



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE  
*Kalanchoe pinnata* (DULCAMARA) EN RATONES (*Mus musculus*)**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:**

**MARTHA GUADALUPE BAYAS SANCHEZ**

Riobamba – Ecuador

2022



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE  
*Kalanchoe pinnata* (DULCAMARA) EN RATONES (*Mus musculus*)**

**Trabajo de Integración Curricular**

**Tipo:** Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:** MARTHA GUADALUPE BAYAS SÁNCHEZ

**DIRECTORA:** Lcda. KAREN LISSETH ACOSTA LEÓN, MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, **Martha Guadalupe Bayas Sánchez**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Martha Guadalupe Bayas Sanchez, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 06 de diciembre de 2022



---

**Martha Guadalupe Bayas Sánchez**

**CI: 180498537-0**

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

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular: Tipo: Trabajo Experimental, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE *Kalanchoe pinnata* (DULCAMARA) EN RATONES (*Mus musculus*)**, realizado por la señorita: **MARTHA GUADALUPE BAYAS SANCHEZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
BQF. Valeria Isabel Rodríguez Vinuesa, MSc. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022 – 12 – 06
Lcda. Karen Liseth Acosta León, MSc. <b>DIRECTORA DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022 – 12 – 06
BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla, MSc. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2022 – 12 – 06

## **DEDICATORIA**

Mi trabajo de titulación dedico en primer lugar a Dios, por bendecirme con salud, tiempo, sabiduría, conocimiento y constancia, guiándome en cada paso y así poder alcanzar este importante logro en mi vida académica. A mis queridos padres por brindarme su apoyo incondicional en todo el trayecto de mi vida, mi padre Juan Bayas por dedicar sus años a cuidarme y velar por mi futuro, incentivándome a cumplir mis metas; mi madre Martha Sánchez por ser mi consejera y guiarme día a día con su bendición en mi formación profesional. A mis hermanos Roberto y Xavier, por estar siempre presente en mi vida con sus cuidados y consejos, alentándome para no rendirme en toda esta travesía y han sido partícipes de mis sacrificios para alcanzar esta meta. A mis sobrinas y demás familiares, que han estado presente a lo largo de esta etapa de mi vida, motivándome para seguir adelante con mis sueños. A mis amigos los cuales han llenado de alegría mi vida universitaria y han sabido ganarse un lugar en mi corazón.

*Guadalupe*

## **AGRADECIMIENTO**

En primera instancia, agradezco a Dios, por sus bendiciones a lo largo de mi vida. Gracias a cada uno de mis profesores de la carrera de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por formarme profesionalmente mediante sus conocimientos de esa forma poder para servir a la sociedad. A mi tutora la Lcda. Karen Acosta, por guiarme, brindarme su apoyo, conocimientos enseñanzas y asesoramiento, tanto profesional como moral en el desarrollo de este trabajo en la elaboración de mi trabajo de titulación. Al BQF. Benjamín Román y BQF. Gisela Pilco por ser una fuente de conocimiento y apoyo durante el desarrollo de esta investigación. Y especialmente a mis padres, demás familia y amigos por brindarme el apoyo y el ánimo necesario para culminar con mi trabajo de titulación.

***Guadalupe***

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES .....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	xv
RESUMEN .....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	3
1.1. Antecedentes.....	3
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.3. Justificación.....	5
1.4. Objetivos.....	6
1.4.1. <i>Objetivo general</i> .....	6
1.4.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	7

### CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO .....	8
2.1. Antecedentes de investigación .....	8
2.2. Referencias teóricas .....	10
2.2.1. <i>Piel</i> .....	10
2.2.1.1. <i>Funciones de la Piel</i> .....	11
2.2.1.2. <i>Estructura de la piel</i> .....	12
2.2.2. <i>Heridas</i> .....	14
2.2.2.1. <i>Clasificación de las heridas</i> .....	14
2.2.3. <i>Cicatrización</i> .....	16
2.2.3.1. <i>Tipos de cicatrización</i> .....	16
2.2.3.2. <i>Fases de cicatrización</i> .....	17
2.2.3.3. <i>Factores de crecimiento</i> .....	19



2.2.3.4.	<i>Complicaciones en una cicatrización</i> .....	20
2.2.3.5.	<i>Factores que influyen en la cicatrización</i> .....	20
2.2.4.	<b><i>Fitoterapia</i></b> .....	20
2.2.4.1.	<i>Fitoterapia de la piel</i> .....	21
2.2.5.	<b><i>Metabolitos secundarios que contribuyen a la cicatrización</i></b> .....	21
2.2.5.1.	<i>Flavonoides</i> .....	21
2.2.5.2.	<i>Taninos</i> .....	23
2.2.5.3.	<i>Mucílagos</i> .....	23
2.2.6.	<b><i>Kalanchoe pinnata (dulcamara)</i></b> .....	23
2.2.6.1.	<i>Nombres comunes</i> .....	24
2.2.6.2.	<i>Descripción botánica</i> .....	24
2.2.6.3.	<i>Hábitat y Distribución</i> .....	25
2.2.6.4.	<i>Composición química</i> .....	25
2.2.6.5.	<i>Usos comunes</i> .....	26
2.2.7.	<b><i>Extractos de plantas</i></b> .....	27
2.2.7.1.	<i>Tintura alcohólica, tintura madre, tintura o extracto Hidroalcohólico</i> .....	27
2.2.8.	<b><i>Modelos animales</i></b> .....	27
2.2.8.1.	<i>Ventajas de utilizar modelos animales en la evaluación de la actividad cicatrizante</i> .	28
2.2.8.2.	<i>Mus musculus</i> .....	28

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	31
3.1.	<b>Lugar de investigación</b> .....	32
3.2.	<b>Tipo y diseño de investigación</b> .....	32
3.2.1.	<i>Tipo de investigación</i> .....	32
3.2.2.	<i>Diseño de la investigación</i> .....	32
3.3.	<b>Lugar de recolección del material vegetal</b> .....	32
3.4.	<b>Población de estudio</b> .....	33
3.5.	<b>Técnica de recolección de datos</b> .....	33
3.6.	<b>Equipos, materiales y reactivos</b> .....	34
3.6.1.	<i>Equipos</i> .....	34
3.6.2.	<i>Materiales</i> .....	34
3.6.2.1.	<i>Material de laboratorio</i> .....	34
3.6.2.2.	<i>Material vegetal</i> .....	35
3.6.3.	<i>Reactivos</i> .....	35

<b>3.7.</b>	<b>Técnicas y métodos</b> .....	35
<b>3.7.1.</b>	<b>Recolección vegetal</b> .....	35
<b>3.7.2.</b>	<b>Ensayos botánicos</b> .....	35
<b>3.7.2.1.</b>	<b>Identificación botánica</b> .....	35
<b>3.7.2.2.</b>	<b>Análisis macromorfológico de la planta de <i>Kalanchoe pinnata</i></b> .....	36
<b>3.7.2.3.</b>	<b>Análisis micromorfológico de la planta de <i>Kalanchoe pinnata</i></b> .....	36
<b>3.7.2.4.</b>	<b>Obtención de la muestra seca de <i>Kalanchoe pinnata</i></b> .....	37
<b>3.7.3.</b>	<b>Análisis fisicoquímico</b> .....	37
<b>3.7.3.1.</b>	<b>Determinación de humedad</b> .....	37
<b>3.7.3.2.</b>	<b>Determinación de cenizas totales</b> .....	38
<b>3.7.3.3.</b>	<b>Determinación de cenizas solubles en agua</b> .....	39
<b>3.7.3.4.</b>	<b>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</b> .....	40
<b>3.7.4.</b>	<b>Tamizaje o screening fitoquímico</b> .....	42
<b>3.7.4.1.</b>	<b>Procedimiento general para el desarrollo del tamizaje fitoquímico</b> .....	42
<b>3.7.5.</b>	<b>Obtención del extracto etanólico de <i>Kalanchoe pinnata</i> (<i>dulcamara</i>)</b> .....	50
<b>3.7.6.</b>	<b>Control de calidad del extracto etanólico.</b> .....	51
<b>3.7.6.1.</b>	<b>Requisitos organolépticos</b> .....	51
<b>3.7.6.2.</b>	<b>Índice de refracción</b> .....	51
<b>3.7.6.3.</b>	<b>Medición de pH</b> .....	51
<b>3.7.6.4.</b>	<b>Determinación de densidad relativa</b> .....	51
<b>3.7.6.5.</b>	<b>Determinación de sólidos totales</b> .....	52
<b>3.7.7.</b>	<b>Control microbiológico</b> .....	53
<b>3.7.8.</b>	<b>Actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de <i>Kalanchoe pinnata</i> (<i>dulcamara</i>)</b> .....	53
<b>3.7.8.1.</b>	<b>Fase de aclimatación de los modelos experimentales</b> .....	53
<b>3.7.8.2.</b>	<b>Preparación de geles</b> .....	53
<b>3.7.8.3.</b>	<b>Fase de inducción de la lesión en los modelos experimentales</b> .....	54
<b>3.7.8.4.</b>	<b>Fase de aplicación de los tratamientos a los modelos experimentales</b> .....	54
<b>3.7.8.5.</b>	<b>Análisis estadístico</b> .....	55

## CAPÍTULO IV

<b>4.</b>	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	56
<b>4.1.</b>	<b>Ensayos botánicos</b> .....	56
<b>4.1.1.</b>	<b>Identificación botánica</b> .....	56
<b>4.1.2.</b>	<b>Análisis macro-morfológico</b> .....	56

4.1.3.	<i>Análisis micro-morfológico de Kalanchoe pinnata</i> .....	57
4.1.3.1.	<i>Corte transversal de la hoja</i> .....	57
4.1.3.2.	<i>Corte longitudinal de la hoja</i> .....	58
4.1.3.3.	<i>Corte microscópico del tallo de K. pinnata</i> .....	58
4.1.3.4.	<i>Corte microscópico de la raíz</i> .....	59
4.2.	<b>Análisis Organoléptico de la droga pulverizada de las hojas de <i>K. pinnata</i></b> .....	60
4.3.	<b>Control de calidad de la droga vegetal cruda</b> .....	60
4.3.1.	<i>Análisis fisicoquímico</i> .....	60
4.3.1.1.	<i>Determinación de humedad</i> .....	60
4.3.1.2.	<i>Determinación de cenizas</i> .....	61
4.4.	<b>Tamizaje fitoquímico de las hojas de dulcamara (<i>Kalanchoe pinnata</i>)</b> .....	62
4.5.	<b>Control de calidad del extracto etanólico de las hojas de dulcamara (<i>Kalanchoe pinnata</i>)</b> .....	64
4.5.1.	<i>Características organolépticas</i> .....	64
4.5.2.	<i>Determinación físico – química</i> .....	65
4.5.3.	<i>Análisis microbiológico</i> .....	66
4.6.	<b>Evaluación de la Actividad Cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de dulcamara (<i>Kalanchoe pinnata</i>)</b> .....	66
4.6.1.	<i>Variación del tamaño de las heridas en el proceso experimental de cicatrización</i> ..	67
4.6.1.1.	<i>Longitudes de las heridas (cm) en ratones (<i>Mus musculus</i>)</i> .....	67
4.6.1.2.	<i>Ancho de las heridas (cm) en ratones (<i>Mus musculus</i>)</i> .....	69
4.6.2.	<i>Formación y desprendimiento de la costra (cm) en ratones (<i>Mus musculus</i>)</i> .....	70
4.6.3.	<i>Tiempo de cicatrización de las heridas (días) en los grupos experimentales</i> .....	72
4.6.4.	<i>Análisis estadístico</i> .....	74
<b>CONCLUSIONES</b> .....		77
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		78
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		
<b>ANEXOS</b>		

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2:</b>	Factores de crecimiento. ....	19
<b>Tabla 2-2:</b>	Factores que influyen en la cicatrización .....	20
<b>Tabla 3-2:</b>	Clasificación taxonómica de <i>K. pinnata</i> .....	24
<b>Tabla 4-2:</b>	Taxonomía <i>Mus musculus</i> .....	29
<b>Tabla 5-2:</b>	Ventajas y desventajas de su uso como animal de laboratorio. ....	30
<b>Tabla 1-3:</b>	Equipos utilizados en la investigación. ....	34
<b>Tabla 2-3:</b>	Materiales del laboratorio. ....	34
<b>Tabla 3-3:</b>	Material vegetal .....	35
<b>Tabla 4-3:</b>	Reactivos .....	35
<b>Tabla 5-3:</b>	Fase de aclimatación de los modelos experimentales.....	53
<b>Tabla 6-3:</b>	Grupo experimental de ratones hembra.....	54
<b>Tabla 1-4:</b>	Identificación botánica de la planta.....	56
<b>Tabla 2-4:</b>	Análisis Macro-morfológico de <i>Kalanchoe pinnata</i> . ....	57
<b>Tabla 3-4:</b>	Corte transversal de la hoja de <i>K. pinnata</i> .....	58
<b>Tabla 4-4:</b>	Corte longitudinal de la hoja de <i>K. pinnata</i> .....	58
<b>Tabla 5-4:</b>	Corte microscópico del tallo de <i>K. pinnata</i> .....	59
<b>Tabla 6-4:</b>	Corte microscópico de la raíz de <i>K. pinnata</i> .....	60
<b>Tabla 7-4:</b>	Resultados del análisis organoléptico. ....	60
<b>Tabla 8-4:</b>	Resultados de humedad de la droga vegetal cruda de <i>K.pinnata</i> . ....	61
<b>Tabla 9-4:</b>	Resultados de cenizas de la droga vegetal cruda de <i>K. pinnata</i> .....	61
<b>Tabla 10-4:</b>	Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de <i>K. pinnata</i> .....	62
<b>Tabla 11-4:</b>	Características organolépticas del extracto etanólico de las hojas de <i>K. pinnata</i> .....	64
<b>Tabla 12-4:</b>	Características físico-químicas del extracto etanólico de <i>K. pinnata</i> .....	65
<b>Tabla 13-4:</b>	Análisis microbiológico del extracto etanólico de las hojas de <i>K. pinnata</i> .....	66
<b>Tabla 14-4:</b>	Promedio de las longitudes de las heridas (cm) en ratones ( <i>Mus musculus</i> ). ....	67
<b>Tabla 15-4:</b>	Promedio del ancho de las heridas (cm) en ratones ( <i>Mus musculus</i> ).....	69
<b>Tabla 16-4:</b>	Formación y desprendimiento de la costra (cm) en ratones ( <i>Mus musculus</i> ). ....	70
<b>Tabla 17-4:</b>	Tiempo de cicatrización de las heridas (días) en los grupos experimentales .....	72
<b>Tabla 18-4:</b>	Análisis ANOVA unifactorial del tiempo de cicatrización de heridas (días). ....	74
<b>Tabla 19-4:</b>	Análisis estadístico de Tukey según el tiempo de cicatrización de las heridas....	75

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-2:</b>	Estructura de la piel. ....	12
<b>Ilustración 2-2:</b>	Fases del proceso de cicatrización. ....	17
<b>Ilustración 3-2:</b>	Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides. ....	22
<b>Ilustración 4-2:</b>	Planta <i>K.pinnata</i> . ....	23
<b>Ilustración 5-2:</b>	Composición química de <i>K. pinnata</i> . ....	25
<b>Ilustración 6-2:</b>	<i>Mus musculus</i> . ....	29
<b>Ilustración 1-3:</b>	Metodología de la evaluación de la actividad cicatrizante de la planta <i>K. pinnata</i> . ....	31
<b>Ilustración 2-3:</b>	Lugar de recolección de <i>K. pinnata</i> . ....	33
<b>Ilustración 3-3:</b>	Diagrama de análisis micromorfológico ....	36
<b>Ilustración 4-3:</b>	Diagrama de la obtención de la muestra seca. ....	37
<b>Ilustración 5-3:</b>	Diagrama de la determinación de humedad ....	38
<b>Ilustración 6-3:</b>	Diagrama de la determinación de cenizas totales. ....	39
<b>Ilustración 7-3:</b>	Diagrama de la determinación de cenizas solubles en agua ....	40
<b>Ilustración 8-3:</b>	Diagrama de la determinación de cenizas insolubles en HCl ....	41
<b>Ilustración 9-3:</b>	Diagrama de la elaboración de extractos para el tamizaje fitoquímico. ....	42
<b>Ilustración 10-3:</b>	Diagrama de los ensayos del extracto etéreo. ....	43
<b>Ilustración 11-3:</b>	Diagrama de los ensayos del extracto alcohólico. ....	43
<b>Ilustración 12-3:</b>	Diagrama de los ensayos del extracto acuoso ....	43
<b>Ilustración 13-3:</b>	Diagrama para la identificación de aceites y grasas. ....	44
<b>Ilustración 14-3:</b>	Diagrama para la determinación de alcaloides. ....	45
<b>Ilustración 15-3:</b>	Diagrama para la identificación de lactonas y cumarinas. ....	45
<b>Ilustración 16-3:</b>	Diagrama para la identificación de triterpenos y esteroides. ....	46
<b>Ilustración 17-3:</b>	Diagrama para la identificación de catequinas. ....	46
<b>Ilustración 18-3:</b>	Diagrama para la identificación de resinas. ....	47
<b>Ilustración 19-3:</b>	Diagrama para la identificación de azúcares reductores. ....	47
<b>Ilustración 20-3:</b>	Diagrama para la identificación de saponinas. ....	47
<b>Ilustración 21-3:</b>	Diagrama para la identificación de fenoles y taninos. ....	48
<b>Ilustración 22-3:</b>	Diagrama para la identificación de quinonas. ....	48
<b>Ilustración 23-3:</b>	Diagrama para la identificación de flavonoides ....	49
<b>Ilustración 24-3:</b>	Diagrama para la identificación de antocianos. ....	49
<b>Ilustración 25-3:</b>	Diagrama para la identificación de mucílagos. ....	49
<b>Ilustración 26-3:</b>	Diagrama para la identificación de principios amargos y astringentes. ....	50
<b>Ilustración 27-3:</b>	Diagrama de la obtención del extracto etanólico. ....	50

<b>Ilustración 28-3:</b>	Diagrama de la determinación de densidad relativa. ....	51
<b>Ilustración 29-3:</b>	Diagrama de la determinación de sólidos totales. ....	52
<b>Ilustración 1-4:</b>	Longitud de herida vs Tiempo .....	68
<b>Ilustración 2-4:</b>	Ancho de la herida VS Tiempo.....	70
<b>Ilustración 3-4:</b>	Tiempo de formación y desprendimiento de la costra. ....	71
<b>Ilustración 4-4:</b>	Intervalo de Días vs Tiempo .....	76

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DEL HERBARIO DE LA ESPOCH.
- ANEXO B:** RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.
- ANEXO C:** SELECCIÓN Y SECADO DE LAS HOJAS DE KALANCHOE PINNATA.
- ANEXO D:** MOLIENDA DEL MATERIAL VEGETAL SECO.
- ANEXO E:** ANÁLISIS MACROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO DE LA PLANTA *Kalanchoe pinnata*.
- ANEXO F:** DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.
- ANEXO G:** DETERMINACIÓN DE CENIZAS.
- ANEXO H:** TAMIZAJE FITOQUÍMICO.
- ANEXO I:** CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO.
- ANEXO J:** AMBIENTACIÓN DE MODELOS EXPERIMENTALES.
- ANEXO K:** OBTENCIÓN DEL EXTRACTO LIOFILIZADO.
- ANEXO L:** PREPARACIÓN DE GELES.
- ANEXO M:** CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS GELES.
- ANEXO N:** DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>ESPOCH</b>	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing Antioxidant Power (Capacidad de reducción del hierro)
<b>INEC</b>	Instituto Nacional de Estadística y Censos
<b>NTE</b>	Norma Técnica Ecuatoria
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>T&amp;CM</b>	Medicina Tradicional y Complementaria
<b>USP</b>	United States Pharmacopeia (Farmacopea de Estados Unidos)



## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Kalanchoe pinnata* (dulcamara) mediante lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*). El material vegetal recolectado fue seleccionado, se realizó un estudio macro y micromorfológico de la planta fresca, luego, al material vegetal (hojas) se secó y trituroó, posteriormente se hizo el control de calidad de la droga vegetal cruda e identificación de metabolitos secundarios mediante el tamizaje fitoquímico. Se preparó una maceración, utilizando 50 g de planta molida en 500 ml de etanol al 70 %, el extracto obtenido fue concentrado y liofilizado. Como tratamiento se administró el extracto liofilizado mediante la preparación de un gel base, a diferentes concentraciones (25 ppm, 100 ppm y 300 ppm) de *Kalanchoe pinnata*. Para la evaluación de la actividad cicatrizante se emplearon 30 ratones (hembras) de 2 a 3 meses de edad, peso aproximado de 25 – 30 g, se dividió en 6 grupos: Grupo A (control blanco – sin tratamiento), Grupo B (control negativo – gel base), Grupo C (Ungüento herbal “MEBO” 0.25 %  $\beta$ -sitoesterol), Grupo D (gel a 25 ppm), Grupo E (gel a 100 ppm) y Grupo F (gel a 300 ppm). Se midió y observó diariamente la longitud y ancho de la herida, la formación y desprendimiento de la costra y se contabilizaron los días que tardaron en cicatrizar las heridas en los modelos experimentales. Los datos obtenidos se analizaron mediante pruebas estadística como Análisis de varianza (ANOVA) unifactorial y test de Tukey. Se concluyó que el gel del extracto a 300 ppm presentó un mejor efecto cicatrizante, debido a que las heridas cicatrizaron en 9 días y mostró una cicatrización similar al control positivo. Se recomienda realizar estudios del extracto en otras actividades farmacológicas por la cantidad de metabolitos identificados en el tamizaje fitoquímico.

**Palabras clave:** <ACTIVIDAD CICATRIZANTE>, <DULCAMARA> <*Kalanchoe pinnata*>, <RATONES (*Mus musculus*)>, <EXTRACTO ETANÓLICO>, <GEL>.



15-12-2022  
2386-DBRA-UPT-2022

## ABSTRACT

The main objective of this research study was to evaluate the healing activity of the ethanolic extract of the leaves of *Kalanchoe pinnata* (dulcamara) through induced lesions in mice (*Mus musculus*). The collected plant material was selected and a macro and a micromorphological study of the fresh plant was carried out. Then, the plant material (leaves) was dried and crushed. Later the quality control of the raw plant drug was carried out, and the identification of secondary metabolites was done employing phytochemical screening. A maceration was prepared, using 50 g of ground plant in 500 ml of 70% ethanol, the extract obtained was concentrated and lyophilized. As a treatment, the lyophilized extract was administered by preparing a base gel, at different concentrations (25 ppm, 100 ppm, and 300 ppm) of *Kalanchoe pinnata*. For the evaluation of the healing activity, 30 mice (females) from 2 to 3 months of age were used, weighing approximately 25 - 30 g, divided into 6 groups: Group A (white control - without treatment), Group B (control negative – base gel), Group C (herbal ointment “MEBO” 0.25%  $\beta$ -sitosterol), Group D (25 ppm gel), Group E (100 ppm gel) and Group F (300 ppm gel). The length and width of the wound, the formation, and detachment of the scab were measured and observed daily, and the days it took for the wounds to heal in the experimental models were registered. The data obtained were analyzed using statistical tests such as unifactorial Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey's test. It was concluded that the extracted gel at 300 ppm had a better healing effect since the wounds healed in 9 days and showed healing similar to the positive control. It is recommended to carry out studies of the extract in other pharmacological activities due to the number of metabolites identified in the phytochemical screening.

**Keywords:** <HEALING ACTIVITY>, <DULCAMARA> <*Kalanchoe pinnata*>, <MICE (*Mus musculus*)>, <ETHANOL EXTRACT>, <GEL>.



---

Mgs. Evelyn Carolina Macias Silva

C.I 0603239070

## INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, funciona como barrera protectora de los órganos internos, protegiendo de temperaturas extremas, químicos, microorganismos y realizando el equilibrio homeostático, además participa en la distribución de algunos fármacos. Sin embargo, es vulnerable a sufrir disrupción en su estructura generando heridas.

Una herida hace referencia a una lesión accidental o intencional en la piel, es un problema de salud que afecta a la población de todas las edades, provocando una alta morbilidad y mortalidad. El proceso de cicatrización de heridas cutáneas depende de varios factores como mediadores sistémicos, tipo de herida, condiciones nutricionales y enfermedades subyacentes, los cuales determinan un desarrollo normal o anormal en su proceso fisiológico (fases: inflamatoria, proliferativa y maduración). Actualmente existen tratamientos que ayudan a la cicatrización de heridas, los cuales se enfocan en autoinjertos, aloinjertos, apósitos, colágeno, ácido hialurónico y administración de factores de crecimiento (Andrades, 2011, p. 2).

Desde décadas atrás, científicos se encuentran investigando diversas áreas clínicas y nuevas alternativas terapéuticas que contribuyan a determinar un ambiente adecuado para que se desarrolle una cicatrización adecuada y rápida. Han realizado diferentes estudios en inmunología, morfogenética, nutrición y botánica, los cuales evidenciaron que es importante implementar estrategias terapéuticas enfocadas en las dianas farmacológicas, con el objetivo de impulsar una cicatrización en un menor tiempo, con reducción de dolor y mejorar la calidad de vida del paciente (Castelo et al., 2020, pp. 803).

En las estrategias terapéuticas se han estudiado las sustancias quimiotácticas para las células inflamatorias, citoquinas, factores de crecimiento, inhibidores de proteasas, agentes antiinflamatorios y antimicrobianos, fototerapia y el uso de plantas medicinales, entre otras (Castelo et al., 2020, pp. 803).

El empleo de plantas medicinales se ha evidenciado desde tiempos antiguos, los indígenas utilizaban para tratar distintas afecciones de salud como inflamaciones, resfriados, dolores articulares, heridas, úlceras, quemaduras, fiebres, diarrea, infecciones, etc. Los medicamentos herbales cumplen un papel importante en la vida cotidiana del hombre ayudando a prevenir, tratar y curar enfermedades. La Organización Mundial de la Salud (OMS) indicó que la medicina moderna está creciendo a nivel mundial, no obstante, el 66 % de la población en países subdesarrollados aun asisten a la medicina tradicional (Medina, 2022, p.1).

Ecuador es considerado un país multiverso en flora y fauna, por ende, tiene un gran potencial en el uso de plantas que contribuyen la medicina tradicional, siendo fundamental conocer los beneficios y sus formas de utilizar. En este sentido, se han realizado estudios etnobotánicos enfocados en la región Andina y Amazónica para identificar cada especie vegetal y establecer su potencial farmacológico (Paredes et al., 2015, p. 40).

En base al contexto mostrado, en esta investigación se evaluó la actividad cicatrizante de *Kalanchoe pinnata*, una especie vegetal presente en Ecuador en todas las épocas del año, la cual se adapta a todo clima, tiene forma de arbusto, almacena grandes cantidades de agua tanto en sus hojas como en su tallo. Es propia de Madagascar, pero se ha desarrollado ampliamente en países sudamericanos, con mayor presencia en Colombia, Ecuador y Perú.

Varios estudios demuestran que esta especie vegetal tiene gran cantidad de metabolitos secundarios, que actúan en beneficio de la salud. Investigaciones internacionales han demostrado que es hipoglucemiante, hipocolesterolémica, antifúngica, antibacteriana, ansiolítica, antiinflamatoria, cicatrizante, entre otras (Kumar et al., 2020, p. 4).

Como consecuencia de lo expuesto, el propósito principal de esta investigación fue evaluar la actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Kalanchoe pinnata* (dulcamara), especie habitada en la región Andina del Ecuador, a través de un modelo de escisión *in vivo* en el dorso de ratones albinos *Mus musculus*. Se reconocieron las diferentes estructuras macroscópicas y microscópicas de la planta, se realizó control de calidad y ensayos fitoquímicos para identificar los metabolitos presentes. Además, se busca impulsar el desarrollo de medicamentos herbarios mediante el estudio de plantas medicinales presentes en nuestro país aprovechando sus recursos biodiversos de forma adecuada.

