35-46)

2.8.1.2.1 Depilación de los ratones

Pasado los 15 días de aclimatación se pesó primero a los ratones antes del experimento con un peso promedio.

Se procedió a cortar el pelaje la mitad inferior del lomo o espalda (zona dorsal) de los ratones con una tijera y luego depilarlos con la crema depiladora Veet por un tiempo máximo de 5 minutos con la ayuda de gasas húmedas, en una área aproximada de 2 cm. (Criollo, 2015)

2.8.1.2.2 *Inducción de la herida*

- Después de 24 horas, al no observarse que presenta una aparición de alergias o irritación en la piel
- Se aplicó lidocaína spray 10 % sobre la piel (tópica) la misma que se lo utiliza como un anestésico local así de esta manera poder realizar la incisión de la herida
- Posteriormente se marcó el área de la incisión.
- Se realizó la incisión de aproximadamente 2 cm y una profundidad de 2 mm y se procedió con un bisturí abriendo las heridas y en condiciones asépticas.
- Posteriormente transcurrido 5 horas después de haber realizado las incisiones, se administró los tratamientos dos veces al día durante el tiempo requerido. (Criollo, 2015)

2.8.1.3 *Etapa 2: modelo experimental*

En la tabla se indica los ensayos realizados a cada grupo con tres repeticiones respectivamente para determinar la actividad cicatrizante de los extractos.

Se realizó la separación aleatoria de los 18 ratones (*Mus musculus*) y en la herida inducida se administró un tratamiento con el extracto cerraña (*Sonchus oleraceus L.*) y con el fármaco durante el tiempo requerido dos veces al día por vía tópica a diferentes dosis en igual volúmenes, los mismos que fueron distribuidos en 5 grupos experimentales. Un grupo control (+) tratado con la crema neomicina y prednisolona y eterol, grupo control (-) sin tratamiento alguno y un grupo en diferentes concentraciones al 20 %, 40 %, 80 %, cada grupo conformado por 3 ratones con peso similar. Y se les mantenía con hidratación y una alimentación adecuada. Luego de la aplicación se les colocó en sus jaulas para observar el proceso de cicatrización. (Criollo, 2015)

Tabla 4-2: Diseño experimental para el análisis del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en ratones.

Tipo de tratamiento						
	BLANCO Control (-)	CONTROL (+)		Extracto cerraja 20%	Extracto cerraja 40%	Extracto cerraja 80%
	G1	G2		G3	G4	G5
		Crema neomicina y prednisolona	Eterol			
GRUPO	B1	L1	E1	GA1	GB1	GC1
	B2	L2	E2	GA2	GB2	GC2
	B3	L3	E3	GA3	GB3	GC3

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Dónde:

G1B = Grupo control negativo heridos sin tratamiento

G2L = Grupo control positivo tratados con crema neomicina y prednisolona

G2E = Grupo control positivo tratados con eterol

G3A = Grupo Experimental con el extracto extracto cerraja 20 %

G4B = Grupo Experimental con el extracto extracto cerraja 40 %

G5C = Grupo Experimental con el extracto extracto cerraja 80 %

2.8.1.4 Tratamiento

Se basó en los días de cicatrización y en la frecuencia de administración

Al extracto madre obtenida se realizó diluciones en diferentes concentraciones establecidas al 20 %, 40 % y 80 % y se diluyó con alcohol al 40 %, con el propósito de identificar cuál de todas las concentraciones presenta mejor su actividad de cicatrización sobre los reactivos biológicos, las cuales se los administró a cada grupo los tratamientos correspondientes dos veces al día (mañana / tarde) por vía tópica y se aplicó con la ayuda de hisopos y por aspersion.

Posteriormente transcurrido las 5 horas después de haber realizado la incisión se realizó los tratamientos a los 5 grupos experimentales:

Grupo control negativo (G1B) se les produjo heridas pero no se les dio ninguno tratamiento y su cicatrización fue por si sola.

Grupo control positivo (G2L) se aplicó un cicatrizante en las heridas y con la ayuda de hisopo estéril se la colocó la crema neomicina y prednisolona.

Grupo control positivo (G3E) se aplicó un cicatrizante de uso veterinario llamado eterol compuesto por Fenol 1 g y violeta de genciana 0.4 g, se administró por vía tópica aplicando con la ayuda de un gotero aplicando 3 gotas por herida.

Grupo experimental con una concentración de extracto al 20 % (G3A): en las heridas inducidas se aplicó 3 gotas del extracto hidroalcohólico cerraña (*Sonchus oleraceus L*)

Grupo experimental con una concentración de extracto al 40 % (G4B): en las heridas inducidas se aplicó 3 gotas del extracto hidroalcohólico cerraña (*Sonchus oleraceus L*)

Grupo experimental con una concentración de extracto al 80 % (G5C): en las heridas inducidas se aplicó 3 gotas del extracto hidroalcohólico cerraña (*Sonchus oleraceus L*)

2.8.1.5 Evaluación experimental

Realización de la medición diaria de la longitud del corte 2 cm y 2 mm de profundidad en la piel del animal y la generación del tejido. Para esto los tipos de respuesta que se evaluaron durante y después de administrados los tratamientos fueron:

Días de cicatrización de la herida: los días que se tardó en cerrar y cicatrizar completamente sus heridas.

Longitud final de la cicatriz: medidas en cm las heridas finales después de la cicatrización.

2.9 Examen histopatológico

Al culminar con los ensayos después del proceso de cicatrización, a los ratones fueron se lo sacrifico por el método de eutanasia mediante dislocación cervical. Inmediatamente se realizó los cortes histológicos de cada lote y se procedió a la extracción de la piel realizando un corte de 3cm de largo y 2 cm de ancho alrededor de la zona dorsal del tratamiento la misma que contenía las muestras de tejido con la herida cicatrizada.

Posteriormente las muestras de piel se las colocó en frascos estériles con formol al 10 % debidamente etiquetada cada muestra para su posterior análisis histopatológico.

Con estas muestras se preparó las placas para su observación macroscópica y microscópica para evaluar el porcentaje de regeneración celular, este procedimiento se realizó en SOLCA para su posterior reporte.

2.10 Anàlisis Microbiològic

Se pesó 20 g de materia vegetal cerraja (hojas) y se colocó en un envase de vidrio esteril y se le añadió 140 mL de alcohol 40 %, de la muestra madre se prepara los subextractos al 20 %, 40 % y 80 % en un envase ámbar de vidrio esteril. Con estos subextractos se procedió a realizar el anàlisis microbiològic por duplicado.

2.10.1 Recuento de aerobios mesófilos

- La siembra se realizó por extensión en superficie
- Se homogenizó los extractos al 20 %, 40 % y 80 % antes de tomar la muestra
- Se tomó del envase ámbar 1 ml de cada extracto y verter en las Cajas Petri que contiene agar PCA
- Se estrió con el asa de platino por toda la superficie
- Se incubo a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas las Cajas Petri en forma invertida.
- Transcurrido este tiempo se realizó la lectura del recuento de (UFC): unidades formadoras de colonias
- Se contó las colonias que se desarrollan y se anotó los resultados obtenidos.
- Se reportó los resultados en UFC/mL (Licuy, 2013, pp. 80-85)

2.10.2 Recuento de Coliformes totales (Placa Petrifilm)

Se utilizó el Instructivo técnico para Recuento de Coliformes mediante Técnica Petrifilm^{3M} AOAC Official Method 991.14.

- Se homogenizó los extractos al 20 %, 40 % y 80 % antes de tomar la muestra.
- Se colocó la placa Petrifilm en un lugar plano y nivelado.
- Se tomó del envase ámbar 1ml de cada extracto con la pipeta de 1000uL.
- Se levantó la película plástica de la Placa Petrifilm y con la pipeta en dirección perpendicular a la placa se colocó en el centro de la película 1mL del extracto.
- Se bajó cuidadosamente y lentamente la película plástica cuidando de no formar burbujas.
- Se aplicó el dispersor presionando lentamente cubriendo el inoculó sobre la Placa Petrifilm

- Se retiró el dispersor de la Placa Petrifilm y se esperó aproximadamente por 2 min para que solidifique el gel.
- Se colocó la Placa Petrifilm en la incubadora por 24 -48 horas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$
- Transcurrido este tiempo se realizó la lectura del recuento de (UFC): unidades formadoras de colonias
- Se contó las colonias que se desarrollan y se anotó los resultados obtenidos.
- Se reportó los resultados en UFC/mL. (Guevara, 2012, pp. 86-87)
- Interpretar los resultados. (AOAC OFFICIAL METHOD 991.14 ó 998.08)

2.10.3 Mohos y levaduras (Placa Petrifilm)

Se utilizó el Instructivo técnico para Recuento de mohos y levaduras mediante Técnica Petrifilm^{3M} AOAC Official Method 6407, 6417.

- Se homogenizó los extractos al 20 %, 40 % y 80 % antes de tomar la muestra.
- Se colocó la Placa Petrifilm en un lugar plano y nivelado.
- Se tomó del envase ámbar 1ml de cada extracto con la pipeta de 1000 uL.
- Se levantó la película plástica de la Placa Petrifilm y con la pipeta en dirección perpendicular a la placa se colocó en el centro de la película 1mL del extracto.
- Se bajó cuidadosamente y lentamente la película plástica cuidando de no formar burbujas.
- Se aplicó el dispersor presionando lentamente cubriendo el inoculó sobre la Placa Petrifilm
- Se retiró el dispersor de la Placa Petrifilm y esperar aproximadamente por 2min para que solidifique el gel.
- Se incubo la Placa Petrifilm boca arriba a temperatura ambiente por 5 días a $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Se contabilizó el crecimiento de hongos y se observó los resultados.
- Si los resultados se observa colonias grandes difusas y de color variable pertenece a hongos, si forman colonias pequeñas con borde definido de color azul verdoso pertenece a levaduras. (Guevara, 2012, pp. 86-87)
- Se interpretó los resultados con la (AOAC Official Method 6407, 6417).

CAPÍTULO III

3. ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En esta investigación se expresaran los datos experimentales y los resultados obtenidos de las pruebas de control de calidad de la droga vegetal cruda (hojas secas) y extractos hidroalcohólico Cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) así como los resultados de la evaluación de la actividad cicatrizante.

3.1 Control de calidad de la droga cruda

Para el control del análisis físico-químico de la droga cruda se realiza para garantizar la calidad de la misma y determinar su aplicación. Para lo cual estos datos se compararon con las especificaciones por la Norma Ecuatoriana de Fito medicamentos.

El control de calidad se inicia con las especies vegetales utilizadas como materia prima para la elaboración del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) de las hojas secas.

Cuadro 1-3: Resultados del % de humedad, % cenizas totales, % cenizas solubles en agua y % de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del control de calidad de la droga cruda cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) realizado en el laboratorio de fitoquímica. Espoch. Febrero 2015.

PARÁMETRO	ESPECIFICACIONES SEGÚN LA NEFT	RESULTADO
%Humedad	8-14 %	81 %
%Cenizas Totales	Hasta 12 %	2 %
d%Cenizas Solubles en Agua	Hasta 7 %	0.9 %
%Cenizas insolubles en Ácido clorhídrico.	Hasta 5 %	0.2 %

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En el resultado obtenido del cuadro 1-3, según la Norma Ecuatoriana de Fito medicamentos. 2001(NEFT), las cenizas representa el contenido total de minerales e indica que la materia prima está dentro de los límites y parámetros específicos, los límites obtenidos en cenizas es 2 % lo que da lugar a garantizar la recolección de la materia vegetal al ser estudiada debido a que la planta no puede contener materia extraña que se adhiere a ella por su contacto con el suelo que puede ser arena. Mientras el porcentaje de humedad fue de 81 % debido a que la planta tiene vellosidades y estos absorben agua de la planta gracias a la cual puede sobrevivir

en tiempos de sequía. Comparando con la tesis de Licuy (2015, pp. 80-85) se confirma que los parámetros de calidad se encuentran dentro de los límites establecidos según la Norma Ecuatoriana Fito medicamentos y la Real Farmacopea Española (52) estableciendo que la cantidad de cenizas totales son hasta 12 % y el porcentaje de humedad de la droga cruda de Jatun quilun quilun fue del 90.18 % debido a la presencia de mucílagos y vellosidades, los cuales son capaces de retener grandes cantidades de agua.

3.2 Análisis del Tamizaje Fitoquímico

En los siguientes cuadros se analiza el tamizaje fitoquímico del extracto vegetal seco y fresco de las hojas con cada disolvente (éter, alcohol 96% y agua destilada).

Cuadro 2-3: Resultados de análisis cualitativo (tamizaje fitoquímico) del extracto etéreo cerraja (*Sonchus oleraceus L.*). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015

Extracto etéreo					
Metabolito	Ensayo	Fresca	Seca	Observaciones	Coloración que deben darse en el análisis
Aceites y grasas	Sudan	+++	+++	Roja	Roja (+++)
Lactonas y cumarinas	Baljet	++	++	Amarillo	Aparición de color(++) Precipitado rojo(+++)
Alcaloides	Dragendorff, Mayer y Wagner	-	-	No hubo cambio	Opalescencia(+) Turbidez(++) Precipitado(+++)
Triterpenos-esteroides	Libermann-Buchard	+	+	Hubo cambio	Rosado (+) Roja(++)

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

- ✚ No presencia de metabolitos: (-)
- ✚ Baja evidencia cambio de coloración: (+)
- ✚ Moderada evidencia de coloración (++)
- ✚ Alta evidencia (+++)

En el cuadro 2-3, indica el tamizaje fitoquímico del extracto en vegetal seco y fresco con el solvente (éter). Según el resultado obtenido tanto en las dos muestras existe la presencia de compuestos como, lactonas, cumarinas, aceites, triterpenos y esteroides e menor proporción por lo que los metabolitos tienen diferente polaridad y cada solvente va a extraer los principios

activos es decir al ponerse en contacto el éter con el vegetal se extrae compuestos liposolubles. Comparando nuestros resultados con la tesis de Aynaguano (2014, pp. 16-18) la planta bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) en muestra seca se confirma que en el extracto etéreo existe en menor cantidad compuestos triterpenos y esteroides.

Cuadro 3-3: Resultados de análisis cualitativo (tamizaje fitoquímico) del extracto alcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015

Extracto alcohólico					
Metabolito	Ensayo	Fresco	Seco	Observación	Coloración que deben darse en el análisis
Resinas	Resinas	+	++	En la fresca presenta coloración amarilla y la muestra seca un precipitado moderado	Aparición de un precipitado
Azúcares reductores	Fehling	+	+	Presenta coloración en las dos muestras	Roja o aparece precipitado rojo
Saponinas	Espuma	-	-	No presenta cambios	Si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura
Fenoles y taninos	Cloruro de hierro	+++	+++	En la fresca coloración rojo vino. En la seca coloración verde intensa	Rojo vino: compuestos fenólicos Verde intensa taninos
Flavonoides	Shinoda	++	+++	Coloración de las dos muestras carmelita pero en el fresco no muy intensa	Color amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos
Grupo de flavonoides	Antocianidina	+++	+++	-----	Color rojo a marrón
Alcaloides	Dragendorff, Mayer y Wagner	+	+	Extracto fresco coloración amarilla Seca color verde amarillento	Opalescencia(+) Turbidez(++) Precipitado(+++)
Lactonas y cumarinas	Baljet	+	+	Fresca y seca precipitado rojo pero no muy definida	Aparición de color(++) Precipitado rojo(+++)

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

✚ No presencia de metabolitos: (-)

✚ Baja evidencia cambio de coloración y precipitación : (+)

✚ Moderada evidencia (++)

✚ Alta evidencia (+++)

Los metabolitos encontrados en el extracto alcohólico tanto en extracto seco y fresco posee flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, azúcares reductores, resinas, lactonas, cumarinas y alcaloides los mismo que se encuentran azucares reductores, cumarinas y lactonas en baja cantidad y respecto al extracto fresco los flavonoides están presentes en menor proporción con lo que se refiere que el vegetal en fresco va presentar baja actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y actividad cicatrizante con respecto a la seca que tiene un alto contenido de su principio activo debido que sus compuestos están concentrados y va ser mayor su actividad cicatrizante. Los metabolitos fenólicos en cambio se encuentra en el extracto fresco y en el seco la presencia de taninos con principios activos altos interviene en la cicatrización de la generación celular. Estos metabolitos que se encontró en el análisis en el extracto alcohólico al 96 %, se debe a la polaridad intermedia que permite extraer mayor cantidad de compuestos afines. Comparando nuestros resultados con la tesis de Santamaría (2013, pp. 58) se confirma que el análisis cualitativo de su planta malva (*Malva sylvestris L.*) y aguacate (*P.ameriano*) en muestra seca presenta metabolitos secundarios flavonoides, taninos, cumarinas, triterpenos y esteroides, esto se debe a que la malva tiene propiedades antimicrobianas o anticancerígenas en cambio en el aguacate hay baja presencia flavonoides. Los taninos son muy evidentes en la malva y en el aguacate con una leve presencia, con actividad hemostática la misma que incrementa la coagulación de la sangre en las heridas evitando hemorragias esto se debe a la presencia de los taninos.

