



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

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL
EXTRACTO DE LAS HOJAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum L*)
EN LESIÓN, INDUCIDA EN RATONES (*Mus musculus*)”**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: GLADYS ESPERANZA GUANO GUANO

TUTORA: DRA. ELIZABETH ESCUDERO VILEMA

Riobamba – Ecuador

2015

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El tribunal de Trabajo de titulación certifica que: El trabajo de titulación: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO DE HOJAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum*) EN LESIÓN, INDUCIDA EN RATONES (*Mus musculus*)” de responsabilidad de la Señorita Gladys Esperanza Guano Guano ha sido minuciosamente revisada por los Miembros del Tribunal de Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

Dra. Elizabeth Escudero

**DIRECTORA DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

Dr. Félix Andueza

MIEMBRO DE TRIBUNAL

Lcda. Karen Acosta

MIEMBRO DE TRIBUNAL

DOCUMENTALISTA

SISBIB ESPOCH

Yo, Gladys Esperanza Guano Guano soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo

GLADYS ESPERANZA GUANO GUANO

DEDICATORIA

Dedico este proyecto a DIOS, por ser la luz que me guía, fuente de sabiduría para tomar decisiones durante mi carrera estudiantil.

A mis padres y hermanos que son mi inspiración, por sus consejos y apoyo incondicional, por brindarme siempre fuerza y valor tanto en mis alegrías y tristezas.

Y a mis amigos, con quienes he compartido momentos inolvidables, que se han convertido en parte de mi familia.

De todo corazón les doy gracias por todo su apoyo para cumplir con una de mis metas propuestas.

Gladys

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
CERTIFICACIÓN.....	ii
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
INDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
ABREVIATURAS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
SUMMARY.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	
MARCO TEÓRICO.....	4
1.1 Antecedentes de investigación.....	4
1.2 Estudios realizados.....	4
1.3. Bases teóricas.....	5
1.3.1 Tomate (<i>Solanum lycopersicum L.</i>).....	5
1.3.1.1 <i>Historia.....</i>	5
1.3.1.2 <i>Descripción botánica.....</i>	6
1.3.1.3 <i>Hábitat.....</i>	6
1.3.1.3 <i>Etimología.....</i>	7
1.3.1.4 <i>Nombres comunes.....</i>	7
1.3.1.5 <i>Nombres científicos.....</i>	7
1.3.1.6 <i>Clasificación científica.....</i>	7
1.3.1.7 <i>Partes utilizadas.....</i>	7
1.3.1.8 <i>Propiedades medicinales.....</i>	8
1.3.1.9 <i>Componentes químicos del tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....</i>	8
1.3.1.10 <i>Actividad farmacológica.....</i>	9
1.4 Medicina tradicional.....	9
1.5 Fitomedicina.....	10
1.6 Principio Activo.....	10

1.6.1	Clasificación de los principios activos.....	11
1.6.1.1	Metabolitos primarios.....	11
1.6.1.2	Metabolitos secundarios.....	11
1.7	Metabolitos secundarios que intervienen en la cicatrización.....	11
1.7.1	Flavonoides.....	12
1.7.2	Taninos.....	12
1.7.2.1	Clasificación de taninos.....	13
1.7.2.1.1	Taninos hidrosolubles.....	13
1.7.2.1.2	Taninos condensados o proantocianidina.....	13
1.7.1.3	Propiedades de los taninos.....	13
1.8	Droga vegetal.....	14
1.9	Métodos de extracción.....	14
1.9.1	Maceración.....	14
1.9.2	Percolación o lixiviación.....	15
1.9.3	Extractos.....	15
1.10	La piel.....	15
1.10.1	Descripción de la piel.....	16
1.10.2	Estructura de la piel.....	16
1.10.2.1	Epidermis.....	16
1.10.2.2	Dermis.....	17
1.10.2.3	Hipodermis.....	17
1.10.3	Funciones de la piel.....	17
1.11	Herida.....	18
1.11.1	Clasificación de las heridas.....	18
1.11.1.1	Heridas cortantes o incisas.....	18
1.11.1.2	Heridas punzantes.....	18
1.11.1.3	Heridas corto-punzantes.....	18
1.11.1.4	Heridas laceradas.....	18
1.11.1.5	Raspaduras, excoiaciones o abrasiones.....	18
1.11.1.6	Heridas avulsivas.....	19
1.11.1.7	Heridas contusas.....	19
1.11.2	Tratamiento.....	19
1.11.3	Cicatrización.....	19
1.11.4	Fisiología de la cicatrización.....	19
1.11.4.1	Fase de inflamación.....	20
1.11.4.2	Fase proliferativa o de migración.....	20
1.11.4.3	Fase de remodelación tisular.....	21
1.11.5	Tipos de cicatrización.....	21

1.11.5.1	<i>De primera intención</i>	21
1.11.5.2	<i>De segunda intención</i>	21
1.11.5.3	<i>De tercera intención</i>	22
1.11.6	<i>Factores que influyen en la cicatrización de las heridas</i>	22
1.11.6.1	<i>Factores generales</i>	22
1.11.6.2	<i>Enfermedades de base</i>	23
1.11.6.3	<i>Medicamentos</i>	23
1.11.6.4	<i>Factores locales</i>	23
1.12	Material biológico	24
1.12.1	<i>El Ratón</i>	24
1.12.2	<i>Factores ambientales del ratón</i>	25
1.12.2.1	<i>Microambiente</i>	25
1.12.2.2	<i>Macroambiente</i>	25

CAPÍTULO II

MARCO METODOLÓGICO	26	
2.1	Lugar de investigación	26
2.2	Materiales, equipos y reactivos	26
2.2.1	<i>Material vegetal</i>	26
2.2.1.1	<i>Recolección y tratamiento del material vegetal</i>	26
2.3	Reactivo biológico	26
2.3.1	<i>Criterios de inclusión y de exclusión</i>	27
2.4	Materiales, equipos y reactivos para el control de calidad y el análisis farmacológico	27
2.5	Métodos y técnicas	28
2.5.1	<i>Pruebas de control de calidad de la droga vegetal</i>	28
2.5.1.1	<i>Determinación de humedad</i>	28
2.5.1.2	<i>Determinación de cenizas totales</i>	29
2.5.1.3	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i>	30
2.5.1.4	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	30
2.5.2	<i>Extracción sucesiva del material vegetal para determinar presencia de metabolitos</i>	31
2.5.2.1	<i>Análisis cualitativo de identificación (Tamizaje Fitoquímico)</i>	32
2.6	Obtención del extracto de las hojas de <i>Solanum lycopersicum</i>	36
2.6.1	<i>Proceso de maceración</i>	36
2.6.2	<i>Control de calidad del extracto</i>	36
2.6.2.1	<i>Parámetros físico-químicos aplicados al análisis de los extractos</i>	36
2.6.2.2	<i>Análisis microbiológico de los extractos</i>	37
2.6.3	<i>Cromatografía en capa delgada (TLC)</i>	38

2.7	Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides y fenoles totales.....	39
2.7.1	Cuantificación de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico.....	39
2.7.1.1	Preparación de la muestra.....	39
2.7.1.2	Tratamiento de la muestra.....	39
2.7.1.3	Curva de calibración.....	40
2.7.2	Cuantificación de flavonoides totales en extracto etanólico.....	40
2.7.2.1	Preparación de extracto.....	40
2.7.2.2	Cuantificación de flavonoides totales.....	40
2.7.3	Cuantificación de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico.....	41
2.7.3.1	Cuantificación de fenoles totales (Micrométodo de Folin-Ciocalteu).....	41
2.7.3.2	Curva de calibración.....	41
2.7.4	Cuantificación de fenoles totales en el extracto etanólico.....	41
2.7.4.1	Cuantificación de fenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu.....	41
2.8	Actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	42
2.8.1	Fase de aclimatación de los modelos experimentales.....	42
2.8.2	Fase de inducción de la lesión en los modelos experimentales.....	42
2.8.3	Fase de aplicación de los tratamientos a los modelos experimentales.....	43
2.8.3.1	Selección de los grupos experimentales.....	43
2.8.4	Análisis histopatológico.....	44
 CAPITULO III		
MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....		45
3.1	Control de calidad de la droga cruda de <i>Solanum lycopersicum</i>.....	45
3.2.	Tamizaje fitoquímico del extracto de las hojas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	46
3.3	Determinación de la calidad del extracto de las hojas de tomate (<i>S. lycopersicum</i>).....	47
3.3.1	Descripción de los parámetros organolépticos.....	47
3.3.2	Determinación de los parámetros físicos – químicos.....	48
3.4	Cromatografía de capa fina TLC.....	49
3.5	Análisis cuantitativo por espectrofotometría UV-V.....	49
3.5.1	Cuantificación de flavonoides totales expresados como quercetina.....	49
3.5.1.1	Cuantificación de flavonoides totales en el extracto de <i>Solanum lycopersicum</i> expresados como quercetina.....	49
3.5.2	Cuantificación de fenoles totales.....	50
3.5.2.1	Cuantificación de fenoles totales expresado como ácido gálico.....	51
3.6	Análisis microbiológico del extracto.....	51
3.7	Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de <i>S. lycopersicum</i> en ratones (<i>Mus musculus</i>). Bioterio. Facultad de	52

	Ciencias. ESPOCH. Julio 2015	
3.7.1	<i>Tiempo de cicatrización de heridas en los grupos experimentales</i>	52
3.7.2	<i>Análisis estadístico</i>	53
3.7.3	<i>Variación del tamaño de las heridas en el proceso experimental de cicatrización</i>	55
3.7.4	<i>Tiempo de formación y desprendimiento de la costra</i>	56
3.8	Examen histopatológico	58
	CONCLUSIONES	60
	RECOMENDACIONES	61
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1-1.	Clasificación científicamente de la planta de tomate (<i>S. lycopersicum L.</i>)....	7
Tabla 2-1.	Composición química de las hojas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	8
Tabla 3-1.	Métodos de extracción de extractos a partir de la droga vegetal.....	14
Tabla 4-1.	Clasificación taxonómica del ratón.....	24
Tabla 1-2.	Criterios de inclusión y exclusión para asignación de los grupos experimentales. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH.....	27
Tabla 2-2.	Materiales, equipos y reactivos para el control de calidad y el análisis farmacológico. Facultad de Ciencias. ESPOCH.....	27
Tabla 3-2.	Técnicas para el análisis cualitativo mediante reacciones de coloración y precipitación.....	34
Tabla 4-2.	Determinación de los requisitos organolépticos.....	36
Tabla 5-2.	Determinación de requisitos físico-químicos del extracto.....	37
Tabla 6-2.	Fase de aclimatación de los modelos experimentales.....	42
Tabla 7-2.	Asignación de los grupos experimentales.....	43
Tabla 1-3.	Control de calidad de la materia vegetal seca de (<i>S. lycopersicum</i>). Laboratorios. Facultad de ciencias. ESPOCH. Mayo 2015.....	45
Tabla 2-3.	Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de tomate (<i>S.</i> <i>lycopersicum</i>). Laboratorios. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2015...	46
Tabla 3-3.	Descripción de los requisitos organolépticos del extracto de las hojas tomate (<i>S. lycopersicum</i>). Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2015.....	48
Tabla 4-3.	Determinación de los parámetros físicos del extracto de las hojas de tomate (<i>S. lycopersicum</i>). Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2015.....	48
Tabla 5-3.	Análisis cualitativo de identificación de metabolitos del extracto de las hojas de tomate (<i>S. lycopersicum</i>). Laboratorios. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Junio 2015.....	49
Tabla 6-3.	Determinación cuantitativa del contenido de flavonoides totales equivalentes a quercetina de los extractos de las hojas de tomate (<i>Solanum</i> <i>lycopersicum</i>). Laboratorios. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Junio 2015...	50
Tabla 7-3.	Determinación cuantitativa del contenido de fenoles totales equivalentes a ácido gálico en el extracto de las hojas de tomate (<i>S. lycopersicum</i>). Facultad de ciencias. ESPOCH. Junio 2015.....	51

Tabla 8-3.	Determinación de los parámetros microbiológicos del extracto de las hojas de tomate (<i>S. lycopersicum</i>). Facultad de Ciencias. ESPOCH. Junio 2015...	51
Tabla 9-3.	Actividad cicatrizante del extracto de las hojas de <i>S. lycopersicum</i> en ratones evaluado según los días de cicatrización de los grupos experimentales. Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio 2015.....	52
Tabla 10-3.	Análisis de Anova unifactorial realizado según los resultados obtenidos de los días de cicatrización de los diferentes grupos experimentales. Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio 2015.....	53
Tabla 11-3.	Análisis estadístico usando test de tukey para los días de cicatrización de los diferentes grupos experimentales. Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio 2015.....	54
Tabla 12-3.	Actividad cicatrizante del extracto de las hojas <i>S. lycopersicum</i>) evaluado según el tamaño de la herida. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2015.....	55
Tabla 13-3.	Actividad cicatrizante del extracto de las hojas de <i>S. lycopersicum</i> evaluado según el tiempo que tarda en formarse y desprenderse la costra. Bioterio Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2015.....	56
Tabla 14-3.	Examen histopatológico de la piel de los ratones (<i>Mus musculus</i>) sujetos al proceso experimental para la evaluación del efecto cicatrizante. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2015.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1-2. Extracción sucesiva del material vegetal para determinar la presencia de metabolitos secundarios.....	31
Figura 2-2. Análisis cualitativo de identificación en el extracto etéreo.....	32
Figura 3-2. Análisis cualitativo de identificación en el extracto etanólico.....	33
Figura 4-2. Análisis cualitativo de identificación en el extracto acuosa.....	33
Figura 1-3. Tiempo de formación y desprendimiento de la costra. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH (Julio 2015).....	57

INDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráficos 1-1. Tomate <i>Solanum lycopersicum</i>	6
Gráficos 2-1. Corte transversas de la piel.....	15
Gráficos 3-1. Diagrama de la regeneración de un tejido alterado.....	20
Gráficos 4-1. Reepitalización. Cicatrización por primera intención.....	21
Gráficos 5-1. Contracción de la herida. Cicatrización por segunda intención.....	22
Gráficos 6-1. El Ratón: Microambiente y Macroambiente.....	25

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A	Curva de calibración de flavonoides
Anexo B	Curva de calibración de fenoles totales
Anexo C	Control de calidad de la materia prima
Anexo D	Preparación de los extractos de las hojas de tomate
Anexo E	Tamizaje fitoquímico del extracto de las hojas de tomate
Anexo F	Cromatografía de capa fina
Anexo G	Control de calidad del extracto de las hojas de tomate.
Anexo H	Cuantificación de flavonoides y fenoles totales por espectrofotometría UV-V.
Anexo I	Análisis microbiológico del extracto
Anexo J	Aclimatación de los animales de experimentación
Anexo K	Asignación de grupos experimentales para la actividad cicatrizante
Anexo L	Depilación del dorso de la piel
Anexo M	Inducción de heridas a los modelos experimentales
Anexo N	Aplicación de los tratamientos experimentales
Anexo O	Cicatrización de las heridas posterior a la aplicación de los tratamientos
Anexo P	Seccionamiento de la piel para realizar el análisis histopatológico
Anexo Q	Fotografías del examen histopatológico de la piel de los ratones (<i>Mus musculus</i>)
Anexo R	Normas Técnicas NTE INEN 2392-2007

ABREVIATURAS

cm	Centímetros
mm	Milímetros
Ac	Ácido
oms	organización mundial de la salud
mg	Miligramo
mL	Mililitro
µL	Microlitro
L	Litro
kg	Kilogramo
ppm	partes por millón
pH	potencial de hidrógeno
Rf	factor de retención
T	Temperatura
%	Porcentaje
°C	grados Celsius
TLC	cromatografía de capa delgada
UV	Ultravioleta

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*), ejecutada en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Para el efecto se utilizó el extracto del vegetal y 24 ratones, asignados en 6 grupos experimentales que son: grupo B (sin tratamiento), dos grupos control positivo (C y D) tratados con una crema a base (Acetato de Prednisolona 0,5g y Sulfato de Neomicina 0,5g) y Alcohol al 40% respectivamente y tres grupos experimentales (X, Y, y Z) los cuales recibieron extracto de las hojas del vegetal a concentraciones de 25%, 50% y 75%. En la cuantificación de metabolitos secundarios se muestra el contenido de flavonoides totales equivalentes a Quercetina; de 0,799 mg/g materia seca en el extracto Hidroalcohólico y de 2,93 mg/g materia seca en el extracto etanólico. A su vez en el contenido de fenoles totales equivalentes de ácido gálico de 1,29 mg/g materia seca en el extracto hidroalcohólico y 3.44 mg/g materia seca en el extracto etanólico. El tratamiento se aplicó por vía tópica cada 12 horas durante 15 días, se midió el tiempo de cicatrización y longitud de la herida hasta el desprendimiento de la costra, cuyos resultados se analizaron estadísticamente mediante el test Anova y Tukey, con un intervalo de confianza del 95% se mostró la efectividad del tratamiento aplicado. Se concluye que el tratamiento con extracto al 75% aplicado en lesiones inducidas ofrece resultados más eficaces, con cicatrización en 7 días y extraordinaria regeneración celular en heridas menores, a través de la vía tópica y no presenta reacciones adversas a nivel cutáneo. Se recomienda formular un fitofármaco para facilitar la utilización del extracto de las hojas de *Solanum lycopersicum*.

PALABRAS CLAVES: <FARMACIA> <HOJAS DE TOMATE [*Solanum lycopersicum*]>
<RATONES [*Mus musculus*]> <HERIDAS CORTANTES> <ACTIVIDAD
CICATRIZANTE> <EXTRACTO ETANÓLICO> <CICATRIZACIÓN>

SUMMARY

This research had as objective to evaluate the healing activity of the tomato leaves (*Solanum lycopersicum*) in lesions induced in mice (*Mus musculus*), executed in the Vivarium in the Faculty of Sciences of the Polytechnic School of Chimborazo. For the effect, it was used the extract of vegetal and 24 mice, assigned in 6 experimented groups that are: Group B (untreated), two groups positive control (C and D) treated with cream base of (Prednisolone Acetate 0,5g), and alcohol to 40% respectively and three experimental groups (X, Y and Z), which received the extract of the vegetal leaves to concentrations of 25%, 50% and 75%. In the quantification of secondary metabolites, it has shown the total flavonoid content equivalent to quercetin of 0.799 mg/g dry matter in the hidroalcoholic extract and of 2.93 mg/g dry matter in the ethanol extract; while the total phenols content equivalent to galic acid of 1.29 mg/g dry matter in the hidroalcoholic extract and of 3.44 mg/g dry matter in the ethanol extract. The treatment was applied topically every 12 hours for, every 15 days, the time of healing was measured and the length of the wound until the detachment of the crust, which the results were statistically analyzed by the Anova and Tukey test, with a confidence interval of 95%, it showed the effectiveness of the treatment applied. It concludes that treatment with extract to 75%, applied in induced injury provides more effective results, with healing in 7days average and extraordinary cellular regeneration in minor injuries, through the topically and no presents adverse reactions at cutaneous level. It is recommended to formulate a phytodrug, to facilitate the use of the extract of the *Solanum lycopersicum* leaves.

KEY WORDS: <PHARMACY> <TOMATO LEAVES [*Solanum lycopersicum*]> <MICE [*Mus musculus*]> <WOUNDS CUTTING> <HEALING ACTIVITY> <ETHANOL EXTRACT> <HEALING>

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional desempeña un papel importante en la Atención Sanitaria, su uso en la salud es preferido en diferentes partes del mundo, ya sea directa o en forma de preparados farmacéuticos. Afortunadamente, en países en vías de desarrollo, la medicina tradicional ofrece una fuente más accesible de atención sanitaria. Según la organización mundial de la salud (OMS), la medicina tradicional se describe como prácticas y conocimientos bajo un sinnúmero de creencias sanitarias, donde intervienen plantas y minerales como terapias medicinales con el fin de preservar la salud, diagnosticar y prevenir enfermedades. OMS, 2002, pp. 17-18 y 77-78

Dado que el hombre esta propenso a múltiples peligros, en especial los problemas físicos de salud, originados por cortaduras y/o laceraciones, mordeduras, lesiones cutáneas e incluso quemaduras, ha generado graves inconvenientes a partir del cual surge la necesidad de realizar estudios científicos buscando nuevas alternativas medicamentosas, haciendo énfasis en el uso de las plantas medicinales de nuestro medio.

La piel es un revestimiento flexible autosuficiente con una barrera semipermeable que depende del riego sanguíneo para efectuar sus funciones. Siendo la piel el órgano principal que sirve de protección, nos aguarda de agentes microbianos, cuerpos extraños, agresiones físicos-químicos y biológicos; que provocan la destrucción de los tejidos generando heridas por destrucción de la epidermis, que a la vez pueden ser dolorosos e incluso sufrir irritaciones o infecciones por una invasión bacteriana. Campoverde, J; Verdugo, M. 2008; pp. 24-26

La cicatrización de heridas en humanos se da, en su mayoría por reparación que implican procesos fisiológicos, bioquímicos e histológicos que se producen en una secuencia conocida y ordenada. Campoverde, J; Verdugo, M. 2008; pp. 24-26

Sabiendo que las heridas son la interrupción total o parcial de la integridad de la piel, su curación se basa en procesos de hemostasia, proliferación y remodelación de tejidos. El tiempo de regeneración de los tejidos depende de la ubicación y clasificación clínica de la herida. Zamide, E; et al 2015, pp.1-6

La *Solanum lycopersicum* es una especie disponible en todo el mundo y fácil de cultivar, contiene metabolitos secundarios de utilidad farmacológica, como son compuestos fenólicos, flavonoides y glicoalcaloides entre otras. Zamide, E; et al 2015, pp.1-6

Por varios años, el ser humano ha utilizado plantas con el propósito de curar enfermedades y aliviar el sufrimiento físico. Diferentes literaturas científicas indican reportes del uso tradicional de plantas medicinales en sus variadas formas de preparación para tratar diversas afecciones. Santamaría, L, 2011, pp. 1-3

El contenido de metabolitos secundarios en las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*), indica sus propiedades medicinales a nivel cutáneo, satisfaciendo la actividad regenerativa basado en el crecimiento de fibroblastos el mismo que da paso al aumento en el contenido de colágeno. Dando lugar a la elaboración del extracto de hojas de dicho vegetal facilitando su uso en las zonas afectadas, de manera que restaure el aspecto de la piel. Zamide, E; et al 2015, pp.1-6

Se ha considerado la investigación acerca de la planta de *Solanum lycopersicum* por ser fácilmente cultivada en el Ecuador, cuyo fruto es muy utilizado por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, y para los casos de resfriados en nuestro país. Sin embargo en las comunidades de países vecinos como lo es Colombia utilizan las hojas de la planta anteriormente mencionada en decocción, infusión o macerado, por sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas y como astringente y/o cicatrizante; según indica un estudio realizado por la Universidad de Antioquia en Colombia. Pero aún no se han realizado análisis científico para determinar la efectividad de su uso. Sarrazola, A; et al. 2006, <http://scielo.sld.cu>

Las plantas medicinales son fuente común de productos destinados a la medicación. Actualmente existen diversos tratamientos para la reparación de heridas, sin embargo se procura obtener productos de origen vegetal que satisfaga la cicatrización, que sean, eficaces, seguros y autosustentables para la atención sanitaria. Esta investigación se enmarca en incentivar a estudio científico de múltiples plantas existentes en nuestro país, que aún no son conocidos y que podrían presentar excelentes alternativas médicas.