El presente trabajo, está estructurado en cuatro capítulos:

Capítulo I, Diagnóstico del problema; contendrá la problematización, que constituye la base del desarrollo de este trabajo experimental para solventar las necesidades de las personas que sufren heridas y problemas de cicatrización, el planteamiento del problema, justificación y los objetivos del estudio.

Capítulo II, se detalla el marco teórico. Comprende antecedentes de la investigación y referencias teóricas resaltando la definición de los términos relacionados.

Capítulo III, presenta la metodología y el diseño de la investigación, equipos, instrumentos y reactivos utilizados en el desarrollo del estudio, técnicas de análisis y procesamiento de datos.

Capítulo IV, expone el desarrollo de la investigación, análisis e interpretación de resultados obtenidos en cada estudio realizado.

En el último apartado se presenta las conclusiones y recomendaciones de acuerdo con los resultados obtenidos durante el desarrollo del trabajo experimental, un pequeño glosario de palabras desconocidas, se desglosa las referencias bibliográficas y finalmente se incluye los anexos como evidencias de la presente investigación.

## CAPÍTULO I

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1. Antecedentes

Las heridas crónicas y no cicatrizadas tienen una incidencia alta, el 1 % de la población mundial desarrolla estas lesiones a lo largo de su vida, existe una predisposición mayor en personas con enfermedades base y adultos mayores. Según datos del Grupo Nacional de Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas el 25 al 30 % de lesiones se genera en las extremidades inferiores, y si no son curadas de forma adecuada reaparecen contiguamente (Agencia EFE, 2016).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el pie diabético presenta una prevalencia a nivel mundial de 1.3 a 4.8 % y una mortalidad moderada, es una herida asociada con infecciones por contaminación, riesgo a la aparición de úlceras y lesiones en otras partes del cuerpo, tienen dificultad en la cicatrización, y como consecuencia puede generar una gangrena terminando en una amputación (Castelo et al., 2020, pp. 803).

El Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales de España registró en el 2016 un total de 1 158 200 accidentes de trabajo, 333 604 fueron identificados como heridas y lesiones superficiales. Esta patología es considerada como la segunda más frecuente incluyendo úlceras, dislocaciones, esguinces y torceduras (Alcedo et al. 2017, p. 2).

En países subdesarrollados, las heridas constituyen un importante problema de salud pública, principalmente con incidencia infecciosa, en el 2014 fue uno de los principales motivos de consulta en atención primaria (Castelo et al., 2020, pp. 803). Por ejemplo, en Chile, las estadísticas del 2015 muestran una suma de 160 000 pacientes portadores de algún tipo de lesión y según una encuesta Epidemiológica Nacional de Heridas y Úlceras, un 77.2 % con heridas generales, 14 % a quemaduras y 8.8 % a úlceras de pie diabético (Alcedo et al. 2017, p. 2).

En Ecuador las heridas y enfermedades dermatológicas es un problema de Salud Pública, afecta aproximadamente al 28 % de niños menores de 5 años, 57 % adultos mayores y personas con enfermedades adyacentes, y 15 % a jóvenes y adultos. Así mismo, el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) señala que, en el 2020 la cuarta causa de muerte es la diabetes, siendo la principal causa el pie diabético (INEC, 2020, p. 5).

De igual forma se ha evidenciado lesiones cutáneas en la atención a pacientes hospitalizados con SARS-CoV-2 relacionadas con su postura, heridas por presión ya sean por el apoyo de los pacientes en decúbito supino, prono o sedestación y asociadas a dispositivos clínicos como mascarillas, sondas, catéteres, circuitos de ventilador u otros. Así mismo, los profesionales de la

salud manifestaron daños en la piel por la utilización de equipos de protección (Torra et al. 2021, p. 33).

Por otro lado, las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud en países subdesarrollados. La OMS reconoce la medicina con plantas medicinales con el propósito de incentivar la creación de nuevas políticas de salud para su uso racional y se estima que el 80 % de la población mundial emplea rutinariamente la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades de atención primaria con tratamientos que implican el uso de extractos o principios activos de especies vegetales (Bermúdez et al., 2005, p. 454).

La fitoterapia es una ciencia que permite conocer la aplicabilidad de las plantas en el área de la salud y busca preservar vivo los conocimientos ancestrales. Por ende, existe una colaboración entre ciencias patrimoniales y actuales, para que mediante investigaciones sigan comprobando científicamente las actividades farmacológicas de las plantas utilizadas en la medicina tradicional (Vickers et al., 2001, p. 125).

Por ejemplo, *Eupatorium glutinosum* (matico) es una especie vegetal científicamente estudiada, tiene efectos terapéuticos conocidos alrededor de toda Latinoamérica. En Ecuador es utilizada tradicionalmente para el tratamiento de enfermedades de vías respiratorias, en la limpieza de laceraciones, diurético, antiulceroso, cicatrizante, antiinflamatorio entre otros. La actividad cicatrizante fue comprobada en estudios *in vivo* mediante la inducción de una escisión en ratones (*Mus musculus*) (Casignia y Vásquez 2015, p. 58).

*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Kurz (dulcamara) es una planta que se viene estudiando en otros países, ya que se cultiva en las regiones templadas y tropicales del mundo. De forma tradicional se conoce que exhibe una amplia gama de actividades farmacológicas que ayudan al tratamiento de trastornos graves de la humanidad. Las acciones medicinales que presenta esta planta son: cicatrizante, antioxidante, anticancerígeno, antiproliferativo, antimicrobiano, antiviral, antiparasitaria, insecticida, antialérgico, analgésico, anticonceptivo, antiinflamatoria, relajante muscular, antipirética, anticonvulsiva, antidepresiva, sedante, hepatoprotectora, gastroprotectora y antidiabética (Rajsekhar et al. 2016, p. 151).

En etnomedicina es conocida por sus efectos antroposóficos y tocolíticos en mujeres embarazadas. Los científicos han explorado las diferentes partes de la planta y han establecido sus potenciales clínicos, han realizado aislamiento de sus compuestos bioactivos presentes en la planta y han determinado que posee flavonoides, taninos, alcaloides, fenoles, saponinas, triterpenoides, glucósidos, carbohidratos, esteroides y aminoácidos (Kumar et al., 2020, p. 004).

## **1.2. Planteamiento del problema**

En la actualidad, las lesiones en la piel es uno de los mayores problemas en nuestra sociedad debido que, en cualquier circunstancia de la vida diaria se puede sufrir heridas o daños cutáneos

que necesitan de un tratamiento médico; sin embargo, en nuestro país considerado en vía de desarrollo muchas personas no acuden a los servicios de salud para un tratamiento adecuado.

Una herida es producida por el efecto de un agente externo que actúa de manera brusca sobre una parte de nuestro organismo, provocando una rotura de la superficie cutánea o mucosa, una discontinuidad en el epitelio. Se ha incrementado la prevalencia de las heridas cutáneas agudas y crónicas que presentan problemas de cicatrización, las principales causas son las cirugías, laceraciones, accidentes, infecciones, quemaduras, úlceras por presión, venosas o diabéticas y cuyo tratamiento supone un elevado costo (García et al., 2013, p. 5).

En Ecuador, las heridas, quemaduras, laceraciones y úlceras son frecuentes. Los innumerables trabajos informales y otros son causantes de lesiones cutáneas superficiales y profunda que deben ser atendidas de inmediato. El alto índice de personas con pie diabético es otra de las causas de la prevalencia de esta patología. Así mismo, la distancia de los centros de atención en algunas comunidades, falta de atención de médicos o la escasez de medicamentos puede llevar a un daño mayor con secuelas fatales (Castelo et al., 2020, pp. 803).

Por otro lado, a inicio del 2020 en la pandemia las personas hospitalizadas con SARS-CoV-2 evidenciaron lesiones cutáneas relacionadas con su postura y por presión asociadas al uso mascarillas, sondas, catéteres, circuitos de ventilador u otros. De igual forma, el personal sanitario (doctores, enfermeras, farmacéuticos), personal de limpieza, entre otros, manifestaron daños en la piel por la utilización de equipos de protección (Torra et al. 2021, p. 33).

Debido a este motivo, los sectores poblacionales afectados económica y socialmente son los adultos mayores, personas con escasos recursos, específicamente en los países tercermundistas que aún existe la desigualdad social y una deficiente respuesta sanitaria. En este sentido, la creciente prevalencia de heridas y amputaciones presentan un inmenso impacto en la salud pública (Castelo et al., 2020, pp. 803).

Hoy en día, las alternativas de tratamiento para la cicatrización de heridas son escasas, con mayor origen sintético y de un costo elevado, por lo tanto, no son accesibles para toda la población sobre todo para las personas de bajos recursos económicos. Por este motivo, las comunidades indígenas emplean tratamientos que usaban sus ancestros de forma empírica, de los cuales su eficacia no es científicamente comprobada y sus tratamientos no son monitoreados (Gallegos y Gallegos, 2017, p. 316).

### **1.3. Justificación**

Las altas tasas de morbilidad y mortalidad, producto de heridas crónicas o mal cicatrizadas durante los últimos años, incrementadas por la presencia de personas con pie diabético y enfermedades cutáneas, ha conllevado a que los pacientes busquen nuevos tratamientos. Las cremas, ungüentos, pomadas destinadas a la piel para que se regenere epitelio y se dé una buena

cicatrización, tienen precios elevados y son elaborados de manera sintética (Castelo et al., 2020, pp. 803).

Por esta razón, es necesario buscar nuevos compuestos con acción farmacológica e implementar alternativas de tratamiento con el fin de mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados. Existe un interés creciente en la medicina tradicional, debido a la creencia de que las plantas son naturales y más seguras; además, durante las últimas décadas se ha evidenciado un aumento en uso de remedios naturales para tratar diversas dolencias y afecciones de la salud (Yeung et al. 2018, p. 2).

Ecuador cuenta con una gran variedad de plantas medicinales que son usadas principalmente por las poblaciones indígenas desde hace años, contribuyen al tratamiento de diferentes enfermedades, sirven de sustancia para realizar estudios preclínicos, clínicos y elaboración de fitofármacos. Por lo tanto, el presente estudio busca evaluar la actividad cicatrizante de la especie *Kalanchoe pinnata* (dulcamara), ya que desde años atrás, esta planta ha sido utilizada tradicionalmente para tratar problema (Gallegos y Gallegos 2017, p. 316).

Actualmente, nuestro país carece de investigaciones sobre la planta *Kalanchoe pinnata*, la escasa población que conoce esta especie la emplea de forma tradicional, por este motivo, es importante evaluar sus propiedades fitoterapéuticas efectuando un estudio científico y experimental en Ecuador. En otros países se ha comprobado mediante ensayos *in vivo* e *in vitro* su eficacia en problemas hemorrágicos, inflamatorios, fiebre, diabetes, infecciones bacterianas y que posee un alto potencial antitumoral y anticancerígeno (Füerer et al. 2016).

Al comprobar la actividad cicatrizante de *Kalanchoe pinnata* científicamente, se podrá emplear en pacientes con lesiones en la piel u otra patología relacionada. Además, será un tratamiento basado en la medicina natural, con un bajo costo y fácil acceso, que impulsará a nuevas formas de emprendimiento que contribuyan a la economía del país; centrándose en la producción, comercialización y desarrollo de fitofármacos/fitocosméticos innovadores (Gallegos y Gallegos 2017, p. 319).

Por lo mencionado anteriormente, a través de esta investigación *in vivo* se busca evaluar si el extracto vegetal de *Kalanchoe pinnata* presenta actividad cicatrizante en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*). En caso de presentar dicha actividad, se contribuirá de manera positiva en la fitoterapia, ayudando a mejorar la calidad de vida de los pacientes.

## **1.4. Objetivos**

### ***1.4.1. Objetivo general***

Evaluar la actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de la planta *Kalanchoe pinnata* (dulcamara) mediante lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*).



#### ***1.4.2. Objetivos específicos***

- Realizar el control de calidad de *Kalanchoe pinnata* mediante ensayos organolépticos, botánicos y fisicoquímicos.
- Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Kalanchoe pinnata* mediante tamizaje fitoquímico.
- Determinar la actividad cicatrizante de las hojas de *Kalanchoe pinnata* mediante lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de investigación

La medicina ha desarrollado metodologías farmacéuticas para disminuir las secuelas de heridas, quemaduras, llagas, etc. La Organización Mundial de la Salud da a conocer que un tercio de la población no tiene acceso a fármacos modernos; sin embargo, en las situaciones de emergencia, se desarrollan fórmulas farmacéuticas solo con el empleo de plantas medicinales (Vílchez y Flores 2020, p. 54).

Las plantas medicinales en la actualidad presentan una gran demanda, y su aceptación está aumentando progresivamente, mediante el informe de la OMS sobre Medicina Tradicional y Complementaria (T&CM), varios países están creando directrices para incluir T&CM en el sistema de atención de la salud (Tubón et al., 2020, p. 56).

En la India se realizó un estudio con el objetivo de comprobar la actividad cicatrizante del extracto etanólico de la *Kalanchoe pinnata* en ratas. En el día 11 las ratas tratadas con el extracto el porcentaje de reducción del área de la herida fue de 86.33 %, en comparación con el control tratado con vaselina 69.36 % y el estándar tratado con mupirocina 85.49 %. Adicionalmente el análisis histológico también fue consistente con la propuesta de que el extracto de hoja de *K. pinnata* exhibe un potencial significativo para la cicatrización de heridas (Shivananda et al., 2010, p. 15).

Se realizó otro estudio en la India basado en estudios fitoquímicos preliminares de *Kalanchoe pinnata*, evaluaron su actividad analgésica y antiinflamatoria, de los extractos etanólicos y acuosos, dando como resultado positivo, estos dos extractos de la especie estudiada presentaron actividad analgésica contra las contorsiones inducidas por ácido acético en ratones y actividad antiinflamatoria contra la carragenina inducida en la pata en ratas (Matthew et al., 2013, pp. 5 – 6).

En Suiza se han realizado varios estudios relacionados con *Bryophyllum pinnatum* evaluando la actividad que ejerce el jugo prensado de sus hojas, en los partos prematuros. Primero de forma *in vitro* se comprobó que este jugo si inhibe el aumento de la concentración de calcio libre intracelular inducido por la oxitocina, una hormona conocida por desempeñar un papel en el trabajo de parto. Tiempo después se evidencia que ya han comprobado esta actividad farmacológica primero en hospitales antroposóficos y, recientemente, en entornos convencionales como medicación complementaria con una eficacia positiva (Simões-Wüst et al., 2018, p. 55; Santos et al. 2021, p. 2).

En el Caribe se realizó una investigación sobre la utilización de las hojas de Wonder of Life (*Kalanchoe pinnata*) para tratar las infecciones del pie diabético, se trabajó con 385 pacientes con

terapia convencional y 96 pacientes en el grupo de estudio (hoja cocida u hoja machacada). Los criterios de valoración fueron las tasas de amputación y la mortalidad hospitalaria. Una vez terminado el tiempo de tratamiento no hubo diferencia entre la tasa de amputaciones y mortalidad hospitalaria de los grupos, por lo tanto, se concluye que esta especie *Kalanchoe pinnata* sí contribuye en el tratamiento de infecciones del pie diabético (Cawich et al. 2014).

Por otro lado, en la Universidad Federal de Rio Grande en Brasil se desarrolló un estudio con el objetivo de evaluar la actividad antiinflamatoria local de una formulación tópica que contiene extracto acuoso de *Kalanchoe brasiliensis* y *Kalanchoe pinnata*, en ratones suizos, a los cuales se les realizó un edema de oreja inducido por aceite de Croton y edema de pata por carragenina. Los tratamientos fueron formulaciones que contenían extracto acuoso a diferentes concentraciones (1.25 %, 2.5 % y 5 %) y dexametasona. (1 mg/g), todos administrados por vía tópica. En conclusión, las dos especies mostraron actividad antiinflamatoria local; sin embargo, *K. brasiliensis* mostró un mejor resultado en los edemas ya que tuvo actividad a una concentración más baja (Dantas et al., 2019).

Otro estudio en Brasil tuvo como objetivo desarrollar y comparar dos cremas cicatrizantes que contienen un extracto acuoso de hoja de *K. pinnata* al 6 % y su flavonoide principal (quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-rhamnopyranoside) al 0.5 %, mediante su aplicación tópica durante 15 días en una escisión en el lomo de la rata. En el día doce, los grupos tratados con el extracto de la hoja *K. pinnata* y su flavonoide principal exhibieron  $95.3 \pm 1.2$  % y  $97.5 \pm 0.8$  % de curación respectivamente, es decir, ambos presentaron una buena regeneración epitelial. Por otro lado, se observó que los glicósidos del flavonol son los principales compuestos fenólicos en el extracto de hoja de *K. pinnata* según el análisis HPLC-ESI-MS / MS, los cuales tienen un papel fundamental en la cicatrización de heridas (Soares et al., 2021).

En Ecuador, en la Universidad Técnica del Cotopaxi se evaluó la actividad antibacteriana de las hojas de *Kalanchoe pinnata* (Siempre viva), mediante una tintura al 20 % y un extracto seco. Se realizó el estudio fitoquímico de dicha planta y se comprobó la presencia de compuestos químicos en la tintura especialmente alcaloides, cumarinas, saponinas, quinonas, esteroides, antocianidinas y aminoácidos libres. Sin embargo, en el extracto seco no se detectaron triterpenos ni quinonas. En los dos extractos se realizaron pruebas *in vitro* de evaluación de la actividad antibacteriana empleando el método de difusión en agar por diseminación superficial en disco (Bauer-Kirby), usando las cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. Los dos extractos mostraron actividad antibacteriana frente a *S. aureus* y su eficiencia fue evaluada por comparación con antibióticos modelos (Calvopiña, 2010, pp. 5 -14).

En Napo, provincia del Ecuador se evaluó la eficacia del Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*) en la prevención de infecciones puerperales. Mediante 137 parteras y 121 parturientas en su mayoría kichwas, como práctica rutinaria se realizaban tomas y lavados pre, durante y postparto de infusiones de esta planta. Entre los resultados se mencionan que en el puerperio las parturientas

presentaron fiebre 5.79 %, mareos 9.92 % y cefalea 4.13 %. Mediante el análisis fitoquímico se evidenció que los metabolitos predominantes eran las quinonas y alcaloides. Además, se demostró actividad antiinflamatoria y antibacteriana. Por lo tanto, se concluyó que *K. pinnata* fue efectiva en la prevención de infecciones puerperales (Jara et al. 2016).

Por otro lado, en Guayaquil se realizó una investigación con el objetivo de “Evaluar los parámetros farmacognósticos y la capacidad antioxidante “*in vitro*” del extracto etanólico de la Hoja de aire (*K. pinnata*)”. Los resultados en los distintos ensayos fueron humedad 7.91 %, cenizas totales 12.6 % y cenizas insolubles de 0.99 %. En el tamizaje fitoquímico dio positivo en alcaloides, taninos, compuestos fenólicos y triterpenos. Para la determinación de la capacidad antioxidante se realizaron dos ensayos al extracto etanólico, el contenido de fenoles totales (Ensayo Folin-Ciocalteu) y reducción del ion férrico (FRAP); los dos demostraron el potencial antioxidante del extracto, por lo que se pudiera fundamentar su aplicación para enfermedades degenerativas (Bayona y Peña 2017).

Se determinó la actividad antiinflamatoria de las hojas de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) recolectadas en la ciudad de Riobamba, mediante la inhibición de edema plantar inducido con carragenina en ratas. Se realizaron extractos al 25, 100 y 300 mg/Kg, que fueron suministrados a ratas, la medición se realizó con el programa ImageJ. El tamizaje fitoquímico identificó la presencia de alcaloides, triterpenos, esteroides, fenoles, taninos y flavonoides; también exhibió una concentración de 1.586 mgEQ/mL, 57.723 mgEQ/mL, 21.319 µg/mL en la cuantificación de flavonoides, fenoles y actividad antioxidante respectivamente. Por lo tanto, se concluyó que el extracto de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) tiene actividad antiinflamatoria, que es más efectiva a la dosis de 300 mg/Kg (Cucurí, 2017, pp. 14 - 19).

## **2.2. Referencias teóricas**

### **2.2.1. Piel**

La piel también conocida como membrana cutánea es el órgano más grande e importante del ser humano, recubre toda la parte exterior del cuerpo e incluso en los orificios naturales del ano, boca, vulva, uretra y nariz, está formada por distintos tejidos que se unen para cumplir actividades específicas (García y Hurlé, 2005, p. 15). Aproximadamente cubre un área de 1.5 a 2.0 m<sup>2</sup> y representa casi 15 % del peso corporal total, su espesor varía según la ubicación anatómica por ejemplo puede ir desde 0.5 mm en el párpado y el pene, hasta 6 a 8 mm en palmas de las manos y plantas de pies (Zeas y Ordóñez, 2016, p. 11).

Su principal objetivo es constituir una barrera de separación y comunicación entre el medio interno y el externo, por ende, nos proporciona una cubierta protectora elástica y fuerte, capaz de auto regenerarse (Tortora y Derrickson 2006, p. 154).

Existen dos tipos de piel:

- Piel blanda o fina (con pelo), corresponde a la que recubre los párpados y las zonas genitales; carece de estrato lúcido (Tortora y Derrickson, 2006, p. 167).
- Piel gruesa, se ubica en la piel palmar, plantar y labial (sin pelo), se identifica por tener un estrato corneo muy desarrollado, además la constituye el estrato lucido, granuloso, espinoso y basal (Tortora y Derrickson, 2006, p. 167).

#### 2.2.1.1. *Funciones de la Piel*

La piel tiene una gran variedad funciones, las cuales son esenciales para la vida del ser humano. Consideramos:

##### ▪ *Función de Protección*

Protección frente a sustancias químicas ya que la piel actúa como barrera impidiendo la salida y la absorción de fluidos extraños, biológicas (microorganismos), agentes físicos (luz UV y electricidad), fuerzas mecánicas (golpes, fricciones, contusiones e intento de penetración de cuerpos extraños) (Tresguerres et al., 2008, p. 10).

##### ▪ *Función de Relación*

La piel está compuesta por múltiples terminaciones nerviosas y receptores especializados, por lo cual tiene la capacidad de percibir de los medios múltiples estímulos, como el sentido del tacto, presión, calor, frío, dolor y picor (Tresguerres et al., 2008, p. 10).

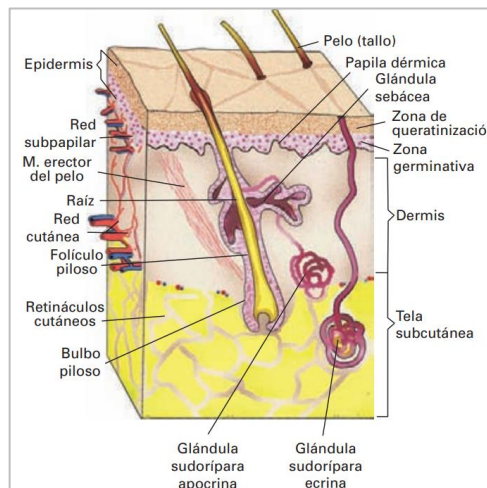
##### ▪ *Función Reguladora*

Conocida también como homeostasis, interviene en el mantenimiento y regulación de dos parámetros vitales: La temperatura corporal y el equilibrio hidroelectrolítico. Influye de forma directa en la pérdida de iones (sodio, potasio) y líquidos en caso de: sudoración profusa por elevadas temperaturas, realizar ejercicio intenso y prolongado, o daños cutáneos que alteran la membrana cutánea por ejemplo los quemados (Tresguerres et al., 2008, pp. 10-11).

##### ▪ *Función Metabólica e Inmunológica*

Participa en el proceso de la síntesis de la vitamina D y también la piel en su estructura posee elementos de un sistema inmunitario intrínseco 1) las células de Langerhans en la epidermis y

dendrocitos dérmicos presentadores de antígenos, 2) los queratocitos activos secretores de varias citoquinas proinflamatorias y 3) linfocitos T auxiliares/cooperadores. Otra de las funciones más importantes es que ayuda a la cicatrización de cualquier tipo de heridas (Tresguerres et al., 2008, p. 11). En cada una de sus funciones interviene una o varias capas de la estructura de la piel, en la ilustración 1-2 se indica las capas de la piel. La capa externa que es la epidermis de origen ectodérmico, la capa intermedia que es la dermis de origen mesodérmico; y por último la capa subyacente o interna que es la hipodermis o capa subcutánea, además es importante mencionar que la piel es un órgano sensorial frente al dolor, tacto y temperatura (Tresguerres et al., 2008, p. 7).



**Ilustración 1-2:** Estructura de la piel.

**Fuente:**(García y Hurlé 2005, p. 14)

### 2.2.1.2. Estructura de la piel

#### ▪ *Epidermis*

Es la capa externa de la piel, está constituida por un epitelio plano poliestratificado y queratinizado, carece de vasos sanguíneos, es dependiente de los nutrientes del tejido conjuntivo subyacente y su grosor es de 0.1 – 2 mm. Aquí se encuentra un gran número de células (citoblastos, queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel) que se encuentran distribuidas en cuatro o cinco estratos o capas (en la piel gruesa son cinco) (Marieb, 2009, p. 116).

Las capas de la epidermis son:

- Estrato basal o germinativo, epidermis compuesta por citoblastos cúbicos, cilíndricos cortos y queratinocitos, de forma dispersa se encuentran melanocitos, células táctiles y citoblastos; y a medida que estos últimos se dividen, dan lugar a queratinocitos que migran hacia la superficie de la piel y reemplazan a las células epidérmicas perdidas (Saladin., 2011, p. 184).

- Estrato espinoso o escamoso, consta de varias capas de queratinocitos que muestran delgadas prolongaciones con un aspecto de espigas, por ende, se diferencia por su mayor espesor y en la piel gruesa es más abundante (Saladin, 2011, p. 184).
- Estrato granuloso o granular, está formado de tres a cinco capas de queratinocitos planos, con gránulos de queratohialina burda (la piel gruesa tiene mayor) (Saladin, 2011, p. 184).
- Estrato lúcido, es una capa delgada ubicada en la superficie del estrato granuloso, que sólo se ve en la piel gruesa, los queratinocitos están empaquetados con una proteína (eleidina). Este estrato tiene aspecto pálido y sin características definidas (Saladin, 2011, p. 184).
- Estrato córneo o cornificada, consta de 30 capas de células queratinizadas muertas, fusiformes y escamosas, que forman una estructura superficial que resulta muy resistente a la abrasión, la penetración y la pérdida de agua (Saladin, 2011, p. 184).

#### ▪ *Dermis*

Es la capa intermedia y más gruesa de la piel, genera estructura de soporte, plegabilidad, elasticidad y resistencia a la atracción, está formada por un tejido conectivo fibroelástico constituido por sustancia fundamental, fibras colágenas y elásticas, nervios, varios vasos sanguíneos y linfáticos (García y Hurlé, 2005, p. 18).

Esta capa interactúa con la epidermis para mantener las propiedades de los dos tejidos, se complementan en el desarrollo de dientes, uñas, estructuras pilosebáceas y glándulas sudoríparas, e interactúan en la reparación y remodelación de la piel en la cicatrización de heridas (Saladin, 2011, p. 185).

Las capas de la dermis son:

- Capa profunda o reticular, constituida por haces de colágeno que se encuentran distribuidos de forma cruzada o paralela, esto da lugar a la superficie de la piel o conocido como líneas de tensión; las fibras colágenas soportan las tensiones y evitan los desgarros, y las elásticas reordenan las redes de fibras colágenas otorgando a la piel de distensibilidad (García y Hurlé 2005, p. 18).
- Capa superficial o papilar, área delgada con tejido areolar localizada en las papilas dérmicas y a su alrededor. Su organización laxa permite la movilidad de los glóbulos blancos y otras defensas contra los microorganismos patógenos que entran por roturas de la epidermis. En esta capa tiene una gran cantidad de vasos sanguíneos pequeños (Saladin 2011, p. 186).