Cuadro 4-3: Resultados de análisis cualitativo (tamizaje fitoquímico) del extracto acuoso cerraja (*Sonchus oleraceus L.*). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015

Extracto Acuoso					
Metabolito	Ensayo	Fresco	Seco	Observaciones	Coloración que deben darse en el análisis
Flavonoides	Shinoda	++	++	Presenta cambios	Color amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos
Azúcares reductores	Fehling	-	-	No presenta cambios	Roja o aparece precipitado rojo
Alcaloides	Dragendorff, Mayer y Wagner	-	-	No presenta cambios	Opalescencia(+) Turbidez(++) Precipitado(+++)

Saponinas	Espuma	-	-	No presenta cambios	Si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2mm de altura
Mucílagos	Mucílagos	-	-	No presenta cambios	Consistencia gelatinosa

Fuente: Lourdes M., Criollo C., 2015

- ✚ No presencia de metabolitos: (-)
- ✚ Baja evidencia cambio de coloración y precipitación : (+)
- ✚ Moderada evidencia (++)
- ✚ Alta evidencia (+++)

Los resultados expresados en el cuadro 4-3 en el extracto acuoso en fresco y seca existe la presencia de los mismos compuestos debido a que este solvente extrae compuestos hidrofílicos, se encontró flavonoides estos tienen la propiedad cicatrizante y a la vez una fragilidad capilar incrementando la fortaleza de los vasos sanguíneos y también es antiinflamatoria y analgésica. (Muñoz, 2014, pp. 37-40)

Según los datos obtenidos, comparando con los resultados reportados por Aynaguano (2014, pp.16-18) confirma que la planta bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) en muestra seca contiene metabolitos secundarios: taninos, alcaloides y saponinas debido a que los taninos unas de sus propiedades medicinales es la cicatrización de heridas.

3.3 Control de calidad del extracto hidroalcohólico de Cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)

3.3.1 Determinación de requisitos organolépticos del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)

Cuadro 5-3: Parámetros de calidad del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca de la hojas. Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Mayo 2015

PARÁMETRO	RESULTADO
Color	Café claro
Olor	Dulce
Aspecto	Líquido
Sabor	Amargo agradable

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En el cuadro 5-3 nos presenta la determinación de las características de cada uno de los parámetros organolépticos que son propios de la planta teniendo un color café claro, olor dulce con un aspecto líquido y sabor amargo agradable lo cual indica que los parámetros establecidos no son desagradables.

3.3.2 *Determinación de parámetros físicos del extracto hidroalcohólico cerraja (Sonchus oleraceus L.)*

Cuadro 6-3: Resultados de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico de cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca. Laboratorio de instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Mayo 2015.

PARÁMETRO	RESULTADO			
	Muestra madre	Extracto 20%	Extracto 40%	Extracto 80%
pH	6.20	6.97	6.43	6.33
Densidad relativa	0.0662 g/mL	1.0 g/mL	0.0865 g/mL	0,0763 g/mL
Índice de refracción	1.336	1.367	1.356	1.347
Sólidos totales	Solución madre			1%

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En el cuadro 6-3 los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico madre y sub extractos 20 %, 40 % y 80 % su pH va de 6.20 a 6.33, lo cual indica que no existe riesgo de causar daño a nuestra piel por poseer un pH similar, que está comprendido entre 5.9 - 6.9 es decir ácido lo cual indica que los compuestos químicos presentes como los flavonoides, alcaloides, taninos entre otros, no se modifican de tal manera que proporciona estabilidad y solubilidad conservando de esta manera su actividad por consiguiente es favorable para la piel.

Con respecto al índice de refracción de muestra de los sub extractos fue 1.336 -1.347 comparándole con el índice de refracción del agua 1.333 se puede decir que es mayor a la del agua indicando la presencia de sustancia disueltas en la muestra.

La densidad relativa fue en la muestra madre 0.0662 g/mL y de los sub extractos 20 % (1.0 g/mL), 40 g/mL (0.0865 g/ml) y 80 % (0.0763 g/mL) y el extracto 20 % es igual que la del agua 1,000 g/ml por lo que tiene la capacidad de retener grandes cantidades de agua.

La cantidad de sólidos totales del extracto fue 1 % lo que representa que hay cantidad de sólidos disueltos en el extracto lo que determina los sólidos totales es la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor permitiendo cuanto más o menos de sales de residuos orgánicos se encuentra en los extractos. Los límites están acorde con los resultados

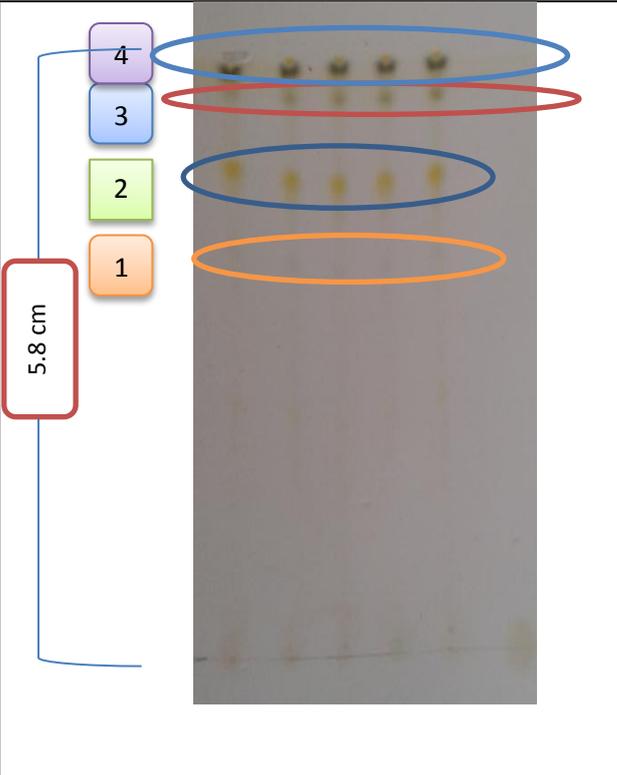
establecidos por la OMS de extractos en general, tomando como referencia la bibliografía de la tesis Redrobán (2012, pp. 10- 30).

Según los datos obtenidos, comparando con los resultados por Cabezas (2014, pp. 48-50) confirma que los resultados de las determinaciones de los parámetros físicos pH 6.45, índice de refracción 1.358, densidad relativa 0.9652 y sólidos totales 1.49 están dentro de los límites establecidos con los resultados obtenidos en la investigación.

3.4 Análisis cromatográfica en capa fina (TLC)

3.4.1 Determinación de flavonoides

Cuadro 7-3: Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seco de las hojas. Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Abril 2015.

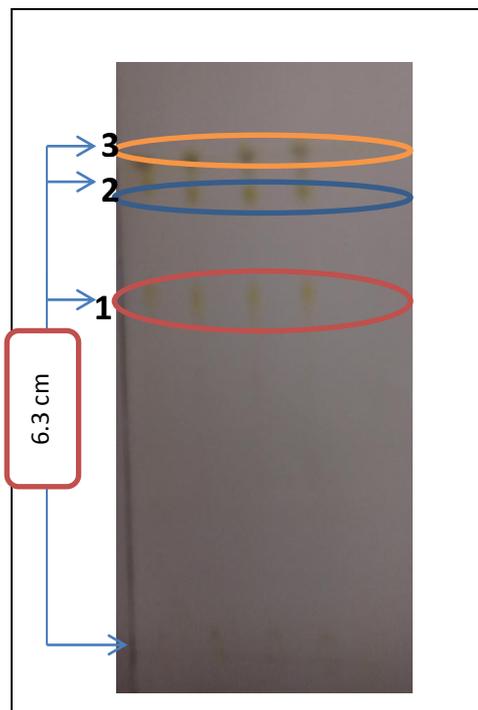
	Manchas observadas	Rf	Compuestos identificados
	1	$3.8/5.8=0.66$	Vitexina
	2	$4.6/5.8=0.79$	Ácido isoclorogénico
	3	$5.3/5.8=0.91$	Kaempferol
	4	$5.5/5.8=0.94$	Quercetina

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Los resultados presentado en el Cuadro 7-3, indica los compuestos que se identificaron o estén presentes dando una coloración variedad desde el amarillo hasta un color amarillo verdoso debido a la presencia de flavonoides. Según Wagner, H (1996) y con los análisis de cálculos de los Rf de la planta cerraja (hoja seca) posee flavonoides: kaempferol con un Rf= 0.91,

quercetina $R_f = 0.94$, ácido isoclorogénico $R_f = 0.79$ y vitexina $R_f = 0.66$ para su identificación se comparó los R_f expuesto en el libro de Wagner lo cual se confirma la presencia de estos flavonoides con un rango establecido para estos compuestos para el ácido isoclorogénico se encuentra en un rango de $R_f = 0.75-0.95$, vitexina $R_f = 0.66-0.68$ en cambio en la quercetina según Cruz (2009, p. 105) el rango de quercetina es de 0.90-0.94 de color amarillo verdoso en un extracto fluido.

Cuadro 8-3: Determinación de R_f de la cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra fresca. Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. Abril 2015.

	Manchas observadas	R_f	Compuestos identificados
	1	$4.5/6.3 = 0.71$	Flavonol
	2	$5.6/6.3 = 0.89$	Kaempferol
3	$6.0/6.3 = 0.95$	ácido isoclorogénico	

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Los resultados presentado en el Cuadro 8-3, indica los compuestos que se identificaron o estén presentes dando una coloración variedad desde el amarillo hasta un color amarillo verdoso y café debido a la presencia de flavonoides. Según Wagner, H (1996) y con los análisis de cálculos de los R_f de la planta cerraja (hoja fresca) posee flavonoides: kaempferol con un $R_f = 0.89$, flavonol $R_f = 0.71$, ácido isoclorogénico $R_f = 0.95$ para su identificación se comparó los R_f expuesto en el libro de Wagner lo cual se confirma la presencia de estos flavonoides con un rango establecido para estos compuestos para el ácido isoclorogénico se encuentra en un rango de $R_f = 0.75-0.95$, flavonol $R_f = 0.6-0.75$ comparando con la identificación de la cromatografía de capa fina del extracto en hojas secas se puede evidenciar que no posee los mismos compuestos a excepción del kaempferol y ácido isoclorogénico con relación a la fresca debido a

que en el seco es más concentrado y los compuestos no se puede evidenciar en planta fresca debido a que presenta menor proporción sus metabolitos secundarios. Comparando nuestros resultados con la tesis de Cabezas (2014, pp. 48-50) confirma que su planta Mastuerzo (*Tropaeolum majus*) contiene flavonoides como el kaempferol con un Rf= 0.91, ácido isoclorogénico Rf= 0.81 y quercetina Rf= 0.22 indicando que dos sus compuestos presenta la planta cerraja kaempferol y el ácido isoclorogénico.

3.5 Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales (Método del AlCl₃) expresado como porcentaje de rutina

Para la determinación de cuantificación de flavonoides se elaboró la curva de calibración usando como patrón el estándar rutina en diferentes concentraciones realizando la lectura a una longitud de onda de 400 nm del extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)

Cuadro 9-3: Cuantificación de flavonoides totales usando como patrón estándar rutina en diferentes concentraciones. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015.

RESULTADOS					
Concentraciones	20	40	60	80	100
Absorbancia	0,327	0,393	0,572	0,665	0,815

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

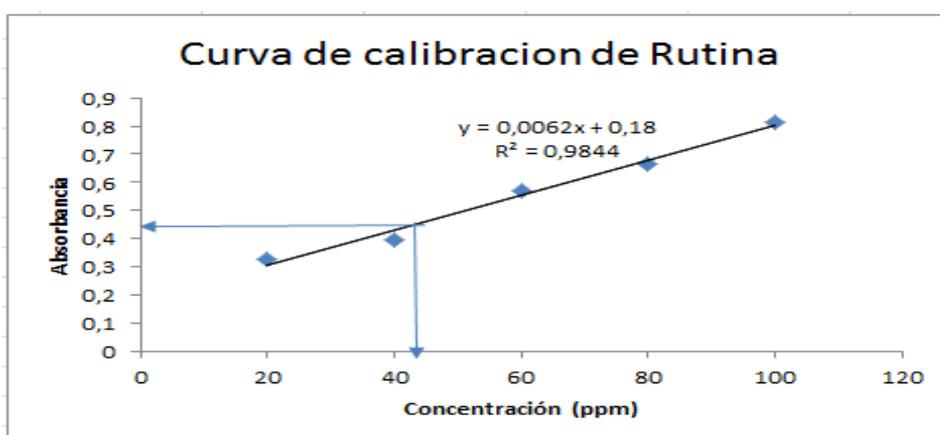


Gráfico 1-3: Curva de calibración de las absorbancia vs concentración de la estándar rutina para cuantificación de flavonoides totales en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero 2015.

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Cuadro 10-3: Determinación de concentración de flavonoides totales (método del $AlCl_3$) expresado en ug de rutina /g de muestra en el extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero2015.

RESULTADOS		
	SECA	FRESCA
Absorbancia	0.717	0.474
Concentración en ppm(ug de rutina/ml de extracto	86.61	47.42
Contenido de flavonoides totales expresados en ug de rutina por g de muestra	346	190

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En el cuadro 9-3 y gráfica 1-3 se observa la ecuación de la recta $y = 0.0062x + 0.18$ y la curva de calibración en función de la absorbancia y concentración de rutina para la cuantificación de flavonoides presentes en el extracto metanólico de cerraja, el cuadro 10-3 los resultados expresados indica que en el extracto metanólico de cerraja en seco existe mayor concentración de flavonoides totales en función a la rutina con un valor 346 ug de rutina por g de muestra por lo cual garantiza su acción cicatrizante, con respecto al extracto en fresco que tiene un valor de 190 ug rutina/g de muestra menor concentración indicando que en fresco bajan encontrarse en menor proporción sus metabolitos. Comparando con la tesis de Peñida (2014, pp. 54) se confirma que el contenido de flavonoides totales presente en su planta Allpa Atsera (*Lepidium bipinnatifidum*) en función de rutina fue de 93.05 $\mu g/g$ de muestra indicando que contiene mayor cantidad de flavonoides.

3.6 Determinación de compuestos fenólicos mediante el Micrométodo de Folin-Ciocalteu

Para la determinación de cuantificación de compuestos fenólicos se llevó a cabo por el Micrométodo de Folin-Ciocalteu y se elaboró la curva de calibración realizando la lectura a una longitud de onda de 700 nm del extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra fresca y seca.

Cuadro 11-3: Cuantificación compuestos fenólicos mediante el Micrométodo de Folin-Ciocalteu en diferentes concentraciones para la elaboración de la curva de calibración. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero – Marzo 2015.