Según la organización mundial de la salud (OMS), planta medicinal es cuando uno o más de sus órganos contiene sustancias con actividad farmacológica, entre una de estas tenemos el tomate (*Solanum lycopersicum*), cuyas hojas contiene varios compuestos activos, para el tratamiento de diversas enfermedades. Campoverde, J; Verdugo, M. 2008, 24-26

La *Solanum lycopersicum* una especie poco estudiada desde el punto de vista farmacológico, sin embargo algunas evidencias científicas encontradas indican que el extracto de las hojas tienen actividad antiinflamatoria e incluso se han desarrollado estudios de toxicidad aguda de dicho

vegetal, de allí que su estudio es novedoso e importante. Azura, A, et al, 2011, pp. 18674-18678; Shukla, P. y Kumar, S. 2015, pp. 361-366.

Los resultados obtenidos de esta investigación contribuyen como soporte científico para la elaboración de Fitofármacos, respaldando así la actividad cicatrizante mediante la aplicación del extracto de las hojas de tomate.

En la presente investigación se evaluó la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en pruebas “In Vivo”, utilizando extractos a diferentes concentraciones; con el propósito de comprobar su eficacia en heridas inducción en ratones (*Mus musculus*), con la finalidad de contribuir con la validación científica sobre su uso, la parte experimental se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de productos naturales e investigación y desarrollo, análisis instrumental, microbiología, farmacología y el Bioterio de la Facultad de Ciencias, ESPOCH.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la actividad cicatrizante del extracto de hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*).

Objetivos específicos

- Realizar el control de calidad del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*).
- Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*).
- Cuantificar el contenido metabolitos secundarios encargados de la actividad cicatrizante (Flavonoides y Fenoles totales) en el extracto.
- Determinar mediante la aplicación del extracto por vía tópica el efecto cicatrizante en ratones (*Mus musculus*).

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes de investigación

En diferentes partes del mundo, las plantas medicinales son consideraras como recursos terapéuticos primordiales en la medicina tradicional y forma parte fundamentas en las Farmacopeas. Las plantas medicinales benefician a la salud humana, en la rehabilitación de una gran variedad de afecciones, como pueden ser la diabetes, enfermedades infecciosas, enfermedades renales, heridas entre otras. Su utilidad viene desde épocas primitivas, incluso la medicina más antigua es la fitoterapia. Salud y Medicina, 2010, <http://es.slideshare.net>

Los primeros relatos acerca de la cicatrización de heridas nacen hace aproximadamente 2000 años a.C. Sin embargo un gran número de plantas medicinales aun no son utilizadas como medicamentos, una de esas plantas, es la especie *Solanum lycopersicum* conocida como “tomate”. Es nativa de América del Sur, y crece en climas templados de todo el mundo. Esta universalmente disponibles y fácil de cultivar en diferentes partes de mundo. Salud y Medicina, 2010, <http://es.slideshare.net>

Durante los últimos años se mantiene el uso de plantas medicinales, ya sea como infusiones, emplastos y/o cataplasmas, y en forma de extractos estandarizados, respaldados con las más recientes tecnologías farmacéuticas. Debido a la tendencia del presente estudio, se especifica a continuación algunas investigaciones realizadas en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) y su actividad farmacológica.

1.2 Estudios realizados

Azura, en su investigación muestra que las hojas de planta de tomate que contiene varios compuestos activos, como alcaloides, esteroides y flavonoides que son utilizado para el tratamiento de diversas enfermedades como anticancerígeno, antioxidante y anti-gota. Este estudio, tuvo como fin observar la acción anti-inflamatoria del extracto de *Solanum lycopersicum* en lipopolisacárido (LPS) estimulada por los macrófagos, su actividad inhibidora

y la inflamación se investigó mediante la observación de la producción de prostaglandina E2 (PGE2), usando la enzima PGE2 kit de ensayo inmunométrico. Cuyos resultados muestran que el extracto de hojas de tomate redujo la actividad de mediadores inflamatorios (PGE2), que desempeña un papel central en la actividad inflamatoria. Por lo tanto, este estudio puede apoyar el uso potencial de las hojas de extracto de *Solanum lycopersicum* en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria relacionada a través de la inhibición de PGE2 liberada. Azura, A, et al, 2011, pp. 18674-18678.

Un estudio de la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de hojas de *Solanum lycopersicum* en ratones; muestra que no se observó efecto tóxico hasta 2000 mg/kg de EESL. Los resultados de este estudio han demostrado que la administración de extracto etanólico de las hoja de *Solanum lycopersicum* puede ser seguro, ya que la DL50 no se pudo determinar a las dosis dadas. Shukla, P. y Kumar, S. 2015, pp. 361-366.

Estudio realizado por Zamide, sobre el efecto que tienen los extractos metanólicos de las hojas de *Lycopersicon esculentum*, en la cicatrización de heridas en ratas Wistar, muestra resultados de la estimación de las tasas de contracción de la herida. La Fibroplasia y la angiogénesis se evaluaron histológicamente. Las secciones histológicas de los tejidos de granulación y la cicatriz revelaron abundancia de colágeno y la escasez de macrófagos en el grupo experimental. El extracto de la hoja de *Lycopersicon esculentum* promueve la cicatrización de heridas a través de la actividad bactericida, el inicio rápido y la aceleración de la contracción de la herida, el aumento de la producción de fibroblastos y la síntesis de colágeno. Zamide, E; et al 2015, pp. 55-60.

El tomate *Solanum lycopersicum*, en la medicina alternativa ha sido utilizado como cataplasma para tratar inflamaciones y favorece a la cicatrización; no obstante, se dispone de poca información científica con respecto a esta especie de ahí lo novedoso de esta investigación.

1.3. Bases teóricas

1.3.1 Tomate (Solanum lycopersicum L.)

1.3.1.1 Historia

La planta de tomate fue cultivada inicialmente como entretenimiento en los jardines para adorno, esta planta fue introducida a Europa por los españoles. En Alemania y Francia consideraban a la planta de tomate como nocivo, que afectaba a la salud provocando vómitos y

diarreas irreprimibles. Sin embargo en Alemania se cultivó el tomate como fruto comestible a principios del siglo XX, mientras que en Perú ha sido utilizada tradicionalmente sus frutos como callicida y en gargarismo para tratar inflamaciones de las amígdalas. Arango, M, M. 2006, pp. 319-321

Esta especie de tomate es originaria de Sudamérica, de ahí ha sido distribuido a nivel mundial hasta la actualidad, en sus inicios fueron rechazados por su fama de cultivo venenoso. Debido a que existían especies que pertenecían a la misma familia de la Solanaceae, que si presentaban sustancias venenosas. Verónica, P, 2015, <http://www.jardinbotanico-clm.com>



Gráficos 1-1. Tomate *Solanum lycopersicum*
Fuente: Debalconesyflores, 2015

1.3.1.2 Descripción botánica

Es una planta anual cultivada de tallo débil, rastrero, hirsuto en las ramas paulatinamente glandulares; con hojas alternas, pinnatisectas con pinas pubescentes, ápice agudo y borde dentado. Sus flores amarillas en forma de racimos, los frutos son bayas carnosas de forma, y tamaño variado, de color generalmente rojo. Toda la planta de tomate posee un aroma fuerte y jugo acuoso. ARANGO, M. 2006, pp. 319-321; ARGERICH, Cosme; y GAVIOLA, Julio. 2011, pp. 5-8

1.3.1.3 Hábitat

Se encuentra en las Zonas Cálidas de toda América, es cultivada en la mayoría de los países cálidos y templados. Arango, M, M. 2006, pp. 319-321

1.3.1.3 Etimología

La planta de tomate denominada en latín botánico "planta de amor". En 1753 el tomate se colocó en el género *Solanum* por Linneo como *Solanum lycopersicum* L. (derivación, 'Lyc', lobo, además de 'persicum', melocotón, es decir, "lobo-melocotón"). SHUKLA, P; et al 2013, pp. 521-526

1.3.1.4 Nombres comunes

Tomate, Nautle y Jitomate (México), Tomato (inglés), Tomatera

1.3.1.5 Nombres científicos

Solanum lycopersicum

1.3.1.6 Clasificación científica

Tabla 1-1. Clasificación científicamente de la planta de tomate (*S. lycopersicum* L.)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	
Nombre Común	Tomate, Jitomate, Nautle, Tomato
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Filo	Angiosperms
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Lycopersicum</i>

Fuente: SHUKLA, P; et al 2013

1.3.1.7 Partes utilizadas

Del tomate se utiliza la planta entera y fresca Fonnegra, G. R; y Jiménez, S, 2007, pp. 311.

1.3.1.8 Propiedades medicinales

La planta de tomate, presenta varios usos medicinales y aplicaciones curativas, las mismas que se condensan en su hojas y frutos. Esta planta denominada científicamente como *Solanum lycopersicum*, presenta propiedades medicinales significativos, las cuales pueden disponerse para tratar o prevenir la aparición de posibles enfermedades degenerativas. Olguin, S; 2010, <http://www.plantasparacurar.com>

Las hojas de tomate poseen propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes, que son aprovechados mediante la aplicación de una infusión de las hojas, mediante aplicación de cataplasma y/o emplastos. Las cuales son colocándolas sobre las heridas superficiales afectadas, beneficiando así su cicatrización. Olguin, S; 2010, <http://www.plantasparacurar.com>

Los frutos también son empleados para uso medicinal como astringentes, antiacné, antioxidante, tonificante e hidratante de la piel, principalmente del rostro. La preparación se basa en pelar un tomate y machacarlo, aplicarlo sobre el cutis por unos minutos. S, Frank. y D, Amelio. 1998. pp: 201-202

El Inglés William Salmon en 1710 propuso la utilización de tomates para el tratamiento de quemaduras, picazón, úlceras, llagas, dolores de cabeza, dolor en el pecho, la voz ronca, la gota. William Salmon citado Shukla, P; et al 2013, pp. 521-526

1.3.1.9 Componentes químicos del tomate (*Solanum lycopersicum*)

Tabla 2-1. Composición química de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*)

<i>Alcaloides</i> <i>Esteroidales</i>	Las hojas poseen grupos glúcidos de esteroides, a manera de glicoalcaloides, localizándose en mayor proporción en los frutos y semillas. Los más representativos son la solanina y solasodina.
<i>Saponinas</i> <i>Esteroidales</i>	Son las sapogeninas tales como diosgenina, hispigenin, neochlorogenin, solagenin, tígogenina, y amogenina. Sin embargo en la <i>S. lycopersicum</i> , las saponinas existentes son solanigrosides 2-7, degalactotigonin. La degalactogonin es la única saponina toxica.
<i>Flavonoides</i>	En las hojas se encuentran compuestos flavónicos como las flavononas que son la Neringenin, Calconaringenin y flavonoles como rutina, quercetina, kaempferol, α -tocoferol, polifenoles. Además de estos compuestos en las hojas también se encuentra el ácido hidroxicinámico como el ácido cafeíco y el ácido ferúlico.

<i>Glucósido y derivado de ácido grasos</i>	Tanto en el fruto como en las hojas se encuentran los esculósido A, ácido 1,9-oxo-octadecadienoico.
<i>Carotenoides</i>	Se encuentra mayoritariamente en el fruto, como son el licopeno, luteína, Zexanthin y β -caroteno.

Fuente: Shukla, P; et al 2013; Fonnegra, G. R; y Jiménez, S, 2007

1.3.1.10 Actividad farmacológica

La planta de *Solanum lycopersicum*, presenta una serie de acciones farmacológicas, tales como antihelmíntico, anti-inflamatorio, anticancerígeno, contra el estrés oxidativo y los antioxidantes, anti-agregación plaquetaria, antifúngicos y acciones biológicas, evitando la actividad de quinasa, actividad enzimática, de alta actividad de la invertasa. (Shukla, P; et al 2013, pp. 521-526)

Usado para tratar el reumatismo, la gripe, la fiebre, en cuidados de la nariz, ojos, cabeza, zonas respiratorias, en la disminución del riesgo de cáncer de mama, cabeza y cuello, de protección contra las enfermedades neurodegenerativas. Palomo, I, et al, 2010, pp. 1-6

1.4 Medicina tradicional

La medicina tradicional abarca una amplia variedad de terapias y prácticas que varían entre países y entre regiones. En algunos países se denomina medicina alternativa o complementaria. En el Ecuador la medicina tradicional, viene desde la prehistoria y está sustentada en satisfacer las necesidades medicinales de los pueblos; andinos, mestizos, montubios, campesinos entre otros, ya que es una alternativa menos costosa y de fácil acceso. Los chamanes o científicos primitivos usan los conocimientos y saberes de sus antecesores con el propósito de velar por las funciones físicas, psíquicas y biológicas de cada individuo de su pueblo. Benites, Elizabeth. 2008, <http://www.elizabethbenites.com>

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

Se denomina también como medicina del campo que atiende los curanderos y que se transmite de generación en generación. Que lejos de ser exclusivamente curativa, la medicina tradicional considera elementos de promoción y protección de la salud, que tienden a prevenir la

enfermedad, diagnosticarla y tratarla en forma temprana, y a evitar el agravamiento del mal. Redrobán, V. K, 2012, pp. 1-5

1.5 Fitomedicina

La Fitomedicina se define como la medicina que se emplea de forma terapéutica las plantas en forma de infusiones, decocciones, extractos u otras formas. Dentro de ella se engloban la Fitofarmacología y la fitoterapia. Farmacia, 2014, <http://www.blogdefarmacia.com>

Es un tipo de medicina alternativa que se basa en el uso de plantas y vegetales para la curación, y para restablecer el equilibrio que se necesita, en base a la terapia con hierbas medicinales. Estudia las propiedades de las plantas medicinales y su uso, buscando aliviar el estado de las personas en cuanto a males y enfermedades. Farmacia, 2014, <http://www.blogdefarmacia.com>

La Organización Mundial de la Salud (OMS), definen la Fitomedicina como la aplicación de principios activos de origen vegetal en terapéutica, basado en el conocimiento científico moderno, esto es una base que se sostiene en los pilares fundamentales de la farmacología y la terapéutica moderna: farmacodinamia, farmacocinética, estudios preclínicos, clínicos y la divulgación de éstos a través de medios reconocidamente validados por las comunidades científicas. Redrobán, V. K, 2012, pp. 1-5

1.6 Principio Activo

Los principios activos son sustancias que están localizados en diferentes órganos de las plantas, que de alguna manera alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano.

Se han descubierto una gran variedad de principios activos gracias a las investigaciones científicas realizadas, los cuales desde el punto de vista de salubridad entre los más importantes tenemos los aceites esenciales, alcaloides, los glucósidos o heterósidos, mucílagos y gomas, y los taninos. Aunque en las plantas se pueden encontrar otros compuestos relevantes como nutrientes esenciales, vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos y fibras, azúcares diversos, ácidos orgánicos, lípidos y los antibióticos. Santamaría, E, 2013, pp. 26-29

1.6.1 Clasificación de los principios activos

1.6.1.1 Metabolitos primarios

Son esenciales e interviene directamente en supervivencia, crecimiento y reproducción; como los Glúcidos, lípidos, derivados de aminoácidos.

1.6.1.2 Metabolitos secundarios

Son sustancias no esenciales en el metabolismo, pero son sintetizados como defensa, adaptación; son relevantes como principios activos entre ellos tenemos los siguientes:

- **Heterósidos:** Antraquinónicos, Cardiotónicos, Cianogénicos, Cumarínicos, Fenólicos, Flavónicos, Ranunculósidos, Saponósidos, Sulfurados
- **Polifenoles:** Ácidos fenólicos; Cumarinas; Flavonoides; Lignanos; Taninos; Quinonas.
- **Terpenoides:** Aceites esenciales; Iridoides; Lactonas; Diterpenos; Saponinas
- Alcaloides

1.7 Metabolitos secundarios que intervienen en la cicatrización

Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas, localizadas en las plantas, los mismos que son indispensables para mantener su fisiología, pues contribuye a la resistencia de microorganismos y otros factores externos como el estrés y las radiaciones UV. En el ser humano parte de su actividad se debe a la capacidad que posee de formar parte de sistema antioxidante celular. Quiñones, M, et al, 2012, pp. 1-7

Los polifenoles cumple múltiples efectos en la actividad farmacológica, como son los efectos vasodilatadores, astringentes, antiinflamatorios como los flavonoides, anti-alérgicos, inhibiendo la destrucción del colágeno, anticancerosas, antihemorrágicos como los taninos. Por lo mismo se confirma que cumplen una función cicatrizante al acelerar la curación de las heridas y hemostática. Quiñones, M, et al, 2012, pp. 1-7

1.7.1 Flavonoides

Son un grupo extenso de constituyentes vegetales descubiertas por el premio Nobel en Bioquímica Dr. Albert Szent-Gyorgi, quien descubrió que los flavonoides favorecen la función de la vitamina C, favoreciendo su absorción y preservando de la oxidación. Martínez, A, 2005, pp. 2-16

Los flavonoides denominados también como bioflavonoides, son compuestos multifenólicos por lo que se les conoce como polifenoles. Generalmente actúan como antioxidantes neutralizando los radicales libres, participan inhibiendo la lipoxigenasa, enzima que convierte el ácido araquidónico en leucotrienos (mediadores en el asma, alergia e inflamación), además estabiliza el colágeno. García. M; 2015, <http://www.casapia.com>

Estos compuestos son de bajo peso molecular, compuesto por dos anillos de fenilo ligados mediante un anillo de pirano (heterocíclico). Son sustancias sólidas cristalizadas, solubles en agua, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares. La presencia de sustancias aromáticas y conjugadas produce una intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro. Taco, D; 2015, pp. 7-14; López, T; 2002, pp. 108-113

1.7.1.1 Propiedades de los flavonoides

Son compuestos con acción antioxidante, vitamínica, poseen efectos antimutagénicos, destacados por su baja toxicidad.

La acción antioxidante depende exclusivamente de su capacidad para reducir los radicales libres. También actúa inhibiendo sistemas enzimáticos, como antiagregante plaquetario, diurética, antiespasmódica, antiulcerosa gástrica y antiinflamatoria. Taco, D; 2015, pp. 7-14

1.7.2 Taninos

Son compuestos polifenólicos de procedencia vegetal, de masa molecular elevada; tiene gran capacidad de unión a macromoléculas como proteínas y carbohidratos. Carretero, M; 2000, pp. 633-636

1.7.2.1 Clasificación de taninos

1.7.2.1.1 Taninos hidrosolubles

Son llamados también gálicos o pirogálicos, los mismos que se hidrolizan con facilidad por ácidos y álcalis. Dentro de este grupo se encuentran el ácido gálico, ésteres de un poliol y los taninos elágicos, o elagitaninos también ésteres como el ácido hexahidroxidifénico y sus derivados. Se habla también de los taninos complejos como son elagitaninos. Carretero, M; 2000, pp. 633-636

1.7.2.1.2 Taninos condensados o proantocianidina

Son aquellos conocidos como no hidrolizables, es considerado fisiológico porque son sintetizados por el metabolismo normal en los vegetales. Químicamente está constituida por la condensación de catequinas o catecoles (flavanoles) que se forman a partir de una flavanona por hidroxilación en el C-3. Existe un tercer tipo de taninos, que son aislados de ciertas especies algas pardas las mismas que están formadas por unidades de floroglucinol C-C y/o C-O. Carretero, M; 2000, pp. 633-636

Este grupo de taninos son procedentes del antocianidinas, generalmente se encuentran en plantas leñosas y poseen una estructura muy semejante a la de los flavonoides, entre la se mencionan a los taninos catéquicos, leucoantocianos o procianidoles. Taco, D; 2015, pp. 1-7

1.7.1.3 Propiedades de los taninos

Sus propiedades se deben a la capacidad que posee de formar complejos con macromoléculas, principalmente las proteínas. Los taninos presentan una capa menos hidrófoba que las proteínas permitiendo la precipitación, estableciendo así enlaces entre sus moléculas y su afinidad por las proteínas se ve reducida por la disminución de la motilidad conformacional de las moléculas por la formación de enlaces bifenílicos. Bruneton, Jean. 2001, pp. 388-390

La acción astringente ya sea por vía tópica o interna y antiinflamatoria por su capacidad de secar y desinflamar mucosas, actúa también como antihemorrágico, antibacterianas y poseen acción antioxidante. Además estos compuestos cumplen con la función cicatrizante acelerando la curación de heridas mediante la detención del sangrado, generando la producción de la costra al unirse con las proteínas. Facilita la coagulación sanguínea. Romy, 2015, <http://www.scribd.com>

1.8 Droga vegetal

Se conoce como droga vegetal a los diferentes órganos de las plantas o partes de ella; con acción farmacológica que únicamente ha sido sometido a manipulación en procesos de recolección y conservación, ya sean secas o frescas, molida o pulverizada, como la reserpina, estrocnina, atropina, digitoxina, morfina, vimblastina, galantamina empleados con fines terapéuticos o preventivos. Jonathan, 2010, <http://farmacognosia.foro-argentina.org>)

1.9 Métodos de extracción

Los procesos extractivos difieren en función de la naturaleza y calidad del vegetal y de la naturaleza del solvente empleado.

Tabla 3-1. Métodos de extracción de extractos a partir de la droga vegetal

MÉTODOS DE EXTRACCIÓN A PARTIR DE LA DROGA VEGETAL			
Extracción	Temperatura	Tiempo	Disolvente
Discontinua			
Maceración	T. ambiente	Horas – días	Agua, mezclas hidroalcohólicas, glicerina
Digestión	T > ambiente	Horas – días	
Infusión	T próximo a ebullición T menor	1-2 y hasta 30 minutos	Agua
Decocción	T de ebullición	15-30 minutos	
Continuas			
Percolación	T ambiente	Variable	Variados
Soxhlet	T ebullición		Disolventes orgánicos

Fuente: (Kuklinski C, 2000)

1.9.1 Maceración

Este proceso consiste en poner en contacto la droga previamente triturado con el solvente, en un recipiente tapado herméticamente y a temperatura ambiente durante varios días o hasta que se agote el vegetal, para mayor eficacia requiere de agitación continua.