#### ▪ *Hipodermis*

Conocida por los sinónimos de, tela subcutánea, grasa subcutánea, panículo adiposo o hipodermis, es la parte interna de la piel, formada por tejido conjuntivo laxo subcutáneo, se extiende desde la

dermis profunda hasta la fascia muscular superficial, su espesor es según su ubicación anatómica, el sexo, la edad y el peso corporal. Su función es actuar como un aislante térmico, reservorio energético y protector mecánico frente a traumatismos (García y Hurlé, 2005, p. 18; Tresguerres et al., 2008, p. 10).

### **2.2.2. Heridas**

Una herida se define como una lesión, intencional o accidental, ocasionada por agentes externos o internos; esto produce la pérdida de la continuidad en la piel y/o mucosa, el medio estéril interno se contamina, dando como resultado una infección y riesgo de originarse lesiones en los tejidos adyacentes como: músculos, vasos sanguíneos y nervios (Esteva, 2006, p. 55).

#### *2.2.2.1. Clasificación de las heridas*

- *Según la naturaleza de la lesión*
- **Incisión:** Es una lesión ocasionada por objetos afilados, que generan daño en la piel, generando una alteración en la circulación sanguínea, cicatrizan en un tiempo corto y la herida tiene bordes netos (Zarate et al., 2020, p. 5).
- **Cizallamiento o desaceleración:** Daño causado por objetos que superan la fuerza de unión del tejido, las capas de piel se desintegran del tejido subyacente y el tejido blanco se destruye. Estas heridas presentan bordes dentados e irregulares (Zarate et al., 2020, p. 5).
- **Contusión:** Se genera una muerte celular inmediata y daño del suministro de sangre subyacente al tejido, suele asociarse con una amputación de nervios y vasos sanguíneos (Zarate et al., 2020, p. 5).
- **Quemadura:** La piel entra en contacto con una fuente de calor (fuego, rayos UV, sustancias químicas, corriente eléctrica, escaldaduras y objetos calientes). Se produce un daño por coagulación y desnaturalización de las proteínas celulares; este tipo de lesión se clasifica basándose en su profundidad, evaluando la apariencia, palidez a la presión, dolor y sensación del paciente (Bosch, 2001, pp. 90–91).
- **Ulceración:** Es una herida crónica ocasionada por un daño en el revestimiento epitelial, su cicatrización es difícil y requieren atención continua un tiempo prolongado (Bosch, 2001, p. 91).
- **Mordedura:** Es un tipo de lesión ocasionada por humanos o animales, son heridas muy contaminadas, por ende, requieren tratamientos basados en antibióticos contra el microbiota oral de la especie causal (Zarate et al., 2020, p. 5).



▪ *Según el grado de contaminación*

- **Clase I (limpia):** Es una herida desinfectada con ausencia de inflamación, de tipo cerrada. Poseen un 2 % de riesgo para contraer una infección, por lo tanto, no requiere profilaxis antibiótica (Salem et al. 2000, p. 94).
- **Clase II (moderadamente limpia):** Herida desinfectada en ausencia de inflamación. Sin embargo, tiene un riesgo de desarrollar infección del 5 – 15 %, por microorganismos endógenos del paciente y aquí si necesita profilaxis antibiótica (Zarate et al., 2020, p. 6).
- **Clase III (contaminada):** Herida abierta ocasionada de forma accidental, con inflamación aguda no purulenta. El riesgo de desarrollar infección es del 15 %, por microorganismos endógenos o exógenos del procedimiento. Se exige el uso de profilaxis antibiótica, de lo contrario se infectará pasado las 6 horas (Salem et al. 2000, p. 94).
- **Clase IV (muy contaminada):** Es una lesión traumática con inflamación purulenta y tejido desvitalizado y su riesgo a una infección es > 30 % por microorganismos extraños o patógenos, se obliga a un tratamiento antibiótico (Zarate et al., 2020, p. 6).

▪ *Según el tiempo de cicatrización*

- **Aguda:** Menor a 6 horas de evolución y son estériles (Bosch, 2001, p. 91).
- **Subaguda:** Herida abierta más de 6 horas, pero menor a 5 días, si no se toma medidas de limpieza puede ser contaminada (Zarate et al., 2020, p. 7).
- **Crónica:** La evolución de esta herida es mayor a 5 días, y sí existe colonización de bacterias (Zarate et al., 2020, p. 7).

▪ *Según la profundidad*

- **Excoriación:** Es una herida que afecta la epidermis y dermis, se caracteriza por cicatrizar de forma íntegra, sin dejar cicatriz (Zarate et al., 2020, p. 7).
- **Superficial:** Daño en la piel que abarcar desde la epidermis hasta la hipodermis, incluso puede lesionar la fascia superficial ubicada entre el tejido adiposo y el músculo (Zarate et al., 2020, p. 7).
- **Profunda:** Compromete el espesor de la epidermis hasta el músculo, lesionando vasos sanguíneos y/o nervios de mayor calibre (Bosch, 2001, p. 91).
- **Penetrante:** Es una herida que afecta la epidermis hasta la fascia profunda subserosa que cubre las paredes internas musculoesqueléticas y forma el peritoneo (Salem et al. 2000, p. 97).
- **Perforante:** Herida que atraviesa desde la epidermis hasta una víscera en una cavidad, a la

cual puede lesionar superficialmente o perforarla (Zarate et al., 2020, p. 8).

- **Empalamiento:** Herida generada por un objeto inciso-punzante el cual queda atrapado en el organismo, dependiendo su ubicación puede o no atravesar cavidades. Son más frecuentes en paladar, cadera o tronco (Zarate et al., 2020, p. 8).

La importancia de agrupar las heridas en relación con su naturaleza, contaminación, tiempo de cicatrización y profundidad, es para conocer sus características y diferenciar cada tipo de lesión para brindar una correcta atención y el tratamiento más adecuado, y por consiguiente desarrolle una adecuada cicatrización (Zarate et al., 2020, p. 8).

### **2.2.3. Cicatrización**

La cicatrización es un proceso de alta complejidad con origen biológico, comprende un conjunto de reacciones bioquímicas y mitóticas celulares, cuyo objetivo es curar y reparar las heridas, mediante la formación de un nuevo tejido conjuntivo fibroso (Fernández et al., 2008, p. 8).

#### **2.2.3.1. Tipos de cicatrización**

Se ha establecido dos tipos de cicatrización o cierre de una herida basándose en el periodo y la forma en que ocurra la reparación de la herida, estos son:

- *Cierre de heridas por espesor total*
- **Cicatrización primaria o de primera intención:** Se genera en una lesión con bordes opuestos (suturas, grapas o dispositivos), en la cual se produce una pequeña muerte celular. Los tejidos se cicatrizan por unión primaria en un tiempo corto, presenta un pequeño edema. Es una cicatriz limpia, carece de secreción y estética. Un ejemplo es en una incisión quirúrgica (Salem et al. 2000, p. 91; Zavala et al. 2009, p. 11).
- **Cicatrización secundaria o de segunda intención:** Cicatrización de cierre espontáneo, donde la herida presenta bordes separados y ligeramente contaminados, no hay una atención médica a tiempo, y por tanto, se deja abierta para que se repare sola por contracción desde las capas profundas hasta sus bordes mediante el crecimiento del tejido de granulación; el tiempo de cicatrización es más prolongado, complejo y con una inflamación más intensa, su cicatriz es antiestética (Fernández et al. 2008, p. 8).
- **Cicatrización terciaria o de tercera intención (cierre primario diferido):** Este proceso de cicatrización asegura la reparación de tejidos maltratados y heridas muy contaminadas, el proceso de curación que ejecuta el cirujano es de mantener abierta la herida por un tiempo, si la infección está controlada y se observa formación de tejido uniforme de granulación se

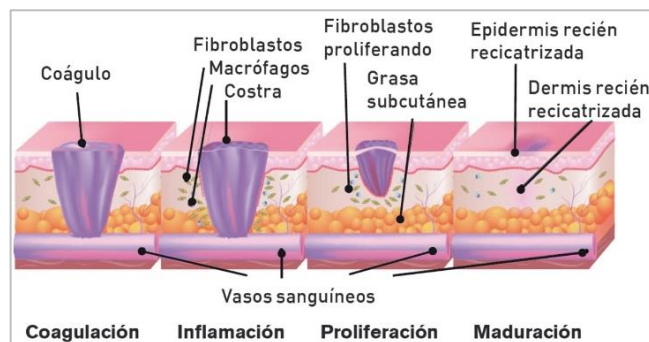
procede a cerrar sus bordes sin complicaciones (Salem et al. 2000, p. 91).

- *Cierre de heridas de espesor parcial*

En este tipo de cicatrización se da por epitelización, los folículos pilosos y las células epiteliales de las glándulas sebáceas se dividen para cubrir el defecto. En este proceso hay una mínima formación de colágeno, consecuentemente, no existe contracción (Andrades y Sepúlveda, 2011, p. 23).

### 2.2.3.2. Fases de cicatrización

El proceso de cicatrización involucra 3 fases como se da a conocer en la ilustración 2-2:



**Ilustración 2-2:** Fases del proceso de cicatrización.

Fuente: (Ramírez, 2010, p. 71)

- *Fase inflamatoria*

Dura de 24 a 72 horas, la respuesta vascular genera una constricción de los vasos lesionados y posteriormente, vasodilatación con un aumento de permeabilidad para el control de la hemorragia y luego se estimula la migración celular.

Su respuesta hemostática se basa en la formación del tapón hemostático, ya que el colágeno expuesto en la herida genera ADP el cual promueve la agregación plaquetaria continua, estos trombocitos mediante la producción del factor de crecimiento atraen a los neutrófilos y son atrapados en este tapón (Valencia, 2010, p. 89).

Además, estimulan la producción de la citoquina proinflamatoria (IL-1) para la producción de los queratinocitos, en esta fase, los macrófagos desencadenan una función clave para establecer la homeostasis dentro de la herida y regular el estado inflamatorio, evitando una prolongación patológica (Borráz et al., 2020, p. 43).

En la zona de la cicatriz se puede evidenciar rubor, calor, dolor y en algunas ocasiones producirse tumores, cuanto más prologada sea esta fase la cicatriz será mayor y de mejor calidad, la cual

podrá recuperar el 10 % de la fuerza tensil (Andrades y Sepúlveda 2011, p. 21).

- *Fase proliferativa (fibroblástica)*

Esta fase se extiende de 4 a 21 días y comprende varios mecanismos como son la angiogénesis, formación de tejido de granulación, depósitos de colágeno, epitelización y retracción de la herida, los cuales ocurren de forma simultánea (Borráez et al., 2020, p. 44).

Por la ruptura de los vasos sanguíneos la herida se vuelve hipóxica, y esto induce a la activación de los fibroblastos y células endoteliales y síntesis de varios factores de crecimiento que trabajan en combinación con las citoquinas para desencadenar la angiogénesis (neovascularización y reparación de los vasos sanguíneos dañados) (Arenas, 2003, p. 127).

La herida en un inicio es avascular, sin embargo, como el proceso de la angiogénesis se da de forma continua, estimula a la formación de una red vascular de capilares a lo largo de la lesión, estos suelen ser débiles y permeables lo que ayuda al edema de la lesión y formación del tejido de granulación; posteriormente se genera la fibronectina y colágeno gracias a que la herida se vuelve rica en fibroblastos las cuales cambian a miofibroblastos y desarrollan pseudópodos que contribuyen en la contracción de la herida; mediante el proceso de transición epitelio–mesenquimal, las células epiteliales adquieren motilidad y viajan hasta la superficie (Salem et al. 2000, p. 91).

En las heridas cerradas esta fase puede estar completa en 24 horas no obstante en las heridas que se dejan para cierre por segunda intención, el área carece de células epiteliales y favorece a que se genere una contractura antes de que el proceso de epitelización termine (Salem et al. 2000, p. 91).

- *Fase de maduración*

Es la fase final de la curación y reparación de una herida, puede tardar hasta 2 años, debe existir un equilibrio entre la síntesis y la degradación, para recuperar una estructura semejante a la que se ve en el tejido sano. Se ordena el colágeno, se engruesa y se van los fibroblastos, va disminuyendo poco a poco el contenido de agua (Andrades y Sepúlveda, 2011, p. 22).

Las lesiones en la piel no logran el mismo nivel de resistencia que tenían antes, en promedio alcanza el 50 % y a largo plazo hasta el 80 % de la resistencia; además, en el transcurso del tiempo se evidencia un cambio en la cicatriz ya que se ablanda y aplana, desaparece el prurito y el eritema, la coloración cambia de rojo a rosado y finalmente toma una tonalidad gris debido a que la vascularización disminuye (Borráez et al., 2020, p. 45).

### 2.2.3.3. Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento son proteínas (polipéptidos) que se encuentran en la sangre, imparten un mensaje bioquímico a una célula blanco por medio de un receptor celular específico. En la tabla 1-2 se detalla los factores de crecimiento más importantes del proceso de cicatrización.

**Tabla 1-2:** Factores de crecimiento.

Familia	Factor	Célula de origen	Función	Aplicación Clínica
<b>Factor de crecimiento transformante</b>	TGF-Beta y BMP	Plaquetas, neutrófilos, linfocitos, macrófagos.	Proliferación fibroblástica, síntesis de colágeno, quimiotaxis, angiogénesis, síntesis de hueso.	Su inhibición podría mejorar la cicatrización excesiva (queloides y cicatrices hipertróficas).
<b>Factor de crecimiento fibroblástico</b>	FGF y KGF	Macrófagos, glía	Proliferación epitelial y fibroblástica, depósito de matriz, contracción y angiogénesis.	Sin estudios con aplicación clínica.
<b>Factores de crecimiento insulinoides o somatomedinas</b>	IGF	Hepatocito	Estimula diferenciación y división celular, mediador en la acción de la hormona de crecimiento.	Sin estudios con aplicación clínica.
<b>Factor de crecimiento epidérmico</b>	EGF	Plaquetas, plasma	Proliferación epitelial y fibroblástica, formación de tejido de granulación.	Estudios clínicos de bajo poder como estimulador de la epitelización de heridas.
<b>Factor de crecimiento plaquetario</b>	PDGF y VEGF	Plaquetas, monolitos, fibroblastos, músculo liso.	Proliferación fibroblástica, quimiotaxis, activación de neutrófilos y macrófagos; angiogénesis.	Demostrada utilidad en el tratamiento de heridas crónicas. Único factor aprobado por la FDA para uso clínico.
<b>Interferón</b>	IFN	Linfocitos, fibroblastos	Inhibición de la síntesis de colágeno y la proliferación de fibroblastos.	Tratamiento de cicatrices excesivas (queloides y cicatrices hipertróficas).

**Fuente:** (Andrades y Sepúlveda 2011)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 2.2.3.4. Complicaciones en una cicatrización

Existen una serie de problemas que enfrentan los pacientes, principalmente son vulnerables a contraer infecciones por la abertura continua de la herida.

- **Infección:** Es la afección más severa que afecta a los pacientes, consiste en la introducción de microorganismos patógenos en una herida y si no es tratado a tiempo puede generar una enfermedad crónica, gangrena, amputaciones o inclusive la muerte (Ramírez, 2010, p. 70).
- **Dehiscencia:** Hace referencia a la separación de la herida ya sea de forma parcial o total de las capas del tejido después de haberse cerrado, esto se presenta con mayor frecuencia en pacientes de edad avanzada o debilitada (no excluye a la edad joven). Este tipo de afección puede ser causada por tensión excesiva sobre el tejido recién saturado, por una mala sutura o por el uso inadecuado del material de sutura (Ramírez, 2010, p. 70).

#### 2.2.3.5. Factores que influyen en la cicatrización

Existen varios factores que afectan a la cicatrización de heridas, en la tabla 2-2 se indica los factores generales, enfermedades, tratamientos farmacológicos y factores locales que influyen en el proceso de cicatrización:

**Tabla 2-2:** Factores que influyen en la cicatrización

<b>Factores Generales</b>	Edad, nutrición, estrés, peso, hábito de fumar y bebidas alcohólicas.
<b>Enfermedades</b>	Diabetes, alteraciones cutáneas, hipertiroidismo, hipotiroidismo, arteriosclerosis, hipovolemia, anemia, vasculopatía periférica.
<b>Tratamientos farmacológicos</b>	Compuestos antiinflamatorios, vitaminas (A, C, zinc), hierro, cobre adrenalina, algunas hormonas (estrógenos y progesterona), corticoides, quimioterápicos e inmunosupresores, povidona yodada y agua oxigenada.
<b>Factores Locales</b>	Contaminación crítica, cuerpos extraños, tejido necrótico, edema, isquemia, hematoma, infección, temperatura y deshidratación de la herida.

Fuente: (Fernández et al., 2008, p. 14)

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 2.2.4. Fitoterapia

La fitoterapia o conocida también como medicina herbaria, es la ciencia que estudia el uso de

productos de origen vegetal, es decir, hierbas medicinales, con el objetivo de prevenir, mitigar o curar alguna enfermedad (Vickers et al., 2001, p. 125).

El uso de las plantas medicinales es tan antiguo como la humanidad, el año 1865, cuando el Dr. Auguste Soins define con el término fitoterapia “la terapia que utiliza las plantas medicinales”, el término fitoterapia deriva del griego "Phuton", planta, y de "Therapeia", tratamiento, e incluye también otras terapias especiales como la aromaterapia (con aceites esenciales) y la gemoterapia (con yemas de tejidos vegetales) y, el Dr. Henri Leclerc, el maestro de la escuela de fitoterapia francesa, quien realmente popularizó el término a principios del siglo XX (Berdonces, 2003, pp. 142–143).

Este tipo de medicina utiliza matrices vegetales complejas, plantas enteras o partes de ella como hojas, raíces, flores o semillas, y para que facilite su administración se realiza tratamientos directos mediante la preparación de extractos con algún disolvente o medio que se concentre los compuestos afines, los cuales son denominados técnicamente metabolitos secundarios, entre estos compuestos podemos encontrar flavonoides, taninos, saponinas y aceites esenciales, alcaloides, esteroides como cardiotónicos y fitohormonas, y polímeros como las gomas y mucílagos (Avello y Cisternas, 2010, p. 1289).

La OMS ha implementado una estrategia sobre la medicina tradicional en respuesta a la resolución de la Asamblea Mundial de la Salud sobre medicina tradicional (WHA62.13) con la finalidad de integrar este tipo de medicina a los sistemas nacionales de salud, promover seguridad, eficacia y calidad de este tratamiento mediante la ampliación de la base de conocimientos y la prestación de asesoramiento sobre normas reglamentarias, garantizar el acceso de la medicina tradicional especialmente a las personas de bajos recursos y promover el uso terapéutico racional de la fitoterapia entre los profesionales de salud y los usuarios (OMS, 2014, p. 12).

#### *2.2.4.1. Fitoterapia de la piel*

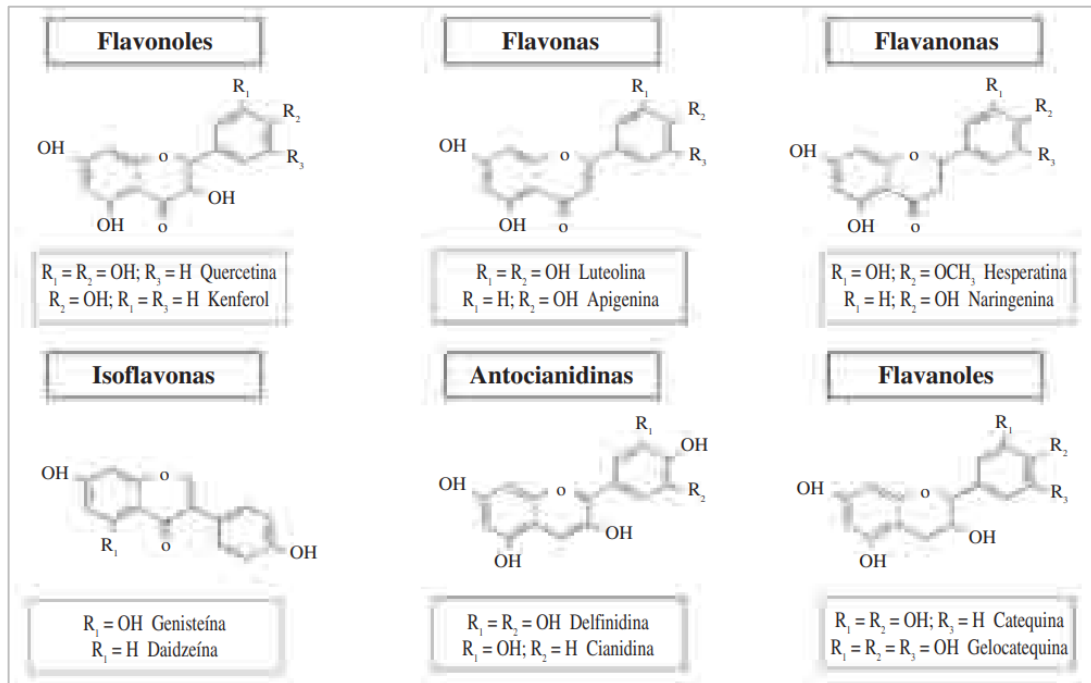
Esta medicina herbaria se basa en la utilización de plantas medicinales para el tratamiento de diferentes afecciones en la piel. En la actualidad, gracias a los avances científicos se puede conocer la composición química, obteniendo así mejores resultados, lo que ha beneficiado el desarrollo de fitocosméticos (Berdonces, 2003, p. 144).

#### **2.2.5. Metabolitos secundarios que contribuyen a la cicatrización**

##### *2.2.5.1. Flavonoides*

Los flavonoides son pigmentos amarillos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución

ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. Este tipo de metabolito se encuentran como O- glicósidos o C-glicósidos. Tienen un origen biosintético común y, por ese motivo, poseen un mismo elemento estructural básico, pero con diferentes grados de oxidación, dando lugar a las distintas familias estructurales que se indican en la ilustración 3-2 (Quiñones et al., 2012, p. 81).



**Ilustración 3-2:** Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides.

**Fuente:** (Quiñones, 2012, p. 79)

Se identifican aproximadamente 900 flavonoides naturales (libres o como glicósidos), los cuales se encuentran ampliamente distribuidos entre las plantas; los que tienen mayor interés farmacológico son las flavonas, flavonoles y flavanonas (Quiñones et al., 2012, p. 80).

Se ha determinado que los flavonoides de origen vegetal generan un aumento en la síntesis de fibronectina extracelular y colágeno; son sustanciales para la salud de los vasos sanguíneos debido a que incrementan la fuerza de los vasos capilares, ayudando a su fácil cierre y que no se rompan, previenen el sangrado, ya que algunos flavonoides tienen una acción farmacológica análoga a la vitamina C. Los flavonoides con mejores resultados en este campo son la hesperidina, la rutina y la quercetina (Quiñones et al., 2012, p. 81).

Los flavonoides como la quercetina y kaempferol, promueven la producción de fibroblastos de la piel en presencia de vitamina C, lo que genera un aumento en la síntesis de colágeno y fibronectina extracelular. Las antocianidinas favorecen a la expresión del factor de crecimiento endotelial en los queratinocitos, por lo que ayuda a la angiogénesis en el proceso de cicatrización, ya que acelera



la contracción de la herida y su cierre, debido a que aumenta la expresión del factor de crecimiento endotelial en el tejido del borde de la lesión (Cartaya y Reynaldo 2001, p. 10).

Además, a estos metabolitos se les atribuyó acción antiinflamatoria, debido a sus efectos antioxidantes y al actuar contra las histaminas, prostaglandinas y los leucotrienos (Cartaya y Reynaldo 2001, p. 10).

#### 2.2.5.2. *Taninos*

Son compuestos fenólicos hidrosolubles que poseen un alto número de grupos hidroxilos y funcionales, se pueden acoplar a proteínas y otras macromoléculas. Se clasifican en dos grupos: taninos condensables y taninos hidrolizables, el principal es el ácido gálico y los monómeros de flavonoides (García et al. 2002, p. 215).

En el cuidado de la piel y la curación de heridas, los taninos aceleran la cicatrización y hemostasia, al unirse las proteínas con estos metabolitos creando un medio seco, generando así la formación de costras. Actúan de igual forma en la constricción de los vasos sanguíneos en la coagulación de la sangre contribuyendo a la pronta curación de heridas. Igualmente tienen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y antioxidantes, contribuyendo en el tratamiento de heridas y llagas de piel. Además, se ha evidenciado el uso tópico y oral de preparados con plantas ricas en taninos para tratar problemas vasculares, como varices y hemorroides (García et al. 2002, p. 215).

#### 2.2.5.3. *Mucílagos*

Tienen propiedades hidratantes y protectoras de la piel, favoreciendo la aplicación de cataplasma, como un buen protector sobre heridas, llagas, cortes y quemaduras (Villa et al., 2020, p. 510).

#### 2.2.6. *Kalanchoe pinnata (dulcamara)*



**Ilustración 4-2:** Planta *K.pinnata*.

**Fuente:** (Majaz, 2011, p. 1478)

Conocida también por los nombres botánicos actuales y validados por el Código Internacional de Nomenclatura Botánica (ICBN) son: *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken y *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers., sin embargo, en algunos países esta planta es conocida con más sinónimos como *Cotyledon pinnata* Lam., *Bryophyllum calycinum* Salisb., *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz, *Crassula pinnata* L. f. y *Verea pinnata* (Lam.) Spreng. (Bhavsar et al., 2018a, p. 1519). En la tabla 3-2 se detalla su taxonomía.

**Tabla 3-2:** Clasificación taxonómica de *K. pinnata*.

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Clase</b>	Equisetopsida C.
<b>Orden</b>	Myrothamnanae Takht
<b>Familia</b>	Crasuláceas J
<b>Género</b>	<i>Kalanchoe</i> Adans
<b>Especie</b>	<i>Kalanchoe pinnata</i> (Lam.) Kurz

**Fuente:** Tropicos.org. Jardín Botánico de Missouri.

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 2.2.6.1. Nombres comunes

Se conoce comúnmente como dulcamara, planta de vida, planta de aire, planta del amor, hierva de bruja, hoja de bruja, siempreviva, campanas de Canterbury y campanas de catedral. (Bhavsar et al., 2018a, p. 1519).

#### 2.2.6.2. Descripción botánica

*Kalanchoe pinnata* (Lam.) es una planta suculenta perenne y ornamental, que puede crecer en casas y jardines, en la figura 4-2 se puede observar sus características macromorfológicas. Crece de 30 a 150 cm de altura, con tallos huecos angulados y hojas carnosas de tamaño variable, las hojas inferiores suelen ser simples y las superiores suelen ser pecioladas largas (unidas por una cresta alrededor del tallo), son de color verde oscuro y adornadas con rojo los bordes (Bhavsar et al., 2018a, p. 1519; Matthew et al. 2013b, p. 23).

Sus flores se encuentran agrupadas de forma colgante en películas terminales, pedicelos delgados, su cáliz de 2.5 a 3.8 cm de largo, la corola es campanulada y púrpura rojiza, con cuatro lóbulos triangulares, con estambres en dos series de cuatro semillas numerosas (Bhavsar et al., 2018a, p. 1519; Matthew et al. 2013b, p. 23).