RESULTADOS						
Concentraciones	0	1	2.5	5	7.5	10
Absorbancia	0.008	0.032	0.072	0.132	0.184	0.228

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

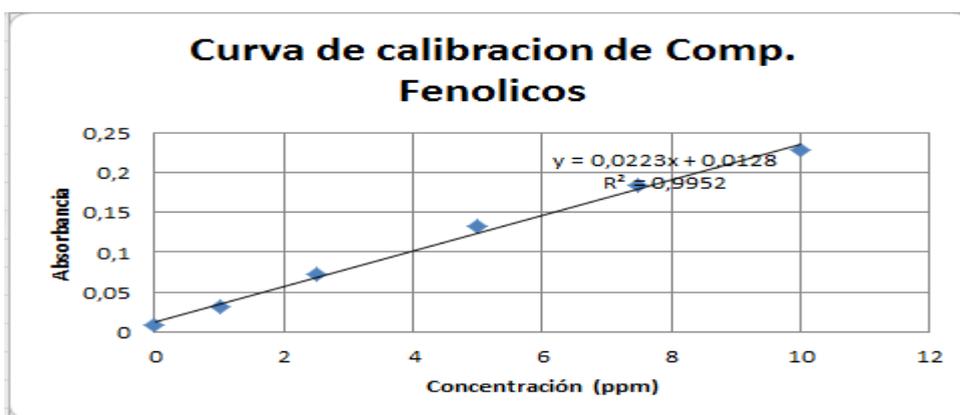


Gráfico 2-3: Curva de calibración de compuestos fenólicos mediante el Micrométodo de Folin-Ciocalteu vs absorbancia del extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero- Marzo 2015.

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Cuadro 12-3: Determinación de concentración de compuestos fenólicos mediante el Micrométodo de Folin-Ciocalteu del extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero – Marzo 2015.

RESULTADOS		
	SECA	FRESCA
Absorbancia	0.061	0.027
Concentración en ppm(ug de fenoles/ mL de extracto	2.16	0.64

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En el cuadro 11-3 y gráfica 2-3 se observa la ecuación de la recta $y = 0.0223x + 0.0128$ y la curva de calibración en función de la absorbancia y sus concentraciones para la cuantificación de compuestos fenólicos presentes en el extracto metanólico de cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)

en el cuadro 12-3 los resultados expresados indica que en el extracto metanólico de cerraja en seco existe mayor concentración de fenoles con un valor 2.16 ug de fenoles/ mL de extracto por lo cual garantiza su acción antiinflamatorio y cicatrizante, con respecto al extracto en fresco que tiene un valor de 0.64 ug / mL de extracto de muestra su actividad cicatrizante no va ser muy eficaz debido a que presenta en menor proporción los fenoles .

Cuadro 13-3: Cuantificación de compuestos fenólicos expresado en de ácido tánico en diferentes concentraciones mediante el Micrométodo de Folin-Ciocalteu Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero-Marzo 2015.

RESULTADOS						
Concentraciones	0	2	4	6	8	10
Absorbancia	0.024	0,116	0,137	0,158	0,178	0.198

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

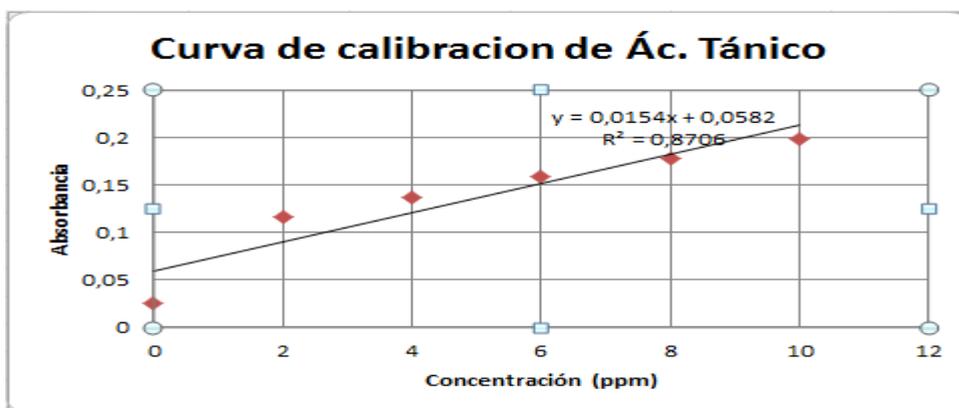


Gráfico 3-3: Curva de calibración de compuestos fenólicos expresado en ug de ácido tánico/g de muestra por el Micrométodo de Folin-Ciocalteu vs absorbancia del extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero – Marzo 2015.

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Cuadro 14-3: Determinación de concentración de compuestos fenólicos expresado en ug de ácido tánico/g de muestra por el Micrométodo de Folin-Ciocalteau en el extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca y fresca. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Febrero – Marzo 2015

RESULTADOS		
	SECA	FRESCA
Absorbancia	0.180	0.084
Concentración en ppm (μg de Ácido tánico /ml de extracto)	7.91	1.68
Contenido de compuestos fenólicos expresado en ug de ácido tánico por g de muestra	31.64	6.72

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En el cuadro 13-3 y gráfica 3-3 se observa la ecuación de la recta $y = 0.0154 x + 0.0582$ y la curva de calibración en función de la absorbancia y concentración de ácido tánico para la determinación de taninos presentes en el extracto metanólico de cerraja, el cuadro 14-3 los resultados expresados indica que en el extracto metanólico de cerraja en seco existe mayor concentración de taninos en función al ácido tánico un valor 31.64 ug de ácido tánico por cada g de droga cruda por lo cual garantiza su acción cicatrizante, con respecto al extracto en fresco que tiene un valor de 6.72 ug ácido tánico/ g baja concentración indicando que en fresco tiende a perder sus metabolitos secundarios y no favorecer su actividad cicatrizante que no va ser muy efectiva. Comparando con estudios realizados según la tesis de Aynaguano (2014, pp.16-18) contiene en mayor proporción los compuestos fenólicos totales con un porcentaje de 510 ug/ g de muestra este resultado pone en evidencia la buena actividad cicatrizante pues esto presenta la actividad biológica.

3.7 Control microbiológico

Cuadro 15-3: Determinación del número de microorganismo aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras en los extractos hidroalcohólicos del extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*). Laboratorio de análisis clínicos y laboratorio de tecnología farmacéutica de la facultad de ciencias. Espoch. Abril –Mayo 2015.

Microorganismo	Control blanco	Extracto madre	Extracto 20% , 40%, 80%	Límites aceptables USP # 28
Aerobios Mesófilos	Ausencia	Ausencia	Ausencia	10 ³ UFC/mL
Coliformes totales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	10 UFC/mL
Mohos y levaduras	Ausencia	Ausencia	Ausencia	< 10 UFC/mL

Fuente: Lourdes M., Criollo C., 2015

Los resultados expresados en el cuadro 15-3, podemos evidenciar el análisis microbiológico del extracto hidroalcohólico que se utilizó para la aplicación del tratamiento de la herida inducida, obteniéndose como resultado que no existe la presencia de crecimiento alguno de aerobios mesófilos, coliformes totales y mohos y levaduras debido a que se realizó en condiciones asépticas durante su elaboración, lo cual indica que es aceptable para ser usada en la elaboración de un fitofármaco debido a que cumple con los parámetros de calidad reflejando una buena inocuidad por lo que se encuentra en óptimas condiciones permitiendo su uso. Para este análisis se tomó como referencia la tesis de Santamaría (2013, p.80) de la planta malva (*Malva sylvestris L.*) y aguacate (*P.americana*) que utilizó los parámetros de la USP # 28, si existiera crecimiento microbiano se determinaría que están en los límites de aceptación. Comparando con los resultados indica que los valores obtenidos en las pruebas microbiológicas de los extractos existió la presencia de aerobios mesófilos 216000 UFC/ mL y en el aguacate 5000 UFC/ mL y coliformes y mohos y levaduras hubo ausencia de microorganismos.

3.8 Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en ratones (*Mus musculus*).

Para la evaluación de la actividad cicatrizante se administró de forma tópica el extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*), en diferentes concentraciones al 20 %, 40 % y 80 % a cada grupo y con el control negativo y el control positivos con se lo detalla en el tabla 5-3.

Tabla 5-3: Determinación de la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en ratones evaluando mediante los días de cicatrización de cada uno de los grupos experimentales. Bioterio de la Escuela Bioquímica y Farmacia. Espoch. Mayo 2015

TRATAMIENTO	GRUPOS			
	G1	G2	G3	MEDIA ± S
G1B(control negativo)	16	16	14	15.33 ± 1.15
G2L(crema neomicina y prednisolona)	16	15	14	15± 1
G2E(eterol)	10	12	13	11.67±1.52
G3A(extracto 20%)	15	15	13	14.33±1.15
G4B (extracto 40%)	10	11	11	10.67±0.57
G5C (extracto 80%)	9	8	9	8.67±0.57

Fuente: Lourdes M., Criollo C., 2015

Dónde:

S =Desviación estándar

G1B = Grupo control negativo o blanco heridos sin tratamiento

G2L = Grupo control positivo tratados con crema neomicina y prednisolona

G2E = Grupo control positivo tratados con eterol

G3A = Grupo Experimental con el extracto extracto cerraja 20 %

G4B = Grupo Experimental con el extracto extracto cerraja 40 %

G5C = Grupo Experimental con el extracto extracto cerraja 80 %

Tabla 6-3: Determinación de la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) y con sus tratamientos. Bioterio de la Escuela Bioquímica y Farmacia. Espoch. Mayo 2015.

Tratamientos	Días de cicatrización
Control negativo	15
Crema de neomicina y prednisolona	15
Eterol	12
Extracto 20%	14
Extracto 40%	11
Extracto 80%	9

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

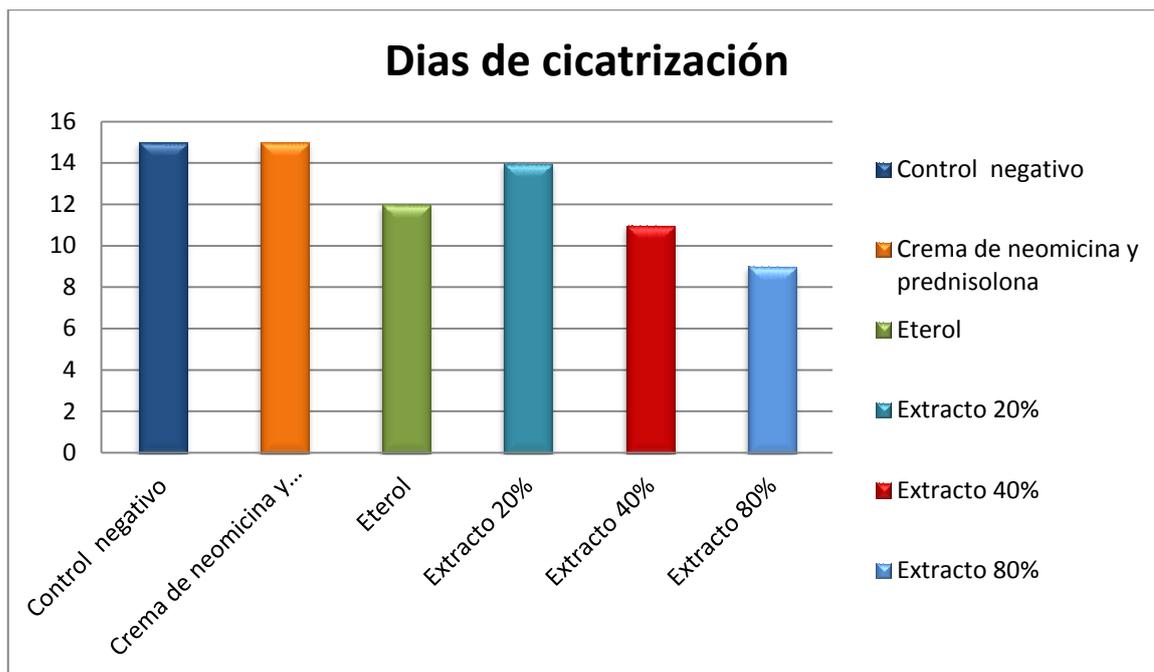


Gráfico 4-3: Representación del promedio de días de cicatrización con respecto a los grupos experimentales tratados con diferentes tratamientos. Espoch. Mayo.2015

Fuente: Lourdes M., Criollo C., 2015

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 5-3 y 6-3 gráfico 4-3, de los grupos experimentales que dio mayor efecto cicatrizante en menor tiempo es el grupo (G5C) por el extracto de cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en una concentración al 80 %, indicándonos mayor eficiencia que cicatrizo completamente en 9 días por lo que retiene mayor cantidad de los metabolitos encargados del efecto cicatrizante , antibacterial y tiene mayor cantidad de flavonoides que se encargan de la reepitalización de tejidos, poseen también la propiedad antiséptica, seguido por el grupo (G4B) extracto 40 % que tardo 11 días en cicatrizar totalmente la herida, asemejándose mucho al grupo (G2E) con eterol que cicatrizo en 12 días, mientras que la concentración al 20 % (G3A) tardó 14 días y con respecto al a la crema neomicina y prednisolona (G2L) se encuentra en el mismo nivel que el control negativo que no se le aplico ningún tratamiento (G1B) que se cicatrizo en 15 indicando menor eficiencia, comparando con los datos de investigación de Redrobán(2012,pp.10-30) que tardo 12 días en cicatrizar el control negativo.

De acuerdo a nuestros resultados y comparados por Licuy(2012) como Santamaría (2013) podemos evidenciar que el control positivo eterol su proceso de cicatrización se dio en 8 días con respecto a nuestros resultados obtenidos, en cambio Cabezas(2014, pp. 48-50), expresan sus resultados que su tratamiento demoro 14 días en cicatrizar su control positivo eterol.

Licuy(2013, pp. 80-85) expresa que los mejores resultados obtenidos para la pronta y efectividad cicatrización de las heridas es la que se combina plantas como berro y llantén en proporciones 50:50 para producir de esta manera un efecto más rápido debido a que poseen mayor cantidad de flavonoides, pero su periodo de tiempo fue de 7 días con respecto a nuestro resultado que solo con una planta el tiempo fue de 9 días al 80 % sin combinación alguna lo que indica que tiene más metabolitos secundarios presentes para que se de la actividad cicatrizante como los flavonoides que posee propiedades cicatrizantes, antiinflamatoria y taninos que posee la propiedad de coagular las proteínas de los tejidos y mucosas y a su vez es protectora que calma la irritación y el dolor sobre la piel, comparando los resultados de Aynaguano (2014, pp. 16-18) tiene similitud que el de 80 % cicatrizo su herida en 10 días con respecto al resultado que se obtuvo del extracto hidroalcohólico cerraja al 80 % que cicatrizo en 9 días menos al de bibliografía consultado.

Gutiérrez (2013, pp. 56-63) sus resultados afirma que el procesos de cicatrización se debe a lugar donde hábitat la planta en este caso el escancel que comprobó con la planta de Chimborazo y Pastaza dando un resultado que el lugar de hábitat si implica el proceso de cierre de la herida debido a que pueden perder sus metabolitos y de esta manera retardar el proceso ya que el escancel al 100 % de Chimborazo cicatrizo en menos días (8días) que el de Pastaza.

3.8.1 Proceso de cicatrización de los grupos experimentales

3.8.1.1 Medida diaria de la herida de cada ratones (*Mus musculus*) de los grupos experimentales

Tabla 7-3: Promedio de la medida diaria en cm de la herida hasta el último día que se desprenda la costra de la apertura de la herida de los *ratones (Mus musculus)* de los grupos experimentales. ESPOCH. Mayo 2015.

Medida del tamaño de cicatrización (cm)						
Día	Control negativo(blanco)	Control positivo		Concentraciones de extractos		
		Crema neomicina y prednisolona	Eterol	20 %	40 %	80 %
1	2	2	2	2	2	2
2	2	2	2	2	2	2
3	2	2	2	2	2	1.86
4	2	1.98	1.8	1.83	1.83	1.66
5	1.98	1.93	1.7	1.7	1.6	1.5

6	1.93	1.8	1.5	1.7	1.33	0.9
7	1.8	1.8	1.3	1.6	1.23	0.45
8	1.8	1.8	1.1	1.5	1.0	0.16
9	1.7	1.7	0.9	1.47	0.7	0.0
10	1.63	1.63	0.8	1.27	0.33	
11	1.5	1.6	0.6	1.2	0.0	
12	1.4	1.4	0.0	1.1		
13	1.1	1.1		0.6		
14	0.6	0.6		0.0		
15	0.0	0.0				
16						
Media ± S	1.56±0.58	1.56±0.57	1.30±0.64	1.42±0.57	1.24±0.70	1.10±0.80

Realizado por : Lourdes M., Criollo C., 2015

Tabla 8-3: Promedio de las longitudes de las cicatrices con respecto a los tratamientos aplicados de los ratones (*Mus musculus*) de los grupos experimentales. Espoch. Mayo 2015.