1.9.2 Percolación o lixiviación

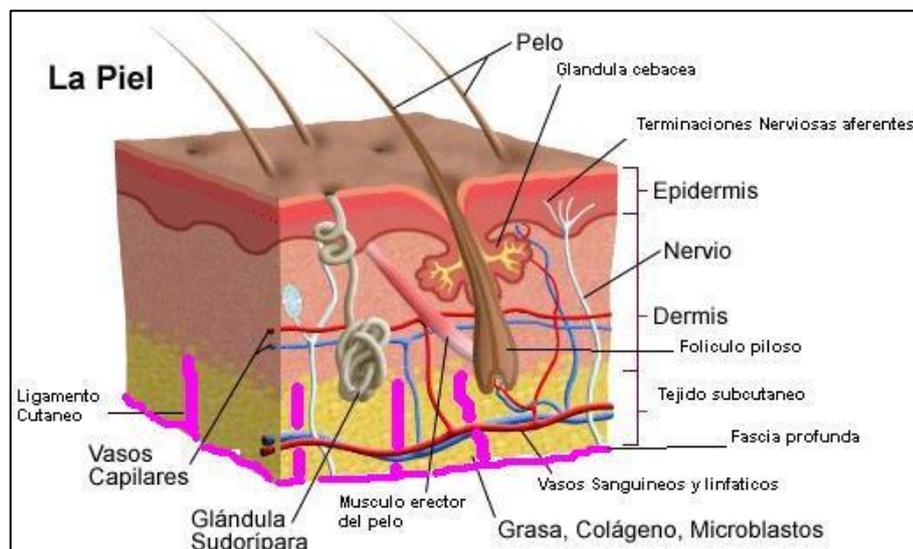
La percolación consiste en hacer circular el solvente sobre la dorga por intermedio de bombas, renovandola el solvente constantemente, hasta que la extraccion exhaustiva sea completada. Cuyo objetivo es aumentar el contacto facilitando el paso del solvente e impidiendo la formacion de falsas vias que perfidiquen la eficacia del proceso.

El recipiente empleado es cónico con una abertura superior con una tapa circular horadada, que permite el paso del solvente, por la parte inferior se dispone de un cierre regular que permita la salida del extracto a una velocidad controlable. Sharapin, N; 2000, pp. 40-53

1.9.3 Extractos

Los extractos son mezclas o preparados complejos, que permite extraer de los vegetales un sinnúmero de sustancias útiles, a través de procesos físicos-químicos y microbiológicos. Los mismos que pueden ser utilizados para múltiples efectos a nivel de salud. Estos extractos son se suma importancia ya que según la OMS, los fármacos que se comercializan en la actualidad un 25% son de origen vegetal y un 25% contiene principios vegetales modificados químicamente. Pardo, J; 2002, <http://www.ub.edu>

1.10 La piel



Gráficos 2-1. Corte transversas de la piel

Fuente: (Romo, M. J. 2010, <http://www.cuidadosdelasmanosylospies.mye.name>)

1.10.1 Descripción de la piel

La piel es el órgano más grande y vital del cuerpo humano (Romo, M. J. 2010). La pérdida de una porción de piel, por causa de afecciones como quemaduras puede conducir a la muerte por la ausencia de fluidos corporales quedando inmune a las agresiones. Es un revestimiento de tejido que es a la vez elástico blando y firme, desempeña varias funciones como proteger al organismo de agentes externos, regular la temperatura del cuerpo, permite la eliminación de toxinas entre otras. Aynaguano, R, M. 2014, pp. 1-5

La piel está constituida por diferentes tejidos fusionados para ejercer funciones específicas. Sus funciones no solo son el de cubrir la piel si no también cumple otras funciones importantes en el cuerpo; nos refresca, es la vanguardia del cuerpo en la defensa contra las enfermedades y se renueva a si mismo constantemente.

Está formada por dos láminas principales:

- Una externa la epidermis, que está formada por epitelio de superficie.
- Una interna la dermis o corion, la misma que está formada por tejido conjuntivo

Aunque existe otra lamina subdérmica: la capa subcutánea o hipodermis que consta de tejido conjuntivo y tejido adiposo, por otra parte la piel está fijado al tejido subcutáneo mediante fibras procedentes de la dermis. Reiriz, P.J; 2015, pp. 2-7.

1.10.2 Estructura de la piel

1.10.2.1 Epidermis

Constituye la capa más externa de la piel que está formada por un gran número de células que se renuevan continuamente, es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado que recubre completamente la superficie corporal, carece de vasos sanguíneos. Normalmente está compuesta por cuatro capas de células que va desde el exterior hasta el interior: Merino, J; y Noriega, M; 2015, pp. 1-6

- Capa córnea (stratum corneum)
- Capa granular (stratum granulosum)
- Capa de células espinosas (stratum spinosum)

- Capa basal (stratum basale)

Al carecer de riego sanguíneo este se sustenta por difusión a partir de los capilares existentes en el tejido conjuntivo de la dermis subyacente. Merino, J; y Noriega, M; 2015, pp. 1-6

1.10.2.2 Dermis

Posee una estructura similar a la de una malla constituida por tejido fibroelástico, sirve de soporte para la piel. Aquí podemos encontrar fibras (colágeno, elásticas), células, elementos vasculares, y elementos nerviosos, proporciona resistencia y elasticidad. Merino, J; y Noriega, M; 2015, pp. 1-6

La dermis está integrada básicamente de tejido conectivo fibroelástico, es vascularizado, sirve de soporte y nutre a la epidermis. Además conforma la mayor parte de la piel. Merino, J; y Noriega, M; 2015, pp. 1-6

1.10.2.3 Hipodermis

Constituye el estrato más profundo y grueso de la piel, es una red de tejido conectivo en ella se almacena el tejido adiposo, que cumple funciones de aislamiento y almacena de energía en forma de grasas. Los componentes esenciales de la hipodermis son a células grasas, que protegen al cuerpo del frío, es muy útil como reservorio de energía y posibilita su movilidad. Cumple con un efecto cosmético al moldear el cuerpo. Sánchez, L; et al; 2006, pp. 103-107

1.10.3 Funciones de la piel

- Regula la temperatura corporal
- Reservorio de sangre: vasoconstricción y vasodilatación
- Cubre y protege al organismo de agentes y agresiones externas: rayos UV, microorganismos, aire, agua, químicos etc.
- Detecta las sensaciones cutáneas
- Excreta y absorbe sustancias, permite la eliminación de toxinas
- Sintetiza vitaminas. Pérez, E. S, 2013, <http://es.slideshare.net>

1.11 Herida

Se refiere a una de las patologías más concurrentes en los Servicios de Urgencias; y lo definimos como la pérdida de la continuidad normal de la piel, ocasionada por algún agente físico o químico. LEYVA, R. F; 2012, pp. 7-8

Es decir un tipo de traumatismo, donde se produce una rotura de la piel. Entre las principales señales son: dolor, hemorragia, destrucción, daño de los tejidos blandos. Santamaría, E, 2013, pp. 5-10

1.11.1 Clasificación de las heridas Santamaría, E, 2013, pp. 5-10

1.11.1.1 Heridas cortantes o incisas

Producidas por objetos afilados, que pueden seccionar músculos, tendones y nervios.

1.11.1.2 Heridas punzantes

Son producidas por objetos puntudos, la lesión es dolorosa, puede ser profunda, que puede provocar hemorragias internas.

1.11.1.3 Heridas corto-punzantes

Son producidas por objetos agudos y afilados, es una combinación de dos tipos de heridas anteriormente nombradas.

1.11.1.4 Heridas laceradas

Producidas por objeto de bordes dentados, donde presentan desgarramientos de tejidos y los bordes de las heridas son irregulares.

1.11.1.5 Raspaduras, excoriaciones o abrasiones

Producida por fricción o rozamiento de la piel con superficies duras.

1.11.1.6 Heridas avulsivas

Son aquellas donde se separa y se rasga el tejido del cuerpo de la víctima. El sangrado es abundante, ejemplo una mordedura.

1.11.1.7 Heridas contusas

Producidas por piedras, palos, golpes de puño o con objetos duros. Santamaría, E, 2013, pp. 5-10

1.11.2 Tratamiento

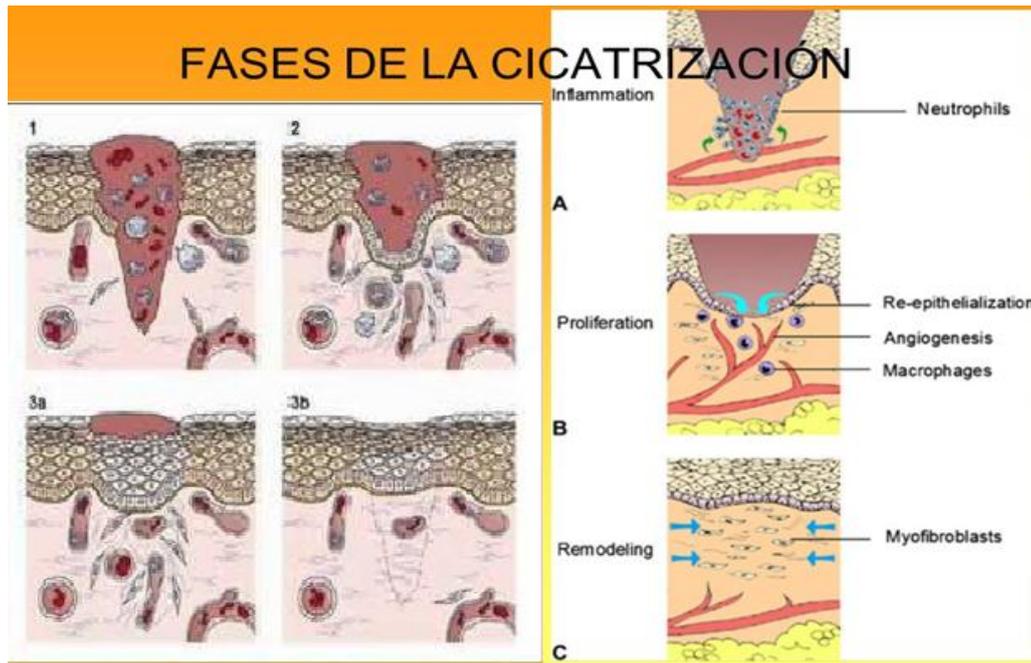
La herida es tratada satisfactoriamente mediante la cicatrización de la misma. Su tratamiento se considera efectivo mientras se mantenga en reposo el tiempo necesario para que la herida se cierre.

1.11.3 Cicatrización

La cicatrización se considera un proceso natural por el cual se consigue la restauración de la disrupción de los tejidos tanto de la dermis como la epidermis, el cual se lleva a cabo mediante el restablecimiento del tejido lesionado y proteínas solubles. Cuando una persona posee una herida, una serie de eventos bioquímicos complejos se presentan para reparar el tejido dañado. Su desenlace final se acata a múltiples factores. Decinti, E; 2015, pp. 4-5

1.11.4 Fisiología de la cicatrización

Una vez producida la herida, se genera una serie de procesos biológicos que es utilizada por el organismo para recuperar su integridad, el mismo que se conoce como proceso de cicatrización. Este proceso se divide fundamentalmente en: fase hemostática e inflamación, fase proliferación y fase de maduración, aunque algunos autores la describen con algunas fases intermedias, principalmente se darán esas tres fases que se solapan unas con otras. Salto, D; 2011, <http://slideplayer.es>



Gráficos 3-1. Diagrama de la regeneración de un tejido alterado
Fuente: Espinoza, L, 2011

1.11.4.1 Fase de inflamación

Este proceso se inicia en el momento de la lesión, manifestándose con los mecanismos de la hemostasia, vasoconstricción, se activa la cascada de coagulación, la formación del coágulo, migración de macrófagos y neutrófilos. A continuación se produce un proceso de vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y aparición de leucocitos, formándose una costra que sella la herida. También se da la migración de polimorfonucleares y macrófagos en un ambiente inflamatorio, para limpiar la herida de bacterias. Decinti, E; 2015, pp. 4-5; Salema, C; et al; 2000, pp. 90-95

1.11.4.2 Fase proliferativa o de migración

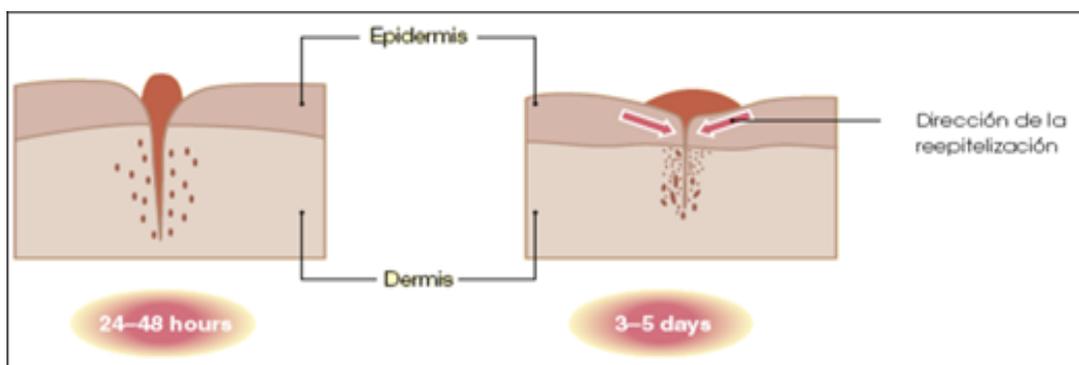
Esta fase se inicia al tercer y décimo-cuarto día. Se da la migración de fibroblastos (células germinales del tejido fibroso) constituida por sustancias fundamentales, matriz de colágeno, angiogénesis, migración queratinocitos, miofibroblastos, contracción y se forman capilares sanguíneos. Salema, C; et al; 2000, pp. 90-95

1.11.4.3 Fase de remodelación tisular

Es la reorganización, donde el primordial suceso fisiológico es la epitelización, posteriormente se da la remodelación del colágeno y la regresión endotelial, interpretada clínicamente por disminución del color cicatricial. Salema, C; et al; 2000, pp. 90-95

1.11.5 Tipos de cicatrización

1.11.5.1 De primera intención



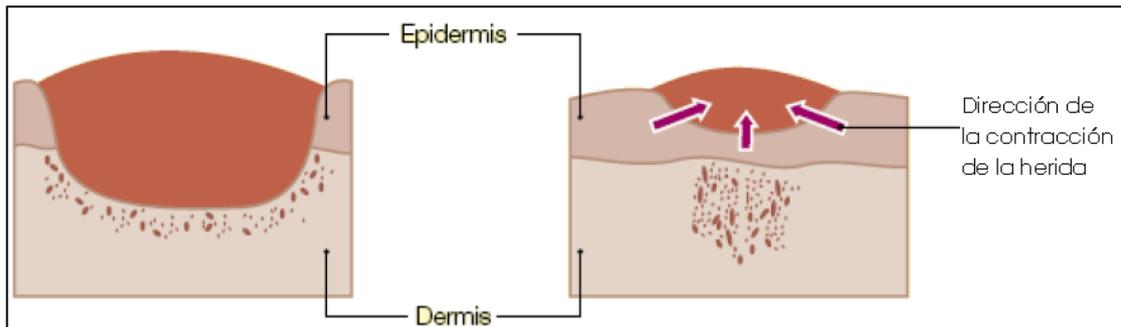
Gráficos 4-1. Reepitalización. Cicatrización por primera intención

Fuente: Halloran C y Slavin J, 2002

Este tipo de cicatrización ocurre de manera inmediata en las primeras 24 horas; después de que la herida ha sido cerrada, al aproximar sus bordes ya sea con suturas o algún dispositivo mecánico o cintas. Son las más utilizadas, debido a que produce una cicatriz de mejor calidad y en el menor tiempo posible. Cumple con algunas características: mínimo edema, sin secreción local, en un tiempo breve, sin separación de los bordes de la herida y con mínima formación de cicatriz. Rodríguez, A. F; y Becerra, P. J; 2015; Salema, C; Et Al; 2000, pp. 90-95

1.11.5.2 De segunda intención

Esto se da cuando la herida tarda en cerrarse por más de 24h, y se caracteriza porque la arquitectura normal de la piel no logra regenerarse a consecuencias de la pérdida de tejido, debido a quemaduras, o un trauma y cuyo tiempo de resolución dependerá de la extensión de la herida. Cabezas, G; 2014, pp. 11-23



Gráficos 5-1. Contracción de la herida. Cicatrización por segunda intención

Fuente: Halloran C y Slavin J, 2002

En estas circunstancias puede requerir una sutura, para el cual se realiza una limpieza con extracción de cuerpos extraños valorando la superficie de la herida o bien se deja que cicatrice sin necesidad de una intervención. Generalmente se produce una cicatriz de muy mala calidad y se cura en mayor tiempo. Rodríguez, A. F; y Becerra, P. J; 2015

1.11.5.3 De tercera intención

Conocida también como cierre primario diferido, este se da cuando se aproximan dos superficies de tejido de granulación. Reparando los tejidos eficazmente incluso la heridas contaminadas, sucias e infectadas y traumatizadas, con pérdida de tejido. Este proceso se ejecuta generalmente entre 4 a 6 días posteriores a la lesión, este proceso se caracteriza por el desarrollo de yemas capilares y tejido de granulación. Cuando se cierra la herida los bordes de la piel y el tejido se juntan y se aseguran con precisión. Fundación Dr. Jordi MAS. 2008, pp. 6-20

1.11.6 Factores que influyen en la cicatrización de las heridas

Toda herida puede estar afectada por una serie de factores que dificulta su cicatrización, como se indican a continuación. Lucha, F. V. et al, 2008, pp. 1-8

1.11.6.1 Factores generales

- **La edad:** la velocidad de cicatrización es inversamente proporcional a la edad del paciente; en niños la cicatrización se da más rápida que en los ancianos, se cuestiona que múltiples factores influyen retardando el proceso curativo de las heridas en particular en los ancianos.
- **La circulación sanguínea:** la actividad reparadora se ve afectada a causa del consumo inadecuado de nutrientes, el consumo de tabaco también afecta disminuyendo la presión

parcial de oxígeno en la herida abreviando la síntesis de colágeno, la angiogénesis y la actividad fagocítica.

- **La alimentación:** se obtiene mejores resultados de cicatrización de heridas, gracias al consumo de alimentos ricos en vitaminas A y C, sales minerales Zn, Ca, Cu; proteínas y el Fe esencial para una adecuada síntesis de DNA y la división celular. Lucha, F. V. et al, 2008, pp. 1-8

1.11.6.2 Enfermedades de base

- **Diabetes:** genera una disminución de los glóbulos blancos, entre otras anomalías.
- **Arteriosclerosis:** depósitos de lípidos y colesterol en las paredes de los vasos produciendo un descenso del aporte sanguíneo.
- **Hipertiroidismo:** reducción de la síntesis de colágeno.
- Insuficiencia renal crónica. Lucha, F. V. et al, 2008, pp. 1-8

1.11.6.3 Medicamentos

- **Corticoides:** evitan la desinfección de las heridas por su interferencia en el éxodo y fagocitosis de los glóbulos blancos.
- **Povidona yodada y el agua oxigenada:** pueden ocasionar el aplazamiento de la cicatrización de heridas aniquilando las células durante la fase proliferativa.
- **Hormonas:** algunas de ellas como la progesterona benefician la angiogénesis, no obstante deprime la fibroplasia; mientras que los estrógenos inhiben las dos fases. Lucha, F. V. et al, 2008, pp. 1-8

1.11.6.4 Factores locales

Contaminación crítica: ocasiona una fase inflamatoria persistente en el tiempo, por incremento de bacterias en las heridas produciendo un aumento en los glóbulos blancos, intensificando la permeabilidad de los vasos para permitir el movimiento de los leucocitos, produciendo edema en el lugar de la lesión y una disminución la cantidad de fibroblastos. Lucha, F. V. et al, 2008, pp. 1-8

Exceso de exudado: retrasa la proliferación de los fibroblastos, células endoteliales y queratinocitos ya que, estas enzimas alteran la sustancia fundamental de la matriz extracelular.

La temperatura: la superficie de la herida debe ser de 37 °C sin embargo si disminuye ocasiona una vasoconstricción, obstaculizando la contribución de glóbulos blancos a la herida y una alteración en el transporte de oxígeno y nutrientes.

Deshidratación de la herida: retarda la cicatrización, por lo que se debe realizar curas en ambiente húmedo, si la herida se encuentra descubierta, facilitamos la formación de la costra que actua como barrera física para los queratinocitos, dificultando su migración al lecho ulceral. Lucha, F. V. et al, 2008, pp. 1-8

1.12 Material biológico

Es el animal de laboratorio que es reproducido y criado en condiciones y entorno controlado, para su utilización como instrumento de medida en investigaciones científicas, es decir cuya calidad genética, microbiológica y el ambiente ha sido controlado para que no se generen alteraciones que modifiquen el modelo animal, alterando su respuesta investigativa con el propósito de obtener resultados confiables y reproducibles a la cuestión experimental. Mazón, F. A, 2010, pp. 15-18

Sumándose a esto las consideraciones de trato con ética y respeto por ser un ser vivo. Con el fin de mantener el bienestar animal, de acuerdo a su especie y su requerimiento etológico. Para obtener este tipo de animal es necesario conocer el concepto de "barrera" (que comprende las medidas y condiciones bajo las cuales se producen y reproducen los animales en los bioterios), para garantizar que mantenga condiciones definidas, tanto desde el punto de vista genético como sanitario. Mazón. F. A, 2010, pp. 15-18

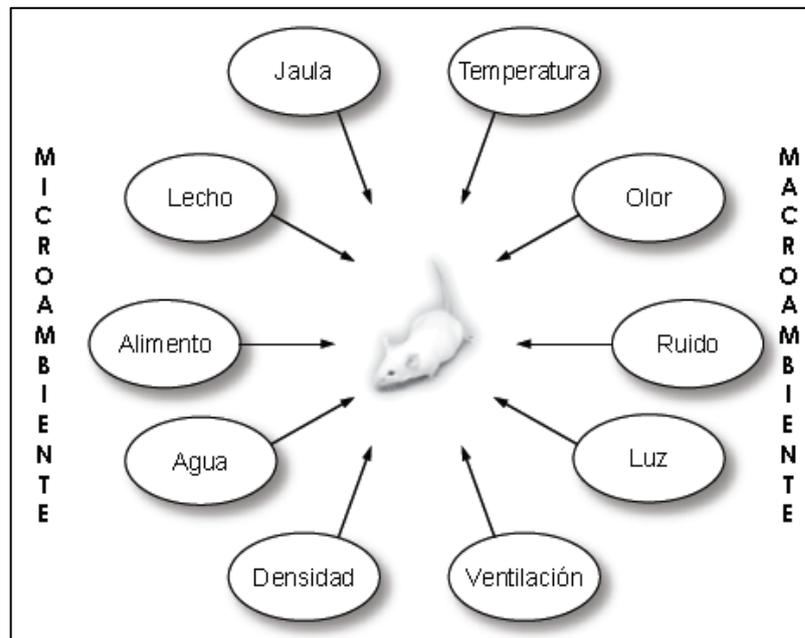
1.12.1 El Ratón

Tabla 4-1. Clasificación taxonómica del ratón

TAXONOMÍA	
Clase	Mammalia
Familia	Muridae
Género	Mus
Especie	<i>Mus musculus</i>

Fuente: Fuentes, P. F, et al 2008.