### 2.2.6.3. Hábitat y Distribución

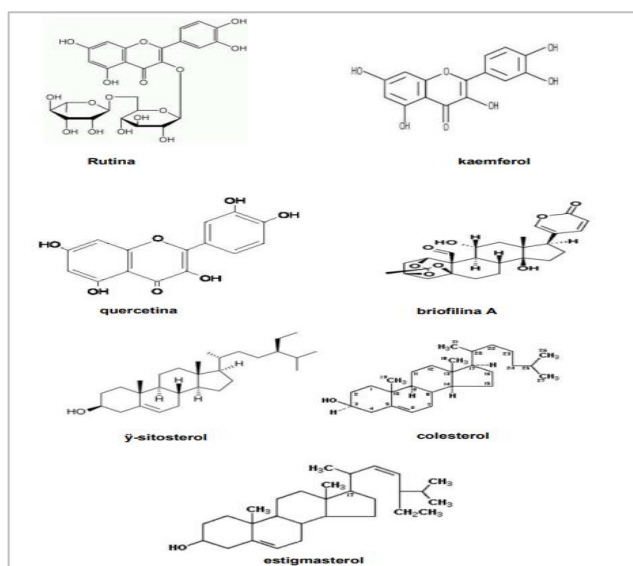
*Kalanchoe pinnata* es de origen africano, se encontró por primera vez en la isla de Madagascar, por su capacidad de adaptación a los distintos climas, fue introducida y naturalizada en distintas partes del mundo. En la actualidad se encuentra presente en Asia, India tropical, África, China, Australia, Polinesia, Hawái y América tropical; y se usa en la medicina tradicional (Bhavsar et al., 2018a, p. 1519).

En Ecuador, *K. pinnata* se ha naturalizado apropiadamente, por primera vez fue encontrada en la región insular Galápagos, sin embargo, crece en las cuatro regiones del país, pero con mayor frecuencia se encuentra en la zona de la Amazonía, desde años atrás y hasta la actualidad es muy utilizadas por los distintos grupos indígenas (Jara et al. 2016, p. 91).

Se adapta rápidamente a cualquier clima por ser una planta suculenta, en el país es una de las especies más propagadoras, de preferencia se desarrolla con gran facilidad en un clima húmedo-templado, también en climas fríos, pero en menor cantidad y se encuentra en todas las épocas del año.

### 2.2.6.4. Composición química

*Kalanchoe pinnata* en su composición química presenta una gran variedad de metabolitos secundarios entre los cuales encontramos alcaloides, fenólicos, taninos, macroelementos (magnesio, calcio, potasio, fósforo, sodio), microelementos (hierro, zinc), vitaminas (ácido ascórbico, riboflavina, tiamina, niacina). En la figura 5-2 se detalla la estructura de cada uno de los componentes de la planta *K. pinnata* (Bhavsar et al., 2018a, p. 1520).



**Ilustración 5-2:** Composición química de *K. pinnata*.

Fuente: (Majaz, 2011, p. 1483)

La parte más estudiada de la planta han sido las hojas, las cuales contienen flavonoides como astragalina, rutina, kaempferol, quercetina, luteonina y rutina. Incluso en la hoja fresca contiene tres nuevos componentes, briofilol, briofolona y briofollenona (Matthew et al., 2013b, p. 24).

- *Quercetina*

Es un buen antioxidante y uno de los flavonoides más conocidos a nivel terapéutico. Actúa en la inflamación inhibido las enzimas productoras de citoquinas inflamatorias como la ciclooxigenasa o la lipoxigenasa. Además, inhabilita la producción de histamina por los mastocitos y los basófilos (Majaz, 2011, p. 1480).

- *Rutina*

Es un flavonoide inhibidor del metabolismo del ácido araquidónico y un buen antioxidante (Majaz, 2011, p. 1480).

- *$\alpha$  y  $\beta$ -amirina*

Son triterpenos que contienen el ciclopentano-perhidrofenantreno en su interior, actúan inhibiendo las citocinas inflamatorias de la COX-2 (Majaz, 2011, p. 1480).

- *$\beta$ -sitoesterol*

Fitoesterol que actúa directamente en la herida regenerando el tejido e hidratando para acelerar la cicatrización (Matthew et al., 2013b, p. 24).

#### 2.2.6.5. Usos comunes

En los usos tradicionales se utiliza con mayor frecuencia las hojas. Por ejemplo, en Suramérica a partir de estas se prepara una bebida diurética y sirve para tratar resfriados, tos, bronquitis, sarampión, huesos rotos y contusiones internas. Por otro lado, se cocinan las hojas y son colocadas en forma de cataplasmas en erisipela, heridas, forúnculos, quemaduras, úlceras, laceraciones e inflamaciones de la piel y algunas tribus Amazónicas mezclan el zumo de la hojas con la leche de las madres lactantes (Wet et al., 2012, p. 13).

En México, Brasil, Perú y Nicaragua emplean el zumo de las hojas para tratar cálculos renales, úlceras gástricas, artritis reumatoide, alergias de las vías respiratorias, dolores de cabeza, de muela y de oído, infecciones de los ojos, picaduras de insectos, promover la menstruación y asistir el

parto; además, en otras regiones la raíz es preparada como infusión y es utilizada para la epilepsia (Matthew et al. 2013b, p. 25).

En Ecuador, los indígenas Sionas que viven a las orillas del río Putumayo calientan las hojas y las colocan sobre las quemaduras, úlceras, laceraciones o golpes, los nativos que habitan cerca del río Pastaza utilizan una infusión de hoja para huesos rotos y contusiones internas, otras tribus en el Amazonas mezclan el zumo de las hojas con la leche de las madres lactantes (Villamizar et al., 2014, pp. 5).

### ***2.2.7.Extractos de plantas***

En general, se denomina extracción sólido-líquido al procedimiento que consiste en colocar un sólido tinturado (material vegetal) con un líquido (disolvente de extracción éter, etanol o agua) en el que son solubles algunas de las sustancias que incorpora el sólido en su composición. Del proceso se obtiene un sólido apoyado y un extracto formado por el disolvente y las sustancias disueltas en él (Ortuño, 2006, p. 223).

#### ***2.2.7.1. Tintura alcohólica, tintura madre, tintura o extracto Hidroalcohólico***

Todas las denominaciones de productos comerciales relacionadas con las palabras tinturas y extracto hacen referencia a: tintura alcohólica, tintura madre, tintura o extracto alcohólico. Se opera por extracción de la planta (generalmente seca) con una disolución de alcohol en agua del 25, 50 o 70 % (Ortuño, 2006, p. 224).

Las tinturas o soluciones extractivas de sustancias de origen vegetal, se obtiene mediante la actuación de solventes alcohólicos, hidroalcohólicos o eteroalcoholicos sobre ellas. Para preparar los extractos, previamente el vegetal deberá ser finamente triturado o hecho polvo, para facilitar la acción del líquido extractivo (Ortuño, 2006, p. 224).

### ***2.2.8.Modelos animales***

Un animal de laboratorio es un ser vivo no humano, vertebrado o invertebrado, usado para la experimentación y otros fines científicos por la analogía fisiológica con la especie humana; entre los animales utilizados con mayor frecuencia son las ratas, ratones, conejos y cobayos (Romero et al. 2016, p. 289).

En los estudios de cicatrización se emplean animales de experimentación para controlar los factores que difieren a las heridas como la longitud y ancho, profundidad, ubicación, vascularización, tiempo, causas, tratamientos previos, estado nutricional y el uso de otros medicamentos (González, 2002, p. 190).

Existen varios modelos experimentales que permiten evaluar la actividad cicatrizante de un principio activo como los curieles por quemadura inducida, heridas asépticas en cerdos y cicatrización por segunda intención en ratas, sin embargo, también se emplea los *Mus musculus* (ratones albinos) por su fácil manejo (González, 2002, p. 190).

#### 2.2.8.1. Ventajas de utilizar modelos animales en la evaluación de la actividad cicatrizante

En la cicatrización de heridas implica varios mecanismos complejos como reparación, emigración y proliferación de las células parenquimatosas y conjuntivas, síntesis de proteínas de la matriz extracelular, remodelación del tejido conjuntivo y elementos parenquimatosos, y aumento de la resistencia de la cicatriz.

En un estudio bibliográfico sobre “Cicatrización: Proceso de Reparación Tisular - Aproximaciones Terapéuticas” se evidencia que la ventaja del uso de modelos animales (ratas y ratones) permitieron conocer el proceso de cicatrización en heridas incisionales y excisionales, las cuales presenta un nivel de evidencia elevado, porque los ensayos son aleatorizados y homogéneos, por lo que la actividad de los extractos *in vivo* garantiza la calidad de la evidencia científica, directamente aplicada en seres vivos (Veterinario et al., 2010, p. 5).

Además, al estudiarse los principios a activos de plantas se debe someter a rigurosas pruebas en animales para evaluar más a fondo su toxicidad, metabolismo y eficacia general. Los modelos animales vertebrados como roedores, primates, perros y conejos se utilizan comúnmente para estudios preclínicos *in vivo*. Los ratones son las especies de vertebrados más utilizadas debido a una combinación de factores como el tamaño, la facilidad de manejo, la reproducción rápida y el bajo costo. Los ratones también comparten el 95% de sus genes con los humanos lo que los convierte en modelos muy atractivos para el estudio de enfermedades humanas. Estos factores contribuyen a su utilidad a la hora de evaluar la seguridad y eficacia en un estudio de experimentación (Pennacchio, 2003).

#### 2.2.8.2. *Mus musculus*

Los ratones laboratorio se definen como “reactivo biológico cuya pureza deber ser vigilada, controlada y contrastada al igual que cualquier otro reactivo sin olvidar su posible contaminación biótica”. El ratón de laboratorio es un roedor, usualmente de la especie *Mus musculus*, se utiliza para realizar investigación científica. Su cariotipo está compuesto por 40 cromosomas y suelen ser albinos. En la figura 6-2 se identifica sus características físicas y en la tabla 4-2 se detalla su taxonomía (Fuentes et al., 2008, p. 7).



**Ilustración 6-2:** *Mus musculus*.

**Fuente:** (Flor Fuentes et al. 2008, p. 3)

- *Taxonomía*

**Tabla 4-2:** Taxonomía *Mus musculus*.

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

**Fuente:** (Flor Fuentes et al. 2008, p. 7)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Descripción*

Los roedores *Mus musculus* es una especie que se adapta tanto zonas frías o climas tropicales. Su comportamiento en general se encuentra mediado por feromonas y todos sus hábitos suelen ser nocturnos (en el día duermen). Estas especies carecen de una buena visión, pero el sentido del olfato, gusto y tacto es muy desarrollado. Además, presenta una audición muy sensible por lo que suelen alterarse y estresarse con facilidad por los ruidos (Fuentes et al., 2008).

Su tamaño en su edad adulta suele variar, no superan los 20 cm desde la nariz hasta la punta de la cola y presentan un peso aproximado de 12 a 40 g. Presentan una gran agilidad por trepar por superficies verticales (Fuentes et al., 2008).

- *Ventajas y Desventajas de su uso como animal de laboratorio.*

Existe una serie de ventajas y desventajas de la utilización de los roedores *Mus musculus*, que se indica en la tabla 5-2.

**Tabla 5-2:** Ventajas y desventajas de su uso como animal de laboratorio.

<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
De fácil cuidado y mantenimiento, por su pequeño tamaño.	Dificultad en la recolección de material biológico.
Bajos costo de manutención.	Dificultad la administración de drogas.
Cepa definida.	Dificultad en las técnicas quirúrgicas.
Diversidad de características específicas que sirven como modelo.	
Eficiencia reproductiva.	
Por su vida relativamente corta es excelente para su uso en ensayos crónicos de toxicología, microbiología, virología, farmacología, etc.	
Corto tiempo de generación.	

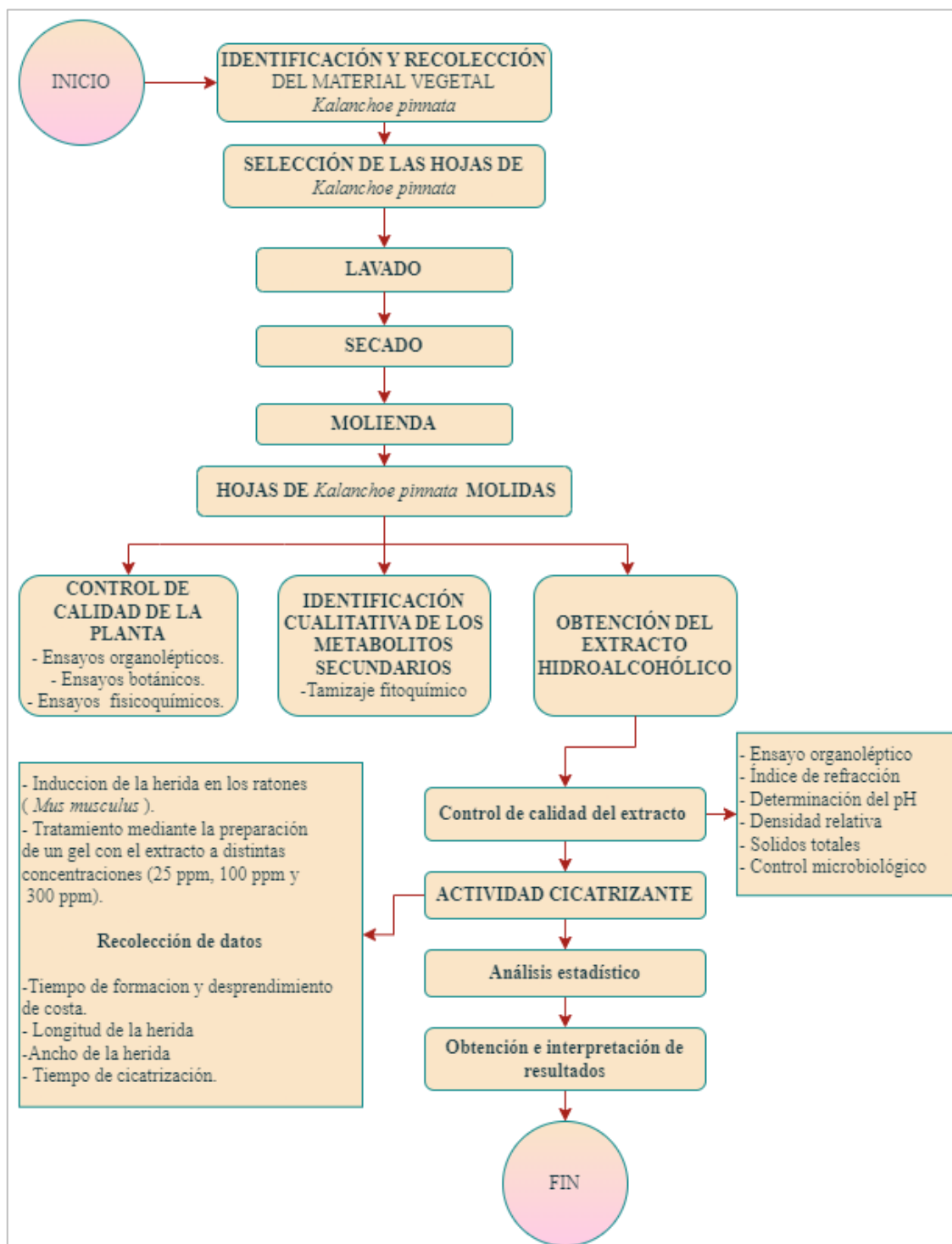
**Fuente:** (Fuentes et al. 2008, p. 7-8)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.



## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO



**Ilustración 1-3:** Metodología de la evaluación de la actividad cicatrizante de la planta *K. pinnata*.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

### **3.1. Lugar de investigación**

La investigación fue realizada en la Escuela de Bioquímica y Farmacia perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en los siguientes laboratorios:

- Laboratorio de Tecnología Farmacéutica y Productos Naturales
- Laboratorio de Química Analítica e Investigación
- Laboratorio de Análisis Clínicos y Bacteriológicos.
- Bioterio de la Facultad de Ciencias - Escuela de Bioquímica y Farmacia.

### **3.2. Tipo y diseño de investigación**

#### ***3.2.1. Tipo de investigación***

El tipo de investigación fue experimental de tipo cuantitativa, debido a que se realizó una valoración terapéutica mediante un ensayo de mediciones constantes que permitió determinar la actividad cicatrizante en ratones, al realizarles una escisión en el lomo y colocarles un gel realizado con el extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* a distintas concentraciones. Por lo que se manejaron variables como:

- Variable dependiente: Actividad cicatrizante en ratones *Mus musculus*.
- Variable independiente: Concentraciones del extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* (25 ppm, 100 ppm y 300 ppm).

#### ***3.2.2. Diseño de la investigación***

Se utilizó un diseño cuasiexperimental, ya que en la evaluación de la actividad cicatrizante se utilizó un gel realizado a base del extracto etanólico a distintas concentraciones, en 6 grupos de ratones, valorando la disminución de longitud y ancho de la herida, la formación y desprendimiento de la costra y el tiempo de cicatrización.

Se emplearon 30 animales de experimentación *Mus musculus* separados en grupos de 6 ratones. A estos se les denominó unidades experimentales, mismos que cumplieron con distintos criterios de inclusión de modo que la muestra fuera lo más homogénea posible.

### **3.3. Lugar de recolección del material vegetal**

*Kalanchoe pinnata* fue recolectada en la provincia de Tungurahua, en la ciudad de Pelileo, en el barrio Pelileo Viejo en el mes de febrero del 2022, ver en ilustración 2-3.



**Ilustración 2-3:** Lugar de recolección de *K. pinnata*.

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

- **Altitud:** 2.464,6083282 m.s.n.m.
- **Latitud:** -1,3297761
- **Longitud:** -78,5263591

### 3.4. Población de estudio

Para evaluar la actividad cicatrizante del extracto etanólico, se emplearon ratones albinos *Mus musculus* del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, los cuales cumplieron con los siguientes criterios de inclusión:

- **Numero de ratones:** 30
- **Edad:** 2 a 3 meses de edad
- **Sexo:** Hembras
- **Peso:** 25-30 g
- **Alimentación:** 3 gramos de balanceado por cada ratón y agua
- **Cama:** Tamo de arroz previamente esterilizado
- **Iluminación:** 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

### 3.5. Técnica de recolección de datos

Para la evaluación de la actividad cicatrizante de *Kalanchoe pinnata*, se recogieron los datos de forma manual; midiendo diariamente la longitud y ancho de la herida, de la formación y desprendimiento de la costra y contando los días de cicatrización. Por otro lado, se realizó

ensayos organolépticos, botánicos, fisicoquímicos y microbiológicos para verificar la calidad de la droga vegetal cruda y del extracto etanólico.

### 3.6. Equipos, materiales y reactivos

#### 3.6.1. Equipos

**Tabla 1-3:** Equipos utilizados en la investigación.

Balanza analítica	Estufa Memmert SNB400	Molino Arthur H. Thomas
Mufla Vulcan A-550	Sonicador BRANSON 2510	Sorbona
Estufa Memmert SNB400	pH metro Accumet XL 150	Refractómetro Kem BA620
Refrigerador	Rotavapor RE100 - PRO	Vórtex
Bomba de vacío	Microscopio	

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 3.6.2. Materiales

##### 3.6.2.1. Material de laboratorio

**Tabla 2-3:** Materiales del laboratorio.

Cápsulas	Crisoles de porcelana	Desecador
Embudo simple	Papel filtro	Papel periódico
Pinzas para cápsulas	Espátula	Reverbero
Vasos de precipitación 50, 100, 250, 500 y 1000 ml.	Vidrios reloj	Frascos ámbar de 50, 100, 250, 500 y 1000 ml
Gradilla	Pinzas para tubos de ensayo	Pipetas de 1, 5 y 10 ml
Pipetas pasteur	Tubos de ensayo	Picnómetro
Piseta	Balón esmerilado de 1000 ml	Papel aluminio
Balones de aforo de 25, 50 y 100 ml	Cronómetro	Bebederos
Cajas de plástico Rejillas	Hisopos	Kitasato
Matraz Erlenmeyer	Parafilm	Placas porta y cubre objetos
Bisturíes		

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

### 3.6.2.2. Material vegetal

**Tabla 3-3:** Material vegetal

Hojas de <i>K. pinnata</i>	Extracto etéreo de <i>K. pinnata</i>	Extracto alcohólico de <i>K. pinnata</i>
Extracto acuoso de <i>Kalanchoe pinnata</i>	Extracto etanólico de <i>Kalanchoe pinnata</i>	Extracto etanólico concentrado de <i>K.pinnata</i> .

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

### 3.6.3. Reactivos

**Tabla 4-3:** Reactivos

Agua destilada	Ácido clorhídrico al 1 y 10 %	Nitrato de plata 0.1 M
Ácido sulfúrico concentrado	Ácido clorhídrico concentrado	Alcohol amílico
Carbonato de sodio	Cinta de magnesio metálico	Cloroformo
Cloruro de sodio	Cloruro Férrico	Etanol
Éter etílico	Hidróxido de sodio al 5 %	Reactivo de Baljet
Reactivo de Borntrager	Reactivo de Catequinas	Reactivo de Dragendorff
Reactivo de FeCl <sub>3</sub>	Reactivo de Fehling A y B	Reactivo de Mayer
Reactivo de Sudan III	Reactivo de Wagner	Alcohol etílico al 70 %
Suero fisiológico	Azul de metileno	Lugol

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

## 3.7. Técnicas y métodos

### 3.7.1. Recolección vegetal

En la selección de las muestras vegetales se realizó al azar, de manera que se cortó en la parte proximal del tallo, tomando varias muestras de diferentes plantas que se colocaron en fundas ziploc para su transporte hasta la ciudad de Riobamba, en donde se procedió a utilizar únicamente las hojas de *Kalanchoe pinnata*.

### 3.7.2. Ensayos botánicos

#### 3.7.2.1. Identificación botánica

Una vez que la especie vegetal fue seleccionada y recolectada, se procedió a identificarla botánicamente para determinar su nombre científico, lo cual se llevó a cabo gracias a la

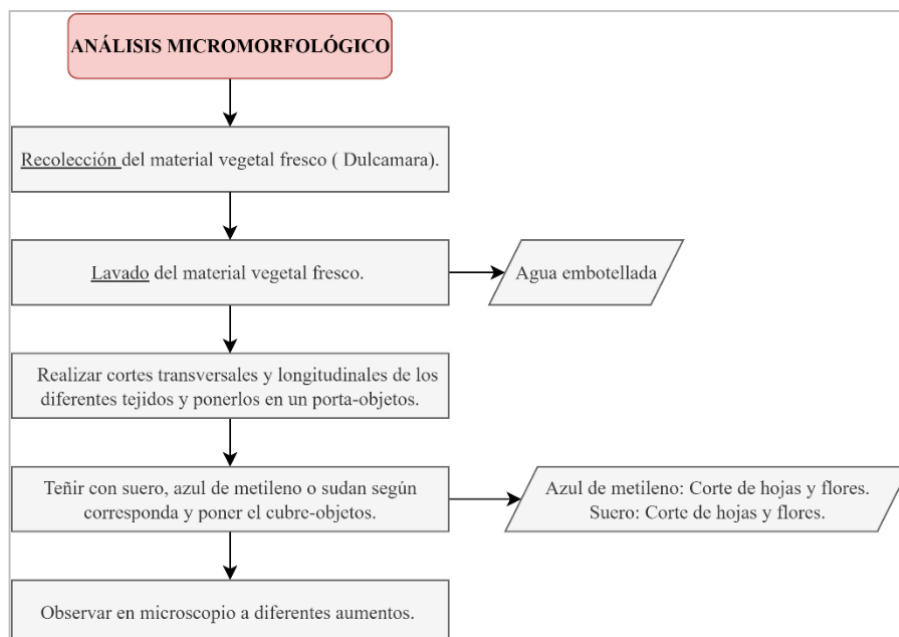
colaboración del Ing. Jorge Caranqui, botánico responsable del Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Para su identificación, se compararon las estructuras de la planta junto con las especies documentadas en el lugar.

### 3.7.2.2. Análisis macromorfológico de la planta de *Kalanchoe pinnata*

El análisis macromorfológico o conocido también como análisis macroscópico se realizó identificando las características de cada parte de la planta como: forma, color, tamaño y textura entre otras, lo que se puede percibir a simple vista. Estas características son importantes al momento de identificar la procedencia de la droga, se realizó una comparación con una muestra comprobada con anterioridad al fin de tener un grado de seguridad más efectivo del análisis realizado.

### 3.7.2.3. Análisis micromorfológico de la planta de *Kalanchoe pinnata*

El análisis micromorfológico se realizó mediante cortes longitudinales y transversales muy finos de las hojas y tallo de *K. pinnata.*, a los cuales se colocaron en portaobjetos con suero fisiológico y azul de metileno por separado, posteriormente se observó en el microscopio con los distintos lentes para identificar sus estructuras (ver figura 3-3).

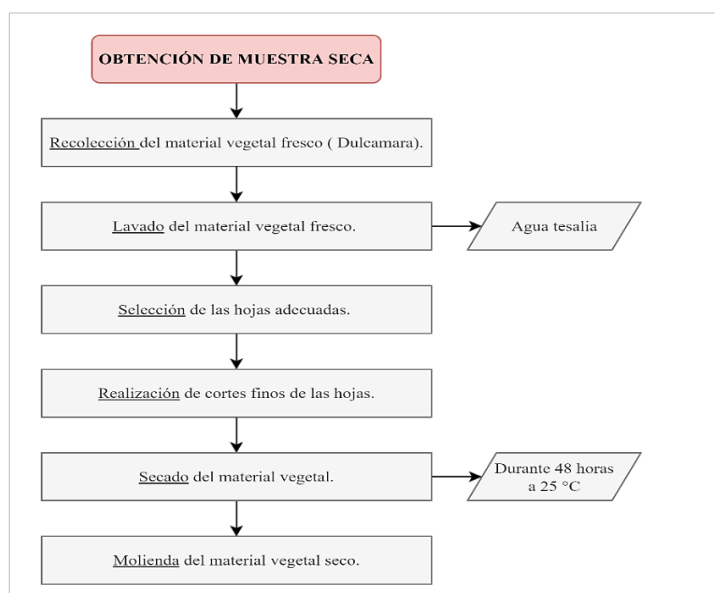


**Ilustración 3-3:** Diagrama de análisis micromorfológico

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 3.7.2.4. Obtención de la muestra seca de *Kalanchoe pinnata*

Después de recolectar la muestra vegetal fresca de *Kalanchoe pinnata*, se procedió a lavarla y a seleccionar las hojas en buen estado. Se picaron las hojas finamente para colocarlas en la estufa durante 48 horas a 25 °C para secarlas, con el objetivo de moler la materia seca y obtener la muestra, como se indica en la figura 4-3:



**Ilustración 4-3:** Diagrama de la obtención de la muestra seca.

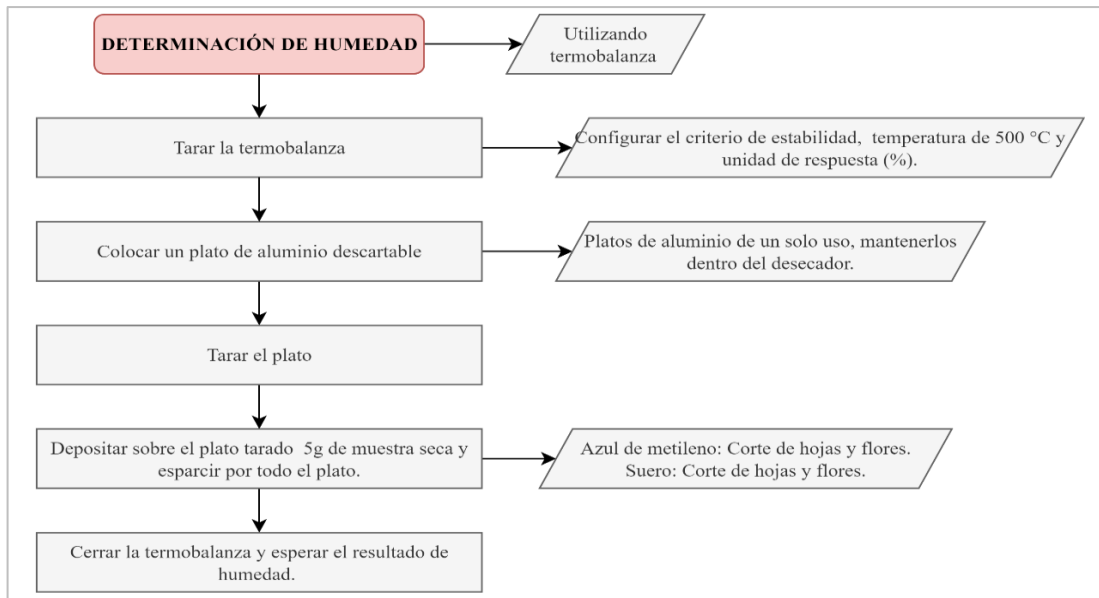
**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 3.7.3. Análisis físicoquímico

Los ensayos fueron realizados por duplicado, con el fin de obtener resultados más fiables.