Tratamientos	Longitud
Control negativo	1,56
Crema de neomicina y prednisolona	1,55
Extracto 20%	1,42
Eterol	1,30
Extracto 40%	1,24
Extracto 80%	1,10

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

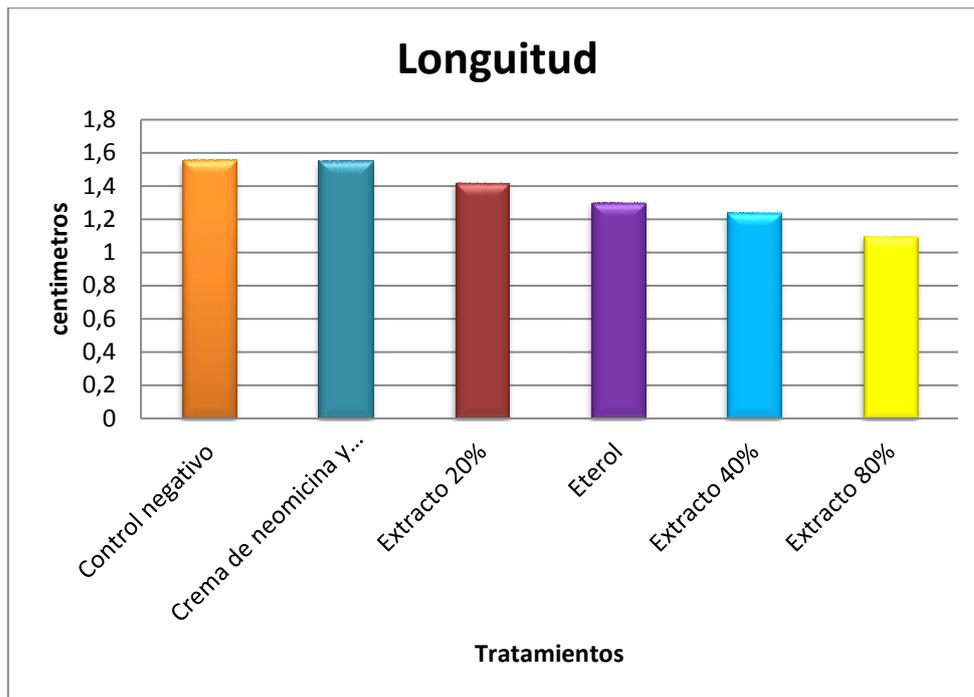


Gráfico 5-3: Promedio de las longitudes de las cicatrices con respecto a los tratamientos aplicados de los ratones (*Mus musculus*) de los grupos experimentales. Epoch. Mayo 2015.

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Los resultados obtenidos en la tabla 7-3, 8-3 y el gráfico 5-3, se observa el promedio de medidas diarias en cm de la herida hasta el último día mostrando una apreciación general del cierre de la herida hasta que se desprenda la costra con la generación del epitelio de la piel de los *ratones* (*Mus musculus*) de los grupos de investigación. El cual se puede evidenciar que el tratamiento con mejor resultado es el extracto hidroalcohólico de cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) al 80 % debido a que se cicatrizo en 8.67 días por lo que este tratamiento presenta una cicatriz 1.10 cm, que se debe a la presencia de flavonoides y taninos.

Comparando con los datos obtenidos y expresados por Cabezas (2014, pp. 48-50) confirma que el tratamiento con mejores resultados y mayor efecto cicatrizante fue el tratamiento con el extracto al 80 % del extracto a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*). Debido a que este grupo llevó 9,67 días en cicatrizar completamente la herida inducida a diferencia de los otros tratamientos que llevaron más días en hacerlo.

3.8.1.2 Observaciones de los resultados del proceso de cicatrización hasta el último día del cierre de la herida de los ratones (*Mus musculus*) de los grupos experimentales.

Tabla 9-3: Observaciones de los resultados del proceso de cicatrización hasta el último día del cierre de la herida de los ratones (*Mus musculus*) del grupo experimental control negativo y crema neomicina y prednisolona .Espoch. Mayo 2015.

Resultados del proceso cicatrización (observaciones)						
Día	G1B = Control negativo (-)			G2L: Control positivo Crema neomicina y prednisolona		
	1	2	3	1	2	3
1-2	Abierto la herida	Abierto la herida	Abierto la herida	Abierto herida	Abierto herida	Abierto herida
3	Seco herida Abierta herida Sin sangrado	Abierto herida Seco herida Sin sangrado	Abierto herida Seco herida Sin sangrado	Abierto herida -No presenta sangrado	Abierto herida -Presenta sangrado	-Abierto herida -No presenta sangrado
4	Abierto herida Seco herida Sin sangrado	Abierto herida Seco herida Sin sangrado	Abierto herida Seco herida Sin sangrado	Sin sangrado Costra color café Seca la herida	Sin sangrado Costra café Abierta herida	Sin sangrado Costra café Seca la herida Comienza cerrar herida
5	Comienza a cerrar herida Seco la herida Presencia de costra blanca alrededor	Comienza a cerrar herida Costra blanca alrededor de la herida	Comienza a cerrar herida Costra negra por dentro de la herida	Sin sangrado Costra color café Seca la herida	Sin sangrado Costra café Abierta herida	Sin sangrado Costra café Seca la herida Comienza cerrar herida
6-7	Con costra blanca alrededor Seco la piel	Sin cerrar herida solo poco cerrada Con costra	Seco la herida Sin costra Cerrando herida Piel rosada la herida abierta	Costra blanca alrededor Costra negra por dentro Abierta herida	Seca herida Abierto herida sin cerrar	Costra blanca alrededor Costra negra por dentro Comienza a cerrar herida
8	Herida poco cerrada Seco la herida Sin costra Color rosada la piel	Sin costra Seco la herida Herida poco cerrada	Sin costra Herida abierta poco cerrada	Cerrada herida pero poco con costra	Abierta herida Costra blanca alrededor Piel rosada por dentro	Sin costra Piel rosada Abierta herida pero cicatrizando
9	Herida poco cerrada Piel rosada de la	Herida abierta poco cerrada	Cerrada la herida por fuera y por dentro falta	Abierta herida falta cerrar	Abierta herida Costra	Abierta herida pero poco cerrada

	herida		cicatrizar	Piel seca	alrededor	
10	Sin costra la herida Color rosada la piel Crecimiento de pelaje	Herida abierta Color rosada la piel Crecimiento de pelaje	Cerrado pero no totalmente Presencia de cicatriz Crecimiento de pelaje	Abierta herida Seca herida Costra blanca alrededor	Herida abierta Costra blanca alrededor por dentro negra Seco la piel herida	Comienza a cerrar herida
11	Herida abierta pero no cerrada por completo Seca la herida Leve cicatriz Comienza a crecer el pelaje	Cerrada la herida por fuera y por dentro falta cicatrizar Comienza a crecer el pelaje Color rosada la piel	Herida no cerrada completamente Comienza a crecer el pelaje	Abierta no cicatriza Sin costra Seca la piel de la herida y de color rosada	Sin cerrar herida Costra blanca Seca la piel	Cerrando herida pero abierta
12	Herida abierta pero no cerrada	Herida abierta pero no cerrada por completo	Herida no cerrada completamente	Abierta no cicatriza Comienza a crecer el pelaje	Herida abierta Presencia de costra Comienza a crecer el pelaje	Herida abierta poco cerrada Comienza a crecer el pelaje
13	Herida abierta pero no cerrada Seca la piel	Herida abierta pero no cerrada Seca la piel	Cierre de herida Poca Cicatriz	Abierta herida por fuera y por dentro cerrada Con cicatriz Crecimiento de pelaje	Presencia de costra Seco la herida Abierta herida Crecimiento de pelaje	Seco la herida Herida abierta poco cerrada Crecimiento de pelaje
14	Herida cerrándose Crecimiento total de pelaje Color rosada la piel	Herida cerrándose Crecimiento total de pelaje Color rosada la piel	Herida cerrada completamente Crecimiento total de pelaje Leve aparición de cicatriz	Herida abierta sin cicatrizar	Cerrando herida	Herida cerrada
15	Cierre de la herida Aparece cicatriz	Cierre de la herida Leve aparición de cicatriz		Cerrando herida	Herida cerrada	
16	Herida cerrada completamente	Herida cerrada completamente		Herida cerrada		

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Tabla 10-3: Observaciones de los resultados del proceso de cicatrización hasta el último día del cierre de la herida de los ratones (*Mus musculus*) del grupo experimental control positivo eterol y el extracto al 20% .Espoch. Mayo 2015.

Resultados del proceso cicatrización (observaciones)						
Día	G2E = Control positivo eterol			G3A = extracto 20%		
	1	2	3	1	2	3
1-3	Abierto la herida Sin sangrado	Abierto la herida Sin sangrado	Abierto la herida Sin sangrado	Abierto la herida Sin sangrado	Abierto la herida Seco herida Sin sangrado	Abierto la herida Sin sangrado
4	Con costra Seco herida Abierto herida Sin sangrado	Abierto herida Presencia de costra Sin sangrado	Abierto herida Seco herida Sin sangrado	Abierto herida Seco herida Sin sangrado	Comienza a cicatrizar Seco herida	Comienza a cicatrizar Seco herida
5	Abierta herida sin cerrar Con costra	Comienza a cerrar herida Con costra blanca	Abierta herida con costra negra por dentro	Herida abierta sin cerrar Con costra negra por dentro Seco la piel de la herida	Herida abierta sin cerrar Costra blanca alrededor de la herida	Comienza a cicatrizar Seco la herida
6	Comienza cicatrizar herida	Con costra Herida abierta pero poco cerrada	Herida sin cerrar Con costra	Herida abierta sin cerrar Con costra negra por dentro Seco la piel de la herida	Herida abierta sin cerrar Costra blanca alrededor de la herida	Comienza a cerrar la herida Costra blanca alrededor de la herida
7	Comienza cicatrizar herida	Con costra Herida abierta pero poco cerrada	Herida sin cerrar Con costra	Abierta herida poco cerrada Con costra	Herida abierta in cerrar Seca la piel de la herida Con costra Piel rosada de la herida	Poco cerrada la herida Seca la piel de la herida
8	Casi cerrado la herida Sin costra	Sin costra Color rosada la piel Herida poco cerrada	Con costra Herida poco cerrada	Comienza a cicatrizar Con costra blanca alrededor de la herida	Sin costra alrededor blanco Herida abierta sin cerrar	Comienza a cerrar la herida Sin costra
9	Cierre de	Herida poco	Herida poco	Cerrado pero	Comienza a cerrar	Seca la herida

	herida Piel rosada de la herida	cerrada Piel rosada de la herida	cerrada Piel rosada de la herida	todavía falta cicatrizar	herida	Piel rosada de la herida Herida casi cerrada pero abierta
10	Herida cerrada Leve aparición de cicatriz	Herida abierta poco cerrada	Herida abierta in cerrar	Sin costra Herida poco cerrada Piel rosada de la herida Crecimiento de pelaje	Herida cerrada pero no completamente Comienza crecer el pelaje	Sin costra Herida poco cerrada Piel rosada de la herida Crecimiento de pelaje
11	Comienza a crecer el pelaje	Herida comenzando a cerrar por completo	Cerrando herida Sin cicatriz Comienza a crecer el pelaje	Sin costra Herida poco cerrada Piel rosada de la herida Crecimiento de pelaje	Herida cerrada pero no completamente Comienza crecer el pelaje	Sin costra Herida poco cerrada Piel rosada de la herida Crecimiento de pelaje
12		Herida cerrada completamente Comienza a crecer el pelaje Leve aparición de cicatriz	Cierre de la herida Comienza a crecer el pelaje	Sin costra Herida poco cerrada Piel rosada de la herida Crecimiento de pelaje	Herida cerrada pero no completamente Comienza crecer el pelaje	Herida cerrada completamente Sin cicatriz
13- 14			Herida cerrada completamente Leve aparición de cicatriz	Herida cerrada pero no completamente Leve aparición de cicatriz	Herida cerrándose Leve aparición de cicatriz	Herida cerrada completamente Leve aparición de cicatriz
15				Herida cerrada completamente	Herida cerrada completamente	

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Tabla 11-3: Observaciones de los resultados del proceso de cicatrización hasta el último día del cierre de la herida los ratones (*Mus musculus*) del grupo experimental con el extracto al 20% y 80% .Espoch. Mayo 2015.

Resultados del proceso cicatrización (observaciones)						
Día	G4B = extracto 40%			G5C = extracto 80%		
	1	2	3	1	2	3
1-2	Abierto herida	Abierto la herida	Abierto herida	Abierto la herida	Abierto la herida	Abierto la herida
3	-Abierto herida -No presenta sangrado	-Abierto herida -No presenta sangrado	-Abierto herida -No presenta sangrado	Abierto la herida Seco la herida Sin sangrado	Abierto la herida Sin sangrado Sin costra	Abierto la herida Sin sangrado
4	Sin sangrado Seco la herida Presencia de costra Comienza a cerrar herida	Abierto herida Seco herida	Abierto herida Presencia de costra	Comienza a cicatrizar Seco la herida	Seco la herida Herida Cerrada la herida por fuera y por dentro falta cicatrizar	Seco la herida Abierto pero poco cerrada
5	Sin sangrado Seco la herida Presencia de costra Comienza a cerrar herida	Abierto herida Seco herida	Abierto herida Presencia de costra	Cerrada la herida por fuera y por dentro falta cicatrizar	Herida abierta pero no cerrada por completo Seca la herida Leve cicatriz	Herida abierta queriendo ya cerrarse
6	Comienza a cerrar herida	Seco herida Abierta herida	Seco herida Abierta herida	Cerrada la herida por fuera y por dentro falta cicatrizar	Herida abierta pero no cerrada por completo Seca la herida Leve cicatriz	Herida abierta queriendo ya cerrarse
7	Comienza a cerrar herida	Seco herida Abierta herida	Seco herida Abierta herida	Herida cerrándose Crecimiento de pelaje	Herida cerrada Sin costra Seca herida Piel rosada de la herida	Seco la herida Comienza a cicatrizar la herida

8	Cerrado herida pero poco No presencia de costra	Comienza a cerrar herida Seco herida No presencia de costra	Presencia de costra Abierta herida comenzando a cerrar	Herida cerrada completamente No aparece cicatriz	Herida cerrada no completamente No aparece cicatriz	Herida cerrada Piel rosada de la herida No aparece cicatriz
9	Cerrado herida por dentro pero por fuera abierta Seco herida Presencia de cicatriz	Cerrada herida poco Seca la herida por fuera y con cicatriz	Comienza a cerrar herida Seca herida	-----	Herida cerrada completamente	Herida cerrada completamente
10	Cicatrización cerrada Presencia de cicatriz	Terminando de cerrar la herida Con cicatriz	Seco la piel de herida Poco abierta Costra blanca alrededor	Crecimiento de pelaje	Crecimiento de pelaje	Crecimiento de pelaje
11	Crecimiento de pelaje	Cerrada la herida Comienza a crecer el pelaje	Cerrada la herida Comienza a crecer el pelaje	Crecimiento de pelaje	Crecimiento de pelaje	Crecimiento de pelaje
12				Crecimiento de pelaje	Crecimiento de pelaje	Crecimiento de pelaje

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En la tabla 9-3, 10-3, 11-3, indica el proceso que se fue dando durante los días de cicatrización hasta el último día de su generación del epitelio de la piel con sus diferentes tratamientos lo cual se puede observar que algunos tratamientos los 3 primeros días no hubo cierre de herida y no presenta sangrado y desde el día 4 comienza a producir un cierre de herida, lo cual en las tablas explicadas anteriormente podemos evidenciar en que día iba cicatrizando las heridas con respecto a cada grupo de experimentación con sus tratamientos que estuvieron divididos en 3 grupos experimentales.