1.12.2 Factores ambientales del ratón



Gráficos 6-1. El Ratón: Microambiente y Macroambiente
Fuente: Fuentes, P. F, et al 2008

1.12.2.1 Microambiente

También denominado encierro primario, es el ambiente físico inmediato que está en contacto directo con el ratón, limitado por el perímetro de la jaula o caja, cama, alimento y agua de bebida, así como el mantenimiento de las condiciones de higiene de cada uno de ellos.

Los cuales deben contribuir a la salud de los animales, y evitarles cualquier tipo de estrés. Por lo que requiere cada animal un espacio adecuado que le permita movimientos y adopciones de posturas normales, preservando a su vez las mínimas condiciones de higiene y de protección contra insectos, roedores y otras plagas. Fuentes, P. F, et al 2008, pp. 23-31

1.12.2.2 Macroambiente

Es el espacio más próximo al microambiente y es la sala de alojamiento en su ámbito general, la presencia de los cambios del macroambiente producirá cambios en el modelo animal el cual puede alterar el tipo de respuesta, y un incremento en la variabilidad de los resultados entre o dentro de los laboratorios de experimentación. Fuentes, P. F, et al 2008, pp. 23-31

CAPÍTULO II

MARCO METODOLÓGICO

2.1 Lugar de investigación

La presente investigación fue ejecutada en las Instalaciones del laboratorio de; Productos Naturales e Investigación y Desarrollo, Análisis Instrumental, Farmacología, Microbiología y en el Bioterio perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2 Materiales, equipos y reactivos

2.2.1 *Material vegetal*

2.2.1.1 *Recolección y tratamiento del material vegetal.*

La materia prima vegetal utilizada son las hojas de *Solanum lycopersicum L.* (Tomate) de la familia de las solanácea, colectadas de los invernaderos en Quimiag parroquia del cantón Riobamba provincia de Chimborazo a una altitud de 2780 m.s.n.m.

La planta fue autenticada por el Botánico del Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Las hojas del vegetal fresco, seleccionados fueron limpiados y lavados cuidadosamente con agua destilada, posteriormente se secó a temperatura ambiente durante 12 días, protegidos de los rayos UV del sol, de manera que facilite la obtención de partículas pequeñas del vegetal mediante un proceso de molienda en un molino eléctrico.

2.3 Reactivo biológico

Para el estudio “In Vivo” de la evaluación de la actividad cicatrizante se utilizaron ratones (*Mus musculus*), con un peso promedio entre 25-30g y la edad de 2 a 3 meses, adquiridas de las instalaciones del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.3.1 Criterios de inclusión y de exclusión

Para evaluar la actividad farmacológica planteada en la presente investigación se emplearon animales de experimentación como modelos “In Vivo”, en un total de 24 ejemplares de la especie (*Mus musculus*). Como alternativa para determinar el efecto cicatrizante del extracto de hojas de *Solanum lycopersicum*, los modelos experimentales deberán cumplir con ciertos criterios para su implementación en este estudio.

Tabla 1-2. Criterios de inclusión y exclusión para asignación de los grupos experimentales. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
Ratones de la misma raza	Ratones de diferentes razas
Tener la misma edad	Menores de 2 y superior a 3 meses
Pesos corporales entre 25-30 g	Peso inferior a 25g y/o superior a 30g
Lesión incisa inducida	Presentar otro tipo de lesiones
Buen estado de salud	Tener alguna patología

Realizado por: Guano, G; 2015.

2.4 Materiales, equipos y reactivos para el control de calidad y el análisis farmacológico.

Tabla 2-2. Materiales, equipos y reactivos para el control de calidad y el análisis farmacológico Facultad de Ciencias. ESPOCH.

MATERIALES	REACTIVOS	EQUIPOS
Tubos de ensayo	Nitrato de Aluminio	Molino
Gradillas	Acetato de Potasio	Balanza Analítica
Espátula	Agua Destilada	pH-metro
Pipetas graduadas	Etanol 96°	Espectrofotómetro
Pinza para tubos	Éter Etilico	Rota-vapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-V)
Balones aforados	Estándar de Quercetina 98% y Ácido Gálico	Bomba para vacío
Balones Esmerilados	Acetato de etilo	Refractómetro
Vasos de precipitación	Ácido acético Glacial	Estufa (Mettler Germany)
Varilla de Agitación	Ácido Fórmico	Mufla (Barnstea Thermolyne)
Capsulas de porcelana	Ácido clorhídrico	Lampara Luz UV. (UPLAND)
Pinzas para Capsulas	Ácido nítrico	Zonificador
Embudos	Nitrato de plata	Congelador
Trípode	Nitrato de aluminio	Termo-higrómetro

Papel filtro	Reactivo de Sudan	Micropipetas
Micro-pipetas	Reactivo de Dragendorff	Autoclave
Matraz Erlenmeyer	Reactivo de Mayer	Cámara de flujo laminar
Probetas	Reactivo de Wagner	
Picetas	Reactivo de Baljet	
Frascos Ámbar	Reactivo de Borntrager	
Cámara Cromatográficas	Reactivo de Liebermann-Burchard	
Capilares de Vidrio	Reactivo de Fehling	
Placa de Sílice Gel 60 F254 (MERCK)	Cloruro Férrico	
Reverbero	Reactivo de Shinoda	
Picnómetro	Tricloruro de Aluminio	
Termómetro	Carbonato de Sodio	
	Reactivo de Folín-Ciocalteu	
	Lamoderm (<i>Acetato de prednisolona 0,5 g y Sulfato de neomicina 0,5 g</i>)	
	Crema depiladora Veet	
	Roxicaina (Lidocaina base al 10%)	

Realizado por: Guano, G; 2015

2.5 Métodos y técnicas

2.5.1 Pruebas de control de calidad de la droga vegetal

La realización de estos análisis son de gran importancia, ya que permite determinar las condiciones higiénico-sanitarias de la droga vegetal, estos ensayos se llevan a cabo considerando las técnicas descritas según el Manual de Farmacognosia y Productos Naturales. Miranda, M y Cuellar, A; 2001, pp. 28-31

2.5.1.1 Determinación de humedad

Es la cantidad de agua libre que se encuentra contenida en la materia vegetal, por lo que requiere una adecuada conservación para que el porcentaje de humedad sea mínima, evitando así procesos enzimáticos y la degradación del vegetal. Miranda, M y Cuellar, A; 2001, pp. 28-31

Se pesó 2g de la muestra vegetal pulverizado el cual se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada, el cual se colocó en una estufa a 105 °C durante 3h. Transcurrido ese

tiempo se colocó la cápsula en un desecador hasta que enfrié alcanzando la temperatura ambiente y se pesó hasta obtener un peso constante. Miranda, M y Cuellar, A; 2001, pp. 28-31

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

Dónde:

%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 (g)

100= factor matemático

2.5.1.2 Determinación de cenizas totales

Es el contenido de sales minerales que se encuentra en la planta, su determinación tiene gran relevancia debido a que la materia mineral, puede ser responsable de alguna acción farmacológica.

En una cápsula de porcelana anteriormente tarada se colocó 2g de muestra seca pulverizada, la misma que se calcinó hasta ausencia de humo. Posteriormente se transfirió la cápsula a un horno mufla para su incineración a una temperatura de 700-750°C durante 2h, y luego se enfrió y pesó hasta peso constante. (Miranda, M y Cuellar, A; 2001, pp. 28-31)

Fórmula:
$$\%C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Dónde:

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.

2.5.1.3 Determinación de cenizas solubles en agua

A las cenizas totales obtenida anteriormente se le adicionó de 15 a 20 mL de agua. La cápsula una vez tapada es sometida a ebullición por 5 min. La solución se filtró y el papel filtro con el residuo se transfirió a la cápsula inicial, posteriormente se calcinó y se incinero en un horno mufla a temperaturas entre 700-750°C por un lapso de 2h, se enfrió y pesó hasta llegar a peso contante. Miranda, M y Cuellar, A; 2001, pp. 28-31

Fórmula:
$$\%Ca = \frac{M_2 - Ma}{M_1 - M} * 100$$

Dónde:

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.

2.5.1.4 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

A las cenizas totales se le agregó de 2 a 3 mL de HCl al 10%, la cápsula se tapó con un vidrio reloj y se colocó sobre un baño de agua a ebullición por un lapso de 10 min. El vidrio reloj se lavó con 5 mL de agua caliente y se reunió a la cápsula inicial, la solución fue filtrada y el residuo es lavada con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico muestre negativo la prueba con AgNO₃ 0.1mol/L, el papel con el residuo se desecó en una estufa a 105°C y a continuación se incineró en un horno mufla a 700-750°C durante 2 horas, se pesó hasta alcanzar un peso contante. Miranda, M y Cuellar, A; 2001, pp. 28-31

Fórmula:
$$\%B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Dónde:

B = porcentaje de cenizas Insolubles en HCl en base hidratada.

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

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

M = masa del crisol tarado (g)

100 = factor matemático.

2.5.2 Extracción sucesiva del material vegetal para determinar presencia de metabolito.

Los extractos de las hojas de *Solanum lycopersicum L.* son obtenidas mediante el proceso de maceración, a partir del material vegetal seco y pulverizado; el cual es sometida a una extracción sucesiva según el esquema de la **Figura 1-2**.

Posteriormente los extractos obtenidos del vegetal, tanto el etéreo, etanólico como el acuoso son almacenados en refrigeración hasta su utilización, permitiendo así la precipitación de las clorofilas que puedan intervenir en los ensayos de coloración y precipitación del screening fitoquímico.

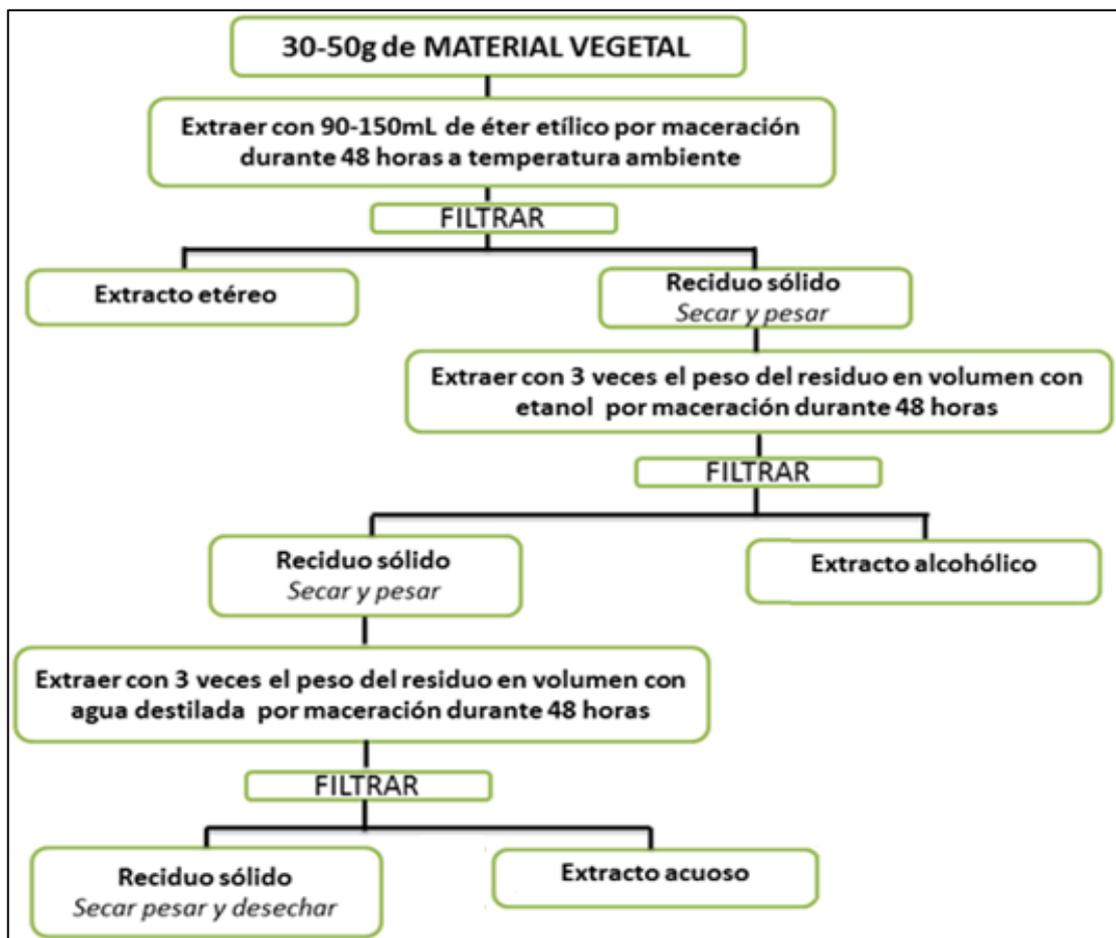


Figura 1-2. Extracción sucesiva del material vegetal para determinar la presencia de metabolitos secundarios.

Fuente: Miranda, M y Cuellar, A; 2001

2.5.2.1 Análisis cualitativo de identificación (Tamizaje Fitoquímico)

El tamizaje fitoquímico tiene como propósito aislar e identificar los diversos compuestos que se hallan en las células vegetales, mediante la incorporación de solventes apropiados, luego de la preparación de los extractos de hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*), se realizara diferentes ensayos con reacciones químicas de identificación; mediante cambios de color o formación de precipitados para determinar la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides, triterpenos y esteroides, quinonas, compuestos lactónicos y cumarinas, antocianidinas, azúcares reductores etc. Miranda, M y Cuellar, A; 2001, pp. 33-39

Una vez obtenida los extractos, se procede de manera individualizada a la realización los ensayos de precipitación y coloración siguiendo las Normas ramales de Drogas crudas. Según se indica en la **Figura 2-2**, **Figura 3-2** y **Figura 4-2**.

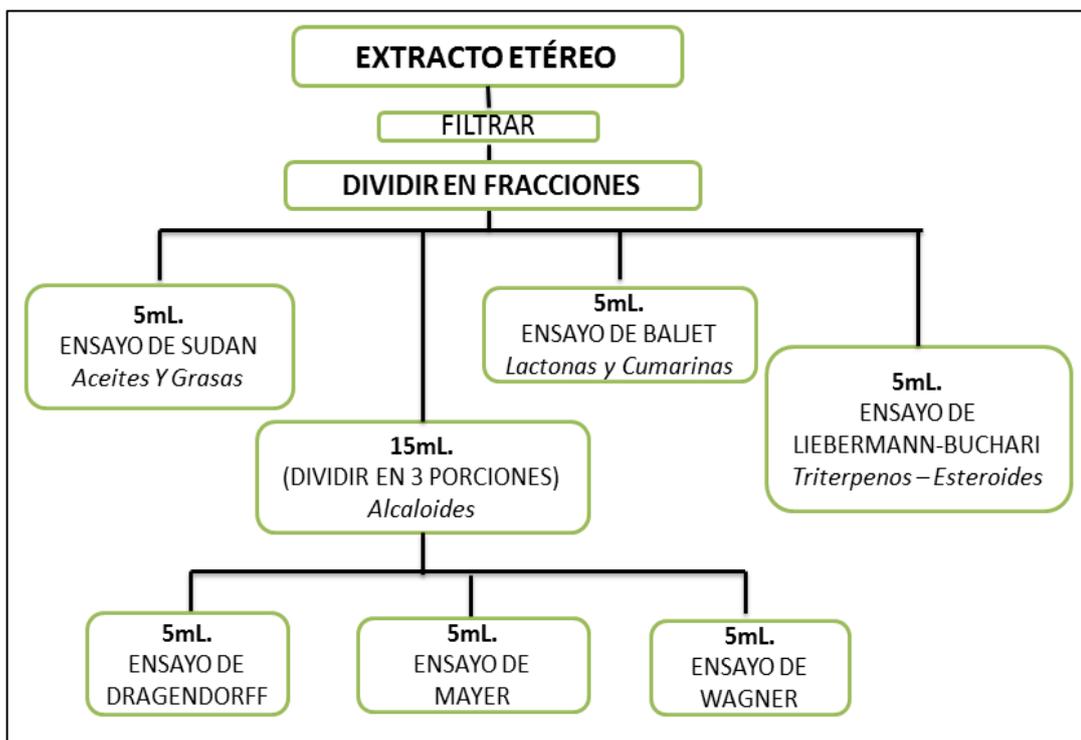


Figura 2-2. Análisis cualitativo de identificación en el extracto etéreo

Fuente: Miranda, M y Cuellar, A; 2001

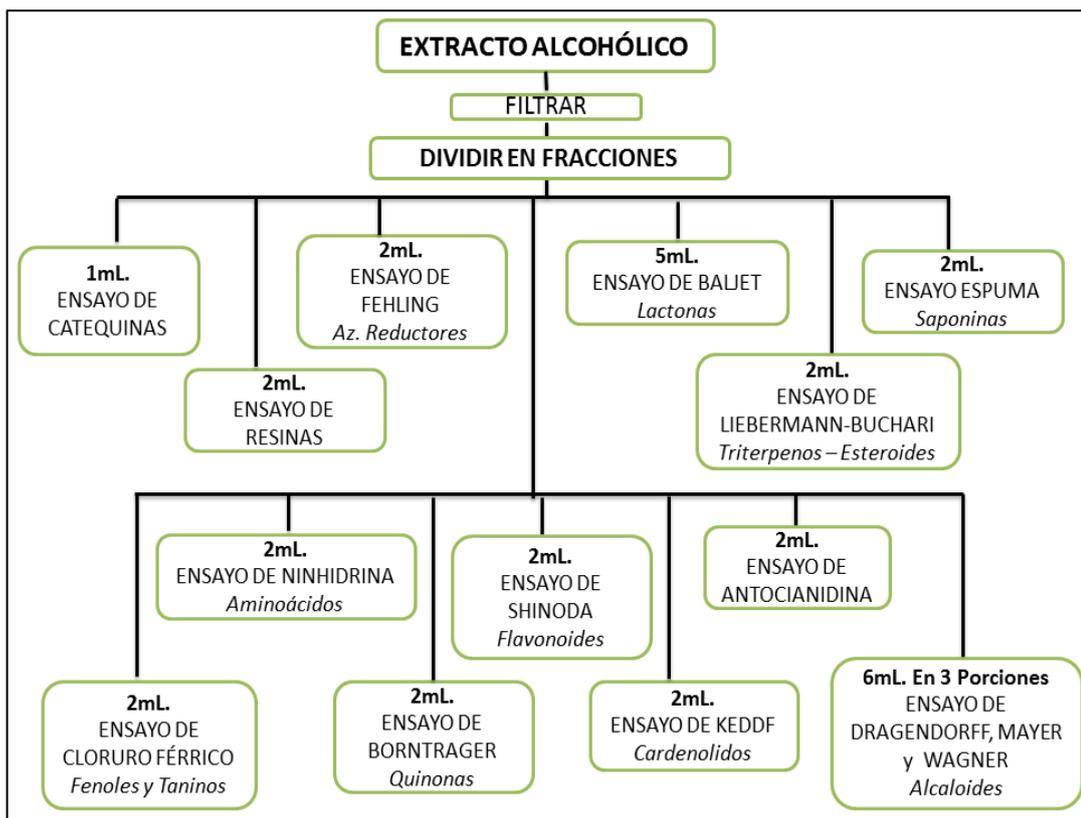


Figura 3-2. Análisis cualitativo de identificación en el extracto etanólico

Fuente: Miranda, M y Cuellar, A; 2001

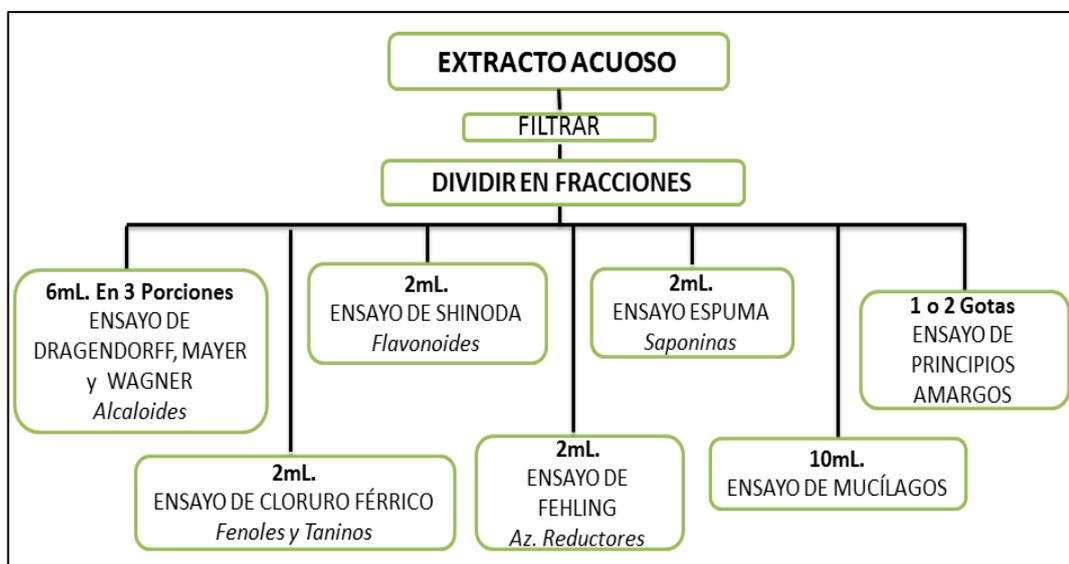


Figura 4-2. Análisis cualitativo de identificación en el extracto acuosa

Fuente: Miranda, M y Cuellar, A; 2001

2.5.2.2 Técnicas para el tamizaje fitoquímico

Tabla 3-2. Técnicas para el análisis cualitativo mediante reacciones de coloración y precipitación.