##### 3.7.3.1. Determinación de humedad

La determinación de humedad se realizó en el Analizador de Humedad PMC 50/NH (termo balanza), instrumento de medición utilizado para determinar la humedad relativa en pequeñas muestras de diferentes materiales (Bracka, 2012, pp. 46–48). Ver el procedimiento en la ilustración 5-3.



**Ilustración 5-3:** Diagrama de la determinación de humedad

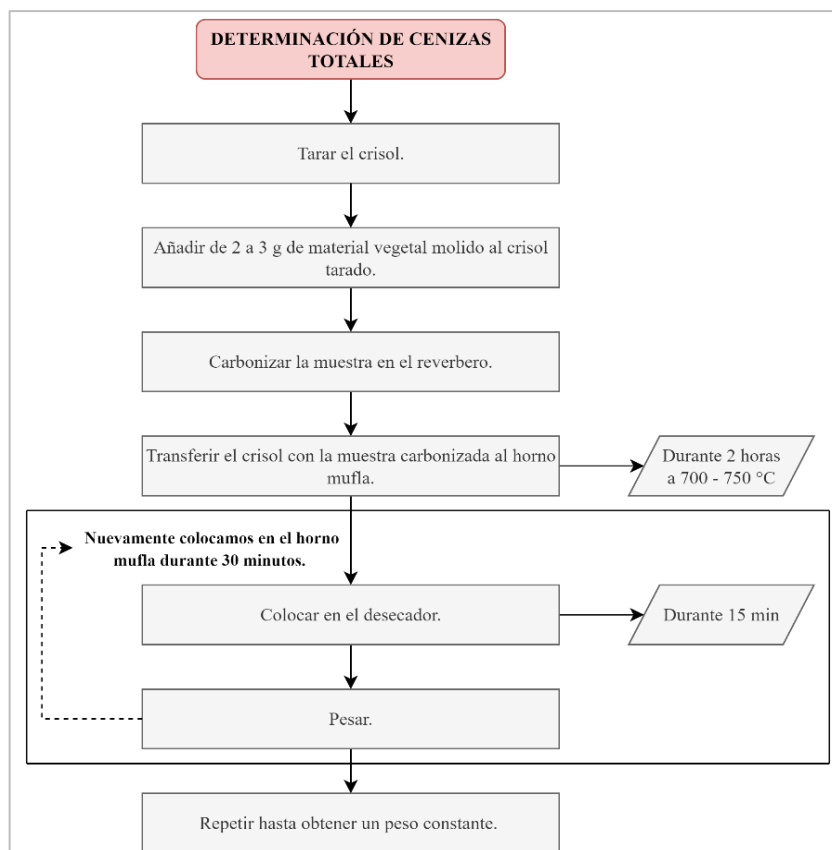
**Fuente:** (Bracka 2012, pp. 46-48)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

### 3.7.3.2. Determinación de cenizas totales

Para determinación de cenizas totales, se taró el crisol y posterior a eso se pesó de 2 a 3 gramos de muestra seca ya molida. Luego se colocó la muestra en el crisol, para carbonizarla en un reverbero. Después, el crisol se llevó al horno mufla durante dos horas a una temperatura de 700 a 750 °C y pasado ese tiempo al crisol se colocó en el desecador por 15 minutos, y se pesó su contenido. Nuevamente se colocó en la mufla y se repite el proceso en un intervalo de 30 minutos, hasta obtener un valor de masa constante, para finalmente aplicar una fórmula (Miranda, 2002, p.14). Como se indica en la ilustración 6-3:





**Ilustración 6-3:** Diagrama de la determinación de cenizas totales.

**Fuente:** (Miranda, 2002, p.14)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

Para la expresión de los resultados, se utilizó la siguiente fórmula:

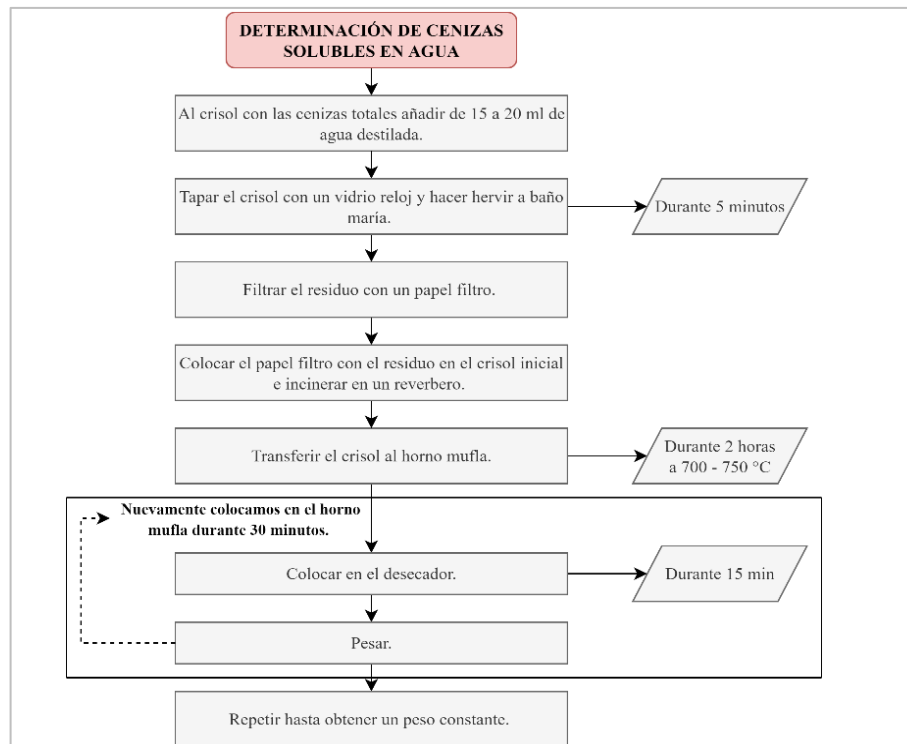
$$C = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \times 100$$

- **C** = Porcentaje de cenizas
- **m** = masa del crisol vacío (g)
- **m<sub>1</sub>** = masa del crisol con la muestra incinerada (g)
- **m<sub>2</sub>** = masa del crisol con la muestra (g)
- **100** = factor matemático

### 3.7.3.3. Determinación de cenizas solubles en agua

Para la determinación de cenizas solubles en agua, se utilizaron las cenizas totales a las cuales se añadieron de 15 a 20 ml de agua destilada. Consecutivamente, al crisol fue tapado con un vidrio reloj y se hirvió a baño maría aproximadamente 5 minutos, luego se filtró la solución a través de papel filtro libre de cenizas. El papel filtro con el residuo se trasladó al crisol inicial para carbonizarlos en el reverbero e inmediatamente colocar en la mufla durante 2 horas a 700 – 750

°C. Finalmente, se colocó en el desecador durante 15 min para después pesar la muestra (Miranda, 2002, p.15). Repetir hasta obtener un peso constante (ver ilustración 7-3).



**Ilustración 7-3:** Diagrama de la determinación de cenizas solubles en agua

**Fuente:** (Miranda, 2002, p.15)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

Para la expresión de los resultados, se utilizó la siguiente fórmula:

$$Ca = \frac{m_2 - m_a}{m_2 - m} \times 100$$

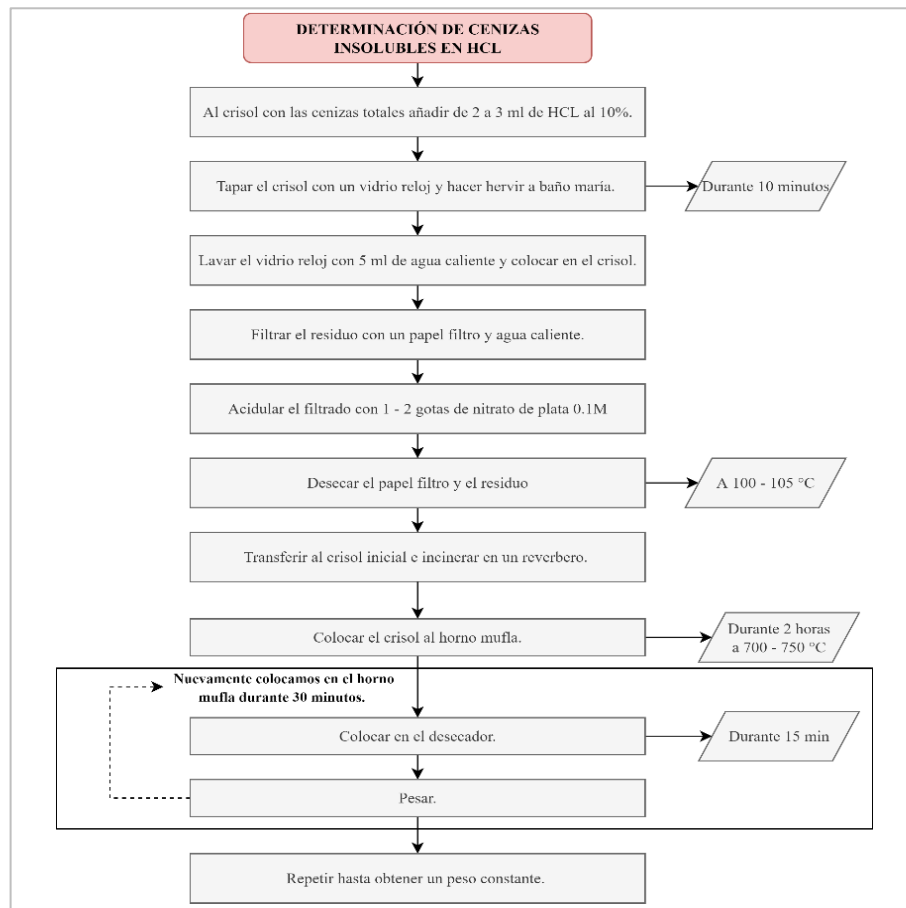
Donde:

- **Ca** = Porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada
- **m** = masa del crisol vacío (g)
- **m<sub>1</sub>** = masa del crisol con la muestra de ensayo (g)
- **m<sub>2</sub>** = masa del crisol con las cenizas totales (g)
- **m<sub>a</sub>** = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)
- **100** = factor matemático

#### 3.7.3.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Para la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico se tomaron las cenizas totales y se añadieron de 2 a 3 ml de ácido clorhídrico al 10 %, a continuación, se cubrió con vidrio reloj

y se calentó a baño maría por 10 minutos. Luego, se lavó el vidrio reloj con 5 ml de agua caliente y se transfirió el contenido al crisol del inicio. Se filtró con ayuda de papel filtro, se lavó con agua caliente y se aciduló con 1 o 2 gotas de nitrato de plata 0.1 M. El papel filtro con el residuo se transfirió al crisol para ser carbonizado y se colocó en la mufla a una temperatura de 700 a 750°C durante 2 horas. Finalmente, se colocó en el desecador durante 15 minutos y se pesó la muestra. Repetir hasta obtener un peso constante (Miranda, 2002, p.15). Ver ilustración 8-3.



**Ilustración 8-3:** Diagrama de la determinación de cenizas insolubles en HCl

**Fuente:** (Miranda, 2002, p.15)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

Para la expresión de los resultados, se utilizó la siguiente fórmula:

$$B = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

Dónde:

- **Ca** = Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada
- **m** = muestra utilizada (g)
- **m<sub>1</sub>** = masa del crisol con la muestra de ensayo (g)
- **m<sub>2</sub>** = masa del crisol con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (g)

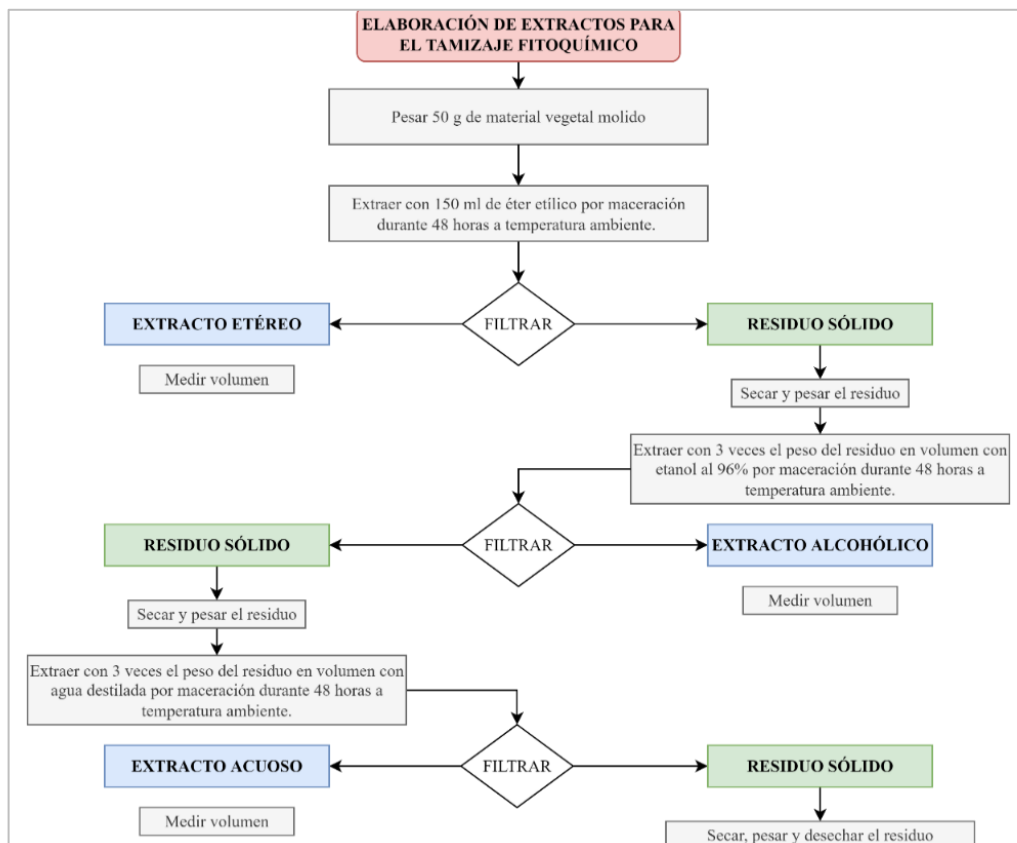
- **100** = factor matemático

### 3.7.4. Tamizaje o screening fitoquímico

El tamizaje fitoquímico permitió identificar de forma cualitativa los principales metabolitos que están presentes en las hojas de *K. pinnata*. Este método se lo realizó por medio de la extracción de los compuestos a diferentes solventes tales como éter etílico, etanol al 96 % y agua. Después se realizó la lectura de cada ensayo observando las distintas reacciones de color, precipitación y aspecto.

#### 3.7.4.1. Procedimiento general para el desarrollo del tamizaje fitoquímico

Se pesaron 50 g del material seco molido (*Kalanchoe pinnata*) y se sometió a tres extracciones sucesivas, iniciando con éter etílico durante 48 horas, seguido de etanol al 96 % durante 48 horas y finalmente con agua destilada durante 24 horas (ver ilustración 9-3).

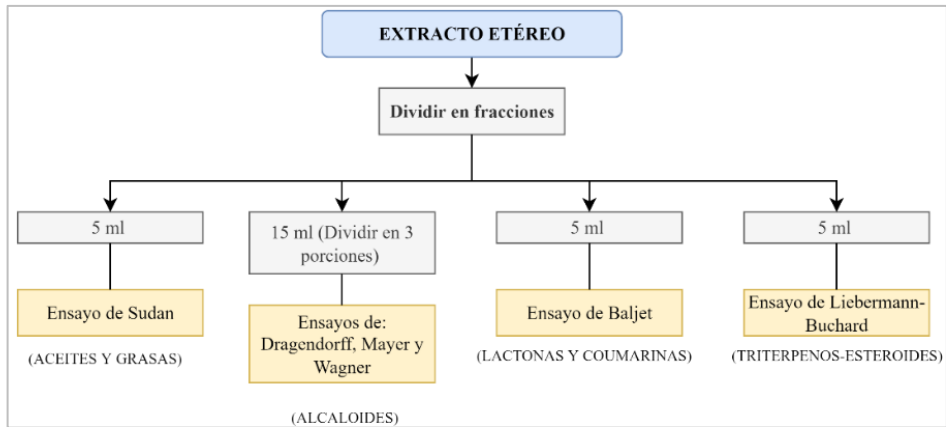


**Ilustración 9-3:** Diagrama de la elaboración de extractos para el tamizaje fitoquímico.

**Fuente:** (Miranda, 2002, p.17)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

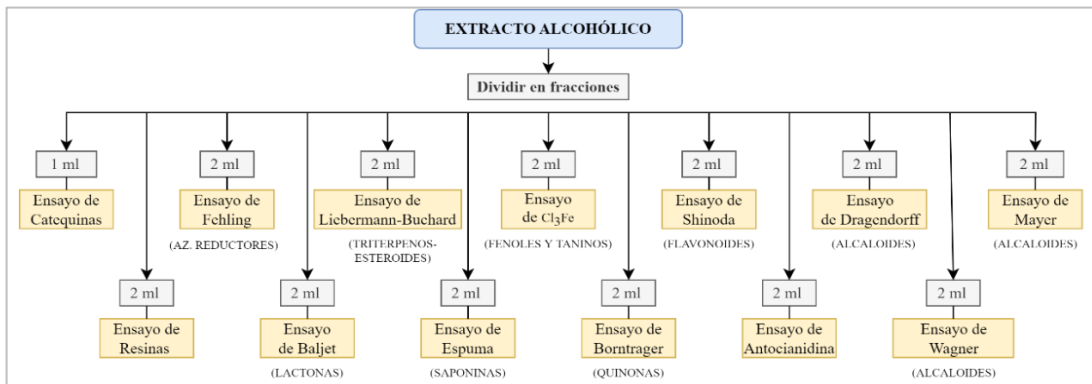
Ya obtenidos los extractos respectivamente se realizaron todos los ensayos indicados para cada solvente, como se indican a continuación:



**Ilustración 10-3:** Diagrama de los ensayos del extracto etéreo.

**Fuente:** (Miranda, 2002, p.18)

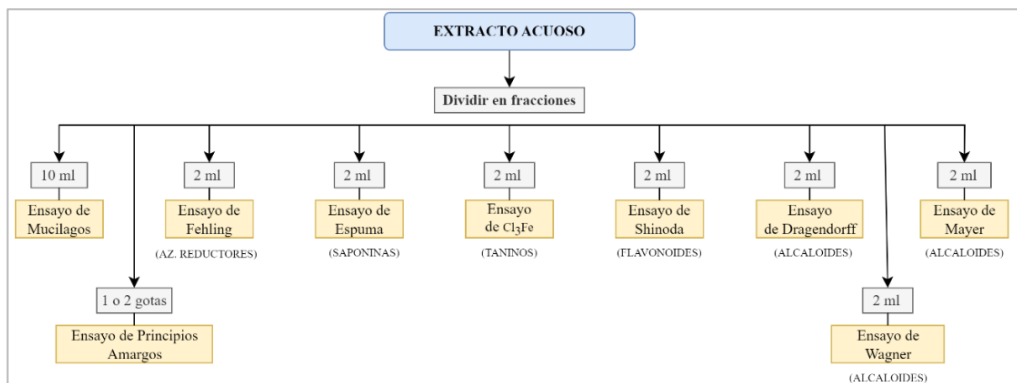
**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.



**Ilustración 11-3:** Diagrama de los ensayos del extracto alcohólico.

**Fuente:** (Miranda, 2002, p.18)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.



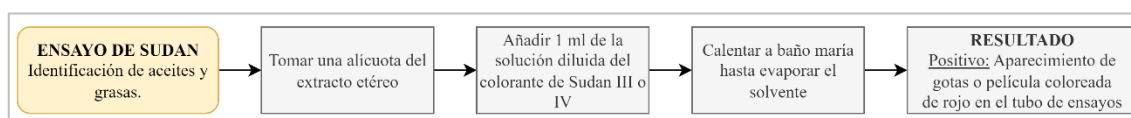
**Ilustración 12-3:** Diagrama de los ensayos del extracto acuoso

**Fuente:** (Miranda, 2002, p.18)

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

▪ *Identificación de aceites y grasas (ensayo de Sudan)*

Para la identificación de aceites y grasas se procedió a tomar 1 alícuota del extracto etéreo y se añadió 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV, y se calentó en baño maría hasta evaporar todo el solvente. La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente (ver ilustración 13-3).



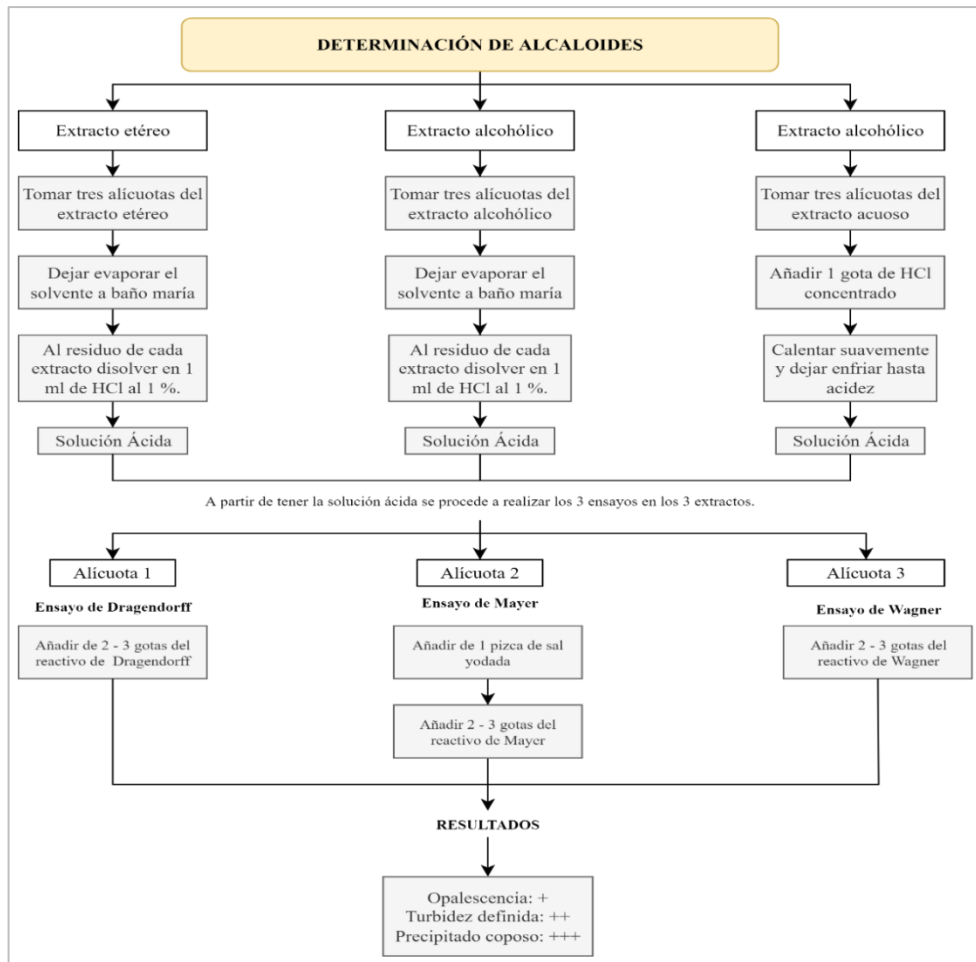
**Ilustración 13-3:** Diagrama para la identificación de aceites y grasas.

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

▪ *Identificación de alcaloides (Ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner)*

Para realizar estos ensayos se debe tomar en cuenta lo siguiente, en la alícuota del extracto etéreo y alcohólico se evaporó en baño de agua y el residuo se disolvió en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua. En cambio, en la alícuota del extracto acuoso se le añadió 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez).

- Ensayo de Dragendorff: En solución ácida se realizó el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, para proceder a observar los resultados (ver ilustración 14-3).
- Ensayo de Mayer: Se añadió una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agitó y filtró. Luego se agregó 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer (ver ilustración 14-3).
- Ensayo de Wagner: Se parte de la solución ácida, se añadió 2 o 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma (ver ilustración 14-3).

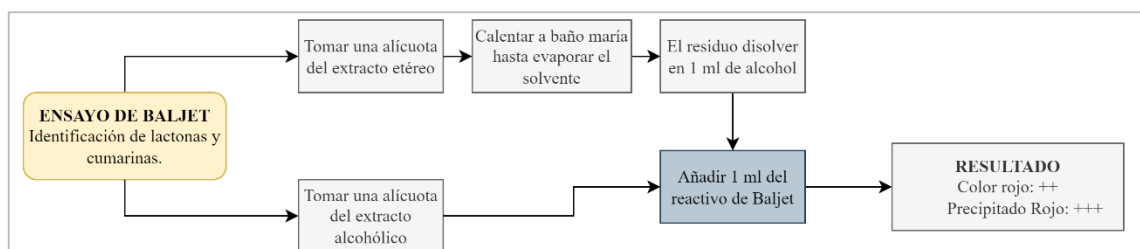


**Ilustración 14-3:** Diagrama para la determinación de alcaloides.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

▪ *Identificación de lactonas y cumarinas (ensayo de Baljet)*

En la identificación de lactonas y cumarinas se procedió a tomar 1 alícuota del extracto etéreo y se evaporó el solvente en baño de agua y redisolvió en la menor cantidad de alcohol (1 ml) se añadió 1 ml del reactivo Baljet. En cambio, en la alícuota del extracto alcohólico se adicionó directamente 1 ml del reactivo Baljet y para la interpretación ver figura 15-3.



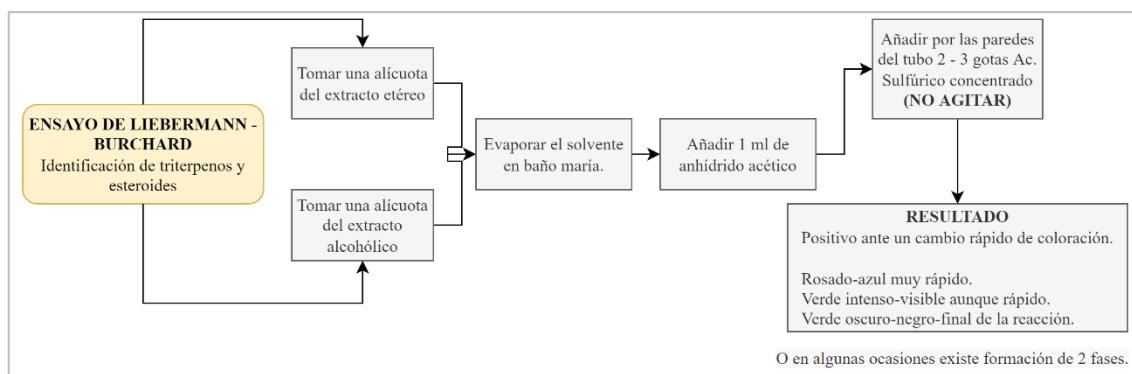
**Ilustración 15-3:** Diagrama para la identificación de lactonas y cumarinas.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Identificación de triterpenos y esteroides (ensayo de Liebermann – Burchard)*

Nota: Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolver en 1 ml de cloroformo.