3.8.2 Porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización de cada uno de los tratamientos tratados con respecto a la ausencia del tratamiento. Riobamba- ESPOCH. Mayo 2015

Tabla 12-3: Determinación del porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización de cada uno de los tratamientos. Riobamba- Espoch. Mayo 2015

Porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización						
Control negativo(blanco)		Control (+)		Extractos hidroalcohólicos		
	Sin tratamiento	Crema neomicina y prednisolona	Eterol	Extracto 20%	Extracto 40%	Extracto 80%
Días de cicatrización	15	15	12	14	11	9
% reducción del tiempo de cicatrización	100%	100%	80	93	73	60

Realizado: Lourdes M., Criollo C.,2015

% de reducción del tiempo de cicatrización

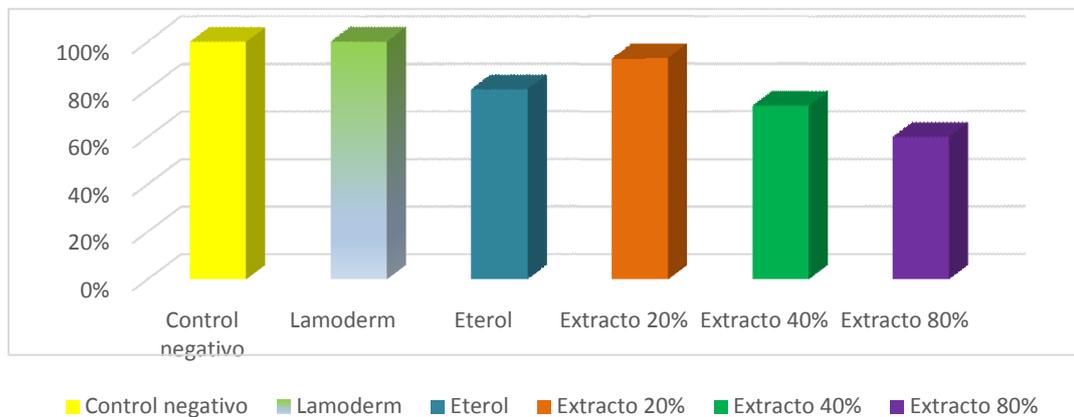


Grafico 6-3: Determinación del porcentaje de reducción del tiempo de cicatrización de cada uno de los tratamientos tratados con respecto a la ausencia del tratamiento. Riobamba. Espoch. Mayo 2015

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En la tabla 12-3 y grafica 6-3, se observa los resultados histopatológicos realizado el examen microscópico de los grupos experimentales con cada tratamiento se pudo evidenciar con los resultados de los días de cicatrización y se tomó como referencia al control negativo expresado en 100 % y del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) al 80 % presenta tejido fibroso cicatrizal con un 60% de reducción de la cicatrización de la herida en 9 días que se puede observar que existe una consideración favorable en el tiempo de cicatrización y seguido

el extracto 40% reduce 73, eterol 80 % y el extracto al 20 % reduce 93 % . El tratamiento con la crema neomicina y prednisolona reduce al 100 % y por último el control negativo que no se le aplico ningún tratamiento el proceso de cicatrización fue el tiempo más largo con un 100 % de cicatrización con respecto a los otros tratamientos. Comparando con la tesis por Cabezas (2014, pp. 48-50) se confirma que en el extracto al 20 % el tiempo de cicatrización se reduce a un 19 %, para el extracto al 40 % se reduce el tiempo de cicatrización al 25 %. Mientras que para el extracto al 80 % se puede observar claramente que existe una reducción en el tiempo de cicatrización con respecto al control (-), ya que tiene una reducción del 37 %. Los resultados obtenidos tienen una similitud comparados con la planta cerraña (*Sonchus oleraceus L.*) con los diferentes tratamientos.

3.9 Análisis estadístico

3.9.1 Análisis de Anova del tamaño de herida (días de cicatrización)

Para el análisis estadístico se efectuó comparando las medias de cada grupo de los tratamientos utilizando el Test de Anova y Tukey para su posterior resultados

Variable: días de cicatrización

Factores de interés: tratamientos

(Unidades experimentales) Reactivos biológico: ratones albinos de ambos sexos

Tabla 13-3: Resultados de los análisis de Anova en la aplicación de los tratamientos de los grupos experimentales en días de cicatrización. Espoch. Mayo. 2015

Análisis de variancia del test de Anova de un factor						
Tratamientos	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Días de cicatrización	108,9444444	5	21,78888889	19,61	2,12758E-05	3,105875239
Error	13,33333333	12	1,111111111			
Total	122,2777778	17				

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

En la tabla 13-3 nos indica el test ANOVA de un factor y con un 95 % de nivel de confianza mostrando que el valor del estadístico de prueba (19.61) es mayor que el valor crítico 3.10 lo

cual se procede a rechazar la hipótesis nula existencia diferencia significativa en el tiempo de cicatrizar las heridas entre las concentraciones 20 %, 40 %, 80 %, determinando que el ensayo realizado con el extracto hidroalcohólico al 80 % demuestra una actividad cicatrizante con respecto al tratamiento, control negativo(sin tratamiento alguno) y el control positivo (crema neomicina y prednisolona y eterol) y aceptando la hipótesis alternativa es decir que al menos dos de los tratamientos aplicados tienen diferentes días de cicatrización. Comparando los resultados obtenidos en mi planta cerraja con la tesis de Licuy (2013, pp. 80-85) indica que se rechaza la hipótesis nula, es decir que al menos dos de sus extractos tienen diferentes tiempo de cicatrización, ya que el valor de p (0.002) es menor que el nivel de significancia (0.05), lo cual se indica que mi resultados está en concordancia con los de bibliografía consultado.

3.9.2 Análisis de Postest de Tukey

Tabla 14-3: Resultados de los análisis Postest de Tukey en la aplicación de los tratamientos de los grupos experimentales en días de cicatrización. Espoch. Mayo. 2015.

DIAS DE CICATRIZACION (Tiempo)					
TRATAMIENTO	Número	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1(d)	2(a)	3(b)	4 (c)
Extracto 80 %	3	8,6667			
Extracto 40%	3	10,6667	10,6667		
Eterol	3		11,6667	11,6667	
Extracto 20%	3			14,3333	14,3333
crema neomicina y prednisolona	3				15,0000
Control negativo	3				15,3333
Sig.		,257	,846	,077	,846
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.					
Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.					

Fuente: Lourdes M., Criollo C., 2015

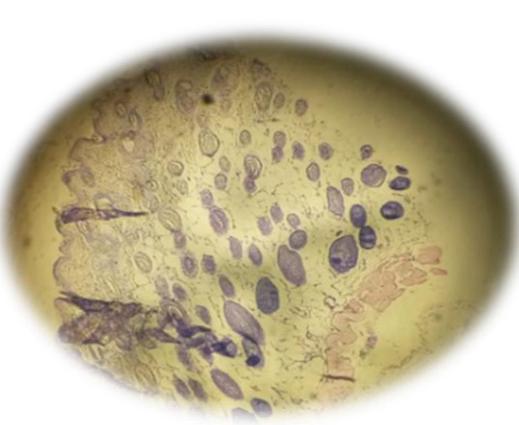
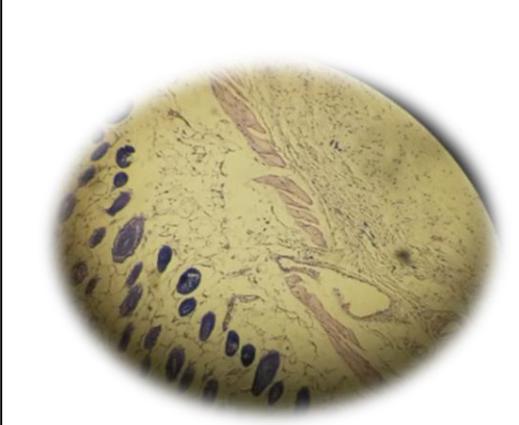
En la Tabla 14-3 se evidencia la comparación de medias nos indica sus resultados que se obtuvieron con el test de Tukey en la cual se encuentra diferencias significativas con un nivel de confianza de 95 % , se obtuvieron dos subconjuntos en el tiempo promedio de cicatrización al aplicar los tratamientos observando que existe homogeneidad estadística entre los

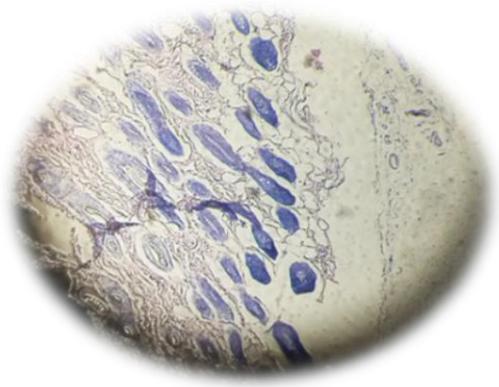
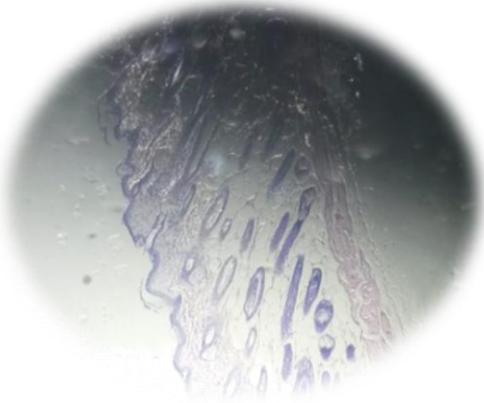
tratamientos lo cual indica que el tratamiento del extracto 80 % presenta un mayor efecto de cicatrización por lo que se tardó 8.6667 días en promedio comparando con el extracto 40 % establecen un solo grupo homogéneo con el mismo efecto pero en diferentes días de cicatrizar la herida .

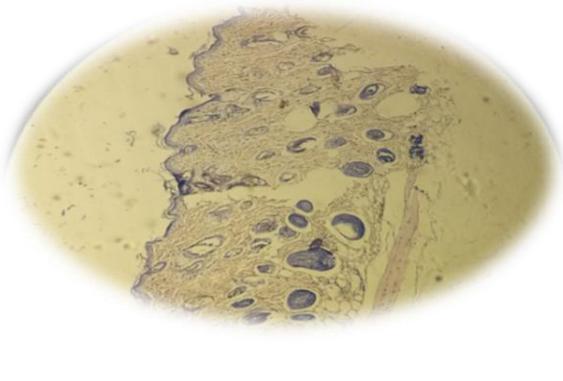
El extracto 20 %, control negativo y la crema neomicina y prednisolona establece un grupo homogéneo entre estos tratamientos de igual forma con el extracto 40 % y eterol tienen una similitud en el tiempo de cicatrizar y a su vez el eterol comparando con el extracto al 20 % son estadísticamente homogéneo y ambos tienen similar actividad cicatrizante pero en diferentes tiempos. Comparando los resultados de la tesis de Cabezas (2014, pp. 48-50) indican los resultados obtenidos con el test de Tukey con un nivel de confianza del 95 % observando que existe homogeneidad estadística entre los tratamientos y con respecto al resultado que se obtuvo del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*), se pudo evidenciar que también tiene un nivel de confianza al 95 % al de bibliografía consultado, existiendo una diferencia significativa de tratamientos.

3.10 Análisis histopatológico de los grupos experimentales de ratones (*Mus musculus*)

Cuadro 16-3: Examen histopatológico de la piel del ratón (*Mus musculus*) con heridas inducidas para la investigación de la actividad cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos cerraja (*Sonchus oleraceus L.*). Aplicados a los grupos experimentales y con cada tratamiento crema neomicina y prednisolona, eterol y el control negativo. Bioterio de la facultad de ciencias. Mayo 2015.

MUESTRAS	
G1B: Control (-) sin tratamiento	G2L: Control (+) crema neomicina y prednisolona
	

<p>Examen macroscópico</p> <p>Largo: 2.5 cm Ancho: 15. cm Cicatriz: 2 cm Profundidad. 0.3 mm Color: Gris blanquecino Aspecto: liso, agradable</p>		<p>Examen macroscópico</p> <p>Largo: 3.6 cm Ancho: 2 cm Cicatriz: 2 cm Profundidad. 0.2 mm Color: Gris blanquecino Aspecto: liso, agradable</p>	
<p>Examen microscópico</p> <p>Presenta regeneración de la epidermis y formación de la piel con fibrosis cicatrizal en un 80 % , fibras de colágeno y tejido conectivo denso 100 % , ausencia de edema e histiocito</p>		<p>Examen microscópico</p> <p>Presenta regeneración de la epidermis y formación de la piel con fibrosis cicatrizal en un 100 % , fibras de colágeno y tejido conectivo denso 80 % , presencia de edema</p>	
Tejido cicatrizal	80 %	Tejido cicatrizal	100 %
MMN	+	MMN	+
Histiocito	-	Histiocito	-
Colágeno	++	Colágeno	++
Edema	-	Edema	++
Tejido conectivo	100 %	Tejido conectivo	80 %
<p>G2LE: Control (+) Eterol</p>		<p>G3A: Extracto hidroalcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) 20 %</p>	
			
<p>Examen macroscópico</p> <p>Largo: 3.2 cm Ancho: 2 cm Cicatriz: 2 cm Profundidad. 0.3 mm Color: Gris blanquecino Aspecto: liso, agradable</p>		<p>Examen macroscópico</p> <p>Largo: 2.5 cm Ancho: 1 cm Cicatriz: 2 cm Profundidad. 0.3 mm Color: Gris blanquecino Aspecto: liso, agradable</p>	

Examen microscópico		Examen microscópico	
Presencia de piel con tejido fibroso cicatrizal en un 100 % , fibras de colágeno, bajo edema y reposición del epitelio del tejido conectivo denso en 80 %		Presencia de piel con tejido fibroso cicatrizal en un 80 % , fibras de colágeno, presencia de edema alto y reposición del epitelio del tejido conectivo denso en 100 % pérdida de la epidermis , presencia alto de edema	
Tejido cicatrizal	100 %	Tejido cicatrizal	80 %
MMN	+	MMN	+
Histiocito	-	Histiocito	-
Colágeno	++	Colágeno	+++
Edema	+	Edema	+++
Tejido conectivo	80 %	Tejido conectivo	100 %
G4B: Extracto hidroalcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) 40 %		G5C: Extracto hidroalcohólico cerraja (<i>Sonchus oleraceus L.</i>) 80 %	
			
Largo: 2.5cm Ancho: 1 cm Cicatriz: 2 cm Profundidad. 0.3 mm Color: Gris blanquecino Aspecto: liso, agradable		Largo: 2 cm Ancho: 2 cm Cicatriz: 2 cm Profundidad. 0.3 mm Color: Gris blanquecino Aspecto: liso, agradable	
Examen microscópico		Examen microscópico	
Presencia de piel con tejido fibroso cicatrizal en un 100 % , fibras de colágeno, edema y reposición del epitelio del tejido conectivo denso en 100 %		Presencia de epitelio escamoso y tejido de granulación, piel con tejido fibroso cicatrizal 100 % no existe edema, epitelio normal tejido conectivo denso del epitelio regenerado 100 % , fibras de colágeno presentes.	
Tejido cicatrizal	100 %	Tejido cicatrizal	100 %

MMN	+	MMN	+
Histiocito	-	Histiocito	-
Colágeno	++	Colágeno	++
Edema	+	Edema	-
Tejido conectivo	100 %	Tejido conectivo	100 %

Realizado por: Lourdes M., Criollo C., 2015

Los resultados expresados en el cuadro 15-3 nos indica el análisis histopatológico macroscópico y microscópico que se analizó las pieles de los animales de experimentación de cada grupo para determinar el grado de cicatrización las misma que fueron utilizadas en la actividad cicatrizante a las pieles que fueron administrados los extractos y sus medicamentos en el análisis microscópico presenta tejido fibroso cicatrizal, regeneración del epitelio, tejido conjuntivo, presencia o ausencia de edema, fibras de colágeno y monomorfismo nuclear lo que ayuda durante el proceso de cicatrizar una herida.