ENSAYO	METABOLITOS	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
<i>Ensayo de Sudan</i>	Identifica la presencia de compuestos grasos	A 2mL de extracto se añadió 1mL del reactivo de Sudan III o Sudan IV. Se calentó en un baño de agua hasta evaporación del solvente.	La presencia de gotas coloreadas de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo positivo.
<i>Ensayo de Dragendorff</i>	Reconoce la presencia de alcaloides	Si la alícuota de extracto está en un solvente orgánico, este debe ser evaporado en un baño de agua, cuyo residuo se redisolvió con 1mL de HCl al 1%. Para el extracto acuoso a una alícuota se le adicionó 1 gota de HCl conc, se calentó suavemente, se enfrió y luego se añadió 3 gotas de reactivo.	La presencia de opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).
<i>Ensayo de Mayer</i>		Al igual que el ensayo anterior se procedió hasta obtener una solución ácida, se añadió una pizca de NaCl en polvo, se agitó y filtró. Luego se agregó 2 o 3 gotas del reactivo de Mayer.	Si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++).
<i>Ensayo de Wagner</i>		Igual que el caso anterior se procedió desde la solución ácida, y se le adicionó 2 o 3 gotas del reactivo.	
<i>Ensayo de Baljet</i>	Reconoce grupos lactónicos como las coumarinas	Si la alícuota de extracto no se encuentra en alcohol, el solvente es evaporado en un baño de agua, luego se reconstituye con 1mL de alcohol al cual se adicionó 1mL re reactivo.	La presencia de coloración (++) o precipitado rojo (+++)
<i>Ensayo de Borntrager</i>	Detecta presencia de quinonas	Para ello si el extracto no se encuentra en cloroformo, el solvente es evaporado en un baño de agua, el residuo se disolvió con un 1mL de Cloroformo a la cual se le adicionó 1mL de reactivo. Se mezcló las dos fases y se dejó reposar hasta la separación de las mismas.	Coloración rosada (++) , coloración roja (+++).
<i>Ensayo de Liebermann-Burchard</i>	Reconoce grupos terpenos y/o esteroides	Si el extracto no se encuentra en cloroformo, requiere evaporarse el solvente en un baño de agua, cuyo residuo se redisolvió con 1mL de Cloroformo. A la que se añadió 1mL de anhídrido acético se mezcló bien, luego por las paredes sin agitar se adicionó 2 a 3 gotas de H ₂ SO ₄ conc.	Cambio rápido de coloración: 1. Rosado azul 2. Verde intenso – visible 3. Verde oscuro – negro

<i>Ensayo de catequinas</i>	Catequinas	En una fracción de papel filtro, utilizando un capilar se colocó una gota del extracto alcohólico, sobre la mancha se aplicó una gota de la solución de Carbonato de sodio.	Coloración verde carmelita a la luz UV.
<i>Ensayo de resinas</i>	Resinas	A una alícuota de extracto alcohólico se adicionó 10mL de agua destilada.	Presencia de un precipitado
<i>Ensayo de Fehling</i>	Identifica azúcares reductores	Si la alícuota de extracto no se halla en agua, se requiere evaporar el solvente en un baño de agua, luego el residuo se reconstituyó con 2 o 3mL de agua destilada, al cual se le adicionó 2mL de reactivo; la mezcla se calentó a baño de agua por 5 o 10min.	Presencia de coloración roja o un precipitado rojo
<i>Ensayo de la espuma</i>	Identifica saponinas tanto esteroidales como triterpénicas	Para ello, la alícuota de extracto alcohólico se diluyó en 5 veces su volumen en agua, la mezcla se agitó fuertemente por un lapso de 5 a 10min.	La presencia de espuma de más de 2mm en la superficie del líquido que persista por 2 min.
<i>Ensayo del cloruro férrico</i>	Reconoce la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos	A una alícuota de extracto alcohólico se adicionó 3 gotas de reactivo (FeCl ₃ al 5% en solución salina fisiológica). Y a una alícuota de extracto acuoso se le adicionó acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de reactivo.	La presencia de coloración Coloración rojo vino, verde intensa, azul
<i>Ensayo de Shinoda</i>	Identifica la presencia de flavonoides	Una alícuota de extracto alcohólico se diluyó con 1mL de HCl conc, y se agregó limaduras de magnesio metálico, se observó la reacción y se dejó en reposo por 5min. Se agregó 1mL de alcohol amílico, se mezcló las dos fases y dejó en reposo hasta que se separen. Para la alícuota de extracto acuoso, se procedió de la misma manera a partir de la adición del HCl conc.	El alcohol amílico se torna de amarillo, naranja, carmelita o rojo, intenso en todos los casos
<i>Ensayo de antocianidinas</i>	Identifica la presencia de estructuras de secuencia C ₆ -C ₃ -C ₆ del grupo de los flavonoides	A una alícuota de extracto alcohólico se le adicionó 1mL de HCl conc. Se calentó por 10min, se enfrió y añadió 1mL de agua y 2mL de alcohol amílico, se agitó y se dejó separar las dos fases.	Presenta color rojo a marrón en la fase amílica
<i>Ensayo de mucílagos</i>	Detecta la presencia de estructuras de tipo polisacáridos de un coloide hidrófilo de alto índice de masa	Para el cual se enfrió una alícuota del extracto acuoso a 0-5°C.	Presenta una consistencia gelatinosa en la solución

Fuente: Miranda, M y Cuellar, A; 2001

2.6 Obtención del extracto de las hojas de *Solanum lycopersicum*

Para la preparación de los extractos existen algunas técnicas extractivas como son: maceración, percolación, digestión, infusión, decocción y destilación.

El método empleado en esta investigación para la obtención del extracto de hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*), fue mediante maceración. El mismo que se realizó a través de una adaptación de las técnicas planteadas por Miranda, M y Cuellar, A; 2001, pp. 33-39

2.6.1 Proceso de maceración

- Se pesó 50g de planta seca y pulverizada.
- Se colocó en un frasco de vidrio ámbar.
- A la cual se adicionó 250 mL de Etanol al 96% y se dejó macerar por 48h, se completó el proceso mediante zonificación por 15min.
- Transcurrido el tiempo predispuesto se filtró y se midió el volumen de extracto.
- El filtrado se almacenó a -5 °C para decantar las clorofilas por 24h, sin ninguna agitación.
- Luego se trasvasó suavemente el extracto a un balón esmerilado.
- Se eliminó el solvente en un rotavapor (-0.5mm Hg y a 55°C) el extracto recogido anteriormente que fue de 125 mL, hasta obtener un volumen aproximado de 50 mL.
- Filtrar el extracto para eliminar las impurezas.
- Se debe obtener por cada gramo de vegetal seco pulverizado un mililitro de extracto.
- Utilizar el extracto para los análisis planteados.

2.6.2 Control de calidad del extracto

2.6.2.1 Parámetros físico-químicos aplicados al análisis de los extractos

Tabla 4-2. Determinación de los requisitos organolépticos.

DETERMINACIÓN DE OLOR	DETERMINACIÓN DEL COLOR
Se tomó una tira de papel secante de 1 x 10 cm aproximadamente y se sumergió uno de sus extremos en la muestra a ensayar. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto.	En un tubo de ensayos limpio y seco se llenó con la muestra hasta las $\frac{3}{4}$ partes y se observó la coloración, la transparencia, presencia de partículas y la posible separación en capas.

Fuente: Miranda, M y Cuellar, A; 2001

Tabla 5-2. Determinación de requisitos físico-químicos del extracto

PARÁMETRO	PROCEDIMIENTO	EXPRESIÓN DE RESULTADOS
Densidad Relativa	Se pesó el picnómetro vacío y seco a 2°C y se llenó con el extracto, manteniendo a la T° de 25 °C durante 15min., se ajustó el líquido eliminando el exceso. Se pesó cuidadosamente el picnómetro con la muestra, se procede con la misma operación con el agua destilada a 25 °C.	<p>Fórmula:</p> $D_{25} = \frac{M_1 - M_2}{M_2 - M}$ <p>Dónde:</p> <p>M₁ = peso del picnómetro con la muestra (g)</p> <p>M₂ = peso del picnómetro con la muestra (g)</p> <p>M = peso el picnómetro vacío (g)</p>
Índice de refracción	Sobre el prisma de medición se colocó una gota de agua destilada para ajusta el equipo. Luego se colocó una gota del extracto sobre el prisma de medición, cerrar el termoprisma y enfocar la luz por medio del espejo, de manera tal que incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua.	<p>Fórmula:</p> $N_d^{25} = N_d^t + 0,00044(t - 25)$ <p>Dónde:</p> <p>N_d²⁵ = Índice de refracción a 25°C</p> <p>N_d^t = valor leído en la escala del aparato a la T° t.</p> <p>t= valor de la T° a que se realiza la medición (°C)</p> <p>0.00044 =factor de corrección por grado Celcior.</p>
pH del extracto	Primeramente se calibra el equipo con una solución buffer de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente se introduce el pH-metro en el extracto y se lee el valor del pH de la muestra.	Anotar el valor leído por el pH-metro
Sólidos totales.	Se tomó 5,0mL del extracto y se colocó en una cápsula previamente tarada, la capsula se sometió a un baño de agua hasta que el residuo se evapore hasta sequedad. Luego se colocó en una estufa por 3h. Enfriar y pesar hasta peso constante.	<p>Fórmula:</p> $\%St = \frac{Pr - P}{V} * 100$ <p>Dónde:</p> <p>Pr= masa de la cápsula más el residuo (g)</p> <p>P = masa de la cápsula vacía (g)</p> <p>V = volumen de la porción de ensayo.</p> <p>100 = factor matemático para el cálculo.</p>

Fuente: Miranda, M y Cuellar, A; 2001

2.6.2.2 Análisis microbiológico de los extractos

El análisis microbiológico del extracto de las hojas de *Solanum lycopersicum* se realizó siguiendo las técnicas de las Normas NTE INEN 1529-5, 1529-7, 1529-10.

A. Determinación de aerobios mesófilos

Se disolvió 1mL del extracto de las hojas de *Solanum lycopersicum* en 9mL de agua destilada al 0,1% esterilizado y se homogenizó; obteniendo así una dilución decimal de 10^{-1} , de esta se realizan las siguientes diluciones. Se reposó por espacio de 30min, luego se tomó 100 μ L de los extractos diluidos y se adicionó a las placas Petri que contienen Agar Métodos Estándar (PCA, por sus siglas en inglés). Se incubó a 37°C por 24h y se leyó las placas identificando el número de colonias existentes el resultado se reportó como UFC/g o mL de muestra. El ensayo se realizó por duplicado. NTE INEN 1529-5: 2006, pp. 2-3

B. Determinación de coliformes totales y fecales

Se abrió la placa, y se dejó caer 100 μ L de extracto de *Solanum lycopersicum* sobre la parte central de la placa Compact Dry. La misma que se dispersa automática sobre la lámina, transformándola en un gel instantáneamente, una vez cerrada la placa es invertida y colocada en una estufa a 37°C. Después de 24h, se contó el número de colonias coloreadas: coloración morada para coliformes, azules para E.coli. Los resultados se expresaron según la suma de las colonias rojas y azules, como cifra total del grupo. El ensayo se realizó por duplicado. NTE INEN 1529-7:2013, pp. 2-3

C. Determinación de mohos y levaduras

- Se disolvió 1mL del extracto de las hojas de *Solanum lycopersicum* en 9mL de agua peptonada al 0,1% esterilizado y se homogenizó; obteniendo así una dilución decimal de 10^{-1} , de esta se realizan las siguientes diluciones, se reposó por espacio de 30min.
- Transcurrido ese tiempo se tomó 100 μ L de los extractos diluidos y se adicionó a las Placas Petri de Agar Sabouraud y se incubó las placas en una estufa a T° de 37°C por 24h.
- Se realizó la lectura de las placas, identificando el número de colonias de hongos y/o levaduras existentes se reportó por separado como UFC/g o mL de muestra, indicando tiempo de incubación. NTE INEN 1529-10:2013, pp.1-3

2.6.3 Cromatografía en capa delgada (TLC)

Una vez concentrado el extracto de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*), se procede a la realización del análisis cromatográfico según la metodología planteada por Wagner, H; & Blatt, S. 1996, pp. 195- 223

- En una placa cromatográfica de Sílice Gel 60 F254 (MERCK) se aplicó de 1 a 10uL del extracto concentrado utilizando un capilar de vidrio.
- Una vez aplicada la muestra se secó la placa por 2 min.
- Se introdujo la placa en una cuba cromatográfica previamente preparada, tapar la cuba y se dejó que el solvente recorra a través de la placa hasta llegar a las $\frac{3}{4}$ partes de ella.
- Posteriormente se retiró la placa de la cuba, una vez seco se visualizó en una lámpara UV a 254 y 365 nm.
- La placa se reveló y una vez seco se calentó, posteriormente anotar los Rf.

Adsorbentes: Sílice Gel 60 F254 (MERCK)

Sistema de solventes: Acetato de Etilo: Ácido Fórmico: Ácido Acético Glacial: Agua (80:9:9:2)

Revelador: Tricloruro de Aluminio ($AlCl_3$) al 0,05%.

Fórmula:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la Muestra}}{\text{Distancia recorrida del Solvente}}$$

2.7 Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides y fenoles totales

2.7.1 Cuantificación de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico

Para la cuantificación de flavonoides totales se empleó Quercetina como estándar.

2.7.1.1 Preparación de la muestra

Se pesó 1g de muestra seca y pulverizada, al cual se le añadió 20mL de etanol al 80% se zonificó por 30min a 60°C y posteriormente se filtró y recogió en un balón de 25mL, finalmente se aforó con Etanol al 80%.

2.7.1.2 Tratamiento de la muestra.

- De la muestra obtenida se colocó en un balón de 10mL, 100μL del extracto anterior y se agregó 200μL de una solución de Acetato de Potasio 1M y 200μL de Nitrato de Aluminio al 10%.

- Se aforó con etanol al 80%, posteriormente se dejó en reposo por 40min.
- Finalmente se leyó las absorbancias a una longitud de onda de 415nm.
- El resultado se expresa como mg de Quercetina/g Materia Seca. Lock, O; et al 2006, pp 3-4

2.7.1.3 Curva de calibración

- Para la elaboración de la curva de calibración se pesó 2.7mg de Quercetina en un balón de 10mL y se aforó con etanol al 80%.
- De la solución anterior se tomó 700µL, 350µL, 175µL y 100µL, en 4 balones de 10mL.
- A cada uno de los balones se les adicionó 200µL de una solución de Acetato de Potasio 1M y 200 µL de Nitrato de Aluminio al 10%.
- Se llevó a volumen con etanol al 80%.
- Las absorbancias se leyó a la longitud de onda de 415nm y se elaboró la curva de calibración.
- Los resultados se expresaron en mg Equivalentes de Quercetina por g de materia seca (mg/g MS). Lock, O; et al 2006, pp 3-4

2.7.2 Cuantificación de flavonoides totales en extracto etanólico

2.7.2.1 Preparación de extracto

Se pesó 1g de vegetal seco y pulverizado, se disolvió en 25mL de Etanol al 96% trascurrido las 24h se filtró y ajusto el volumen a 25mL con etanol al 80%, se centrifugo la muestra a 2000rpm por 5min. Barrón, Y. R. et al. 2011, pp. 151-156

2.7.2.2 Cuantificación de flavonoides totales

Se tomó 0, 5mL del extracto preparado y se mezcló con 1,5mL de etanol 96%. Posteriormente se adicionó 0,1mL de una solución acuosa de $AlCl_3$ al 10 % y 0,1mL de una solución acuosa 1 M de acetato de sodio. Finalmente se aforó con agua destilada y la mezcla se dejó reposar durante 30 min. Se determinó las absorbancias a la longitud de onda de 415nm. Se realizó una curva de calibración con Quercetina. El resultado se expresó como mg Quercetina/g Materia Seca. Barrón, Y. R. et al. 2011, pp. 151-156

2.7.3 Cuantificación de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico

2.7.3.1 Cuantificación de fenoles totales (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)

La cuantificación de fenoles en el extracto se realizó mediante una adaptación de la metodología empleada por VIVAS, Laura; et al. 2014

Se tomó una alícuota de 0,5mL de extracto etanólico obtenido según el inciso 2.7.1.1, al mismo que se le adicionó 10mL de una solución de Na₂CO₃ al 10%, posteriormente se incubó la muestra a una T° de 38°C por espacio de 15min.

Transcurrido este tiempo se tomó una alícuota de 1mL de la muestra, a la cual se le agregó 3mL de agua y 1mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, se dejó en reposo y a los 15min se procedió a la lectura de las absorbancia a la longitud de onda de 660nm. El contenido de fenoles totales se expresó como equivalentes de ácido gálico (EAG): mg ácido gálico/g Materia Seca.

2.7.3.2 Curva de calibración

Para elaborar la curva de calibración de utilizo una solución de Ácido Gálico a una concentración de 100ppm, del cual se tomó alícuotas de 50, 75, 100, 125 y 150µL completando su volumen a 500 µL con agua destilada posteriormente se leyó sus absorbancias a la longitud de onda de 510nm.

La curva de calibración se realizó con el estándar de ácido gálico a diferentes concentraciones.

2.7.4 Cuantificación de fenoles totales en el extracto etanólico

2.7.4.1 Cuantificación de fenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu

De la muestra obtenida según lo propuesto en el inciso 2.7.2.1, se tomó una alícuota de 0,5mL de extracto etanólico obtenido anteriormente, se le agregó 10mL de una solución de Na₂CO₃ al 10%, y la muestra se incubó la a una T° de 38°C por 15min.

Posteriormente se tomó una alícuota de 1mL de la muestra, a la cual se le adicionó 3mL de agua y 1mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, se dejó en reposo por 15min y se procedió a la lectura de

las absorbancia a 660nm. El contenido de fenoles totales se expresó como equivalentes de ácido gálico (EAG): mg ácido gálico/g Materia seca. La curva de calibración se realizó con el estándar de ácido gálico. VIVAS, Laura; et al. 2014

2.8 Actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*)

2.8.1 Fase de aclimatación de los modelos experimentales

Tabla 6-2. Fase de aclimatación de los modelos experimentales.

DESCRIPCIÓN	DESCRIPCIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	CONDICIONES AMBIENTALES
El proceso de ambientación de los animales experimentales se realizó, por transcurso de 21 días, según la técnica utilizada mediante manipulación y adaptación.	<p>Peso: 25-30g</p> <p>Edad: 2-3 meses</p> <p>Sexo: machos/hembras</p> <p>Lugar de crianza: Bioterio ESPOCH.</p>	<p>Humedad Relativa: 40-70%</p> <p>Temperatura: 22°C ±2</p> <p>Fotoluminiscencia: 12 horas de luz y 12 horas de obscuridad.</p> <p>Coma: viruta de madera seca y limpia</p> <p>Alimento: Balanceado para roedor en forma de pellets y agua Ad libitum.</p> <p>Ruido: Ausente</p>

Realizado por: Guano, G. 2015

2.8.2 Fase de inducción de la lesión en los modelos experimentales

Para la realización de las heridas en los ratones se siguió los siguientes pasos:

- Se humedeció con agua tibia la zona a depilar, luego aplicando la crema depiladora Veet en 5min, se procedió con la depilación de la zona dorsal de cada ratón retirándola con gasas húmedas.
- Se dejó transcurrir 24h, con el fin de descartar posibles reacciones alérgicas.
- Posteriormente se desinfectó la zona depilada y se colocó un anestésico local Lidocaina base al 10% (Roxicaina) por vía tópica.
- Después se marcó una longitud perpendicular de 2cm al eje longitudinal de la zona dorsal del ratón.
- Se procedió con la realización de la incisión con un bisturí en la zona marcada con una profundidad de 2mm. Toma del anteproyecto de Guano, G;2015

2.8.3 Fase de aplicación de los tratamientos a los modelos experimentales

Los 24 ratones seleccionados, entre machos y hembras se distribuyeron en 6 grupos experimentales, cada grupo conformado por 4 ratones con características similar.

Los grupos experimentales recibieron: una crema a base de *Acetato de prednisolona 0,5 g* y *Sulfato de neomicina 0,5g* (LAMODERM[®]); Alcohol al 40% y el extracto de las hojas Tomate a tres concentraciones diferentes en una dosis de 0,5mL de cada una, que se aplicaron cada 12 horas con un hisopo estéril por vía tópica a cada ratón.

A continuación se realizó las mediciones y observaciones diarias, hasta cuando se desprendió la costra de cicatrización, tomando en cuenta el tiempo de la cicatrización, formación de la costra y la longitud final de la cicatriz. Toma del anteproyecto de Guano, G; 2015

2.8.3.1 Selección de los grupos experimentales

Tabla 7-2. Asignación de los grupos experimentales

GRUPOS EXPERIMENTALES					Grupos
Control negativo	B1	B2	B3	B4	G1
Grupo control (+) Lamoderm	C1	C2	C3	C4	G2
Grupo control (+) Alcohol al 40%	D1	D2	D3	D4	G3
Concentración de extracto 25%	X1	X2	X3	X4	G4
Concentración de extracto 50%	Y1	Y2	Y3	Y4	G5
Concentración de extracto 75%	Z1	Z2	Z3	Z4	G6

Realizado por: Guano, G; (2015)

DONDE:

G: Grupos experimentales

B: Control negativo (Animales sin tratamiento)

C: Control positivo (Animales tratados con una crema a base de Acetato de Prednisolona 0,5g y Sulfato de Neomicina 0,5g)

D: Control positivo (Animales tratados con alcohol al 40%)

X: Animales tratados con extracto de hojas de (*S. lycopersicum*) al 25%

Y: Animales tratados con extracto de hojas de (*S. lycopersicum*) al 50%

Z: Animales tratados con extracto de hojas de (*S. lycopersicum*) al 75%

2.8.4 Análisis histopatológico

Una vez finalizado con todo el proceso experimental, los animales fueron sacrificados con posterior corte y extracción de una porción de piel de la zona correspondiente a la cicatriz; las muestras de piel fueron trasladadas en frascos herméticos en un medio de conservación (formol al 10%), para su correspondiente análisis histopatológicos con el propósito de verificar el proceso de regeneración celular del tejido.

El análisis de la piel para evaluar el proceso de cicatrización de las muestras biológica se realizó en el laboratorio histopatológico de SOLCA.

CAPITULO III

MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En esta parte de la investigación se expondrán los resultados experimentales y análisis de los resultados obtenidos del control de calidad tanto de la materia prima como del extracto del vegetal, la cuantificación de metabolitos secundarios y la evaluación de la actividad cicatrizante “In Vivo”.

3.1 Control de calidad de la droga cruda de *Solanum lycopersicum*

En control de calidad de la droga cruda, se realizó con las hojas secas y pulverizadas de la planta de tomate, los resultados obtenidos fueron compararon con los parámetros de referencia para materias vegetales establecidas en las Farmacopeas y la NTE INEN 2392: 2007(Hierbas Aromáticas. Requisitos).