Se tomó 1 alícuota del extracto etéreo y una alícuota del extracto etanólico se dejó evaporar en baño maría y se redisolvieron en 1 ml de cloroformo cada alícuota, luego se añadió 1 ml de anhídrido acético. Se mezcló el contenido y por las paredes del tubo de ensayo se añadió de 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado teniendo la precaución de no agitar, la interpretación de resultados ver ilustración 16-3.

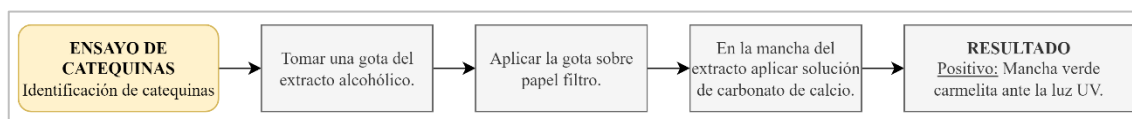


**Ilustración 16-3:** Diagrama para la identificación de triterpenos y esteroides.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Identificación de catequinas (ensayo de catequinas)*

Con la ayuda de un capilar se tomó 1 gota de extracto etanólico y se aplicó sobre papel filtro, después se aplicó 1 gota de solución de carbonato de sodio y en caso de obtener una mancha verde carmelita ante la luz UV, era un resultado positivo (ver figura 17-3).



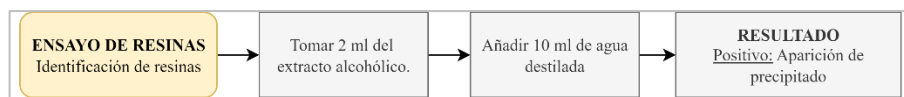
**Ilustración 17-3:** Diagrama para la identificación de catequinas.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Identificación de resinas (ensayo de resinas)*

Se tomó una alícuota del extracto etanólico o y se añadió 10 ml de agua destilada, de modo que, la aparición de precipitado era un resultado positivo (ver ilustración 18-3).



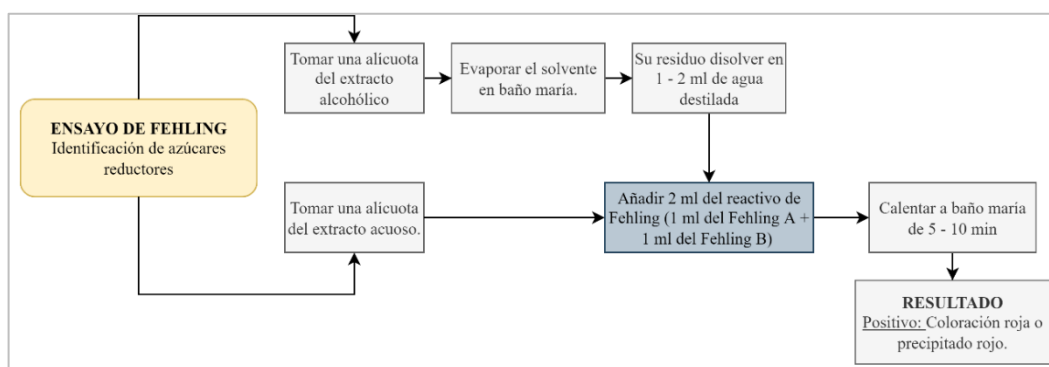


**Ilustración 18-3:** Diagrama para la identificación de resinas

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Identificación de azúcares reductores (ensayo de Fehling)*

Se tomo 1 alícuota de extracto alcohólico y se evaporó el solvente a baño maría hasta obtener un residuo y al cual se disolvió con 2 ml de agua destilada, y después añadir 2 ml de reactivo de Fehling. En cambio, en el la alícuota del extracto acuoso se añade directamente el reactivo. Seguidamente se calentó a baño maría durante 5 a 10 minutos y en caso de coloración rojo o precipitado rojo se podía evidenciar un resultado positivo (ver ilustración 19-3).

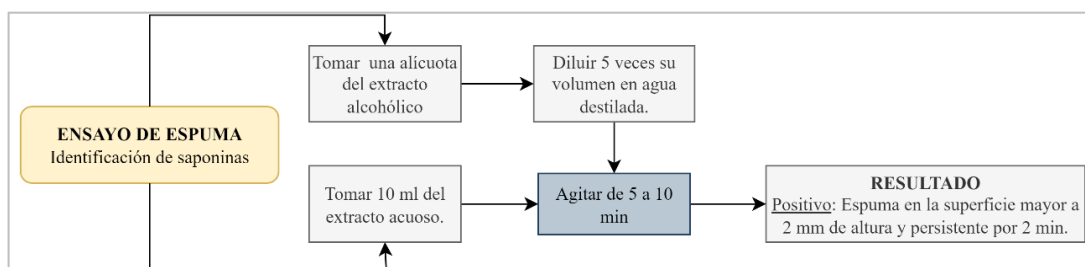


**Ilustración 19-3:** Diagrama para la identificaron de azúcares redactores.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Identificación de saponinas (ensayo de espumas)*

Se tomo 1 alícuota de extracto etanólico y se diluyo 5 veces su volumen en agua destilada para agitar durante 5 a 10 minutos y observar si hubo o no formación de espuma.

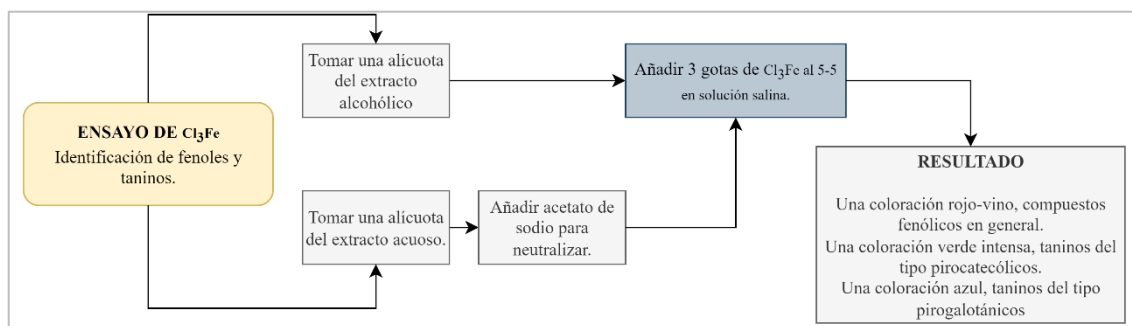


**Ilustración 20-3:** Diagrama para la identificaron de saponinas.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Identificación de compuestos fenólicos y taninos (ensayo de FeCl<sub>3</sub>)*

Se tomó 1 alícuota de extracto etanólico y se añadieron 3 gotas de cloruro férrico al 5 %, en la alícuota de extracto acuoso, para neutralizarle se añadió acetato de sodio y 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 %. Para identificar sus resultados ver ilustración 21-3.

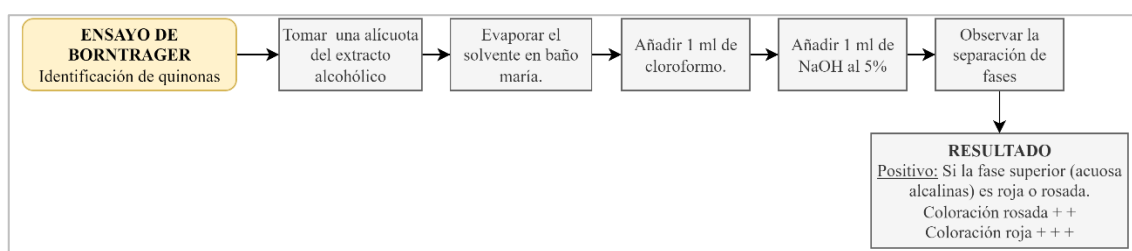


**Ilustración 21-3:** Diagrama para la identificación de fenoles y taninos.

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Identificación de quinonas (ensayo de Borntrager)*

Para la identificación de quinonas se tomó 1 alícuota de extracto alcohólico y se evaporó en baño maría, para después añadir 1 ml de cloroformo y 1 ml de hidróxido de sodio al 5 %. Se agitó y mezcló hasta observar la separación de fases, su interpretación se observa en la ilustración 22-3.

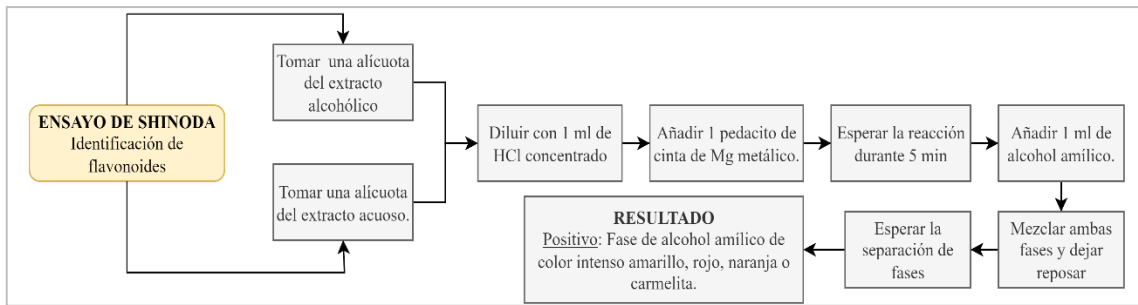


**Ilustración 22-3:** Diagrama para la identificación de quinonas.

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

- *Identificación de flavonoides (ensayo de Shinoda)*

Se tomó 1 alícuota de extracto alcohólico y 1 alícuota de extracto acuoso, a cada alícuota respectivamente se diluyó con 1 ml de HCl concentrado y se añadió 1 pedazo de magnesio metálico, de modo que se esperó la reacción durante 5 minutos y se añadió 1 ml de alcohol amílico y se dejó reposar hasta obtener la separación de fases (ver ilustración 23-3).

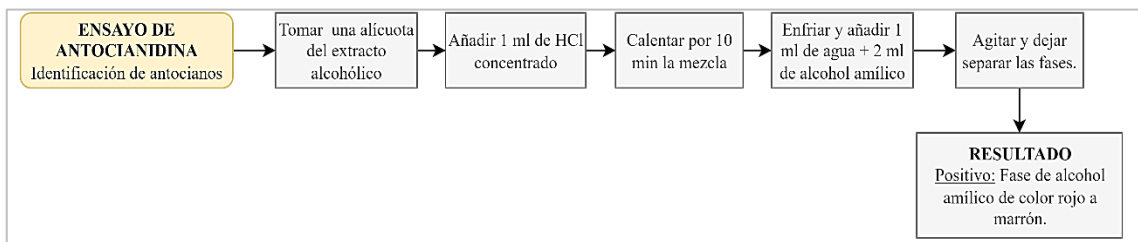


**Ilustración 23-3:** Diagrama para la identificación de flavonoides

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

▪ *Identificación de antocianos (ensayo de antocianidinas)*

Se tomaron 2 ml de extracto alcohólico y se añadió 1 ml de HCl, para después calentar la mezcla por 10 minutos, se dejó enfriar y se añadió 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amílico. Se agitó y dejó reposar para observar la separación de fases e interpretar resultados (ver figura 24-3).

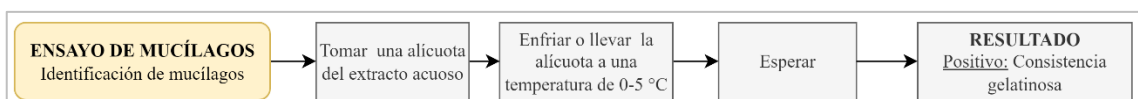


**Ilustración 24-3:** Diagrama para la identificación de antocianos.

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

▪ *Identificación de mucílagos (ensayo de mucílagos)*

Se tomo 1 alícuota de extracto acuoso y se dejó enfriar a 0-5 °C (ver ilustración 25-3).

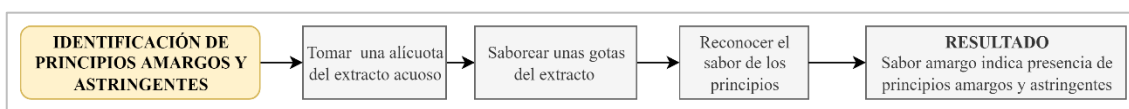


**Ilustración 25-3:** Diagrama para la identificación de mucílagos.

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

▪ *Identificación de principios amargos y astringentes*

Se tomo 1 alícuota de extracto etanólico y se evaporó el solvente en baño maría, para diluir el residuo en agua destilada y proceder a saborear para reconocer el sabor de los principios amargos (ver ilustración 26-3).



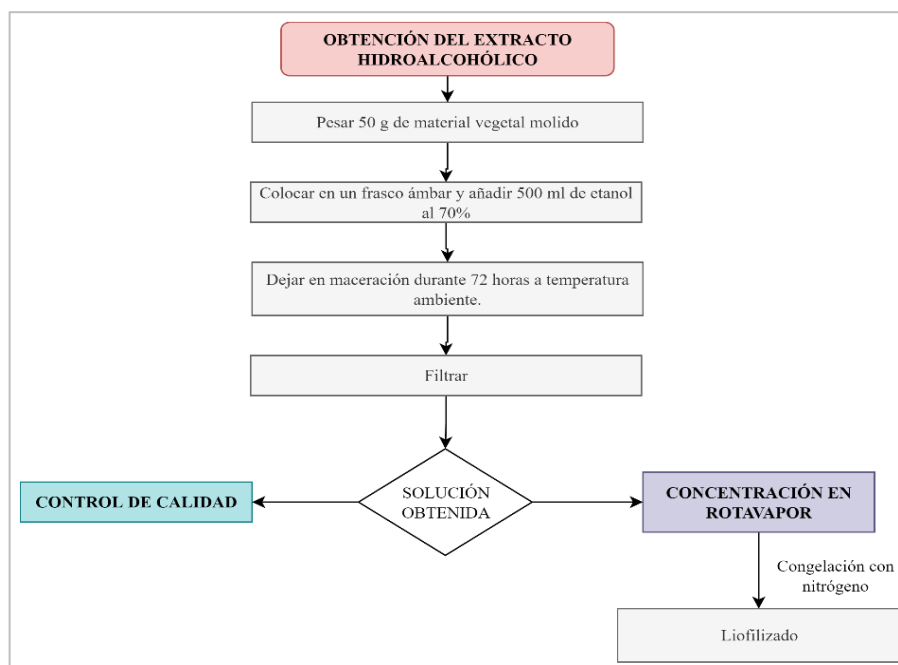
**Ilustración 26-3:** Diagrama para la identificación de principios amargos y astringentes.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

### 3.7.5. Obtención del extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* (dulcamara)

Para la preparación de los extractos etanólico, se pesaron 50 g del material vegetal seco y molido, posteriormente, se colocó en un frasco ámbar y se adicionaron 500 ml de etanol al 70 %. Se dejó macerar por 72 horas a temperatura ambiente con agitación constante. Se colocó en el sonicador por 20 minutos, finalmente, se procedió a filtrar y colocar en un frasco ámbar para su conservación.

La solución obtenida fue utilizada para realizar su control de calidad y posteriormente, se procedió a concentrarlo en el rotavapor para su congelación con nitrógeno y liofilización (ver ilustración 27-3).



**Ilustración 27-3:** Diagrama de la obtención del extracto etanólico.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

### 3.7.6. Control de calidad del extracto etanólico.

#### 3.7.6.1. Requisitos organolépticos

Para la determinación de las características organolépticas se utilizó los sentidos de la vista, el olfato y el gusto, con el fin de establecer el color, olor, sabor y aspecto que presento el extracto.

#### 3.7.6.2. Índice de refracción

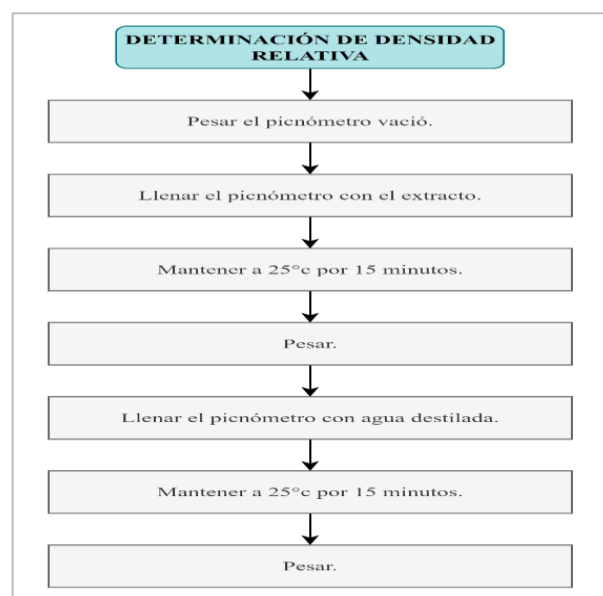
Para este ensayo se empleó un refractómetro automático digital, se colocó dos gotas de la muestra sobre el prisma y se automatizo el equipo para la obtención del resultado.

#### 3.7.6.3. Medición de pH

Para la obtención del resultado, se empleó un pHmetro digital.

#### 3.7.6.4. Determinación de densidad relativa

Para este ensayo se emplearon picnómetros, en primer lugar, se pesó el picnómetro vacío, seguidamente, se llenó con el extracto y se mantuvo a 25 °C por 15 minutos, se pesó y se repitió el proceso con agua destilada a la misma temperatura (ver ilustración 28-3).



**Ilustración 28-3:** Diagrama de la determinación de densidad relativa.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

Para la expresión de los resultados, se utilizó la siguiente fórmula:

$$D = \frac{m_1 - m}{m_2 - m}$$

D = densidad relativa (g/ml)

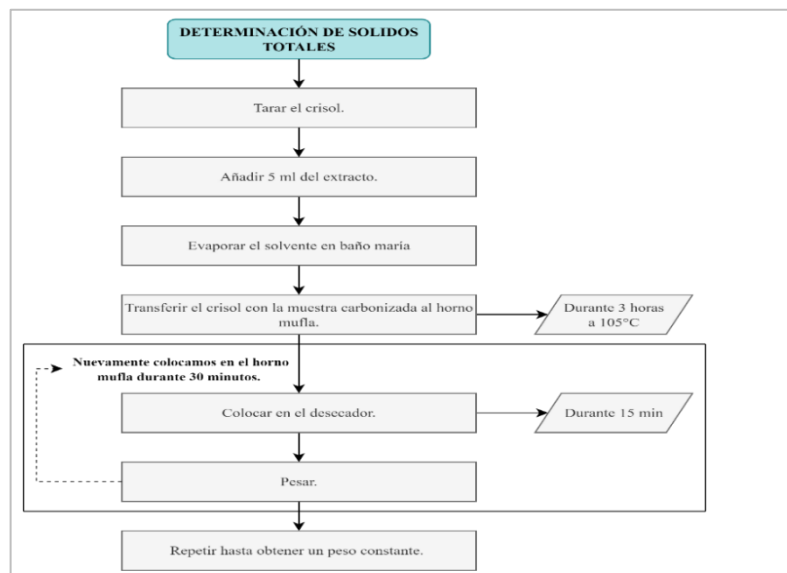
m = peso del picnómetro vacío (g)

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

m<sub>2</sub> = peso del picnómetro con agua destilada

### 3.7.6.5. Determinación de sólidos totales

En una cápsula previamente tarada se colocaron 5 ml del extracto y se evaporó el solvente en baño maría hasta que la muestra se encuentre aparentemente seca. Posteriormente, se transfirió a la estufa a una temperatura de 105 °C durante 3 horas, se colocó en el desecador y se pesó la muestra hasta obtener un peso constante (ver ilustración 29-3).



**Ilustración 29-3:** Diagrama de la determinación de sólidos totales.

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

Para la expresión de los resultados, se utilizó la siguiente fórmula:

$$ST = \frac{P_r - P}{V} \times 100$$

S = porcentaje de sólidos totales en la muestra

P<sub>r</sub> = masa de la cápsula con el residuo (g)

P = masa de la cápsula vacía tarada (g)

V = volumen de la alícuota (ml)

100 = factor matemático

### 3.7.7. Control microbiológico

Por lo general las drogas vegetales son contaminadas por microorganismos que se encuentran en el ambiente y en la tierra. Sin embargo, la contaminación inicial de la planta disminuye en el proceso de secado, pero en los procesos de manipulación, trituración, almacenaje puede aumentar la contaminación.

El control microbiológico se realizó en los geles preparados a distintas concentraciones (25 ppm, 100 ppm y 300 ppm) del extracto alcohólico de las hojas de *Kalanchoe pinnata* basándose en las técnicas de las Normas NTE INEN 1529-5, 1529-7, 1529-10. Cada ensayo se realizó por duplicado.

### 3.7.8. Actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *Kalanchoe pinnata* (*dulcamara*)

#### 3.7.8.1. Fase de aclimatación de los modelos experimentales

**Tabla 5-3:** Fase de aclimatación de los modelos experimentales.

<b>Descripción</b>	El proceso de ambientación de los animales experimentales se realizó, por transcurso de 21 días, según la técnica utilizada mediante manipulación y adaptación.
<b>Descripción de los animales de experimentación</b>	Peso: 25-30 g Edad: 2-3 meses Sexo: Hembras Lugar de crianza: Bioterio ESPOCH.
<b>Condiciones ambientales</b>	Humedad Relativa: 40-70 % Temperatura: 22 °C ± 2 Fotoluminiscencia: 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Cama: viruta de madera seca y limpia Alimento: Balanceado para roedor en forma de pellets y agua <i>Ad libitum</i> . Ruido: Ausente

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 3.7.8.2. Preparación de geles

Se prepararon tres geles experimentales a distintas concentraciones del extracto etanólico, para que tenga mejor absorción al momento de colocar en la cicatriz del ratón.

El extracto liofilizado de *Kalanchoe pinnata* (dulcamara) fue diluido en 1 ml de alcohol al 50%, de lo cual se obtuvo las concentraciones de 25 ppm, 100 ppm y 300 ppm.

**Procedimiento:** Se preparó una suspensión coloidal de carbopol, previamente hidratada (24 horas), posteriormente se agregó el extracto a las concentraciones definidas, se adicionó unas pocas gotas de propilenglicol y trietanolamina y se homogenizó. Finalmente se adicionaron unas gotas de metil y propilparabeno, se mezcló; obteniendo el gel respectivo de cada concentración.

### 3.7.8.3. Fase de inducción de la lesión en los modelos experimentales

Se aplicó crema depilatoria Veet en la zona a depilar durante 5 minutos y con ayuda de una gasa húmeda se procedió a retirar la crema. Se procedió a poner un ratón en cada jaula y se dejó en observación durante 24 horas, con el propósito de destacar reacciones alérgicas.

Transcurrido el tiempo se desinfectó la zona depilada y se anestesió al ratón por vía tópica empleando Lidocaína base al 10 % (Roxicaina), se señaló la zona de incisión y con ayuda de un bisturí se realizó el corte con una longitud de 1.5 cm y profundidad de 0.2 cm

### 3.7.8.4. Fase de aplicación de los tratamientos a los modelos experimentales

Se utilizó un total de 30 modelos experimentales divididos en grupos de 5 cada uno respectivamente. En el cual cada grupo fue asignado de la siguiente manera:

**Tabla 6-3:** Grupo experimental de ratones hembra.

Tratamientos	Grupos de estudio	Modelos experimentales				
		A1	A2	A3	A4	A5
<b>Blanco</b>	Grupo 1	A1	A2	A3	A4	A5
<b>Control negativo</b>	Grupo 2	B1	B2	B3	B4	B5
<b>Control positivo</b>	Grupo 3	C1	C2	C3	C4	C5
<b>Concentración del extracto 25 ppm</b>	Grupo 4	D1	D2	D3	D4	D5
<b>Concentración del extracto 100 ppm</b>	Grupo 5	E1	E2	E3	E4	E5
<b>Concentración del extracto 300 ppm</b>	Grupo 6	F1	F2	F3	F4	F5

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

Donde:

- **A:** Control blanco (Animales sin tratamiento)
- **B:** Control negativo (Animales tratados con el gel base)
- **C:** Control positivo (Animales con el ungüento herbal MEBO (0.25 %  $\beta$ -sitoesterol))
- **D:** Animales tratados con extracto de 25 ppm.



- **E:** Animales tratados con extracto de 100 ppm.
- **F:** Animales tratados con extracto de 300 ppm.

Posteriormente, con la ayuda de un hisopo estéril se aplicó el gel correspondiente a cada uno de los grupos cada 12 horas y por el tiempo necesario hasta que se cicatrice completamente la herida. A continuación, se realizó las mediciones y observaciones diarias, desde cuando se formó y se desprendió la costra de cicatrización, tomando en cuenta el tiempo de la cicatrización, la longitud y ancho de la herida.

#### *3.7.8.5. Análisis estadístico*

Los resultados de esta investigación fueron registrados en el programa estadístico Minitab, los cuales fueron analizados por la prueba ANOVA de un factor y test de Tukey para la determinación de la actividad cicatrizante.

## CAPÍTULO IV

### 4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Ensayos botánicos

##### 4.1.1. Identificación botánica

La identificación botánica se realizó con ayuda del Ing. Jorge Caranqui, botánico responsable del Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, observándose los resultados en la tabla 1-4 y su certificado de identificación corresponde al ANEXO A.

**Tabla 1-4:** Identificación botánica de la planta.

TAXONOMÍA	DULCAMARA
Familia	Crasuláceas J
Género	<i>Kalanchoe</i> Adans
Especie	<i>Kalanchoe pinnata</i> (Lam.) Kurz

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

##### 4.1.2. Análisis macro-morfológico

*Kalanchoe pinnata* conocida también con su sinónimo *Bryophyllum pinnatum* (dulcamara) es una planta suculenta y perenne que mide aproximadamente de 0.3 a 1.5 m de altura, se reproduce mediante semillas o de forma vegetativa a partir de los bulbos de las hojas (Kumar et al. 2020, p. 002). En la tabla 2-4 se puede observar, en el gráfico (A) las hojas son gruesas, carnosas, de color verde oscuro, y distintivamente festoneada, su disposición es opuesta y decusada, en la parte inferior de la planta están de forma simple, mientras que la parte superior tiene de tres a siete folíolos con un pecíolo largo. Se caracteriza por ser una hoja suculenta, la cual almacena grandes cantidades de agua, además tienen la capacidad de generar yemas que actúan como órganos de reproducción asexual que se conoce como bulbillos, que al caer al suelo se enraízan y originan una nueva planta. Todo lo mencionado es frecuente en las Crasuláceas, en el género *Kalanchoe* (Troiani et al. 2017, pp. 105–106).

El gráfico (B) corresponde a las flores, que tienen forma de campana y están colgadas en panículas grandes y extendidas con fuertes ramas opuestas donde los pedicelos son delgados. El cáliz mide de 2.5-3.8 cm de longitud, tiene un estriado de color rosado, verde en la base, verde pálido en la parte superior y posee dientes triangulares; la corola es abombada y octogonal en la base. En el

gráfico (C) se observa una pequeña porción del tallo con unas pequeñas hendiduras y la raíz, la cual es fasciculada (Kumar et al. 2020, p. 002).