También se observa en el análisis macroscópico el largo de la cicatriz, ancho, profundidad, el color y el aspecto que presenta la herida. Según con bibliografía de la tesis de (Aynaguano, 2014, pp. 16-18) se confirma que en el análisis microscópico se observa la piel con tejido fibroso con un proceso de cicatrización de 100 % en el extracto al 80 % bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) teniendo similitud con los resultados obtenidos del extracto hidroalcohólico cerraña (*Sonchus oleraceus L.*) que presenta tejido fibrosos cicatrizal 100 % y epitelio escamoso.

CONCLUSIONES

- La planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) fue recolectada en condiciones favorables en las horas de la mañana a una altitud 2800m.s.n.m. a una temperatura promedio 18^o C, en suelo húmedo las cuales se las puede recoger durante épocas de todo el año en el momento vegetativo anterior a la floración o durante la temporada o período óptimos para asegurar la calidad óptima tanto de las materias primas, como de los productos acabado , la taxonomía de la planta cerraja viene del género *Sonchus*, especie *Sonchus oleraceus* y de la familia *Asteraceae* por lo que es la familia más grande de plantas es un grupo diverso, que incluye plantas anuales, perennes, suculentas, algunos árboles y arbustos.
- En el análisis físico químico el control de calidad de la droga cruda cumple con la especificaciones de la Normativa Ecuatoriana de Fito medicamentos presentando una humedad de 81 % , ceniza totales 2 % , cenizas solubles en agua 0.9 % , cenizas insolubles en ácido clorhídrico 0.2 % indicando que existió un buen manejo durante la cosecha y almacenamiento del vegetal.
- Se comprobó en el análisis fitoquímico la presencia de metabolitos secundarios tanto en el extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) fresco o seco presentan flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, azúcares reductores, resinas, lactonas, cumarinas, triterpenos y esteroides, alcaloides pero en el extracto fresco los flavonoides está en menor proporción con respecto al extracto en seco siendo de gran importancia los flavonoides, fenoles y taninos que le dan el efecto de cicatrización.
- Se comprobó el efecto cicatrizante de la planta (hoja) cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en las heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*) evidenciando un mayor efecto farmacológico con el extracto hidroalcohólico de cerraja al 80 % dando una pronta regeneración del tejido en 9 días pasando por las fases de cicatrización inflamatoria, que va de (1 a 5 días), proliferativa (5 a 15 días) y maduración/ remodelación (14 en adelante) comparando con el extracto 40 % a los 11 días y control positivo crema neomicina y prednisolona, control negativo que tienen similitud en los días de cicatrización (15 días) que tardo mucho tiempo en cicatrizar, eterol (12 días) que tardaron poco tiempo en cicatrizar y el extracto al 20 % (14 días).

- Se puede concluir que es mejor utilizar la muestra seca para realizar los extractos hidroalcohólicos en la actividad cicatrizante debido a que en la actualidad las plantas medicinales las utilizan secas y pulverizadas y para realizar formulaciones son más estables, dado que no ha mediado ningún proceso extractivo, los principios activos se encuentran aún dentro de las células vegetales. Por ende los extractos de la planta ya ha sido transformada en fito medicamento mediante un cuidadoso y controlado proceso por lo que todo el potencial curativo de las plantas se encuentra disuelto y disponible para ser aprovechado rápidamente por nuestro organismo. En extracto fresco no es muy factible debido a que sus metabolitos se encuentran en bajas proporciones y pierde sus principios activos y por tal razón es aconsejable utilizar un extracto en muestra seca por lo que se mantiene los principios activos favoreciendo la unión de las células con el solvente que se va utilizar.
- Mediante el análisis histopatológico macroscópico y microscópico se demuestra que el extracto hidroalcohólico de cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) al 80 % se regenera rápidamente su cicatrización teniendo un tejido fibroso cicatrizal en un 100 % comparando con los otros tratamientos que tienen 100 % y 80 % de generación pero en diferentes días por lo que establece que este extracto está listo para su utilización.

RECOMENDACIONES

- Durante la investigación se debe cambiar sus jaulas para de esta manera evitar alguna infección sobre la herida e interrumpa su proceso de cicatrización y a su vez su lugar de estudio debe estar limpio libre de sustancias extrañas.
- En el momento de manipulación y análisis de los animales de experimentación deben estar protegidos con las normas de seguridad para de esta forma evitar alguna contaminación ya que estos animales lo poseen.
- Antes de proceder a la depilar los ratones (*Mus musculus*) primero debe ser cortado el pelaje debido a que no es posible en el proceso de depilación.
- Se debe continuar y profundizar con la investigación de la planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en el efecto cicatrizante para ser elaborado como fitofármacos en diferentes presentaciones y su vez evaluar otras actividades farmacológicas que la planta tuviere ya que esta atribuye diferentes propiedades.
- Mantener los conocimientos y las costumbres ancestrales de nuestra cultura utilizando productos naturales y de esta manera motivar nuevas investigaciones para elaborar productos farmacéuticos o cosméticos de calidad probada.

BIBLIOGRAFÍA

1. **ARIAS, J. et al.**, Fisiopatología quirúrgica traumatismo, infecciones, tumores., La piel., Madrid –España., Editorial Tébar., 2008., pp.12-15.
2. **ACOSTA, M.**, Planta medicinales del Ecuador., Quito-Ecuador., Abya-Yala., 2003., pp.38
3. **ALBORNOZ, A.**, Productos Naturales, Sustancias y Drogas Extraídas de Plantas., 2a ed., Distrito Capital Miranda - Venezuela., Acribia ., 2009., pp.3-6
4. **AYNAGUANO, M.**, Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos de bolsa de pastor(*Capsella bursa-pastoris*) mediante el test de heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*).,(TESIS)., Bioquímica Farmacéutica., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador. 2014, pp. 16-18
5. **BELL, B.**, Sistema o curso completo de cirugía., Heridas., 5ta ed., Madrid - España., Acribia S.A., 2008., p.17
6. **BARBERÀN, T. et al.**, Estudio sobre el contenido de flavonoides en las mieles de la alcarria: su aplicación a la caracterización geográfica- botánica., Madrid –España., Apícola SIA., 2010., p. 15
7. **CABAL, V.et al.**, Guía de Intervención de Enfermería basa en la Evidencia: Heridas Convenio Instituto Seguro Social., Asociación Colombiana de Facultades de Enfermería., Bogotá - Colombia., ACOFAEN., 2006., pp. 45-47
8. **CABEZAS, G.**, Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos **a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*)**., (TESIS)., Bioquímica Farmacéutica., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador. 2014, pp. 48-50
9. **CAMPOVERDE, J &VERDUGO, M.**, Determinación del efecto cicatrizante de las hojas de carne humana (*Jungia cf. rugosa*)., (TESIS)., Bioquímica Farmacéutica.,

Universidad de Cuenca., Facultad de Ciencias Químicas. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Cuenca – Ecuador., 2008, p. 70

10. **CRUZ, P.**, Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguietia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco.,(TESIS).,Bioquímica Farmacéutica., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador.,2009., p.105

11. **CHIAPPE, A.**, Cicatrización. Médicos Líderes., Bogotá-Colombia., 2013.
http://www.susmedicos.com/art_cicatrices_Chiappe.
2014-11-02

12. **CHOPRACK, D.**,El Poder de la Cicatrización., New York- Estados Unidos., Bloomington., 2012., pp. 103-145
<https://books.google.com.ec/>
2014-11-02

13. **CORDERO, F & VERGARA, F.**, Constitución de la república del Ecuador. Régimen del buen vivir. 8^{ta}., Quito- Ecuador., LEXIS., 2008., pp. 14-28

14. **COBOS, M., et al .**, Cicatrización y regeneración ósea de los maxilares después de una quistectomía: reporte de un caso y revisión de la literatura Universitas Odontológica. *Redalyc*. Vol. 30, N° 65., San Marco-Perú., 2011., p. 71-78.

15. **DIKES, A.**, Lo esencial en Anatomía. Elsevier., 3ra ed ., Madrid-España., Diorki servicios integrales de edición., 2005., p. 6
<https://books.google.com.ec/>
2014-11-02.

16. **DUCE, A.**, Patología quirúrgica. Elsevier., Barcelona- España., Editorial Gea consultoría, S.L.L., 2005., pp. 60 -64.
<https://books.google.com.ec/>
2014-11-02.

17. **DOMINGUEZ, M.et al.**, Manual de cirugía menor de piel. Funcional de la piel., Madrid- España., Editorial ISBN., 2005., pp. 20-30

- 18. FARNSWORTH, N & SOEJARTO, D.,** Potencial consequence of plant extinction in the United States on the current and future availability of prescription drugs., Madrid – España., Springer ., 2000., pp. 4-5
<http://www.ciesin.org/docs/002-267/002-267.html>
2015-04-01
- 19. INFANTE, M.,** Fitofármacos - Intervención Educativa., Caracas-Venezuela., La Esperanza., 2007., p.18
<http://files.sld.cu/mednat/files/2012/01/fitofarmacos-intervencion-educativa.pdf>
2014-11-02
- 20. INSTRUCTIVO TÉCNICO DE ANÁLISIS DE ENSAYOS PARA RECuentOS DE COLIFORMES TOTALES Y E. COLI MEDIANTE LA TÉCNICA DE PETRIFILM^{MR} AOAC OFFICIAL METHOD 991.14 Ó 998.08**

<http://historico.sag.gob.cl/common/asp/pagAtachadorVisualizador.asp?argCryptedData=GP1TkTXdhRJAS2Wp3v88hB17Pf6lazkmq89cmzNMQGw%3D&argModo=&argOrigen=BD&argFlagYaGrabados=&argArchivoId=23275>
2015-05-01
- 21. GARCÍA, A & QUERO, A.,** Medicina ciencias de la Salud., Madrid- España., Días santo., 2012., p.34
- 22. GARCÍA, T & ROCA, J.,** Industrialización de los crustáceos para la obtención de Quitosano en unguento con efecto cicatrizante. *Redalyc.* Vol. 11, Nº 2., San Marco – Perú., pp. 24-32.
- 23. GOODMAN, L & GILMAN, A.,** Base farmacológica de la terapéutica., 10ma ed., México Distrito Federal- México., Editorial Cámara Nacional de la Industria., 2002., pp. 698-723.
- 24. GUILLAMENT, A.,** Enfermería Quirúrgica., 2a ed., Barcelona- España., Springer., 2001., pp. 36-66

25. **GUERRERO, G & LOZANO, R.**, Diversidad Biologica en Cajamarca . Estudios farmacologicos de la cerraja., Lima - Perù., Editorial Deutsche Gesellschaft fur Internationale Zusammenarbeit (GIZ)., 2012., p.96
26. **GUEVARA, E.**, Saponinas triterpénicas de la quinua (*Chenopodium quinoa willd*) en la elaboración de una crema con actividad exfoliante., (TESIS)., Bioquímica Farmacéutica., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2012, pp. 86-87
27. **GUTIÉRREZ, V.**, Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de dos variedades de escancel (*Aerva sanguinolenta*) de Pastaza y de Chimborazo aplicados en ratones (*Mus musculus*)”, (TESIS)., Bioquímico Farmacéutico., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2013, pp. 56-63
28. **HERNÁNDEZ, L.**, Determinación del potencial nutracéutico y la actividad antioxidante de la miel propolizada elaborada por la empresa apicare, Riobamba Chimborazo., (TESIS)., Bioquímico Farmacéutico., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2013., pp.67-70
29. **HORTON, S.**, Lo esencial en anatomía. Elsevier. Barcelona- España., Editorial Gea consultoria, S.L.L., 2013., pp. 9-11.
30. **JÁTIVA, C.**, Texto básico de farmacognosia de los vegetales a las medicinas., Riobamba – Ecuador., Editorial ESPOCH., 2010., pp. 9-15.
31. **LICUY, L.**, Estudio Farmacognóstico y actividad cicatrizante del Jatun Quilun Quilun., (Tesis)., Bioquímica Farmacéutica., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba. Ecuador., 2013., pp. 80-85
32. **LLOVERAS, A & HERNÁNDEZ, J.**, Enfermería quirúrgica planes de cuidados., Barcelona –España., Springer Verlag Ibérica., 2010., p. 37
33. **MARTÍNEZ, J.**, Prevención y tratamiento de úlceras y escaras. La piel y proceso de cicatrización., Madrid- España., Editorial vértice., 2008., pp.11-13

34. **MARTINEZ, A.**, Manual de Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica., Lima Perú., Editorial. S.A., 2008., p. 53
35. **MARINI, M.**, Consenso sobre cicatrizacion de heridas. Carlos de Bariloche- Argentina., Acibia ., 2008., pp. 4 – 9
<https://www.google.com.ec>
36. **MARKHAM, K.**, Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications., Nueva York – Estados Unidos., Panamericana., 2006.,, p. 116
<http://mimoza.marmara.edu.tr/~ozan.deveoglu/A11.pdf>
2014-11-02
37. **MIRANDA, M.**, Farmacognosia y productos naturales., La Habana-Cuba., Panamericana. 2006., pp. 32-62.
38. **MUNGUÍA, S., & RIPA, J.**, Historia de las planta en el mundo antiguo. Consejo superior de investigación científica., Madrid – España., Editorial. S.A., 2009., p. 13
39. **MUÑOZ, M.**, Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de Santa maría (*Piper peltatum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*).,(TESIS)., Bioquímica Farmacéutica ., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2014., pp. 37-40
40. **OLAYA, & MÉNDEZ, J.**, Plantas vegetales, extractos y aceites vegetales., Bogotá-Colombia., Editorial convenio Andrés Bello., 2003., p. 78
41. **OROZCO, M.**, Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de molle (*Schinus molle*), cola de caballo (*Equisetum arvense L.*), linaza (*Linum usitatissimum L.*) en ratones (*Mus musculus*)., (TESIS)., Bioquímica Farmacéutica ., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador 2013., pp. 35-46
42. **PATIÑO, F.**, Lecciones de cirugía., 7ma ed., Bogotá- Colombia., Editorial mèdica panamericana internacional.LTDA., 2000., p.56

43. **POLLAK, E.**, La medicina tradicional venezolana., 1era. ed., Montalbán - Venezuela., UCAB. 2001., p. 7
44. **PLACA PETRIFILM PARA RECUESTO DE HONGOS Y LEVADURAS CAT. 6407, 6417**
https://system.netsuite.com/core/media/media.nl?id=4026&c=3339985&h=f98a73a78d447df92fce&_xt=.pdf
2015-05-01
45. **PROAÑO, J.**, Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de romero (*Rosmarinus officinalis*), matico (*Piper aduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*)., (Tesis)., Bioquímica Farmacéutica ., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2008., pp.61-66
46. **QUIROZ, R.**, Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de nogal (*Juglans neotropica diels*), ortiga (*Urtica dioica l.*), sábila (*Aloe vera*), en ratones (*Mus musculus*)., (TESIS)., Bioquímica Farmacéutica ., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2013., p.76
47. **REDROBÁN, K.**, Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*)., (TESIS)., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2012., pp- 10-30
48. **ROMÁN, H.**, Hierbas Medicinales., Ottawa- Canadá ., Editorial el país-Diario., 2008., pp.4
49. **RONQUILLO, J.**, Diccionario de Matea Mercantil, Industrial y agrícola., 2a ed., Barcelona- España., Panamericana., 2001., pp. 13-18
50. **RUIZ, I.**, Piel - Herida. *Redalyc*. Vol. 16, Nº 2., Benemérita Universidad Autónoma de Puebla., México Distrito Federal- México., 2006., pp. 119-144.