Tabla 1-3. Control de calidad de la materia vegetal seca de (*S. lycopersicum*). Laboratorios. Facultad de ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

Parámetro medido	Resultado	Valor Referencial	
Determinación de Humedad	10%	8-14%	FARMACOPEA ESPAÑOLA
		12%	NTE INEN 2392
Determinación de Cenizas Totales	11.55%	12%	USP N° 28
Determinación de Cenizas Solubles en Agua	6,4%	7%	USP N° 28
Determinación de Cenizas Insolubles en HCl	1,3%	2%	FARMACOPEA ESPAÑOLA
			NTE INEN 2392

Realizado por: Guano, G; 2015

La Tabla 1-3. Nos indica los resultados obtenidos del control de calidad de la material vegetal pulverizada, el cual contiene una humedad residual del 10%, que se encuentran dentro de las especificaciones establecidas tanto en la FARMACOPEA ESPAÑOLA como en la NTE INEN 2392-2007 que se hallan entre 8 y 14%. Es un factor de calidad que nos expresa que el vegetal

ha sido conservado de manera adecuada evitando el crecimiento microbiano que ocasione la degradación de la materia vegetal.

El valor de cenizas totales obtenido es de 11,55%, el cual se asemeja con el valor de 11,29% obtenido por Dilip, K. J. et al, 2012, pero difiere del valor reportado por Meonah, S, et al, 2012, para la planta de *Solanum nigrum* que es de 3.928%, sin embargo se halla dentro del límite de referencia del 12% establecida por la USP N° 28, lo que nos indica que no presenta gran cantidad de minerales o trazas dispersadas en la muestra.

El valor obtenido de cenizas solubles en agua es de 6,4% el cual es superior a lo reportado por Meonah, S, et al, 2012, para la planta de *Solanum nigrum* en su investigación que es de 2.316%, pero se encuentra dentro del rango dado por la USP N°28, si el resultado obtenido supera el 7% nos indica que existe presencia de sustancias minerales en la planta.

El resultado de cenizas insolubles en HCl es de 1,3%, que es inferior a 6,2%, según lo reportado por Dilip, K. J. et al, 2012, para la planta de *Solanum nigrum*, pero cumple con las especificaciones establecidas por la Farmacopea Española y la NTE INEN 2392 de máximo el 2%, si dicho resultado sobrepasa los límites de referencia nos indica que las hojas del vegetal presenta contaminación con residuos ya sea de tierra, arena e incluso insecticida. Los resultados reportados en la tabla garantizan la calidad de la droga vegetal.

3.2. Tamizaje fitoquímico del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*)

Se realizó el tamizaje fitoquímico con el propósito de identificar cualitativamente los metabolitos secundarios representativos responsable de la acción farmacológica, dichos grupos químicos justifican la siguiente investigación referente a Actividad Cicatrizante “In Vivo”.

Tabla 2-3. Tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*).

Laboratorios. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

ENSAYOS	METABOLITOS	EXTRACTO		
		ETÉREO	ETANÓLICO	ACUOSO
Sudan	Aceites y Grasas	(++)		
Dragendorff	Alcaloides	(+++)	(+++)	(+++)
Mayer		(++)	(++)	(+++)
Wagner		(+++)	(++)	(+++)
Balget	Cumarinas/grupos lactónicos	(-)	(++)	

Liebermann-Buchari	Triterpenos y/o esteroides	(+)	(+)	
Catequinas	Catequinas		(+)	
Fehling	Presencia de Azúcares		(-)	(-)
Resinas	Resinas		(-)	
Espuma	Saponinas		(-)	(-)
Shinoda	Flavonoides		(++)	(+++)
Antocianidinas	Flavonoides		(+++)	
Cloruro Férrico	Taninos/ Fenoles		(++)	(++)
Bortrager	Quinonas		(+)	
Mucílagos	Mucílagos			(-)

Realizado por: Guano, G; 2015

Interpretación: (-) Sin evidencia; (+) Baja evidencia; (++) Moderada Evidencia; (+++) Alta evidencia

Como se puede evidenciar en la Tabla 2-3. Mediante el tamizaje fitoquímico se identificó metabolitos secundarios con mayor incidencia en el extracto etéreo los alcaloides, en el extracto etanólico alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos, y en el extracto acuoso alcaloides y flavonoides, de los cuales la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos/fenoles y los esteroides concuerda con lo reportado por Shukla, et al, 2013; Meonah, S, et al, 2012, y Kumar, N. S, 2012, en sus investigaciones.

Sin embargo también se ha determinado otros compuestos como los triterpenos y/o esteroides cumarinas y compuestos grasos con una incidencia moderada, quinonas y catequinas con baja incidencia.

Los metabolitos presentes en el vegetal como los flavonoides proporcionan el efecto farmacológico ya que actúan como antiinflamatorio y antimicrobiano y los compuestos fenoles que intervienen en la cicatrización de heridas mediante procesos de homeostasis, acelerando la regeneración celular.

3.3 Determinación de la calidad del extracto de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*)

3.3.1 Descripción de los parámetros organolépticos

Tabla 3-3. Descripción de los requisitos organolépticos del extracto de las hojas tomate (*S. lycopersicum*). Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2015.

MUESTRA	PARÁMETRO	DESCRIPCIÓN
Extracto de las hojas <i>Solanum lycopersicum</i>	Color	Verde oscuro
	Olor	Penetrante y poco agradable
	Turbidez	Transparente

Realizado por: Guano, G; 2015

En la Tabla 3-3. Se muestra las características organolépticas que presenta el extracto de las hojas de *Solanum lycopersicum*, los cuales al ser analizados indican un color verde oscuro y transparente, con un olor penetrante y poco agradable.

3.3.2 Determinación de los parámetros físicos – químicos

Tabla 4-3. Determinación de los parámetros físicos del extracto de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*). Facultad de Ciencias. ESPOCH. Mayo 2015

MUESTRA	PARÁMETRO	RESULTADO
Extracto de las hojas <i>Solanum lycopersicum</i>	pH	6.3
	Índice de Refracción	1.36
	Densidad Relativa	0.83 g/mL
	Sólidos Totales	1.2%

Realizado por: Guano, G; 2015

En la Tabla 4-3. Se puede evidenciar los parámetros físicos del extracto, que nos muestra un pH=6,3 el mismo que se encuentra dentro de los valores reportados por Yáñez, A. G. et al, 2014, que se hallan entre pH= 5-7.5 en extractos etanólico, el valor obtenido se acerca al pH de la piel que oscila entre pH=5,5 - 6 generando compatibilidad y seguridad al contacto directo con la piel.

El valor del índice de refracción del extracto es de 1.36, valor que no difiere en gran medida con el índice de refracción del agua que es de 1.3, la densidad del extracto es de 0,83g/mL que es menor a la densidad del agua de 1.000mg/mL, estos resultados nos indica que la presencia de sustancias disueltas en el extracto es baja.

3.4 Cromatografía de capa fina TLC

Con la realización de cromatografía de capa fina (TLC), se pretende determinar los posibles compuestos que se hallan disueltos en el extracto del vegetal.

Tabla 5-3. Análisis cualitativo de identificación de metabolitos del extracto de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*). Laboratorios. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Junio 2015

Extracto de Hojas de <i>Solanum lycopersicum</i>		
Manchas Observadas	RF	COMPUESTO
1	0,11	—
2	0,24	Compuestos Glicosilados
3	0,33	Rutina
4	0,51	Ácido Clorogénico
5	0,71	Quercetina

Realizado por: Guano, G; 2015

En la Tabla 5-3. Se exponen los resultados obtenidos de la cromatografía, donde se indican los posibles compuestos existentes en la planta de *Solanum lycopersicum* según los Rf calculados, los mismos que al compararlos con lo propuesto por Wagner, H; & Bladt, S. 1996, se puede decir que corresponde a compuestos como Quercetina, Rutina, Ácido Clorogénico y compuestos glicosilados.

3.5 Análisis cuantitativo por espectrofotometría UV-V

3.5.1 Cuantificación de flavonoides totales expresados como quercetina

3.5.1.1 Cuantificación de flavonoides totales en el extracto de *Solanum lycopersicum* expresados como quercetina

La cuantificación de flavonoides en el extracto se realizó por espectrofotometría, a una longitud de onda de 415nm, para la curva de calibración se utilizó Quercetina como estándar. Las

mismas que se reportan en el Anexo A. Los resultados obtenidos del ensayo se plantean a continuación.

Tabla 6-3. Determinación cuantitativa del contenido de flavonoides totales equivalentes a quercetina de los extractos de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*).
Laboratorios. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Junio 2015

Muestra	Absorbancia	Concentración en ppm (μg de Quercetina/mL de Extracto)	Contenido de flavonoides totales (EQ: mg de Quercetina/g de MS)
Extracto Hidroalcohólico	0,135	31,96	0,799
Extracto etanólico	0,518	117,1	2,93

Realizado por: Guano, G; 2015

En la Tabla 6-3. Se expone los resultados obtenidos de la cuantificación de flavonoides totales, donde se muestra que en el extracto hidroalcohólico contiene 0,799mg equivalente de querceina/g materia seca, mientras que en el extracto etanólico tenemos 2,93mg equivalente de quercetina/g de materia seca; al correlacionarlos con el resultado reportado por Maharana, L. et al. 2010, que muestra el contenido de flavonoides de la planta de *Solanum nigrum* de 5,86mg equivalentes de quercetina/g se nota que el valor es menor. Dado a la diferencia del contenido de flavonoides presentes en los extractos se puede decir que el extracto etanólico extrae con mayor eficacia dichos compuestos.

3.5.2 Cuantificación de fenoles totales

El ensayo para determinar el contenido total de compuestos fenólicos en el extracto de las hojas de *Solanum lycopersicum* se realizó mediante el Método de Folin-Ciocalteu. Donde para la curva de calibración se utilizó como estándar ácido gálico, y sus absorbancias se leyó a longitud de onda de 660nm. Las concentraciones utilizadas y las absorbancias obtenidas para la curva de calibración se muestran en el Anexo B.

3.5.2.1 Cuantificación de fenoles totales expresado como ácido gálico

Tabla 7-3. Determinación cuantitativa del contenido de fenoles totales equivalentes a ácido gálico en el extracto de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*). Facultad de ciencias. ESPOCH. Junio 2015

Muestra	Absorbancias	Concentración en ppm (µg de Ac. Gálico/mL de Extracto)	Contenido de compuestos fenólicos (EAG: mg de Ac. gálico/g de MS)
Extracto Hidroalcohólico	0,088	51,6	1,29
Extracto etanólico	0,217	137,6	3,44

Realizado por: Guano, G; 2015

La Tabla 7-3. Expone los resultados de la cuantificación de fenoles totales en el extracto que indica un valor de 1,29mg equivalente de ácido gálico/g materia seca en el extracto hidroalcohólico, por otra parte se obtuvo 3,44mg equivalente de ácido gálico/g materia seca en el extracto etanólico, los cuales son menores a los valores reportados por Padmashree, A, et al, (2014, pp. 1024-1025) que son de 13.87mg/g equivalente a ácido gálico en el extracto alcohólico y 18.97mg/g equivalentes a ácido gálico en el extracto hidroalcohólico en la planta de *Solanum nigrum*, la presencia de compuestos fenólicos justifica la actividad farmacológica que posee el vegetal en las pruebas “In Vivo”.

3.6 Análisis microbiológico del extracto

Tabla 8-3. Determinación de los parámetros microbiológicos del extracto de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*). Facultad de Ciencias. ESPOCH. Junio 2015

MUESTRA	DETERMINACIÓN	RESULTADO UFC/mL	LÍMITE MÁXIMO NTE INEN 2392: 2007
Extracto de las hojas <i>Solanum lycopersicum</i>	Aerobios Mesófilos	200 UFC /mL	10 000 UFC/mL
	Coliformes Totales y Fecales	Ausencia	< 10 UFC/mL
	Mohos y Levaduras	Ausencia	< 1x10 ⁴ UFC/mL

Realizado por: Guano, G; 2015

UFC: Unidades formadoras de Colonias

Los resultados expresados en la Tabla 8-3. Nos muestra que el extracto de las hojas de *Solanum lycopersicum*, cumple con los requisitos microbiológicos establecidos en la Norma NTE INEN 2392, 2007, ya que muestra crecimiento de Aerobios Mesofilos con 200UFC/ mL, el mismo que

es inferior al límite de referencia 10,000UFC/mL, por otra parte no se observó crecimiento tanto de Coliformes Totales y Fecales como de mohos y levaduras, en la muestra por ende no presenta mayor riesgo para la salud y es aceptable para su aplicación como fitoterápicos ya que esta información garantiza la calidad del extracto.

3.7 Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de *S. lycopersicum* en ratones (*Mus musculus*). Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2015

3.7.1 Tiempo de cicatrización de heridas en los grupos experimentales.

Para evaluar la actividad se seleccionó 24 ratones *Mus musculus*, asignados a 6 grupos experimentales. Los mismos que comprenden: Un control negativo, Dos controles positivos a los que se les aplicó: Crema a base de (Acetato de Prednisolona 0,5g y Sulfato de Neomicina 0,5g) y Alcohol al 40%; y Tres grupos experimentales tratados con extracto de *Solanum lycopersicum* a concentraciones de 25%, 50% y 75%. A los cuales se les midió el tiempo de cicatrización, tiempo de desprendimiento de la costra y longitud de la herida.

Tabla 9-3. Actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate en ratones evaluado según los días de cicatrización.
Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio 2015

TIEMPO DE CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS EN DÍAS			
GRUPOS	Repeticiones	PROMEDIO	DESVIACIÓN STÁNDAR (±)
B	4	14,5	0,58
C	4	10,5	0,58
D	4	11,5	0,58
X	4	10,3	0,96
Y	4	9,8	0,50
Z	4	7,3	0,50

Realizado por: Guano, G; 2015

Dónde:

B: Control negativo (Animales sin tratamiento)

C: Control positivo (Animales tratados con una crema a base de Acetato de Prednisolona 0,5g y Sulfato de Neomicina 0,5g.

D: Control positivo (Animales tratados con alcohol al 40%)

X: Animales tratados con extracto de hojas de (*S. lycopersicum*) al 25%

Y: Animales tratados con extracto de hojas de (*S. lycopersicum*) al 50%

Z: Animales tratados con extracto de hojas de (*S. lycopersicum*) al 75%

Cuestionando los datos de la Tabla 9-3. El tratamiento con mayor efectividad sobre el proceso de cicatrización de heridas es el Grupo Z, tratado con el Extracto al 75%, que llevó en promedio 7.3 días para sanar la lesión inducida, al contrario del grupo X (extracto al 25%) y el grupo Y (extracto a 50%) que tardan 10,3 y 9,8 días respectivamente, el grupo C (tratamiento de referencia) que tarda 10,5 días, el grupo D (Alcohol a; 40%) que tarda 11,5 días, por ende su efecto se determina por el menor tiempo que llevó para su completa cicatrización, a diferencia de los demás tratamientos que tuvieron un tiempo superior para cumplir con su efecto farmacológico.

3.7.2 Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos de la actividad cicatrizante en lesiones inducidas a Ratones (*Mus musculus*). Se realizó el análisis estadístico utilizando el test ANOVA un factor y test Tukey, con el propósito de hallar diferencias estadísticas entre los diferentes grupos experimentales y los grupos controles. Además se requiere evaluar la existencia o no de la actividad farmacológica propuesta para la planta de *Solanum lycopersicum*.

Tabla 10-3. Análisis de Anova unifactorial realizado según los resultados obtenidos de los días de cicatrización de los diferentes grupos experimentales. Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio 2015

ANOVA DE UN FACTOR

DÍAS DE CICATRIZACIÓN					
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	P-valor
Entre grupos	112,375	5	22,475	55,8	2,5017E-10
Dentro de los grupos	7,25	18	0,40277778		
Total	119,625	23			

Realizado por: Guano, G; 2015

En la Tabla 10-3. Se exponen los resultados obtenidos del test ANOVA de un factor, donde se analiza los datos de los días de cicatrización de los modelos experimentales de los diferentes tratamientos aplicados, en el que se compara la media de los diferentes grupos experimentales; con un p-valor de 2,5017E-10 el cual es menor al nivel de significancia de 0,05%, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa que indica que al menos 2 de los tratamientos experimentales aplicados tienen diferencias significativas en el tiempo de cicatrización de la heridas al compararse con los demás tratamientos.

Se puede decir que el efecto se debe al contenido de Flavonoides y fenoles en el extracto, además de otros metabolitos presentes. Los mismos que interviene en la reepitelización de los tejidos a través de la coagulación sanguínea, acelerando el proceso de cicatrización. Los flavonoides actúan también como antimicrobiano y generan un medio seco evitando la proliferación de bacterias.

Tabla 5-3. Análisis estadístico usando test de tukey para los días de cicatrización de los diferentes grupos experimentales. Bioterio. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio 2015

DÍAS DE CICATRIZACIÓN					
Tukey B ^a					
Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Z= Extracto C ₃	4	7,2500			
Y= Extracto C ₂	4		9,7500		
X=Extracto C ₁	4		10,2500	10,2500	
C= Control positivo 1	4		10,5000	10,5000	
D= Control positivo 2	4			11,5000	
B= Sin tratamiento	4				14,5000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Realizado por: Guano, G; 2015

La Tabla 11-3. Reporta los resultados del test tukey, que nos permite determinar la similaridad entre los grupos para la actividad cicatrizante. Por lo que podemos expresar a un nivel confianza del 95%, que el grupo Z (extracto al 75%) es el tratamiento que dio mayor efectividad debido a que disminuye los días de cicatrización de las heridas considerablemente a

diferencia de los demás tratamientos. Por otra parte el grupo X (extracto al 25%) y C (medicamento de referencia crema a base de Acetato de Prednisolona 0,5g y Sulfato de Neomicina 0,5g) presentan homogeneidad de efecto cicatrizante entre dichos tratamientos. A diferencia del grupo B (sin tratamiento) que no posee homogeneidad con ningún otro tratamiento ya que tarda mayor tiempo en cicatrizar la herida.

Cabe recalcar que no todos los tratamientos que se administran para la actividad cicatrizante producen el mismo efecto, es decir el nivel de cicatrización es variable y depende de varios factores, como la concentración de los extractos administrados, las características fisiológicas de los roedores y su afinidad hacia el tratamiento.

3.7.3 Variación del tamaño de las heridas en el proceso experimental de cicatrización

Tabla 12-3. Actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*S. lycopersicum*) evaluado según el tamaño de la herida. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2015.

REDUCCIÓN DEL TAMAÑO DE LAS HERIDAS (cm)						
DÍAS	TRATAMIENTOS					
	B	C	D	X	Y	Z
1	2	2	2	2	2	2
2	1,9	1,9	1,8	1,7	1,8	1,7
3	1,7	1,6	1,5	1,4	1,5	1,3
4	1,5	1,4	1,3	1,2	1,1	1
5	1,3	1,2	1,1	1	0,9	0,7
6	1,2	1	0,9	0,9	0,7	0,4
7	1	0,8	0,7	0,5	0,6	0
8	0,8	0,5	0,6	0,3	0,3	
9	0,7	0,4	0,5	0,1	0,2	
10	0,5	0,3	0,3	0	0	
11	0,4	0	0,2			
12	0,4		0			
13	0,2					
14	0,1					
15	0					

Realizado por: Guano, G; 2015

En la Tabla 12-3. Se puede observar los resultados de las pruebas “In Vivo”, según la variación del tamaño de la herida de cada uno de los grupos experimentales al concluir con los tratamientos. Donde verificamos que el cierre de la herida se da en el grupo Z (extracto al 75%) en aproximadamente 7 días, los grupos X (extracto 25%), Y (extracto 50%), y C (Tratamiento

de referencia) muestran un efecto farmacológico similar ya que actúan más como antiinflamatorio y antimicrobiano que como cicatrizantes, el cierre completo de la herida en estos grupos se da en 10 días aproximadamente y el grupo D (alcohol al 40%) que básicamente actúa como antiséptico evitando que se produzca una infección en la herida y su cierre completo se da en 12 días. A diferencia del grupo B (sin tratamiento) que al no disponer de un agente que impulse la reepitalización de los tejidos, el cierre de la herida se da en un tiempo superior a los demás tratamientos.

3.7.4 Tiempo de formación y desprendimiento de la costra

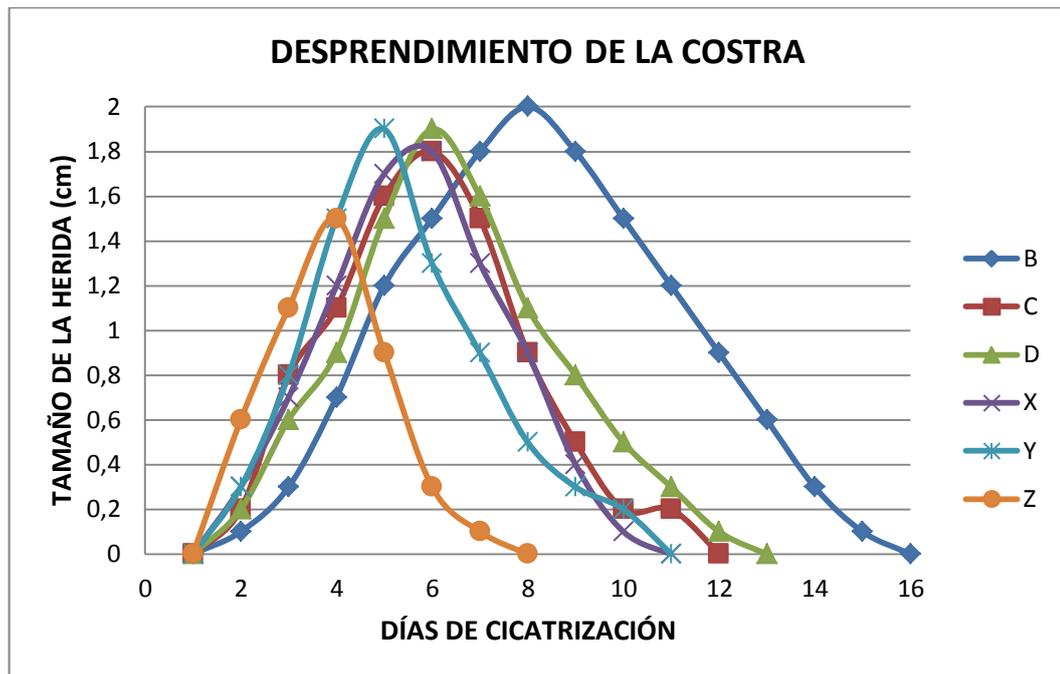
Tabla 13-3. Actividad cicatrizante del extracto de las hojas de *S. lycopersicum* evaluado según el tiempo que tarda en formarse y desprenderse la costra. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2015

DESPRENDIMIENTO DE LA COSTRA (cm)						
DÍAS	GRUPOS DE TRATAMIENTO					
	B	C	D	X	Y	Z
1	0	0	0	0	0	0
2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,6
3	0,3	0,8	0,6	0,7	0,8	1,1
4	0,7	1,1	0,9	1,2	1,5	1,5
5	1,2	1,6	1,5	1,7	1,9	0,9
6	1,5	1,8	1,9	1,8	1,3	0,3
7	1,8	1,5	1,6	1,3	0,9	0,1
8	2	0,9	1,1	0,9	0,5	0
9	1,8	0,5	0,8	0,4	0,3	
10	1,5	0,2	0,5	0,1	0,2	
11	1,2	0,2	0,3	0	0	
12	0,9	0	0,1			
13	0,6		0			
14	0,3					
15	0,1					
16	0					

Realizado por: Guano, G; 2015

En la Tabla 13-3. Se muestra los resultados del tiempo que tarda en formarse y desprenderse la costra de acuerdo a cada tratamiento. Una vez más nos indica que el tratamiento Z (extracto al 75%) tiene mayor efectividad para la cicatrización de heridas, esto se debe a la mayor concentración de metabolitos, ya que el proceso se da en el menor tiempo posible regenerando rápidamente la capa afectada de la piel.