**Tabla 2-4:** Análisis Macro-morfológico de *Kalanchoe pinnata*.



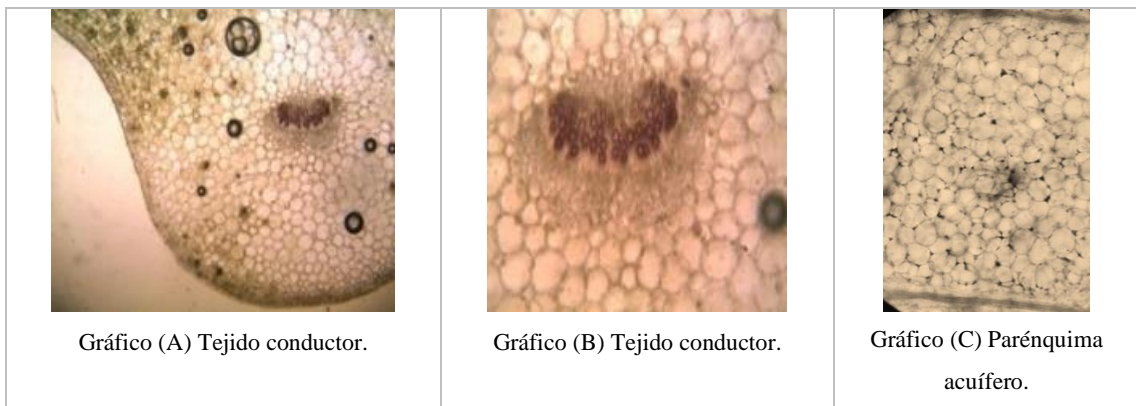
Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 4.1.3. Análisis micro-morfológico de *Kalanchoe pinnata*

##### 4.1.3.1. Corte transversal de la hoja

En la tabla 3-4, tanto en el gráfico (A) como en el (B) se puede observar una nervadura central, es decir tejidos conductores de la hoja, que se encargan de distribuir agua y nutrientes. En el gráfico (C) se observa parénquima acuífero el cual está compuesto por células parenquimáticas grandes que almacenan agua, poseen paredes delgadas y grandes vacuolas que también acumulan agua, características propias de plantas suculentas (Troiani et al. 2017, pp. 105).

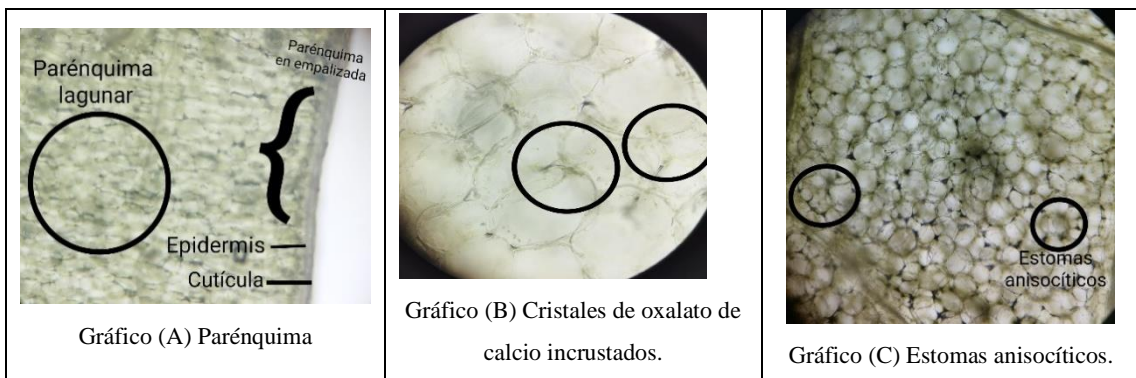
**Tabla 3-4:** Corte transversal de la hoja de *K. pinnata*



**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 4.1.3.2. Corte longitudinal de la hoja

**Tabla 4-4:** Corte longitudinal de la hoja de *K. pinnata*



**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

En la tabla 4-4 se observa el corte longitudinal de la hoja, en el gráfico (A) se puede distinguir la cutícula, epidermis, parénquima clorofílico en empalizada (más expuesta al sol y realiza la fotosíntesis) y un parénquima clorofílico lagunar (parte más sombría y realiza el intercambio de gases y agua con la atmósfera), contienen clorofila y cloroplastos. Por otro lado, en el gráfico (B) se identificaron cristales de oxalato de calcio incrustado en las células parenquimatosas y anulares; además, se identificaron estomas en forma anisocítica como se observa en el gráfico (C) (Bhavsar et al. 2018, p. 1522).

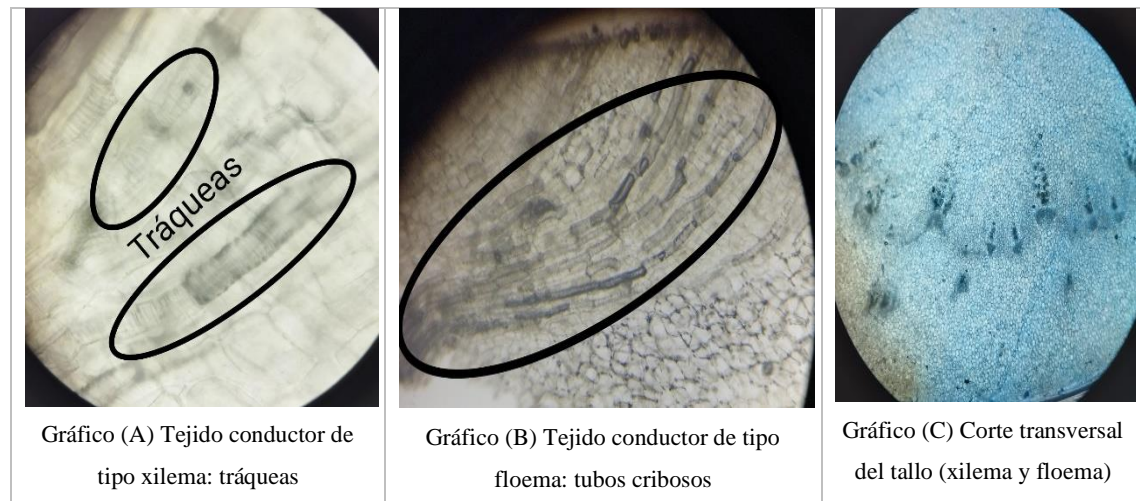
#### 4.1.3.3. Corte microscópico del tallo de *K. pinnata*

La estructura microscópica del tallo de *K. pinnata* se detalla en la tabla 5-4, en la cual se observan tejidos conductores xilema y floema. En el gráfico (A) se pueden observar las tráqueas que son las principales estructuras del xilema acompañadas de células parenquimáticas. La función del xilema es la conducción de sabia bruta, es decir agua y minerales absorbidos en las raíces.

En el gráfico (B) se identificaron tubos cribosos, los cuales se encuentran delimitados por células acompañantes. La función del floema es la conducción de sabia elaborada, es decir agua y sustancias orgánicas generadas en la fotosíntesis.

El gráfico (C) corresponde a un corte transversal en el cual se identifica el xilema y floema intercalados (Troiani et al. 2017, pp. 84-85).

**Tabla 5-4:** Corte microscópico del tallo de *K. pinnata*



**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 4.1.3.4. Corte microscópico de la raíz

Los cortes de la raíz se observan en la tabla 6-4, de manera que en el gráfico (A) se identificó rizodermis (epidermis propia de la raíz), la corteza o córtex que es el conjunto de células parenquimáticas de almacenamiento de sustancias de reserva. Además, se observó la endodermis una banda células de forma compacta rodeando el tejido vascular, su función es regular la entrada de agua y minerales al tejido vascular (Gonzales, 2013, p. 5).

Por otra parte, en el gráfico (B) se observó el cilindro vascular (estructura interna de la raíz) consta de xilema y floema. Finalmente, el gráfico (C) muestra los pelos absorbentes de la raíz que contribuyen a una absorción más eficiente de agua y nutrientes del suelo (Gonzales, 2013, p. 6).

**Tabla 6-4:** Corte microscópico de la raíz de *K. pinnata*



Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

#### 4.2. Análisis Organoléptico de la droga pulverizada de las hojas de *K. pinnata*

El análisis organoléptico se realizó mediante los sentidos, los resultados se pueden observar en la tabla 7-4.

**Tabla 7-4:** Resultados del análisis organoléptico.

Color	Sabor	Olor
Verde parduzco	Sabor neutro	Ligeramente aromático

Realizado por: Bayas, Martha, 2022

El color verde parduzco es debido a la presencia de clorofila en sus hojas, el sabor es neutro y el olor aromático indica la presencia de aceite esencial en *K. pinnata* (Rahman et al. 2019, p. 6).

#### 4.3. Control de calidad de la droga vegetal cruda

Los resultados pertenecientes al control de calidad de la droga vegetal cruda se obtuvieron por duplicado, como se indica a continuación:

##### 4.3.1. Análisis fisicoquímico

###### 4.3.1.1. Determinación de humedad

En la tabla 8-4 se presentan los resultados del porcentaje de humedad de las hojas secas de *Kalanchoe pinnata*, obteniendo un porcentaje de 9.205 %. Se puede observar que el valor

promedio se encuentra dentro del rango de referencia establecido en Norma Técnica Ecuatoria INEN 2 392:2017 y en la Farmacopea de los Estados Unidos USP #35.

**Tabla 8-4:** Resultados de humedad de la droga vegetal cruda de *K.pinnata*.

Muestra vegetal	Muestra No. 1 (%)	Muestra No. 1 (%)	Promedio	NTE INEN 2 392:2017	Valor de referencia USP 35
<i>Kalanchoe pinnata</i>	8.813	9.597	9.205 ± 0.392	12 %	7 – 14 %

Realizado por: Bayas, Martha, 2022

El porcentaje de humedad depende directamente del secado al cual ha sido sometido la materia prima. El valor obtenido se encuentra dentro del rango de referencia, indicando las adecuadas condiciones de almacenamiento y conservación; el contenido de humedad permite conocer la estabilidad de la materia prima, mientras menor sea la cantidad de agua remanente se evitará la proliferación bacteriana y micótica (Yela, 2021, p. 52).

En el estudio que realizó Cucurí (2017, p.33) el porcentaje de humedad fue de 10.676 % y en comparación con el valor obtenido en esta investigación de 9.205 %, solo difiere en un 1 % aproximadamente, por lo tanto, se deduce que el material vegetal fue secado en condiciones similares.

#### 4.3.1.2. Determinación de cenizas

En la tabla 9-4, se observan los resultados obtenidos de cenizas totales de 10.818 %, cenizas solubles en agua de 5.099 % y cenizas insolubles en HCl de 2,456 %, valores que se encuentran dentro de los establecidos por la USP # 35.

**Tabla 9-4:** Resultados de cenizas de la droga vegetal cruda de *K. pinnata*.

Parámetro	Muestra vegetal	Muestra No. 1 (%)	Muestra No. 2 (%)	Promedio	Valor de referencia USP 35
Cenizas totales	<i>Kalanchoe pinnata</i>	10.156	11.479	10.818± 0.66	Hasta 12 %
Cenizas solubles en agua	<i>Kalanchoe pinnata</i>	4.850	5.347	5.099± 0.25	Hasta 7 %
Cenizas insolubles en HCl	<i>Kalanchoe pinnata</i>	2.035	2.816	2.456± 0.39	Hasta 5 %

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

La determinación de cenizas totales hace referencia al contenido de materia remanente posterior a la ignición (sales minerales) como “cenizas fisiológicas” que podrían ser derivados de los tejidos

vegetales, con potencial actividad biológica y “cenizas no fisiológicas”, residuo de la materia extraña (polvo, arena, tierra, etc.) (Miranda, 2002, p.8).

En el análisis, las cenizas solubles en agua indican si las cenizas totales se encuentran compuestas en mayor parte por metales pesados y las cenizas insolubles en HCl miden la presencia de minerales que son responsables de algunas acciones farmacológicas (Miranda, 2002, pp.9-10).

Mediante estos resultados obtenidos, se puede determinar que la droga vegetal cruda de *Kalanchoe pinnata* cumple con todos los parámetros de control de calidad establecidos por las distintas normas y por lo tanto son aptas para el uso en la investigación, además concuerda con el estudio de Bhavsar et al. (2018, p. 1523), en el cual la ceniza total obtenida fue de 9.5 %, siendo el 0.5 % ceniza insoluble en ácido y 2.25 % soluble en agua.

#### 4.4. Tamizaje fitoquímico de las hojas de dulcamara (*Kalanchoe pinnata*)

El análisis del tamizaje fitoquímico permite reconocer de forma cualitativa los metabolitos secundarios que posee la planta. Se utilizó éter etílico, etanol y agua como solventes, con el fin de extraer e identificar los compuestos en base a su polaridad, solubilidad y su prevalencia en cada extracto. Se puede observar en la Tabla 10-4, los resultados de metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Kalanchoe pinnata* en los distintos solventes:

**Tabla 10-4:** Resultados del tamizaje fitoquímico de los extractos de las hojas de *K. pinnata*.

Metabolito investigado	Ensayo	Extracto etéreo	Extracto etanólico al 70 %	Extracto acuoso
Compuestos grasos	Sudan	Positivo +++	NA	NA
Alcaloides	Dragendorff	Positivo ++	Positivo ++	Positivo +
	Mayer	Positivo ++	Positivo ++	Positivo +
	Wagner	Positivo +	Positivo ++	Positivo +
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Burchard	Positivo	Positivo	NA
Catequinas	Catequinas	NA	Positivo	NA
Resinas	Resinas	NA	Negativo	NA
Azúcares reductores	Fehling	NA	Positivo	Positivo
Lactonas y cumarinas	Baljet	NA	Negativo	NA
Saponinas	Espuma	NA	Negativo	Negativo
Compuestos fenólicos y taninos	Tricloruro férrico	NA	Positivo (Compuestos	Positivo (Compuestos



			taninos pirocatecólicos)	taninos pirocatecólicos)
Quinonas	Borntrager	NA	Negativo	NA
Flavonoides	Shinoda	NA	Positivo	Positivo
Antocianos	Antocianidinas	NA	Positivo	NA
Mucílagos	Mucílagos	NA	NA	Negativo
Principios amargos y astringentes	Amargos y astringentes	NA	NA	Amargo
*(NA) No Aplica.				

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

El tamizaje fitoquímico es una de las etapas que permite identificar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta. La información obtenida mediante este proceso de investigación sobre compuestos con origen vegetal ayuda a comprender la fisiología y bioquímica de los organismos que producen y para lograr su mejor aprovechamiento con fines científicos, medicinales y económicos (Ortuño, 2006, p. 54).

Los resultados obtenidos en la tabla 10-4. Indican la presencia de compuestos grasos, alcaloides, triterpenos y esteroides, catequinas, azúcares reductores, compuestos fenólicos y taninos, flavonoides, antocianidinas y principios amargos. Sin embargo, solo en el solvente alcohólico se puede extraer flavonoides y terpenos conjuntamente, lo cual es importante debido a que estos dos metabolitos son esenciales en la generación de la actividad cicatrizante.

Mediante el ensayo de Sudan se determinó la presencia de compuestos grasos con una evidencia alta por la formación de precipitado y película de color rojo en las paredes del tubo. El ensayo de Liberman-Burchard formó dos fases lo que significa que es positivo para terpenos y esteroides. Lo mencionado coincide con los resultados del estudio de Majaz et al. (2011, p.1480), en donde menciona que en las partes aéreas de la planta de *Kalanchoe pinnata* contiene un alto contenido de  $\beta$ - sitosterol, compuesto esteroideal (fitoesterol), que presenta un efecto antioxidante, antiinflamatorio y cicatrizante, mientras que sobre la piel puede actuar como un hidratante.

La presencia de alcaloides fue evidenciada en los tres tipos de extractos con moderadas cantidades a través del ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner. Similar a lo expuesto por Okwu & Nnamdi, (2011, pp 1459-1460), el cual mencionó que las hojas poseen varios alcaloides con funciones importantes. Por ejemplo, el alcaloide del fenantreno identificado como *1-etanamino 7 hex-1-yne-5<sup>1</sup>-one* aislado del extracto etanólico de las hojas de *K. pinnata*, el cual es un potente antimicrobiano, inhibiendo *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* y *A. niger*. Mediante estos resultados, se sugirió el uso de esta planta en fitomedicina para la prevención de enfermedades y el tratamiento de infecciones.

La actividad cicatrizante se dio gracias a la presencia de flavonoides y fenoles, que intervienen como antioxidantes. En el extracto alcohólico y acuoso, la prueba de cloruro férrico dio como

resultado un verde intenso, demostrando que existe presencia de taninos y el en ensayo de Shinoda se formaron dos fases que determina la presencia de flavonoides. Y según lo mencionado por Vílchez et al. (2020, p. 24) los compuestos fenólicos tales como los flavonoides, taninos y ácidos fenólicos favorecen el proceso de cicatrización de heridas.

El flavonoide cicatrizante principal presente en *K. pinnata* es la quercetina 3-O- $\alpha$ -L-arabinopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-ramnopiranosido, su función es la inhibición de radicales libres, para que facilite el cierre el diámetro de la herida, amplíe la génesis de nuevos capilares sanguíneos (angiogénesis) y se dé una aparición de fibroblastos. Es decir, favorece al cierre de las heridas por sus características secantes y antibacterianas (Coutinho et al. 2020, p. 6037).

La presencia de taninos que son metabolitos generados por el metabolismo secundario de las plantas posee capacidad astringente, aumentan el número de enlaces cruzados entre las fibras de colágeno. Se ha demostrado que estos compuestos ayudan a la vasoconstricción, al reducir la permeabilidad y producir una acción antiinflamatoria. Del mismo modo, estimulan el crecimiento de epidermis ayudando a la reepitelización y se sabe que poseen acción antimicrobiana (Vílchez et al. 2020, p. 25).

Por otro lado, el aceite esencial de las hojas de *Kalanchoe pinnata* en el estudio de Obregón et al. (2019, p. 1) se identificaron diecinueve compuestos, formados por hidrocarburos oxigenados (19.1 %), monoterpenos oxigenados (2.1 %), sesquiterpenos (64.4 %), sesquiterpenos oxigenados (4.2 %), otros compuestos oxigenados (3.3%) y ácidos grasos (2.1%). Los principales componentes fueron  $\alpha$ -  $\beta$  curcumeno (49.6 %) tiene actividad anticancerosa, principalmente frente al cáncer de piel, colon y duodeno, 1-octen-3-ol (18.1 %) es utilizado para insecticidas, y cariofileno (6.8 %) es un terpenoide que tiene efecto antifúngico, antibacteriano, analgésico, antiinflamatorio, ansiolítico y antioxidante. Lo cual contribuye de forma favorable al proceso de cicatrización (Mesa et al., 2000, p. 310).

#### **4.5. Control de calidad del extracto etanólico de las hojas de dulcamara (*Kalanchoe pinnata*)**

##### **4.5.1. Características organolépticas**

En la Tabla 11-4, se observa los resultados obtenidos en las características organolépticas del extracto etanólico de las hojas de dulcamara (*K. pinanta*).

**Tabla 11-4:** Características organolépticas del extracto etanólico de las hojas de *K. pinnata*

<b>CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b>	
<b>Olor</b>	Herbal fuerte - Aromático
<b>Color</b>	Verde intenso- translúcido

<b>Aspecto</b>	Líquido, sin presencia de partículas
<b>Sabor</b>	Amargo

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

El extracto etanólico o presentó características organolépticas específicas acorde al solvente utilizado, exhibiendo un olor aromático, un color verde intenso y traslúcido, con un aspecto líquido sin la presencia de partículas y un sabor amargo, probablemente debido a los compuestos disueltos. Estas características mencionadas no se encuentran referenciadas para poder compararlo ya que son propias de la planta.

#### 4.5.2. Determinación físico – química

**Tabla 12-4:** Características físico–químicas del extracto etanólico de *K. pinnata*

<b>CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS</b>	
<b>Índice de refracción</b>	1.389
<b>Grados brix</b>	22.99
<b>pH</b>	5.65
<b>Densidad relativa</b>	0.905 g/ml
<b>Sólidos totales</b>	2.10 %

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

La tabla 12-4 detalla las características fisicoquímicas del extracto etanólico de las hojas de *K. pinnata*. El índice de refracción del extracto etanólico fue de 1.389, al ser un valor superior al índice de refracción del agua ( $n=1.33$ ), se determinó que existe la presencia de compuestos disueltos en el extracto, los cuales pueden ser metabolitos activos o no activos (Rodrigues y Marín, 2008, p. 42).

Por otra parte, el pH del extracto fue ácido con un valor de 5.65, lo cual se puede deber a las características químicas de algunos metabolitos secundarios disueltos como, flavonoides, fenoles, taninos, esteroides y triterpenos. En el estudio realizado por Cucurí, M. (2017, p. 29)., el valor de pH del extracto etanólico al 96% de las hojas de *K. pinnata* fue de 2.55, en comparación con el pH obtenido en el extracto utilizado en esta investigación es sumamente ácido, esto se debe a la diferencia que existe entre las concentraciones.

La densidad relativa fue de 0.905 g/ml, la cual muestra un valor superior a la densidad del solvente utilizado (alcohol etílico 70 %) el cual tiene una densidad de 0.8 g/ml. Este valor indica que en el extracto se encuentran sustancias disueltas provenientes de la droga cruda (Rodrigues y Marín, 2008, p. 2).

Finalmente, se obtuvo un valor de sólidos totales de 2.10 %, lo que indica la existencia de metabolitos disueltos, debido a que, mientras más alto sea su valor, existe mayor probabilidad de que presente mayor cantidad de compuestos disueltos (Rodríguez y Marín, 2008, p. 2).

#### 4.5.3. Análisis microbiológico

En la Tabla 13-4. se indican los resultados obtenidos en el análisis microbiológico de los geles a distintas concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *K. pinanta*.

**Tabla 13-4:** Análisis microbiológico del extracto etanólico de las hojas de *K. pinnata*.

MICROORGANISMOS	GEL CON EXTRACTO ETANÓLICO			VALORES DE REFERENCIA LÍMITES	
	25 ppm	100 ppm	300 ppm	NTE INEN 2 392:2017	USP 35
Aerobios Mesófilos UCF/mL	Ausencia	Ausencia	10 UFC/mL	Máx. $1 \times 10^7$	< 100
Mohos y Levaduras UFC/mL	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Máx. $1 \times 10^4$	< 10
Coliformes Fecales UFC/MI	Ausencia	Ausencia	Ausencia	$1 \times 10$	Ausente

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

En el Análisis Microbiológico de los geles preparados con el extracto etanólico a diferentes concentraciones (25 ppm, 100 ppm y 300 ppm), los valores obtenidos de Aerobios Mesófilos, Mohos y Levaduras, Coliformes Fecales se encuentran dentro de los valores de referencia mencionado por la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 392:2017 y según la USP #35, descartando así una contaminación microbiana, y garantizando la seguridad para la administración tópica a los animales de experimentación.

Los aerobios mesófilos indican que los recipientes de almacenamiento, su manipulación y ambiente de trabajo son aptos. La ausencia de coliformes fecales hace referencia de que el gel no está contaminado con materia fecal y finalmente la ausencia de mohos y levaduras indicó que el gel tiene una estabilidad adecuada al no exhibir un crecimiento fúngico.

#### 4.6. Evaluación de la Actividad Cicatrizante del extracto etanólico de las hojas de *dulcamara (Kalanchoe pinnata)*

La determinación de la actividad cicatrizante del extracto etanólico liofilizado de las hojas de *Kalanchoe pinnata* fue realizada mediante la elaboración de un gel. La investigación se realizó

en 30 ratones *Mus musculus*, a los cuales se les dividió en 6 grupos, cada uno conformado por 5 ratones, se trabajó con grupos controles y 3 formulaciones.

El tratamiento aplicado se hizo por vía tópica cada 12 horas hasta que se cicatrice la herida, observando la longitud y ancho de la lesión, la formación y desprendimiento de la costra y el tiempo de cicatrización.

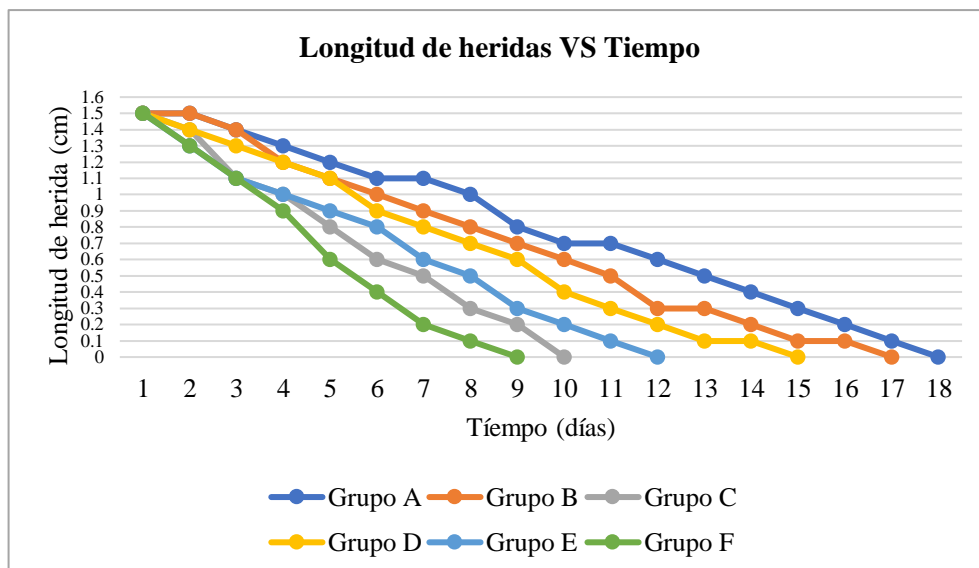
#### **4.6.1. Variación del tamaño de las heridas en el proceso experimental de cicatrización**

##### **4.6.1.1. Longitudes de las heridas (cm) en ratones (*Mus musculus*)**

**Tabla 14-4:** Promedio de las longitudes de las heridas (cm) en ratones (*Mus musculus*).

	<b>GRUPO A</b>	<b>GRUPO B</b>	<b>GRUPO C</b>	<b>GRUPO D</b>	<b>GRUPO E</b>	<b>GRUPO F</b>
<b>Días</b>	<b>Blanco</b>	<b>Control (-) Gel base</b>	<b>Control (+) Ungüento herbal MEBO 0.25 % (2500 ppm) <math>\beta</math>- sitoesterol</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 25 ppm</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 100 ppm</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 300 ppm</b>
1	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
2	1.5	1.5	1.4	1.4	1.3	1.3
3	1.4	1.4	1.1	1.3	1.1	1.1
4	1.3	1.2	1.0	1.2	1	0.9
5	1.2	1.1	0.8	1.1	0.9	0.6
6	1.1	1.0	0.6	0.9	0.8	0.4
7	1.1	0.9	0.5	0.8	0.6	0.2
8	1.0	0.8	0.3	0.7	0.5	0.1
9	0.8	0.7	0.2	0.6	0.3	0
10	0.7	0.6	0	0.4	0.2	
11	0.7	0.5		0.3	0.1	
12	0.6	0.3		0.2	0	
13	0.5	0.3		0.1		
14	0.4	0.2		0.1		
15	0.3	0.1		0		
16	0.2	0.1				
17	0.1	0				
18	0					

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.



**Ilustración 1-4:** Longitud de herida vs Tiempo

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

La tabla 14-4, indica el promedio de las medidas longitudinales de cada herida inducida, las cuales fueron registradas diariamente en el proceso de cicatrización en los Grupo (A, B, C, D, E y F). Al finalizar el tratamiento todos los modelos experimentales presentaron una medida de 0 cm, libre de inflamación o irritación en la zona de la herida.

La ilustración 1-4, muestra el cierre longitudinal y el tiempo que tarda el proceso de cicatrización, mediante estos datos se puede establecer que el tratamiento más efectivo fue el del Grupo F tratado con el gel a 300 ppm del extracto de *Kalanchoe pinnata*, ya que empleó un menor tiempo en cicatrizar. Los grupos que más tardaron en cicatrizar fueron A (control blanco) y B (control negativo) que no tuvieron tratamiento alguno.

En el estudio titulado “Determinación de la actividad cicatrizante del extracto de *Salvia sagittata*, mediante lesiones inducidas en ratones”, las longitudes iniciales de cada herida fueron de 1.5 cm y el tiempo final de cierre de estas se dio en 9 días con el tratamiento de mayor efectividad, por lo tanto, se estima que estas dos plantas presentan resultados similares (Díaz, 2018, p. 62).