51. **SANTAMARÍA, E.**, Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de malva (*malva sylvestris L.*) y aguacate (*p. americana*) en ratones (*Mus musculus*)(TESIS)., Bioquímica Farmacéutica ., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador.,2013., p. 80
52. **SISALEMA, D.**, Separación de metabolitos secundarios de Martin Galvis (*Senna multijuga*) con actividad antibacteriana., (TESIS)., Bioquímica Farmacéutica ., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2013., p. 40
53. **SOLÓRZANO, L.**, Identificación y cuantificación de flavonoides en los extractos etanólicos de (*Tagetes sp*), (*Tagetes multiflora*) y (*Tagetes zipaquirensis*) por métodos cromatográficos ., (TESIS)., Bioquímico Farmacéutico ., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2014., p.58
54. **TORRE, H. et al.**, Usos medicinales de las plantas - Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador., 4 ed., Quito- Ecuador., Herbario QCA & Herbario AAU., 2008., pp. 105-107
55. **TORRES, E.**, Anatomía macroscópicas de los sistemas de órganos en ratones., (TESIS)., Instructor Beca de Laboratorio de Fisiología., Universidad Autónoma de aguas calientes., Centro de ciencias básicas., Departamento de fisiología y farmacología laboratorio de fisiología., New York- Estados Unidos., 2011., pp.17-20
56. **TORRES, M.**, Determinación de la actividad antioxidante de los extractos clorofórmico, etanólico y acuoso de arrayán, calaguala, canayuyo, y tipo., (TESIS)., Bioquímica Farmacéutica., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2012., pp. 78-80
57. **UGA, L.**, Investigación Fitoquímica, métodos de estudio de productos naturales., 2a ed., Lima – Perú., Pontificia universidad católica del Perú fondo editorial., 2008., pp 114-1994.
58. **VALENCIA, C.**, Cicatrización: proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas., *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y*

Portugal. Fundación Universitaria del Área Andina. Vol.12, Nº 20., Bogotá- Colombia., 2010., pp. 85-98.

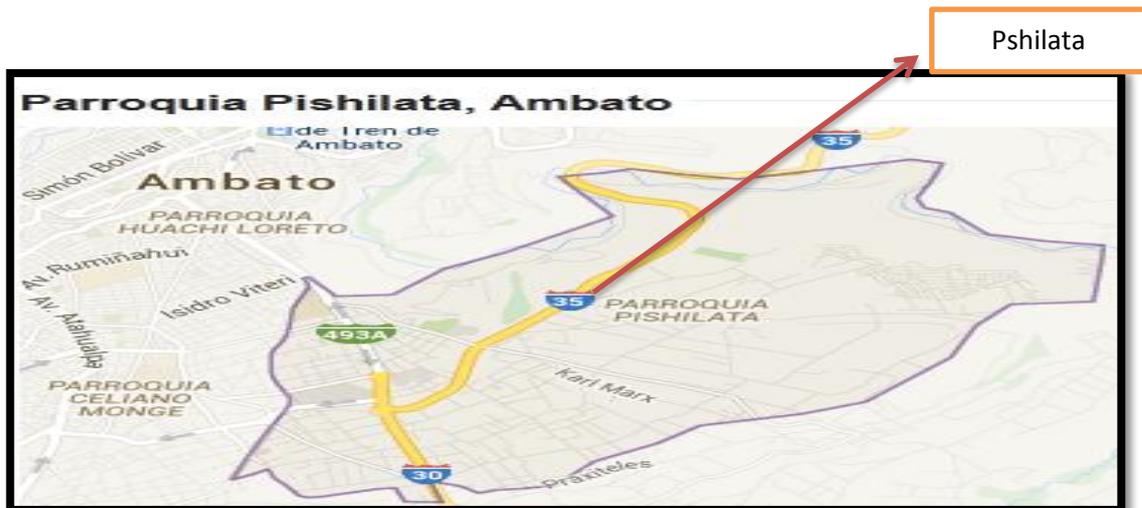
59. **VELANDIA, D.**, Evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de *Dracontium croatii.*, (TESIS)., Licenciado en Química., Universidad Nacional de Colombia. Bogotá., Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia., Bogotá-Colombia., 2009., p. 23
60. **WAGNER, H.**, Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas., 2a ed., Hamburgo – Alemania., Springer. 1996., p.116
2014 -11- 02.
61. **WANDA, A & DORSETTE, M.**, Rat models of skin wound healing: *A review. Wound Repair and Regeneration.* Vol. 12 Nº 6., New York- Estados Unidos ., 2004., pp. 591-599.
62. **YAMBAY, P.**, Elaboración y control de calidad de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de berro (*nasturtium officinale*) y llantèn (*plantago major*) y comprobación de su actividad cicatrizante en heridas inducidas en ratones., (TESIS)., Bioquímica Farmacéutica ., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., 2013., .p.58

ANEXOS

Anexo A: Mapa del Ecuador ubicado la Provincia Tungurahua cantón Ambato



Fotografía 13: Localización del lugar de la planta Cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) Ambato – Ecuador.



Fotografía 14: Localización del lugar donde se encuentra la planta cerraja (*Sonchus oleraceus* L.). Ciudad Ambato - Parroquia: Pishilata – Barrio San José.

Anexo B: Permiso del medio ambiente

 **Ministerio del Ambiente**

 **GOBIERNO NACIONAL DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR**

Oficio Nro. MAE-DPACH-2015-1104

Riobamba, 12 de mayo de 2015

Señorita
Lourdes Maribel Criollo Chaglla
Estudiante
En su Despacho

De mi consideración:

En atención a su oficio s/n del 7 de mayo del 2015, con el que solicita un documento, “...**que avale la utilización de la planta Cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) para investigación de tesis...**”; al respecto le comunico que el Ministerio del Ambiente no avala la utilización, lo que si extiende las autorizaciones de investigación científica, según se especifica en el Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria, TULAS, Libro IV de la Biodiversidad, que señala en su parte correspondiente lo siguiente:

Art. 6.- Toda investigación científica relativa a la flora y fauna silvestre a realizarse en el Patrimonio Nacional de Áreas Naturales por personas naturales o jurídicas, nacionales o extranjeras, requiere de la autorización emitida por el Distrito Regional correspondiente.

Fuera del Patrimonio Nacional de Áreas Naturales, no se requiere autorización de investigación, salvo que el proyecto respectivo implique la recolección de especímenes o muestras.

Art. 7.- El Ministerio del Ambiente dará un tratamiento diferenciado, facilitando o restringiendo las actividades planteadas

Art. 8.- Los proyectos deberán contener la siguiente información:

- Nombre del proyecto.
- Área precisa donde se llevará a cabo la investigación
- Justificación
- Objetivos
- Técnicas de observación
- Sitios de muestreo y toma de muestras
- Justificación de la cantidad de especies y especímenes a colectarse
- Tipos de manipulación
- Tipo de marcas
- Métodos de transporte de los especímenes
- Museo o herbario en el cual se depositarán los duplicados.
- Tipo y forma de manejo del hábitat
- Materiales y equipos
- Resultados esperados
- Impactos ambientales potenciales del proyecto
- Hoja de vida de los investigadores principales
- Cronograma de trabajo, incluyendo fecha de entrega de los informes parciales, cuando la investigación tiene más de un año de duración, y del informe final

Art. 9.- Además del proyecto, los requisitos que deben cumplir tanto investigadores nacionales como extranjeros, para realizar actividades de investigación con el recurso flora y fauna silvestre son los siguientes:

- a) Solicitud del investigador dirigida al Director del Distrito Regional correspondiente, conteniendo datos generales como nombres completos, número de cédula de identidad, pasaporte, domicilio y objetivos de la investigación.
- b) Aceptación del compromiso de entregar al Ministerio del Ambiente dos copias en formato impreso, disquete o disco compacto de los resultados de la investigación, en idioma castellano. Para los estudios de tesis de licenciatura, doctorados u otros títulos profesionales, de investigadores nacionales, se deberá

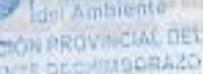
Oficio Nro. MAE-DPACH-2015-1104

Riobamba, 12 de mayo de 2015

entregar el informe final de los resultados correspondientes.
Adicionalmente, el investigador deberá entregar una copia de los resultados de su trabajo, a cada una de las Áreas Protegidas o Distritos Regionales donde se realizó la investigación.
La falta en la entrega de los resultados finales o informes parciales de avance, será causa suficiente para que el investigador no pueda continuar sus actividades de investigación en el país.
d) El investigador se compromete entregar al Ministerio del Ambiente el registro de las especies objeto de su investigación, en formato digital, incluyendo la localización exacta de los especímenes observados o colectados, con las coordenadas geográficas y otra información según el formato de la base de datos del Ministerio del Ambiente.

Con sentimientos de distinguida consideración,

Atentamente,



GOBIERNO
PROVINCIAL DEL
CHIMBORAZO

Ing. Marcelo Patricio Pino Cáceres
**DIRECTOR PROVINCIAL DEL AMBIENTE DE CHIMBORAZO,
ENCARGADO**

Referencias:
- MAE-DPACH-2015-1226

Anexos:
- img636.pdf

ma

Fotografía 15: Permiso del medio ambiente



Fotografía 18: Muestra recolectada de la planta cerraja fresca (*Sonchus oleraceus L.*)



Fotografía 19: Selección de las hojas libres de materias extrañas planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)



Fotografía 20: Limpieza y desinfección del material vegetal planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)



Fotografía 21: Secamiento de planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)



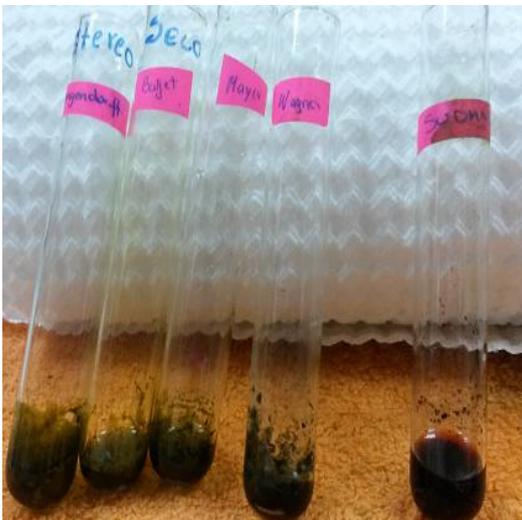
Fotografía 22: Muestra seca planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)



Fotografía 23: Almacenamiento de la muestra seca planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)

Anexo E: Tamizaje fitoquímico de los extractos planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) fresco y seco

Extracto seco



Fotografía 25: Extracto etéreo planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en seco

Extracto fresco



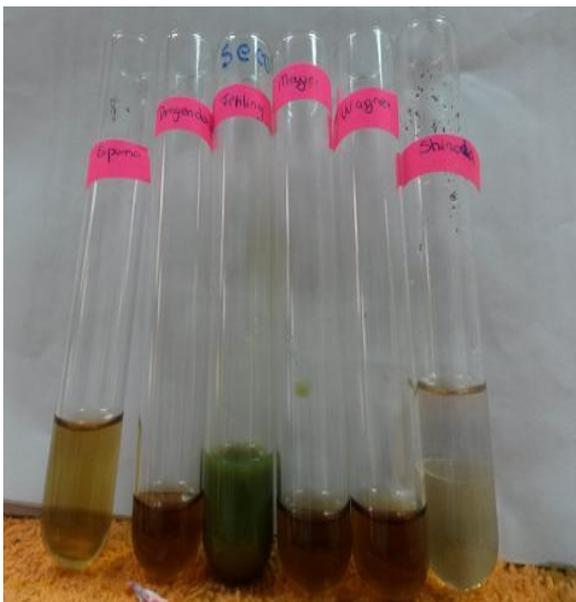
Fotografía 26: Extracto etéreo planta cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en fresco.



Fotografía 27: Extracto alcohólico planta cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) en seco.



Fotografía 28: Extracto alcohólico planta cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) en fresco.



Fotografía 29: Extracto acuoso planta cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) en seco.



Fotografía 30: Extracto acuoso planta cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) en fresco.

Anexo F: Control de calidad de la droga vegetal cruda cerraja (*Sonchus oleraceus* L.)



Fotografía 31: Determinación de humedad



Fotografía 32: Determinación de cenizas totales



Fotografía 33: Determinación de cenizas solubles en agua



Fotografía 34: Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

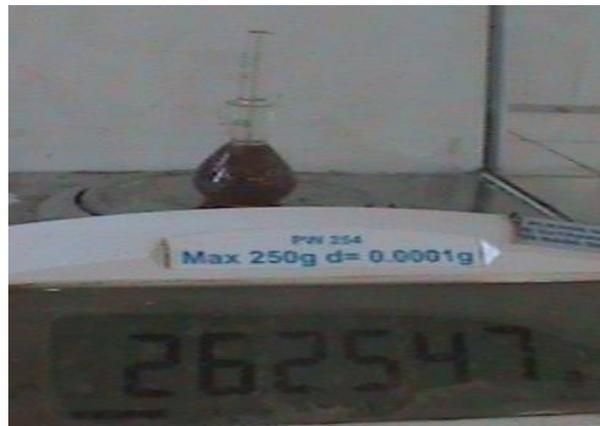
Anexo G: Determinación de parámetros físicos del control de calidad del extracto hidroalcohólico de cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)



Fotografía 35: Muestras para la medición



Fotografía 36: Determinación de pH



Fotografía 37: Determinación de densidad

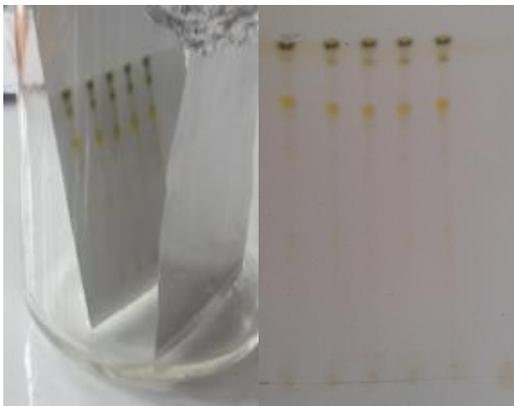


Fotografía 38: Determinación de Índice de refracción

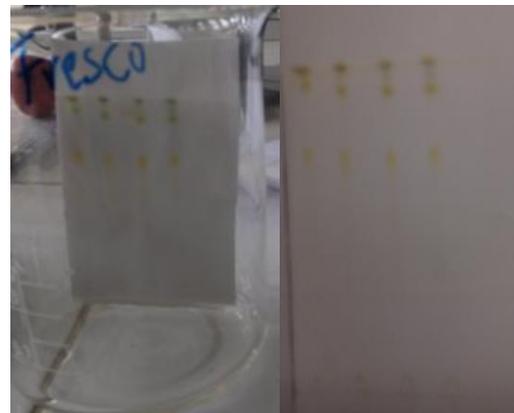


Fotografía 39: Determinación de Sólidos totales

Anexo H: Análisis cromatográfica en capa fina (TLC) de la planta (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra fresca y seca.



Fotografía 40: Placa cromatográfica en extracto seco



Fotografía 41: Placa cromatográfica en extracto fresco

Anexo I: Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales (método del AlCl_3) de la planta (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra fresca y seca.