Figura 1-3. Tiempo de formación y desprendimiento de la costra. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH (Julio 2015).



Realizado por: Guano, G; 2015

La figura 1-3. Muestra el proceso de formación y desprendimiento de la costra en la cicatrización de heridas, donde el pico máximo de la figura indican el tiempo que tarda en formarse la pústula en función de los días del tratamiento, por tanto se observa que todos los grupos experimentales inician el proceso de formación de la costra a los dos días de aplicación del tratamiento, sin embargo la costra es desprendida según cada tratamiento; así tenemos los controles positivos C y D que tardan 6 días en formarse la costra y 11 días en eliminarse. Mientras que el grupo Z (extracto a los 75%) la pústula se forma a los 4 días y es desprendida en un tiempo óptimo de 8 días, y los tratamientos X (extracto al 25%) y Y (extracto al 50%) requieren mayor tiempo para su efecto, el tiempo de la cicatrización de las heridas tiene sus beneficios ya que ayuda a reducir su longitud y espesor disminuyendo posibles infecciones por microorganismos.

El extracto de las hojas de tomate presentan mejor efecto cicatrizante que el extracto de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) que cicatriza las heridas en un lapso de 10 días a una concentración de 80% según el estudio realizado por Aynaguano, R. M. (2014, pp. 58-64); también es más eficaz frente al extracto de malva (*Malva sylvestris L.*) que su efecto cicatrizante se en un lapso de 9,3 días a una concentración del 100% según el estudio de Santamaría, E, 2013; en el estudio realizado por Zamide, E; et al. 2015, indica que el extracto de la planta de tomate tarda 9

días cicatrizar una herida lo cuales presentan diferencia mínima en su efecto cicatrizante considerando los días de cicatrización.

3.8 Examen histopatológico

Tabla 14-3. Examen histopatológico de la piel de los ratones (*Mus musculus*) sujetos al proceso experimental para la evaluación del efecto cicatrizante. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Julio 2015

MUESTRA		EXAMEN MICROSCÓPICO					Interpretación
Piel de Ratón	Edema	PMN	Linfocitos	Tejido Epitelial	Tejido Conectivo	Anexo Piloso	
B-ST	(+++)	(++)	(+)	(+++)	(+)	(++)	Edema: Parte del proceso inflamatorio
C-CP₁	(-)	(-)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	PMN: Inflamación aguda Linfocitos: Inflamación Crónica
D-CP₂	(++)	(-)	(+)	(+++)	(++)	(++)	Tejido Conectivo: Cicatrización con fibrosis
X-GE₁	(+)	(++)	(++)	(+++)	(+++)	(++)	Tejido Epitelial: Regeneración Epidérmica
Y-GE₂	(+)	(+)	(+)	(+++)	(++)	(++)	Anexo Piloso: Regeneración Dérmica
Z-GE₃	(-)	(+)	(+)	(+++)	(+++)	(+++)	

Realizado por: Guano, G; y Robles, J; 2015

PMN: Polimorfos nucleares; (-) No se observa; (+) Bajo; (++) Moderado; (+++) Alto

La Tabla 14-3. Exhiben los resultados del análisis histopatológicos de la piel de los roedores que fueron sometidos al proceso experimental de la actividad cicatrizante del extracto de Tomate (*S. lycopersicum*), en las muestras de piel se observó: En el grupo B (sin tratamiento) la presencia de proceso inflamatorio y microbiano por la incidencia de edema y polimorfos nucleares y en la regeneración celular con mayor incidencia solo se observa tejido epitelial, su cicatrización esta en 60%.

El grupo C (Tratamiento de referencia), por su acción como antiinflamatorio y antimicrobiano no presenta edema ni PMN, por ende la regeneración celular es completa ya que se observa tejido epitelial, tejido conectivo y anexos pilosos con alta incidencia, cicatrización 100%

El grupo D (alcohol al 40%) presenta proceso inflamatorio moderado, en cuanto a la regeneración celular se observa tejido epitelial con alta incidencia, tejido conectivo y anexos pilosos con incidencia moderada por lo que se puede decir que su cicatrización esta en 78%.

El grupo X (extracto al 25%) presenta inflamación mínima y acción microbiana moderada, en la regeneración celular se observa con mayor incidencia tejido epitelial y conectivo, anexos pilosos con incidencia moderada por tanto su cicatrización es de 89%

El grupo Y (extracto al 50%) presenta baja inflamación y en la regeneración celular se observa tejido epitelial con mayor relevancia, tejido conectivo y anexos pilosos es moderado, su efecto cicatrizante se da en un 78%.

Mientras que el Grupo Z, además de no presentar proceso inflamatorio el efecto cicatrizante esta en 100% ya que muestra alta incidencia de tejido epitelial, conectivo y anexos pilosos. Su regeneración celular se da tanto a nivel de la epidermis y la dermis. Algunos de los parámetros encontrados concuerdan con lo reportado por Zamide, e; et al. 2015

CONCLUSIONES

- Se evaluó la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de Tomate (*Solanum lycopersicum*) sobre las heridas inducidas en ratones, correlacionándolas con los controles positivos (Crema a base de Acetato de Prednisolona 0,5g y Sulfato de Neomicina 0,5g, y Alcohol al 40%); demostrando mediante el test ANOVA y TUKEY que el tratamiento con el extracto a una concentración del 75% tiene mayor eficacia para la sanación de heridas, ya que el tiempo de cicatrización es corto a diferencia de los demás tratamientos que requieren mayor tiempo.
- El control de calidad del extracto del vegetal nos muestra resultados que se encuentran dentro de los rangos permisibles por la Farmacopea Española y la USP N° 28. En cuanto a análisis microbiológico se determinó crecimiento de Aerobios Mesófilos y ausencia de Coliformes totales, Mohos y Levaduras, por lo que cumplen con las especificaciones planteadas en la Norma NTE INEN 2932: 2007. Aseguran la calidad del extracto debido a que presenta condiciones óptimas de higiene y no muestra riesgo para la salud.
- Gracias al tamizaje fitoquímico de los extractos etéreo, etanólico y acuoso de las hojas de *Solanum lycopersicum* se logró identificar metabolitos secundarios encargadas de actividad farmacológica entre los cuales tenemos compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, triterpenos y esteroides, de los cuales poseen mayor potencial para el efecto cicatrizantes los flavonoide y fenoles. Mediante TLC se presume que existen metabolitos como compuestos glicosilados, Rutina, Acido clorogénico y Quercetina.
- En la cuantificación de metabolitos secundarios en el extracto, se determinó contenido significativos de flavonoides totales equivalentes a Quercetina y fenoles totales equivalentes de ácido gálico por gramo de materia seca. Estos metabolitos justifican la actividad cicatrizante en las pruebas “In Vivo”, debido a que los flavonoide actúan como antiinflamatorios y los taninos presentan actividad hemostática que provoca el incremento de la coagulación sanguínea actuando como antihemorrágico.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere desarrollar un fitofármaco que facilite la utilización del extracto de *Solanum lycopersicum* que sea accesible para la población.
- Incorporar el extracto de *Solanum lycopersicum* en combinación con otros vegetales para determinar si mejora los resultados del efecto cicatrizante.
- Realizar estudios procedentes de la presente investigación vinculados a los metabolitos existentes en la planta de Tomate con el propósito de determinar otras propiedades farmacológicas.

BIBLIOGRAFÍA

ARANGO, M. M. *Plantas medicinales: botánica de interés médico.* Universidad Católica de Manizales, UCM, Colombia: 2006, pp. 319-321.

ARGERICH, Cosme; & GAVIOLA, Julio. *Manual de producción de semillas hortícolas, tomate.* Argentina: INTA E.E.A. La Consulta. Mendoza, 2011, pp. 5-8.

AYNAGUANO, R. María Del Carmen. *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 de pregrado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2014. pp. 1-5.

AZURA, Amid, et al. Tomato leaves methanol extract possesses antiinflammatory activity via inhibition of lipopolysaccharide (LPS)-induced prostaglandin (PGE₂). *African Journal of Biotechnology* [en línea], 2011, (Malaysia). Vol. 10 (81), pp. 18674-18678. [Consulta: 15 marzo 2015]. ISSN 1684–5315. Disponible en:

<<http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/98655/87919>>

BRUNETON, Jean. *Farmacognosia, fitoquímico plantas medicinales.* 2^{da} Edición. México: Acribia Editorial, 2001, pp. 388-390.

BARRÓN, Y. R. et al. Flavonoides y actividad antioxidante de *Calia secundiflora* (Ort.) Yakovlev. *Fitotecnia.* [en línea], 2011, (México), Vol.34 (3), pp. 151-156. [Consulta: 20 marzo 2015]. ISSN 0187-7380. Disponible en:

<<http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v34n3/v34n3a5.pdf>>

BENITES, Elizabeth. Medicina tradicional, ética y social Ecuatoriana. *Revista ecuatoriana de higiene y medicina tropical* [en línea], 2005, Vol. 42, pp. 87-98. [Consulta: 29 mayo 2015]. ISSN No. 0048-7775. Disponible en: <<http://www.elizabethbenites.com/2008/11/medicina-tradicional-etica-y-social-ecuatoriana/>>

CABEZAS ROMÁN, Gabriela. *Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (Tropaeolum majus) en ratones (Mus musculus).* (Tesis de pregrado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2014, pp. 11-23.

CARRETERO, M. E. Compuestos fenólicos: Taninos. *Panorama actual medicina* [en línea], 2000, Vol. 24 (235), pp. 633-636. [Consulta: 11 abril 2015]. Disponible en: <http://webdelprofesor.ula.ve/ciencias/chataing/Cursos/productos_naturales/taninos.pdf>

CAMPOVERDE, Janneth; & VERDUGO, Marcela, et al. *Determinación del efecto cicatrizante de las hojas de carne humana (Jungia cf. rugosa),* (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Cuenca-Ecuador 2008, pp. 24-26. Disponible en: <<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20266/1/TESIS.pdf>>

DECINTI, Emilio. *Bases de la medicina clínica. Cirugía general, heridas* [en línea], escuela de medicina Chile. [Consulta: 12 junio 2015]. Disponible en: <http://www.basesmedicina.cl/cirugia/16_1_heridas/16_1_heridas.pdf>

DILIP, K, J. et al, *Pharmacognostic study of karamachi (Solanum nigrum Linn)* [en línea], Anand, Gujarat, India: 16/06/ 2012, pp.42-48. [Consulta: 12 septiembre 2015]. Disponible en: <http://jpsionline.com/admin/php/uploads/103_pdf.pdf> 12/09/2015>

ESPINOZA, Lizeth. *Cicatrización* [blog], 6 de septiembre de 2011. [Consulta: 12 junio 2015]. Disponible en: <<http://lizzykatdecabeza.blogspot.com/2011/09/cicatrizacion.html>>

FARMACIA, *Que es la fitomedicina,* [blog] Medicina natural y nutrición. Febrero 11th, 2014. [Consulta: 19 julio 2015]. Disponible en: <<http://www.blogdefarmacia.com/que-es-la-fitomedicina/>>

FONNEGRA GÓMEZ, Ramiro; & JIMÉNEZ RAMÍREZ, Silvia. *Planta medicinales aprobados en colombia.* 2^{da} Edición. Medellín-Colombia. Editorial Universidad de Antioquia. 2007, pp. 242-245.

FUENTES PAREDES, Flor, et al. *Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón*. Lima. 2008, pp. 7-8 y 23-31. [Consulta: 15 julio 2015]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES_RATON.pdf>

FUNDACIÓN Dr. JORDI MAS. *Cicatrización de heridas*. Ethicon, Wound closure manual, 2008, pp. 6-20. [Consulta: 05 junio 2015]. Disponible en: <http://web.intercom.es/jorgemas/Libro_Sutura.pdf>

GUANO, Gladys. *Evaluación de la actividad cicatrizante de las hojas de tomate (Solanum lycopersicum) en lesión inducida en ratones (Mus musculus)* (anteproyecto de tesis), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador 2015.

GARCÍA, Mikel. *Fitoquímicos: Nutrientes del futuro. Fenoles* [blog]. España. 2015. [Consulta: 19 julio 2015]. Disponible en: <<http://www.casapia.com/informaciones/Fitoquimicos-Nutrientes-Futuro/Fenoles.htm>>

JONATHAN, *Farmacognosia. Introducción a las drogas de origen natural*. [blog], 20 de Mayo 2010. [Consulta: 05 junio 2015]. Disponible en: <<http://farmacognosia.foro-argentina.org/t8-introduccion-a-las-drogas-de-origen-natural>>

KUKLINSKI, Claudia. *Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. España: Omega, 2000, pp. 32-36.

KUMAR, N, S. Antiulcer activity of the ethanolic extract of leaves *Physalis angulata*. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences L* [en línea], 2012, (India) Vol. 4(4), pp. 226-228. [Consulta: 12 septiembre 2015]. ISSN- 0975-1491. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/262023773_Anti_ulcer_activity_of_the_ethanolic_extract_of_leaves_Physalis_angulata.l>

LEYVA RODRÍGUEZ, Francisco. *Heridas y cicatrización en enfermería* [en línea]. Servicio de Cirugía Plástica Hospital Universitario La Paz. Publicidad Just In Time S.L. 2012, pp. 7-8. [Consulta: 12 junio 2015]. Disponible en:

<<http://www.ulceras.net/monograficos/guia%20Heridas%20y%20Cicatrices%20en%20enfermeria%20OK.pdf>>

LOCK, Olga, et al. Práctica VI.6. *Análisis de flavonoides en plantas*. [Version Date], 2006, (Lima–Perú), pp. 3-4. [Consulta: 16 mayo 2015]. Disponible en:

<http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-6.pdf>

LÓPEZ, Tránsito. Flavonoides. *Fitoterapia OFFARM*. Vol. 21 (4), 2002, pp. 108-113. [Consulta: 16 mayo 2015]. Disponible en:

<http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13028951&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v21n04a13028951pdf001.pdf&ty=119&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es>

LUCHA FERNÁNDEZ, V; et al. *Formación dermatológica, la cicatrización de las heridas* [en línea], Consorcio Hospital General, Universitario de Valencia. 2008. pp. 1-8. [Consulta: 05 junio 2015]. Disponible en:

<<https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CBsQFjAAahUKEwiOrdDTnMrIAhUIVh4KHSI1DDc&url=http%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F4606613.pdf&usg=AFQjCNGAWpGe9yyAdXSxunxxArWdvqv2dQ&sig2=q3M-PEyT4VvU0UtdF2V0cw>>

MAHARANA, Laxmidhar. et al. Anti-hyperglycemic of aqueous extract of leaves of *Solanum nigrum* Linn. *Scholars research library* [en línea], 2010, (India) Vol. 2(3), pp. 168-179. [Consulta: 12 septiembre 2015]. ISSN 0975-5071. Disponible en:

<http://www.researchgate.net/publication/267383578_Anti-Hyperglycemic_potential_of_aqueous_extract_of_leaves_of_Solanum_nigrum_Linn>

MARTÍNEZ, Alejandro. *Flavonoides*. Universidad de Antioquia, Medellín, 2005, pp. 2-16. [Consulta: 18 abril 2015]. Disponible en: <<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>>

MAZÓN FIERRO, Ángela. *Determinación de buenas prácticas de producción de ratones (Mus musculus) en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia* (Tesis de pregrado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2010, pp. 29-41.

MEONAH, Sathya. et al. Pharmacognostical and hypoglycemic activity of different parts of *Solanum nigrum* Linn plant. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences* [en línea], 2012, (India) Vol. 4 (1), pp. 221-224. [Consulta: 13 septiembre 2015]. ISSN- 0975-1491. Disponible en: <<http://www.ijppsjournal.com/Vol4Suppl1/3175.pdf>>

MERINO PÉREZ, Jesús; & NORIEGA BORGE, María José. *Fisiología general. La piel: estructura y funciones* [en línea]. Universidad de Cantabria, pp. 1-6. [Consulta: 14 julio 2015]. Disponible en: <<http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/fisiologia-general/materiales-de-clase-1/bloque-ii/Tema%2011-Bloque%20II-La%20Piel.%20Estructura%20y%20Funciones.pdf>>

MIRANDA, Migdalia; & CUELLAR, Armando. *Farmacognosia y productos naturales.* La Habana-Cuba, Editorial Félix Varela, 2001 pp. 28-58.

NTE INEN 1529-5. *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. REP.*

NTE INEN 1529-7. *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes. Por la técnica de recuento de colonias.*

NTE INEN 1529-10. *Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuentos en placa por siembra en profundidad.*

OLGUIN, Sebastián. *Propiedades medicinales del tomate* [blog]. 2010. [Consulta: 10 julio 2015]. Disponible en: <<http://www.plantasparacurar.com/propiedades-medicinales-del-tomate/>>

OMS *Estrategia de la Organización Mundial de la Salud sobre medicina tradicional.* Diseño y disposición Renata Kerr Design. 2002, pp. 17-18 y 77-78. [Consulta: 10 julio 2015]. Disponible en: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1_spa.pdf>

PALOMO, Iván; et al. Actividad antioxidante, hipolipemiente y antiplaquetaria del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y el efecto de su procesamiento y almacenaje. *Nutrición* [en línea], 2010, (Chile) Vol. 37 (4), pp. 525-528. [Consulta: 15 marzo 2015]. ISSN 0717-7518. Disponible en: <<http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v37n4/art14.pdf>>

PADMASHREE, A, et al. Antioxygenic activity of solanum nigrum l. leaves in sunflower oil model system and its thermal stability. *Food and nutrition sciences*[en línea], 2014, (India) Vol. 5, pp. 1024-1025. [Consulta: 13 septiembre 2015]. Disponible en:

<https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CB4QFjAAahUKEwju4ZSLmcrIAhWHHx4KHet8BU4&url=http%3A%2F%2Fwww.scirp.org%2Fjournal%2FPaperDownload.aspx%3FpaperID%3D46935&usg=AFQjCNFVfXS8pIPUp0cpnRsl4L0o2_IOTQ&sig2=7KzcTZF1xZnqaRds96v0vQ>

PARDO, José. *Patentabilidad de los extractos vegetales* [en línea]. Los lunes del centro de patentes. 2002. [Consulta: 14 julio 2015]. Disponible en:

<http://www.ub.edu/centrepatents/pdf/doc_dilluns_CP/pardo_patentesextractosplantas.pdf>

PAZ ARRAIZA, M. *Principios activos en plantas medicinales y aromáticas* [en línea]. Uso industrial de plantas aromáticas y medicinales. 2008, pp. 56-63. [Consulta: 11 mayo 2015]. Disponible en: <<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema6.pdf>>

PÉREZ ESCALANTE, Silvia. *Estructura y funciones de la piel.* 2013. [Consulta: 12 julio 2015]. Disponible en: <<http://es.slideshare.net/syv9885/pdf-estructura-y-funciones-de-la-piel>>

QUIÑONES, M, et al. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria* [en línea], 2012, (Madrid-España) Vol. 27(1), pp. 76-85. [Consulta: 11 mayo 2015]. ISSN 0212-161. Disponible en:

<<http://digital.csic.es/bitstream/10261/101372/1/Los%20polifenoles.pdf>>

REIRIZ PALACIOS, Julia. *Tejidos, membranas, piel. Derivados de la piel* [en línea]. Barcelona. 2015, pp. 2-7. [Consulta: 13 julio 2015]. Disponible en:

<<https://www.infermeravirtual.com/files/media/file/95/Tejidos,%20membranas,%20piel%20y%20derivados.pdf?1358605323>>

REDROBÁN VARGAS, Karina. *Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (Nasturtium officinale) y llantén (Plantago major) en ratones (Mus musculus)* (Tesis de pregrado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2012, pp. 1-5.

RODRÍGUEZ ARIZA, F; & BECERRA PÉREZ, J. *Heridas*. Servicio de cirugía general y digestiva. Hospital Clínico Universitario de Málaga. 2015. [Consulta: 15 julio 2015]. Disponible en: <<http://www.medynet.com/usuarios/jraguilar/Manual%20de%20urgencias%20y%20Emergencias/heridas.pdf>>

ROMO MEJÍAS, Juan. *Anatomía y fisiología de la piel y anexos: Estructura y funciones* [blog]. 10 enero 2010. [Consulta: 12 julio 2015]. Disponible en: <<http://www.cuidadosdelasmanosylospies.mye.name/apuntes/2010/01/10/anatomia-y-fisiologia-de-la-piel-y-anexos-estructura-y-funciones>>

ROMY, *Qué son los polifenoles* [blog], Noviembre 07, 2010. [Consulta: 19 julio 2015]. Disponible en: <<http://www.scribd.com/doc/41449952/QUE-SON-LOS-POLIFENOLES#scribd>>

SALEMA, Christian; et al. *Heridas. Conceptos generales. Artículo docente* [en línea], 2000, (Universidad Austral de Chile), Vol. 14, pp. 90-95. [Consulta: 12 julio 2015]. Disponible en: <<http://mingaonline.uach.cl/pdf/cuadcir/v14n1/art15.pdf>>

SALTO, Devora. *Úlceras de pierna*. 2011. [Consulta: 09 junio 2015]. Disponible en: <<http://slideplayer.es/slide/1120619/>>

Salud y Medicina. *La Cicatrización de Heridas*, [en línea]. 28 de marzo de 2010. [Consulta: 09 Junio 2015]. Disponible en: <<http://es.slideshare.net/guest0647f6/expo-cicatrizacion-2>>

SÁNCHEZ, Leonardo, et al. *Paniculitis. Parte I: Paniculitis lobular. Educación médica continua* [en línea], 2006, (Dermatología Peruana) Vol. 16(2), pp. 103-107. [Consulta: 12 julio 2015]. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v16_n2/pdf/a02v16n2.pdf>

SANTAMARÍA BEDÓN, Eliana. *Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de malva (Malva sylvestris L.) y aguacate (P. americana) en ratones (Mus musculus)* (Tesis de pregrado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2013, pp. 26-29.