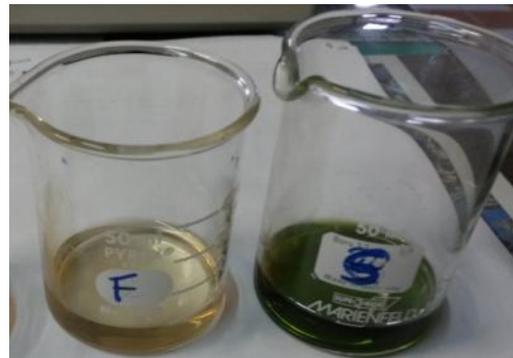
Fotografía 42: Preparación del estándar rutina



Fotografía 43: Estándar rutina a diferentes concentraciones



Fotografía 44: Reactivos para la reacción de la cuantificación de flavonoides



Fotografía 45: Muestra en fresca y seca para su posterior lectura por el método de (AlCl_3)

Anexo J: Determinación de compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu



Fotografía 46: Muestra en fresca y seca para su posterior lectura

Anexo K: Control microbiológico de la planta (*Sonchus oleraceus L.*) en muestra seca



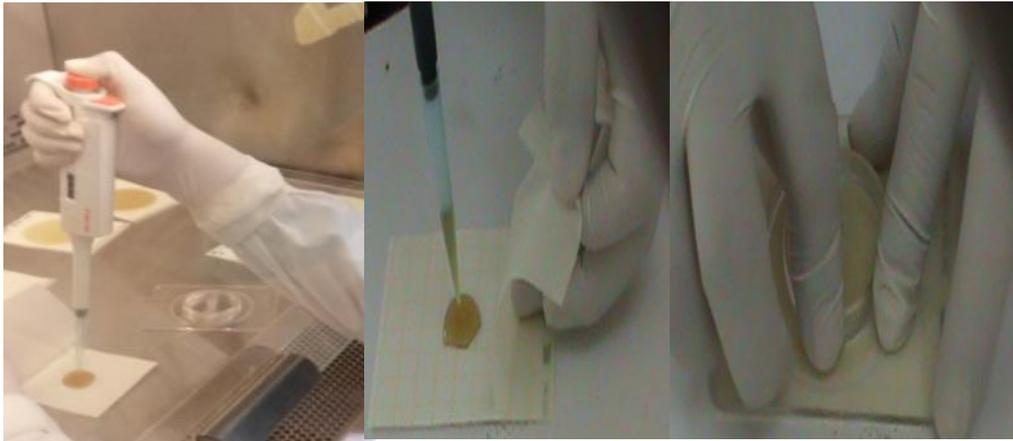
Fotografía 47: Muestra de los diferentes extractos 20 %, 40 % y 80 %



Fotografía 48: Siembra de aerobios mesófilos en Caja Petri



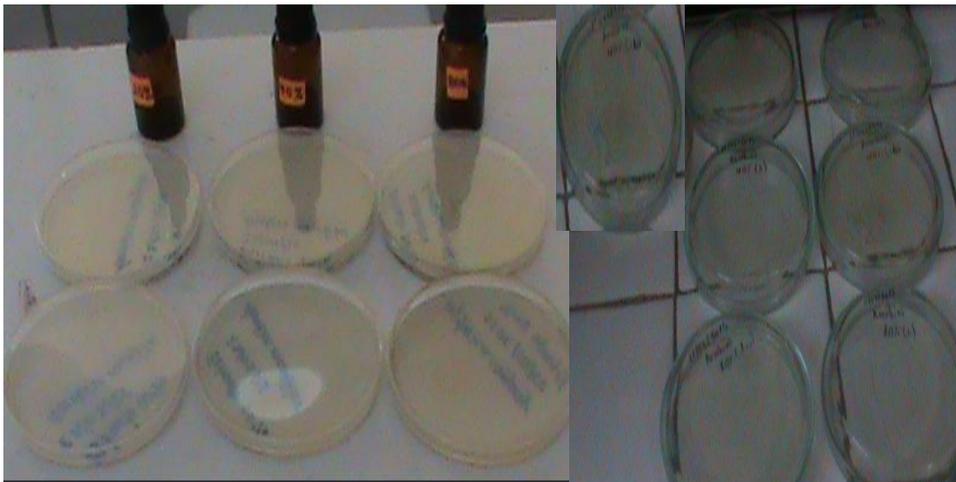
Fotografía 49: Siembra de coliformes totales en Placa Petrifilm



Fotografía 50: Siembra de mohos y levaduras en Placa Petrifilm



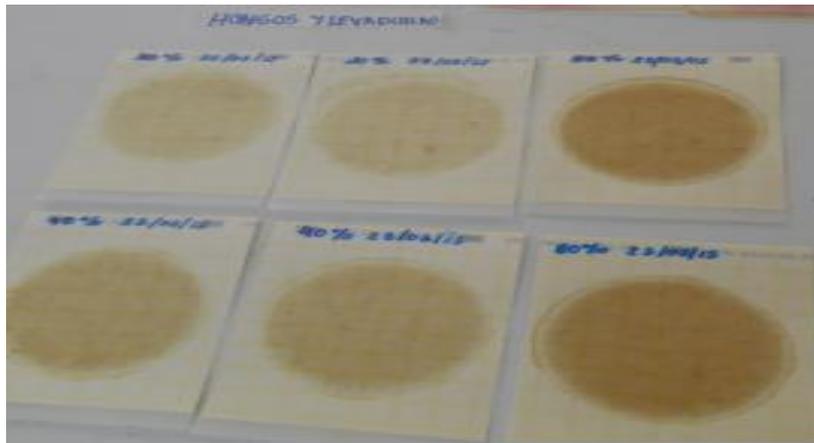
Fotografía 51: Siembra de coliformes totales y levaduras Placa Petrifilm de la muestra madre



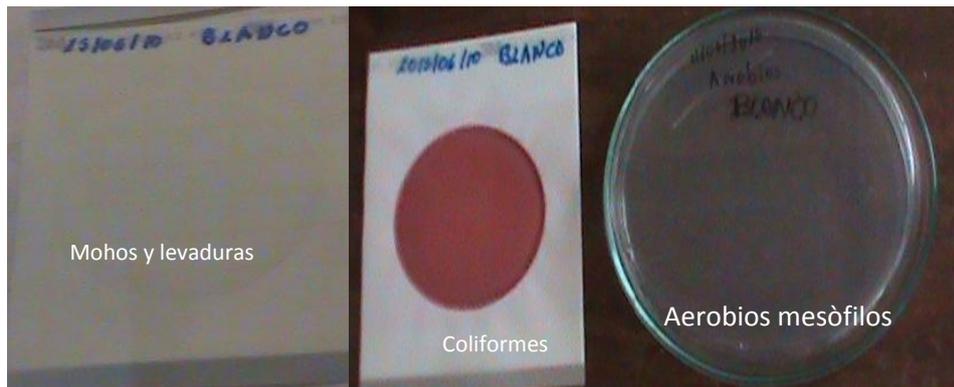
Fotografía 52: Recuento de aerobios mesófilos



Fotografía 53: Recuento de Coliformes totales y aerobios mesófilos



Fotografía 54: Recuento de mohos y levaduras



Fotografía 55: Recuento del Control blanco (agua destilada) para aerobios mesofilos, coliformes totales , mohos y levaduras

Anexo L: Obtención de extractos hidroalcohólicos del extracto cerraja (*Sonchus oleraceus L.*)



Fotografía 56: Preparación del extracto hidroalcohólico al 40 %



Fotografía 57: Diluciones del extracto hidroalcohólico al 20 %, 40 % y 80 %

Anexo M: Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) en ratones (*Mus musculus*).



Fotografía 58: Extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus L.*) 20 %, 40 % y 80 %



Fotografía 59: Crema comercial neomicina y prednisolona



Fotografía 60: Acondicionamiento de los reactivos biológicos antes de la experimentación
Grupo sin tratamiento (control negativo)



Fotografía 61: Control (+) crema neomicina y prednisolona



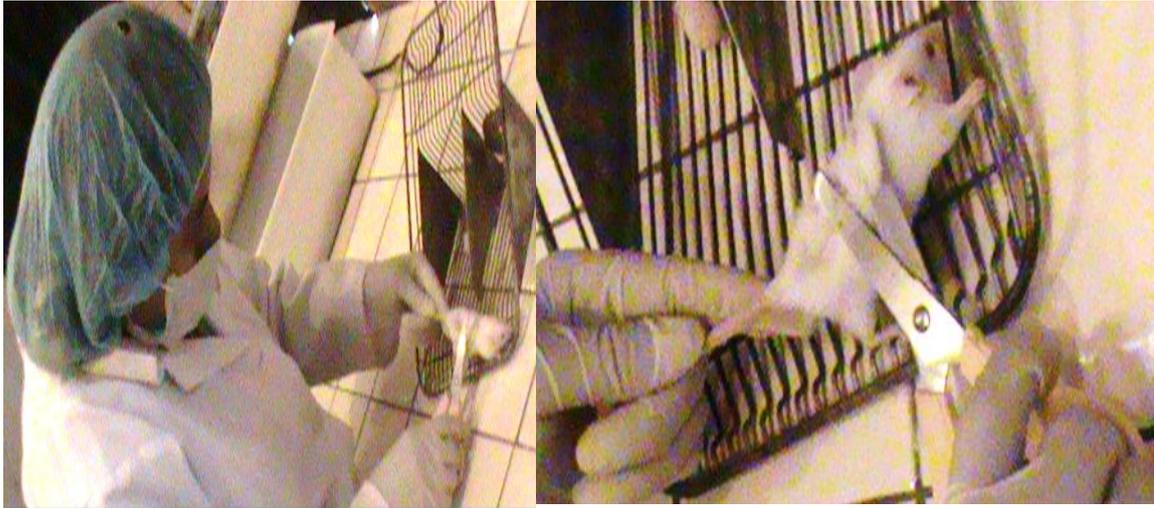
Fotografía 62: Control (+) eterol



Fotografía 63: Grupo con sus extractos al 20 %, 40 % y 80 %



Fotografía 64: Materiales para el proceso de la inducción de la herida



Fotografía 65: Corte de pelaje de los ratones (*Mus musculus*)



Fotografía 66: Depilación de la zona dorsal con la crema depiladora Veet



Fotografía 67: Administración tópica de lidocaína spray 10% antes de la inducción de la herida



Fotografía 68: Inducción de la herida

Anexo N: Aplicación de los tratamientos a los grupos experimentales por vía tópica



Fotografía 69: Aplicación de los extractos hidroalcohólicos

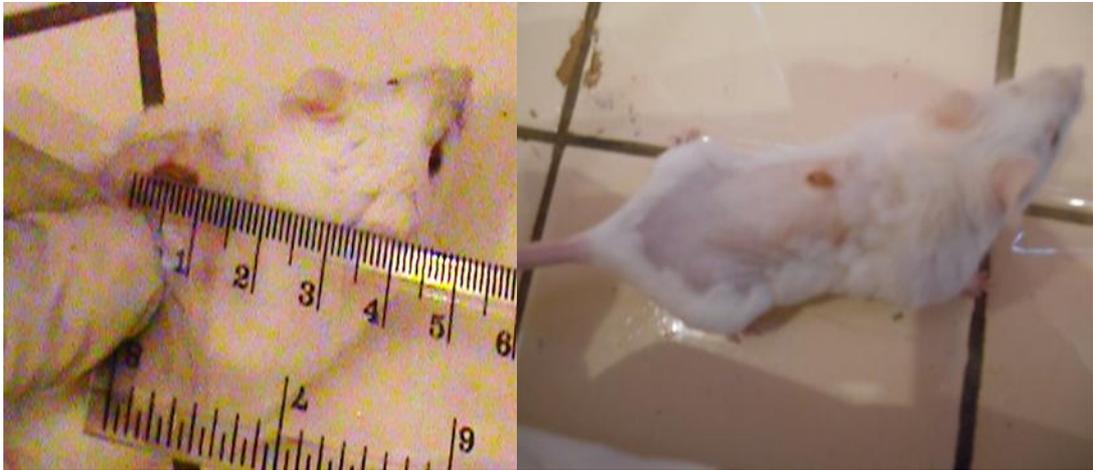


Fotografía 70: Aplicación del tratamiento control positivo tratado con crema neomicina y prednisolona



Fotografía 71: Aplicación del tratamiento control positivo tratado con eterol

Anexo O: Disminución de la longitud de la cicatriz durante el proceso de cicatrización



Fotografía 72: Crema neomicina y prednisolona



Fotografía 73: Eterol



Fotografía 74: Control negativo (blanco)



Fotografía 75: Extractos hidroalcohólicos al 20 %, 40 % y 80 %

Anexo P: Cierre de las heridas de todos los grupos experimentales



Fotografía 76: Cierre de heridas

Anexo Q: Análisis histopatológico de los grupos experimentales de ratones (*Mus musculus*)



Fotografía 77: Eutanasia a los diferentes grupos experimentales



Fotografía 78: Medición para el corte histopatológico



Fotografía 79: Corte histopatológico



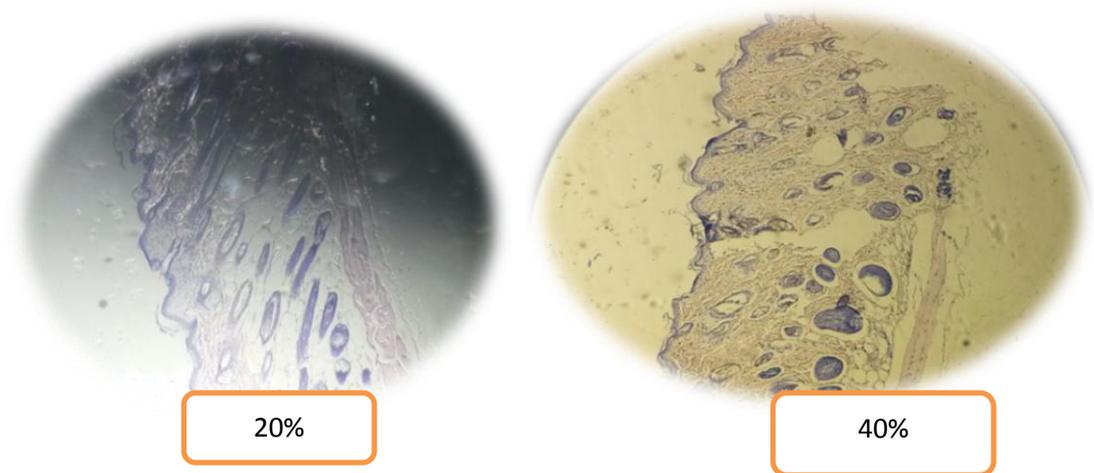
Fotografía 80: Muestras de pieles conservadas en formol 10 %



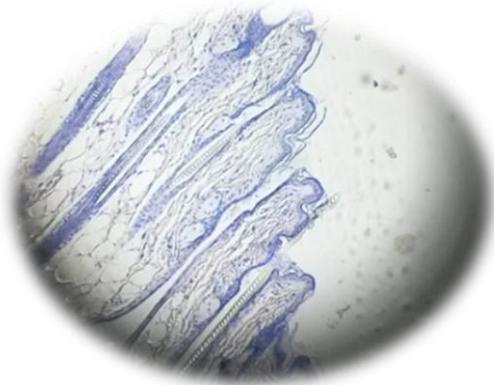
Fotografía 81: Preparación de muestras



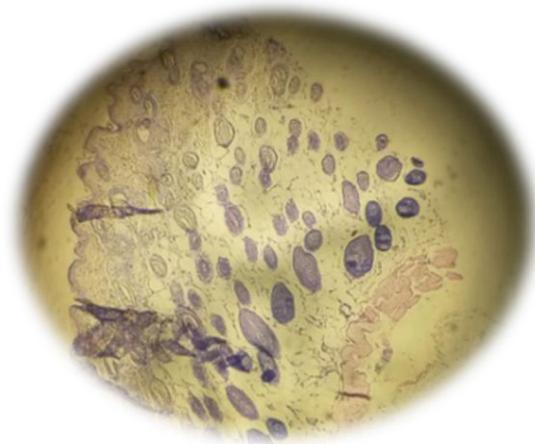
Fotografía 82: Fijación de placas



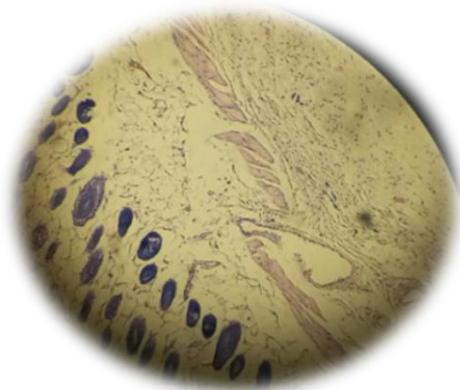
Fotografía 83: Examen microscópico de pieles tratadas con los extractos hidroalcohólicos cerraja(*Sonchus oleraceus L.*) 20%, 40%



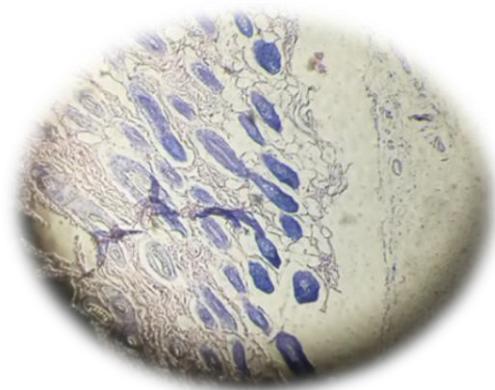
Fotografía 84: Examen microscópico de pieles tratadas con los extractos hidroalcohólicos cerraña(*Sonchus oleraceus* L.) 80 %



Fotografía 85: Examen microscópico de pieles tratadas sin tratamiento (grupo control negativo)



Fotografía 86: Examen microscópico de pieles tratadas con crema neomicina y prednisona



Fotografía 87: Examen microscópico de pieles tratadas con eterol