SANTAMARÍA CÁSERES, Liliana. *Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extractos de verdolaga (Portulaca oleracea) en ratas (Rattus novergicus) con edema inducido por carragenina* (Tesis de pregrado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador. 2011, pp. 1-3.

SARRAZOLA, Ángela, et al. Prácticas sociales asociadas con el uso de la planta de tomatara en afecciones bucales en un grupo de adultos, 2004. *Revista cubana de estomatología*. [On-line], 2006, (Ciudad de La Habana Cuba). Vol.43 (2). [Consulta: 19 mayo 2015]. ISSN 1561-297X. Disponible en:

<http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000200007>

SHARAPIN, Nikolai. Editor, Pinzón S, Roberto. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Vol.78. Colombia. 2000. pp; 40-53. [Consulta: 20 abril 2015]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=XH2HzSIJPywC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false>

S, Frank; & D, Amelio. *Botanicals: A phytocosmetic desk reference*. 1998. pp 201-202.

SHUKLA, Priya., & KUMAR, Sunil. Acute toxicity study of ethanolic extract of *Solanum lycopersicum* (leaf) in swiss albino mice. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, Vol. 6(1), 2015, (India), pp. 361-366. [Consulta: 16 marzo 2015]. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148. Disponible en: <<http://ijpsr.com/bft-article/acute-toxicity-study-of-ethanolic-extract-of-solanum-lycopersicum-leaf-in-swiss-albino-mice/>>

SHUKLA, Priya, et al. Review on the taxonomy, ethnobotany, chemistry and pharmacology of *Solanum lycopersicum*. *Linn. International journal of chemistry and pharmaceutical sciences* [en línea], 2013, (India) Vol.1 (8), pp. 521-526. [Consulta: 19 mayo 2015]. ISSN: 2321-3132. Disponible en: <<http://www.pharmaresearchlibrary.com/wp-content/uploads/2014/01/PRL2013-IJCPS-1912.pdf>>

TACO, Darwin. *Fenoles naturales* [en línea]. Universidad Central del Ecuador. Química de alimentos química orgánica II. 2015, pp. 7-14). [Consulta: 11 mayo 2015]. Disponible en: <<http://q-organicauce.wikispaces.com/file/view/Taninos%5B1%5D.pdf>>

VERÓNICA, P. *Tomate (Solanum lycopersicum L.)* [blog]. 2015. [Consulta: 18 mayo 2015]. Disponible en: <<http://www.jardinbotanico-clm.com/wp-content/uploads/2012/04/TOMATE.pdf>>

VIVAS, Laura, et al. Control de calidad farmacobotánico y fitoquímico de *Hibiscus sabdariffa L.* (Malvaceae). *Dominguezia*. Vol. 30(1), 2014, (Buenos Aires-Argentina), pp. 25-31. [Consulta: 16 mayo 2015].

WAGNER, H; & BLADT, S. *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2^{da}. Edition, 1996, pp. 195- 223

YÁNEZ, A. G. et al. Investigación de la actividad antimicrobiana y fitoquímico del extracto de plantas medicinales frente a los microorganismos patógenos *Escherichia coli* y *Candida albicans* [Tesis de pregrado]. 2014, pp. 64-66. Disponible en: <<http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8462/1/BQ%2063%20.pdf>>

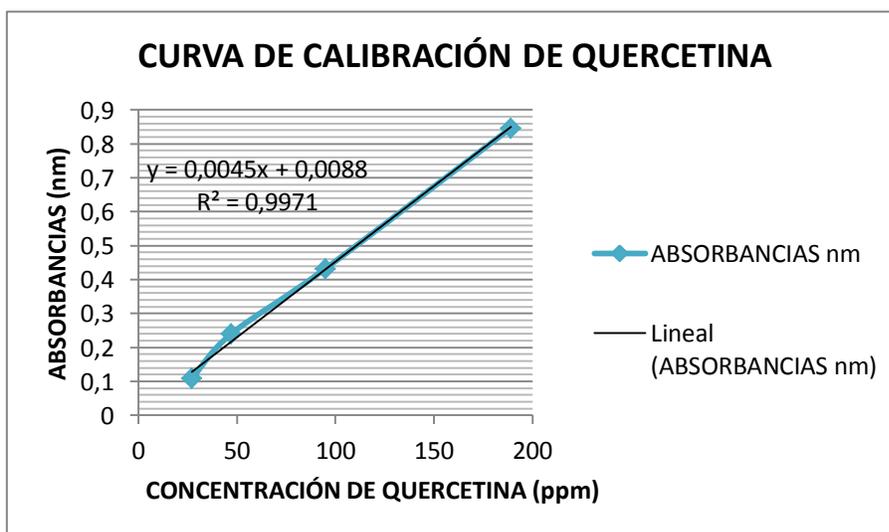
ZAMIDE, E. et al. Beneficial effects of leaf extracts of *Lycopersicon esculentum* on wound healing in rats. *African journal of biomedical research* [en línea], 2015, (Nigeria) Vol.18 (1), pp. 55-60. [Consulta: 14 abril 2015]. Disponible en: <<http://www.ajbrui.net/ojs/index.php/ajbr/article/view/445/273>>

ANEXOS

ANEXO A. Curva de Calibración de Flavonoides

CONCENTRACIÓN DE QUERCETINA ppm	ABSORBANCIAS nm
27	0,109
47	0,24
95	0,433
189	0,847

Realizado por: Guano, G; 2015

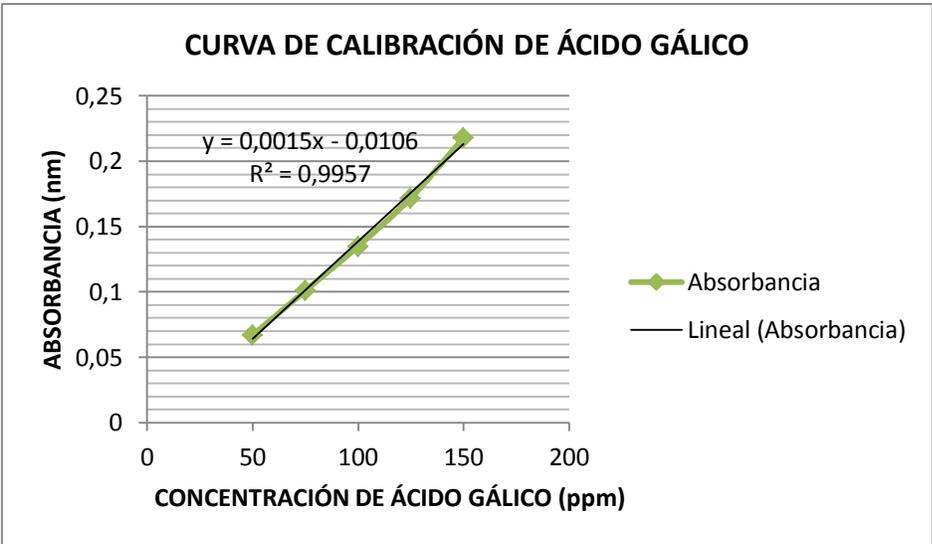


Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO B. Curva de Calibración de Fenoles Totales

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA (nm)
50	0,067
75	0,101
100	0,135
125	0,172
150	0,218

Realizado por: Guano, G; 2015



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO C. Control de Calidad de la Materia Prima



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO D. Preparación de los Extractos de las hojas de Tomate



Realizado por: Guano, G; 2015

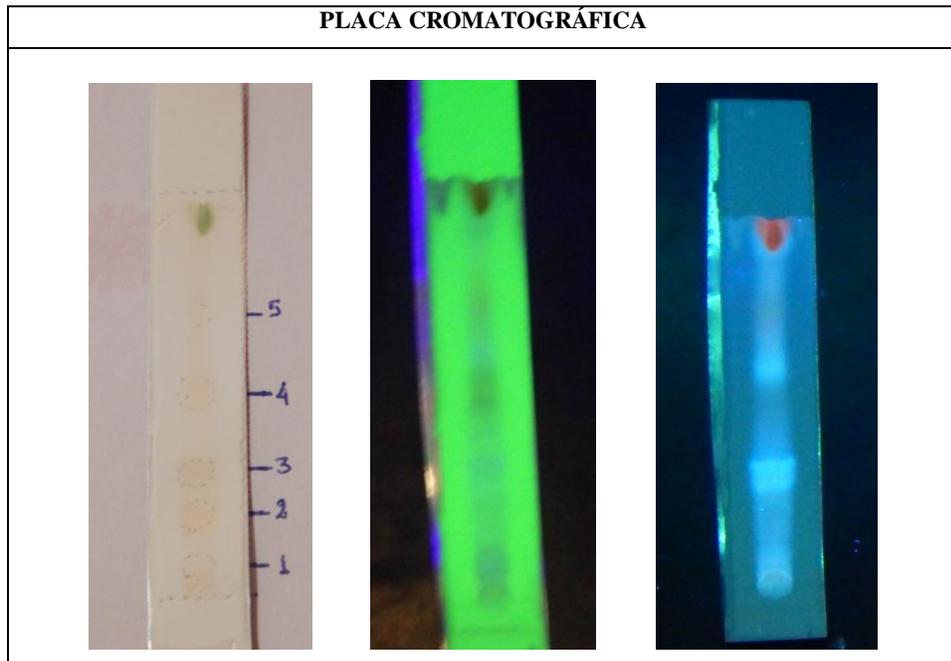
ANEXO E. Tamizaje fitoquímico del extracto de las hojas de Tomate.





Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO F. Cromatografía de Capa Fina



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO G. Control de Calidad del Extracto de las Hojas de Tomate.



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO H. Cuantificación de flavonoides y fenoles Totales por Espectrofotometría UV-V.



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO I. Análisis microbiológico del extracto



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO J. Aclimatación de los animales de experimentación



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO K. Asignación de grupos experimentales para la actividad cicatrizante



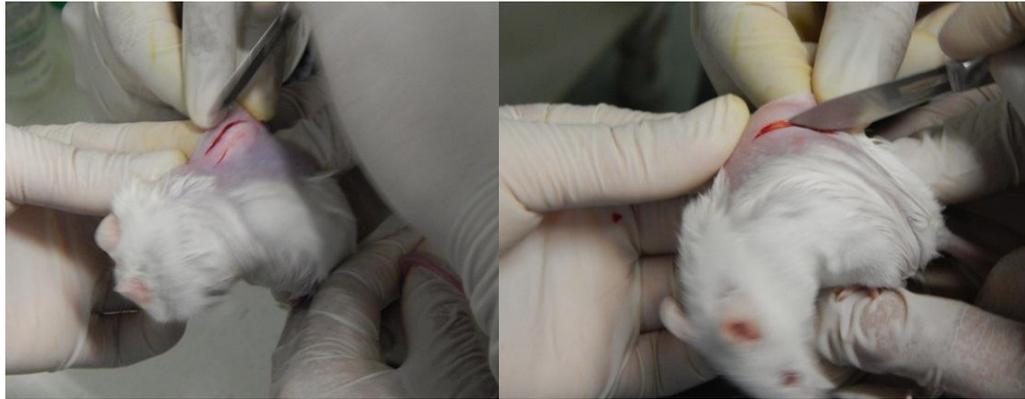
Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO L. Depilación del dorso de la piel



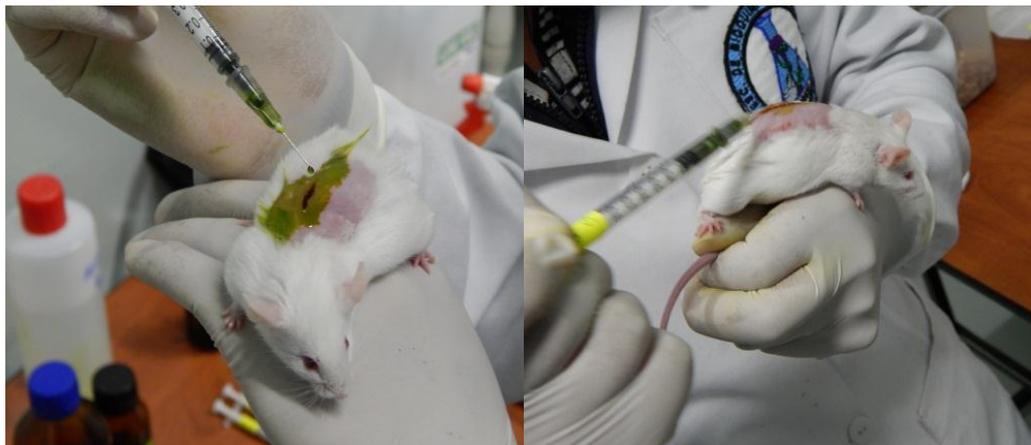
Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO M. Inducción de heridas a los modelos experimentales



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO N. Aplicación de los tratamientos experimentales



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO O. Cicatrización de las Heridas posterior a la aplicación de los
tratamientos



Realizado por: Guano, G; 2015

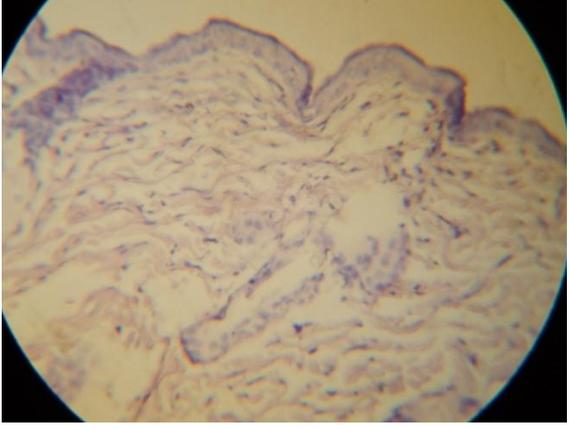
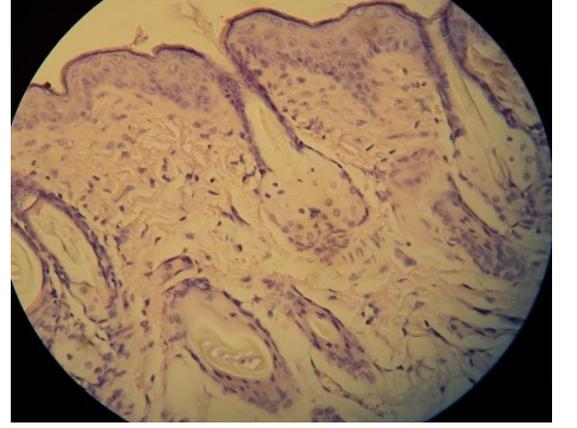
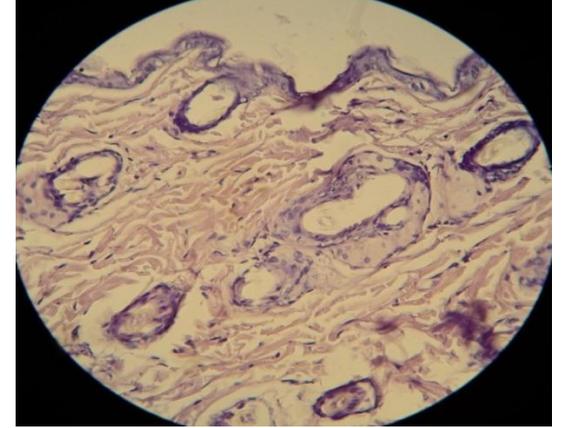
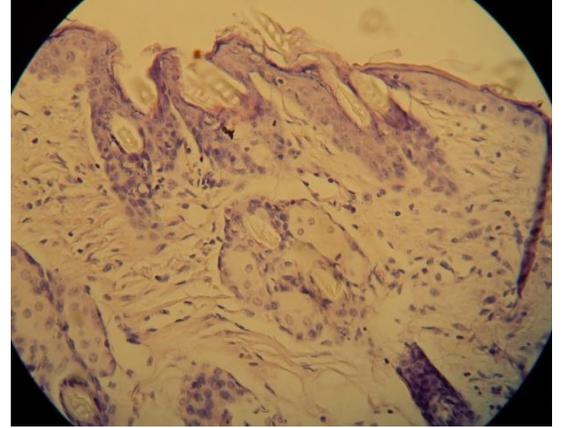
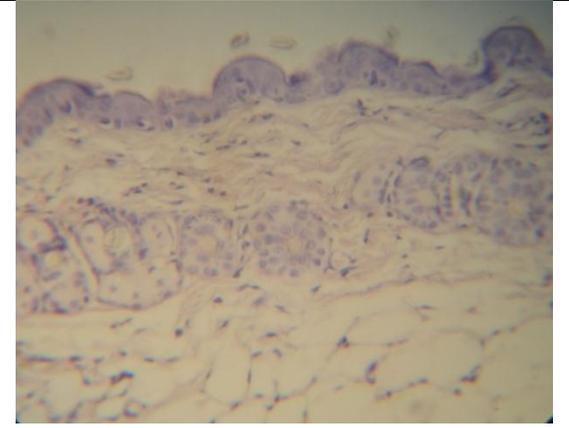
ANEXO P. Seccionamiento de la piel para realizar el análisis histopatológico



Realizado por: Guano, G; 2015

ANEXO Q. Fotografías del examen histopatológico de la piel de los ratones (*Mus musculus*)

EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE LA PIEL DE RATONES OBSERVADAS A 40X

	
<p>CONTROL NEGATIVO: Corte histológico de cicatriz experimental sin tratamiento</p>	<p>CONTROL POSITIVO 1: Corte histológico de cicatriz experimental tratada con Lamoderm</p>
	
<p>CONTROL POSITIVO 2: Corte histológico de cicatriz experimental tratada con Alcohol al 40%.</p>	<p>GRUPO EXPERIMENTAL 1: Corte histológico de cicatriz experimental tratada con el extracto al 25%.</p>
	
<p>GRUPO EXPERIMENTAL 2: Corte histológico de cicatriz experimental tratada con el extracto al 50% .</p>	<p>GRUPO EXPERIMENTAL 3: Corte histológico de cicatriz experimental tratada con el extracto al 75%.</p>

Realizado por: Guano, G; 2015



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 2 392:2007

HIERBAS AROMÁTICAS. REQUISITOS

Primera Edición

AROMATIC HERBS. SPECIFICATIONS.

First Edition

DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, té, hierbas aromáticas, requisitos
AL 02.06-410
ODU: 663.85
CIU: 3121
ICS: 67.140.10

5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

5.1 Las hierbas aromáticas, destinadas para preparar infusiones, en la etiqueta de su envase no deben declarar propiedades terapéuticas para prevenir o curar enfermedades.

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos Específicos

6.1.1 Se consideran hierbas aromáticas a las siguientes ⁽¹⁾:

Nombre común	Nombre científico	Parte usada
Anís estrella	<i>Illicium anisatum</i>	Fruto
Anís verde (pan de anís)	<i>Pimpinella anisum</i>	Fruto
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> <i>Cinnamomum cassia</i>	Corteza
Cedrón	<i>Aloysia triphyllia (L. Her) Britton</i>	Hojas
Clavo de olor	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Flores,
Eneldo	<i>Anethum graveolens</i>	Tallo, hojas, flores
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Hojas
Falso tilo (sauco)	<i>Sambucus nigra L.</i>	Flores
Hierbabuena	<i>Mentha spicata,</i>	Hierba, hojas y copos florescentes
Hierba luisa	<i>Cymbopogon citratus</i>	Hojas
Jazmín	<i>Jasminum officinale</i>	Flores
Limón	<i>Citrus limonum, Citrus limetta</i>	Hojas, fruto, cáscara,
Manzanilla	<i>Matricaria camomila,</i>	Flores y planta
Mejorana	<i>Origanum majorana</i>	Partes aéreas
Menta	<i>Mentha pulegium</i> <i>Mentha piperita</i>	Partes aéreas
Naranja	<i>Citrus aurantium</i>	Hojas y flores
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Partes aéreas
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Partes aéreas
Rosa	<i>Rosa spp</i>	Flores, escaramujo
Tipo	<i>Minthostachys mollis</i>	Tallo, hoja, flores
Tomillo	<i>Thymus vulgaris L.</i>	Parte aérea
Toronjil	<i>Melissa officinalis</i>	Partes aéreas

⁽¹⁾ Esta lista no excluye la utilización de otras plantas que luego de su estudio toxicológico, y contenido de aceites esenciales, hayan sido aprobadas como tales por el Ministerio de Salud a través del Instituto de Higiene.

6.1.2 Las hierbas aromáticas, deben cumplir los requisitos establecidos en las siguientes tablas:

TABLA 1. Requisitos físicos-químicos

Requisitos	Máx	Método de ensayo
Humedad, %	12	NTE INEN 1114
Cenizas insolubles en HCl al 10 %, % m/m	2	NTE INEN 1118

(Continúa)

TABLA 2. Contenido de aceites esenciales

Hierba Aromática	Aceite esencial, % Min	Método de ensayo AOAC 968.20
Anís estrella*	5,0	
Anís verde*	2,0	
Canela	1,2	
Cedrón	0,2	
Clavo de Olor	13,0	
Eneldo	3,0	
Eucalipto	1,5	
Falso tilo	0,03	
Hierba buena	0,08	
Hierba luisa	3,0	
Limonero	2,5	
Manzanilla	0,2	
Mejorana	0,7	
Menta	0,25	
Naranja	0,2	
Orégano	0,5	
Romero	1,5	
Rosa	0,01	
Tipo	1,2	
Tomillo	1,5	
Toronjil	0,3	

6.1.3 Los requisitos microbiológicos que deben cumplir las hierbas aromáticas, son los que se especifican en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos Microbiológicos

REQUISITO	Máx	Método de ensayo
Aerobios totales ufc/g	1×10^7	NTE INEN 1529-5
Escherichia coli ufc/g	1×10^3	NTE INEN 1529-7
Enterobacteriaceas ufc/g	1×10^3	NTE INEN 1529-13
Mohos y levaduras upc/g	1×10^4	NTE INEN 1529-10
Clostridium, ufc/g	ausencia	NTE INEN 1529-18
Salmonella, en 1 g	ausencia	NTE INEN 1529-15
Shigella, en 1 g	ausencia	NTE INEN 1529-16

6.1.4 El contenido máximo de contaminantes presentes se especifican en la tabla 4.

TABLA 4. Contenido máximo de contaminantes

Contaminante	mg/kg
Arsénico, As	1,0
Plomo, Pb	0,5

(Continúa)