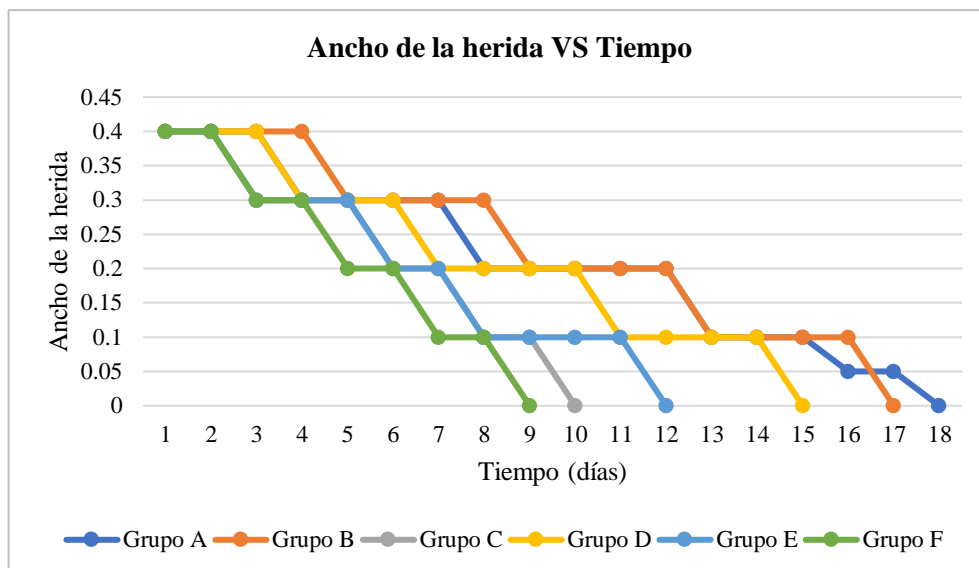
La actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto etanólico y acuoso de *K. pinnata* fue evaluada mediante un edema plantar inducido por carragenina en ratas y retorcimiento inducido por ácido acético en ratones respectivamente. Este estudio evidenció que el extracto etanólico a 600 ppm y 300 ppm presentaron mejor efecto en estas dos actividades, favoreciendo así que la herida esté libre de inflamación y sin dolor en el proceso de cicatrización (Matthew et al. 2013a, pp. 24–26).

4.6.1.2. Ancho de las heridas (cm) en ratones (*Mus musculus*)

**Tabla 15-4:** Promedio del ancho de las heridas (cm) en ratones (*Mus musculus*).

	<b>GRUPO A</b>	<b>GRUPO B</b>	<b>GRUPO C</b>	<b>GRUPO D</b>	<b>GRUPO E</b>	<b>GRUPO F</b>
<b>Días</b>	<b>Blanco</b>	<b>Control (-) Gel base</b>	<b>Control (+) ungüento herbal MEBO 0.25 % (2500 ppm) <math>\beta</math>- sitoesterol</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 25 ppm</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 100 ppm</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 300 Ppm</b>
1	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
3	0.4	0.4	0.3	0.4	0.3	0.3
4	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3
5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2
6	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2
7	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1
8	0.2	0.3	0.1	0.2	0.1	0.1
9	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.0
10	0.2	0.2	0	0.2	0.1	
11	0.2	0.2		0.1	0.1	
12	0.2	0.2		0.1	0	
13	0.1	0.1		0.1		
14	0.1	0.1		0.1		
15	0.1	0.1		0		
16	0.05	0.1				
17	0.05	0				
18	0					

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.



**Ilustración 2-4:** Ancho de la herida VS Tiempo

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

Los períodos de cicatrización del ancho de las heridas tras aplicar los diferentes tratamientos se pueden verificar en la tabla 15-4; y de la misma manera en la ilustración 2-4. Se puede establecer que los resultados del tiempo que tarda en cicatrizar el ancho de cada herida en los grupos experimentales tienen concordancia con los períodos de cierre de las longitudes, por lo tanto, se demostró que el tratamiento más efectivo fue el gel de *Kalanchoe pinnata* a concentración de 300 ppm.

En el estudio preliminar de la actividad cicatrizante de Shivananda et al. (2010, p 573) realizaron cortes de 2.50 cm<sup>2</sup> y 0.2 cm de profundidad, probaron la efectividad del extracto etanólico de las hojas de *K. pinnata* a 100 ppm y el ancho de la herida se cerró en el día 15. Al comparar con este estudio, las longitudes fueron de 1.5 cm y el cierre final se dio en 9 días con el gel a 300 ppm y con el gel a 100 ppm 12 días, se considera que los resultados son semejantes, debido a que el tamaño de la herida es más grande y tarda en cicatrizar solo 3 días más.

#### 4.6.2. Formación y desprendimiento de la costra (cm) en ratones (*Mus musculus*)

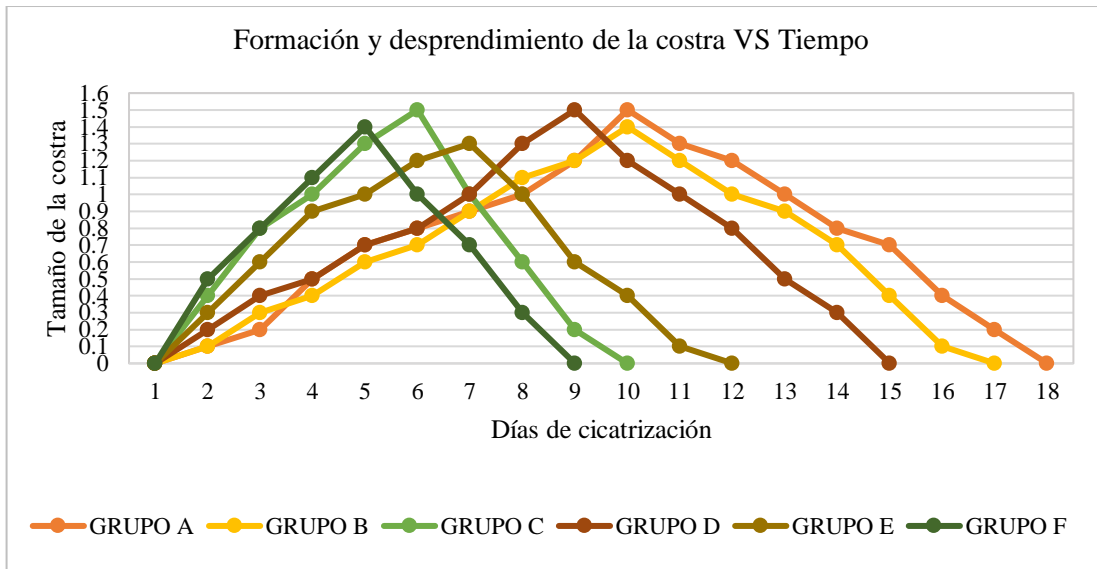
**Tabla 16-4:** Formación y desprendimiento de la costra (cm) en ratones (*Mus musculus*).

	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D	GRUPO E	GRUPO F
Días	Blanco	Control (-) Gel base	Control (+) Ungüento herbal MEBO 0.25 % (2500 ppm) β- sitoesterol	Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 25 ppm	Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 100 ppm	Gel de extracto de <i>Kalanchoe</i> <i>pinnata</i> 300 ppm



1	0	0	0	0	0	0
2	0.1	0.1	0.4	0.2	0.3	0.5
3	0.2	0.3	0.8	0.4	0.6	0.8
4	0.5	0.4	1	0.5	0.9	1.1
5	0.7	0.6	1.3	0.7	1	1.4
6	0.8	0.7	1.5	0.8	1.2	1
7	0.9	0.9	1	1	1.3	0.7
8	1	1.1	0.6	1.3	1	0.3
9	1.2	1.2	0.2	1.5	0.6	0
10	1.5	1.4	0	1.2	0.4	
11	1.3	1.2		1	0.1	
12	1.2	1		0.8	0	
13	1	0.9		0.5		
14	0.8	0.7		0.3		
15	0.7	0.4		0		
16	0.4	0.1				
17	0.2	0				
18	0					

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.



**Ilustración 3-4:** Tiempo de formación y desprendimiento de la costra.

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

La ilustración 3-4, presenta el proceso de formación y desprendimiento de la costra en la cicatrización de heridas. El pico máximo indica el tiempo que tarda en formarse la postilla en función de los días del tratamiento, por tanto, se observa que todos los grupos experimentales inician la formación de ésta, dos días después de la lesión, sin embargo, es desprendida según la

concentración del gel. Se puede observar que el control positivo (Grupo C) tardó 6 días en formarse la costra y 10 días en despegarse.

Mientras que, en el Grupo F (gel con el extracto a 300 ppm) la postilla se formó a los 5 días y se desprendió en un tiempo óptimo de 9 días, los tratamientos del Grupo E (gel con el extracto a 100 ppm) y Grupo D (gel con el extracto a 25 ppm) requieren mayor tiempo para su efecto, al igual que el Grupo A y B.

La formación y desprendimiento de la costra depende de varios factores. Primero, la herida debe estar libre de microorganismos, según el estudio de Okwu & Nnamdi, (2011, pp 1459-1460) menciona que las hojas de *K. pinnata* poseen varios alcaloides con funciones importantes como por ejemplo el fenantreno, el cual tiene un potente efecto antimicrobiano que inhibe el crecimiento de *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* y *A. niger*.

Segundo, no debe presentar inflamación, lo cual mediante el estudio de Matthew et al. (2013, pp. 24–26) se comprobó que el extracto de las hojas de esta planta presenta un efecto antiinflamatorio significativo. Por lo tanto, analizando estos resultados se sugiere el uso de esta planta en fitomedicina para la prevención de enfermedades y el tratamiento de cicatrización de heridas.

#### 4.6.3. Tiempo de cicatrización de las heridas (días) en los grupos experimentales

**Tabla 17-4:** Tiempo de cicatrización de las heridas (días) en los grupos experimentales

	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D	GRUPO E	GRUPO F
<b>Ratones</b>	<b>Blanco</b>	<b>Control (-) Gel base</b>	<b>Control (+) Ungüento herbal MEBO 0.25 % (2500 ppm) β- sitoesterol</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe pinnata</i> 25 ppm</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe pinnata</i> 100 ppm</b>	<b>Gel de extracto de <i>Kalanchoe pinnata</i> 300 ppm</b>
R1	17	16	11	16	12	10
R2	19	17	10	15	11	9
R3	18	16	9	14	11	9
R4	18	17	9	15	12	8
R5	17	18	10	15	12	10
Prom.	17.8	16.8	9.8	15	11.6	9.2
Desv. Estándar	±0.84	±0.84	±0.84	±0.55	±0.55	±0.84

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

Analizando los datos obtenidos de los días de cicatrización presentes en la tabla 17-4, el tratamiento con mayor efectividad sobre el proceso de cicatrización de heridas es el Grupo F,

tratado con el gel a base del extracto de *K. pinnata* a 300 ppm, que llevó un promedio de 9.2 días para sanar la lesión inducida, seguido por el Grupo C (control positivo) que fue tratado con el ungüento herbal MEBO 0.25 %  $\beta$ -sitoesterol con un promedio de 9.8 días, después el Grupo E correspondiente al gel con extracto a 100 ppm tardó 11.6 días. Al contrario, el Grupo D (gel con extracto a 25 ppm), Grupo B (gel base) y Grupo A (sin tratamiento) que tardaron 15, 16.8 y 17.6 días respectivamente.

Se puede observar que el Grupo F tratado con el gel a base del extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* a 300 ppm es el más efectivo, ya que la cicatrización total fue en 9.2 días, comparando con la crema elaborada del extracto acuoso al 6 % de la hoja de *K. pinnata* por Soares et al. (2021, p 6036) que presentó un periodo de cicatrización de 10 días, se deduce que el tiempo de cicatrización no tiene una variación significativa.

Se ha evidenciado en un estudio que se compara tres extractos diferentes de las hojas de *K. pinnata* (etéreo, alcohólico y acuoso) que el extracto alcohólico muestra un 92 % de curación en el día 12 mientras que en el extracto acuoso un 90 % (Khan et al 2004, p. 45).

En otro estudio se da a conocer la toxicidad oral aguda del extracto etanólico y acuoso de las hojas de *K. pinnata*, el cual fue determinado por la Directriz de la OCDE (directriz 423) que el LD50 de estos extractos era de 3000 mg/kg. Por lo tanto, el valor de ED50 es de 300 mg/kg (Matthew et al. 2013, p. 24).

El medicamento Ungüento herbal MEBO 0,25 %  $\beta$ -sitoesterol actúa directamente en las heridas regenerando y reparando el tejido de la piel, su fase de cicatrización fue de 9.8 días, su acción cicatrizante es similar al del gel con el extracto a 300 ppm, solo se diferencia por 1 día. Se estima que una de las razones es que la planta estudiada también presenta fitoesteroles como el  $\beta$ -sitoesterol, el cual es el componente principal del ungüento y por lo tanto ayuda a cicatrizar heridas (Majaz, 2011, p. 1480).

El gel elaborado con extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* a 100 ppm tardó en cicatrizar 11.6 días. El cual coincide con el estudio de Shivananda et al. (2010, p. 573) , en donde se evaluó el potencial cicatrizante del extracto etanólico de *K. pinnata* a la misma concentración y se evidenció que en el día 11 su cicatrización fue de 86.3 %, siendo más efectivo que su control positivo.

El Grupo D tratado con el gel a 25 ppm del extracto etanólico de *Kalanchoe pinnata* presentó un periodo de cicatrización de 15 días, se observa que tardó más días su tratamiento debido a la baja concentración del extracto utilizado.

Finalmente, el Grupo A (blanco - sin tratamiento) hace referencia a que no se aplicó ningún tipo de tratamiento en las heridas, por lo que el tiempo de cicatrización fue de 17.8 días. Por otro lado, al Grupo B (control negativo) se trató con gel base sin extracto y se tardó un tiempo de 16.8 días en curarse las heridas, solo se evidencia un día de diferencia con el Grupo A.

La investigación de metabolitos bioactivos presentes en la planta *K. pinnata* ha demostrado que presentan ventajas excepcionales en términos de cicatrización rápida. Estos componentes

fitoquímicos incluyen: flavonoides, taninos, terpenos, esteroides, alcaloides y compuestos fenólicos, que demuestran una amplia gama de actividades: antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante (Jarić et al., 2018, p. 6).

Los flavonoides, terpenos, triterpenos y esteroides, promueven el proceso de cicatrización de heridas. Los terpenos favorecen este proceso principalmente por su actividad astringente y antimicrobiana, contrae la herida y genera una mayor tasa de epitelización (Jarić et al. 2018, p. 7). Los esteroides como el  $\beta$ -sitoesterol tiene la función de regenerar el epitelio rápidamente y los flavonoides como la “quercetina” poseen actividades antioxidantes y produce la eliminación de radicales libres para que facilite el cierre de la herida, amplíe la angiogénesis y se dé una aparición de fibroblastos (Coutinho et al. 2020, p. 6037).

Los taninos promueven la curación de heridas a través de varios mecanismos celulares, incluyendo la eliminación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, promoviendo la contracción de la herida y la angiogénesis, además tienen actividad antimicrobiana que actúa contra patógenos (Jarić et al., 2018, pp. 7–8).

#### 4.6.4. Análisis estadístico

A los resultados obtenidos de la actividad cicatrizante de lesiones inducidas a ratones (*Mus musculus*), se realizó el análisis estadístico utilizando el test ANOVA de un factor y test Tukey, con el propósito de hallar diferencias estadísticas entre los diferentes grupos experimentales y los grupos controles. Además, se evaluó la existencia o no de la actividad farmacológica propuesta para la planta de *Kalanchoe pinnata*.

**Tabla 18-4:** Análisis ANOVA unifactorial del tiempo de cicatrización de heridas (días).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTO	5	336.57	67.3133	112.19	0.000
Error	24	14.40	0.6000		
Total	29	350.97			

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

En la tabla 18-4 se exponen los resultados obtenidos mediante el test ANOVA de un factor, en el cual se analizaron los días que tardó el proceso de cicatrización en los modelos experimentales de cada tratamiento aplicado. Se observó que existe una diferencia entre las medias de los diferentes grupos experimentales con un p-valor de 0.000, el cual es menor al nivel de significancia de 0.05 %. Debido a esto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, la cual indica que existe diferencia significativa en el tiempo de cicatrización de los

grupos experimentales. Por esta razón se realizó la prueba de Tukey con el mismo nivel de confianza.

**Tabla 19-4:** Análisis estadístico de Tukey según el tiempo de cicatrización de las heridas.

TRATAMIENTOS	N	Media	Agrupación			
Blanco	5	17.800	A			
Control Negativo	5	16.800	A			
Gel 25 ppm	5	15.000		B		
Gel 100 ppm	5	11.600			C	
Control Positivo	5	9.800				D
Gel 300 ppm	5	9.200				D

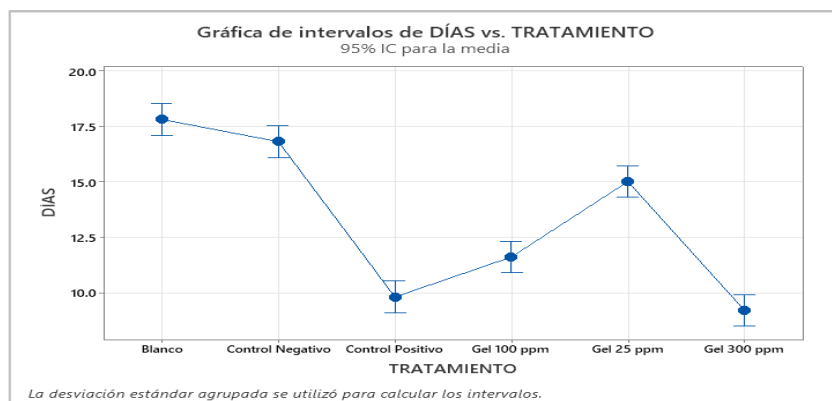
*\*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

**Realizado por:** Bayas Sánchez, Martha 2022.

La tabla 19-4. indica la prueba de subconjuntos de grupos de Tukey, la cual permite comparar las medias entre los diferentes tratamientos, y poder determinar la diferencia o similitud entre los tiempos de cicatrización de cada grupo.

Por lo que se puede expresar a un nivel de confianza al 95 %, mediante la prueba de comparaciones múltiples que los tres tratamientos a distinta concentración del extracto etanólico de *K. pinnata* (25 ppm, 100 ppm y 300 ppm) sí son significativamente diferentes, a excepción del tratamiento a 300 ppm y el tratamiento de control positivo (Ungüento herbal MEBO 0.25 %  $\beta$ -sitosterol), ya que presentaron un tiempo de cicatrización similar; por ende, si se aplica cualquiera de los dos tratamiento el resultado será similar.

El control negativo (gel base) y control blanco (sin tratamiento) tuvieron una cicatrización natural y estadísticamente presentaron el mismo tiempo de curación de heridas, de forma que se puede deducir que los componentes del gel base no influyen en el proceso de cicatrización de heridas. En estos grupos se evidenció una fase de curación más prolongada en comparación al tiempo empleado en cada uno de los geles a distintas concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Kalanchoe pinnata*.



**Ilustración 4-4:** Intervalo de Días vs Tiempo

Realizado por: Bayas Sánchez, Martha 2022.

La ilustración 4-4, muestra el tiempo (días) que tardó la cicatrización en las lesiones inducidas de acuerdo con el tratamiento empleado. En este grafico de intervalos tenemos en el eje de las abscisas (X) los tratamientos y en el eje de las ordenadas (Y) el tiempo que transcurrió en la cicatrización de heridas, donde se entiende que el tratamiento con mejor resultado fue el gel de *K. pinnata* a una concentración de 300 ppm, ya que tardó en cicatrizar nueve días. Seguido del grupo control con aproximadamente 10 días de tratamiento.

Por lo tanto, según el test estadístico ANOVA y TUKEY aplicado al tiempo de cicatrización de la herida, el tratamiento que obtuvo mejor resultado sobre el efecto terapéutico fue el gel a 300 ppm por su menor tiempo de cicatrización y su similitud con el ungüento herbal MEBO 0.25 %  $\beta$ -sitoesterol.

En esta investigación experimental se ha demostrado científicamente que las hojas de *Kalanchoe pinnata* si presentan actividad cicatrizante, lo cual favorece a la curación pronta de heridas. Debido que posee varios metabolitos como compuestos grasos ( $\beta$ - sitosterol) alcaloides (fenantreno), triterpenos y esteroides, catequinas, azúcares reductores, compuestos fenólicos y taninos, flavonoides (quercetina) y antocianidinas; que intervienen en la cicatrización, disminuyendo el dolor, la inflamación y acelerando el proceso.

Por lo tanto, se ha comprobado el uso tradicional de esta planta en las tribus antiguas (Sionas e indígenas del oriente ecuatoriano) estas poblaciones utilizabas el zumo de las hojas para el tratamiento de afecciones como heridas, golpes, quemaduras, dolores de cabeza, fiebre y picaduras de insectos, calentaban las hojas y se colocaban sobre laceraciones o golpes, y realizaban infusiones de las hojas para huesos rotos y contusiones internas (Villamizar et al., 2014, pp. 5).

## CONCLUSIONES

- El análisis macro-morfológico permitió identificar que es una planta perenne y suculenta, con hojas carnosas, almacenan grandes cantidades de agua y tienen reproducción vegetativa. Las flores tienen forma de campana, el tallo presenta unas pequeñas hendiduras y la raíz es fasciculada. En el micro-morfológico se identificó parénquima clorofílico en empalizada y lagunar, tejido conductor tipo xilema que son las traqueas y del floema los tubos cribosos, estomas anisocíticos y cristales de oxalato de calcio.
- Los resultados del control de calidad de la droga vegetal cruda y del extracto etanólico de las hojas de *Kalanchoe pinnata*, cumplen con los valores de referencia establecidos en la USP #35, por lo que se considera apta para el uso en la investigación. En el análisis microbiológico se determinó crecimiento de Aerobios Mesófilos y ausencia de Coliformes totales, Mohos y Levaduras, por lo que cumple con las especificaciones planteadas en la Norma NTE INEN 2932: 2017 y asegura la calidad del gel por sus condiciones óptimas y no muestra riesgo para la salud.
- Los metabolitos secundarios identificados a través del tamizaje fitoquímico de los extractos etéreo, etanólico y acuoso de las hojas de *Kalanchoe pinnata*, fueron compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, triterpenos, esteroides y azúcares reductores. Los flavonoides, fenoles y taninos poseen respaldo científico sobre su actividad cicatrizante.
- Se evaluó la actividad cicatrizante del extracto etanólico al 70% de las hojas de dulcamara (*Kalanchoe pinnata*) sobre las heridas inducidas en ratones, correlacionándolas con el control positivo (ungüento herbal MEBO 0.25 %  $\beta$ -sitoesterol); demostrando mediante el test ANOVA y TUKEY que el tratamiento con el gel del extracto a una concentración de 300 ppm, tiene mayor eficacia para la cicatrización de heridas, ya que tiene un resultado similar al control positivo y el tiempo de cicatrización es corto a diferencia de los demás tratamientos.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda que la cama (cascara de arroz) utilizada para las cajas de los ratones sea limpia y libre de heces de otros animales, para evitar posibles contaminaciones en las incisiones en los modelos experimentales.
- Realizar estudios determinando las estructuras de los metabolitos de (*Kalanchoe pinnata*) con el propósito de determinar otras actividades farmacológicas.
- Se recomienda realizar estudios similares con otras plantas recolectadas en diferente época del año y localidad, debido a que la composición química de la planta varía de acuerdo con las condiciones geográficas.
- Elaborar una forma farmacéutica adecuada utilizando el extracto etanólico del *Kalanchoe pinnata* para así contribuir con un fitomedicamento que permita tratar heridas y así mejorar la calidad de vida del paciente de forma segura



## BIBLIOGRAFÍA

**AGENCIA EFE.** Un 1 % de la población es susceptible de padecer una herida crónica. [En línea]. Logroño, 2016. [Consultado 2 octubre 2022]. Recuperado a partir de: [https://www.eldiario.es/sociedad/poblacion-susceptible-padecer-herida-cronica\\_1\\_4010163.html](https://www.eldiario.es/sociedad/poblacion-susceptible-padecer-herida-cronica_1_4010163.html)

**ALCEDO, C., LOPEZ, K., LOZADA, D., SEMINARIO, R., CUEVA R., & ROBLES, P.** Efecto cicatrizante del ungüento de *Dodonaea viscosa Jacq.* “Chamisa” en ratones Balb/C 53. *Revista Científica Ágora.* [En línea]. 2017. Vol. 04, no. 02, pp. 1–5. [Consultado 2 octubre 2022]. Recuperado a partir de: <https://www.revistaagora.com/index.php/cieUMA/article/view/63/63>

**ANDRADES, P., & SEPÚLVEDA, S.** Cicatrización normal. *Cirugía Plástica Esencia.* [En línea]. 3 mayo 2011. Vol. 2, pp. 19–29. [Consultado 1 mayo 2022]. Recuperado a partir de: [www.secpre.org](http://www.secpre.org)

**ARENAS, J.** Las heridas y su cicatrización. *Offarm.* [En línea]. 2003. Vol. 22, no. 5, pp. 126–132. [Consultado 29 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-las-heridas-su-cicatrizacion-13047753>

**AVELLO, M., & CISTERNAS, I.** Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Rev Med Chile.* [En línea]. 30 junio 2010. Vol. 138, pp. 1288–1293. [Consultado 29 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v138n10/art%2014.pdf>

**BAYONA, A., & PEÑA, D.** Evaluación farmacognóstica y antioxidante “*in vitro*” del extracto etanólico de la hoja del aire (*Kalanchoe pinnata*). [En línea]. 2017 Guayaquil. [Consultado 9 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/23009/1/BCIEQ-T-0225%20Bayona%20Pinto%20Aldo%20Pa%C3%BA1%3B%20Pe%C3%B1a%20Zambrano%20Daniel%20Leoncio.pdf>

**BERDONCES, J.** Historia de la fitoterapia. *NATURA MEDICATRIX.* 2003. Vol. 21, no. 3, pp. 142–152.

**BERMÚDEZ, A., OLIVEIRA, M., & VELÁZQUEZ, D.** La Investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia.* [En línea].

2005. Vol. 30, no. 8, pp. 453–459. [Consultado 30 septiembre 2022]. Recuperado a partir de: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442005000800005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005000800005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**BHAVSAR, S., ZAVERI, M., & CHANDEL, D.** A comparative pharmacognostical and phytochemical analysis of *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. leaf extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. [En línea]. 19 julio 2018. Vol. 7, no. 5, pp. 1519–1527. [Consultado 30 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <https://www.researchgate.net/publication/328063857>

**BORRÁEZ, B., DÍAZ, M., & RAMÍREZ, C.** *Fundamentos de Cirugía General*. [En línea]. 2020 Pereira, Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira. [Consultado 29 diciembre 2021]. ISBN 978-958-722-395-8. Recuperado a partir de: <https://core.ac.uk/download/pdf/288158026.pdf#page=43>

**BOSCH, A.** Las heridas y su tratamiento | Offarm. *Offarm - Farmaceutica*. [En línea]. julio 2001. Vol. 20, no. 7, pp. 89–92. [Consultado 1 mayo 2022]. Recuperado a partir de: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-las-heridas-su-tratamiento-13018317>

**BRACKA, R.** *Manual de instrucciones - RADWAG*. [En línea]. mayo 2012. Torunsk: RADWAG. LMI-51-. [Consultado 29 noviembre 2022]. Recuperado a partir de: <https://www.yumpu.com/es/document/read/13145985/manual-de-instrucciones-radwag>

**CALVOPIÑA, G.** Determinación de la actividad antibacteriana de las hojas de *Kalanchoe pinnata* (siempreviva). [En línea]. 2010 Latacunga. [Consultado 8 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/869/1/T-UTC-1207.pdf>

**CARTAYA, O & REYNALDO, I.** Flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*. [En línea]. 2001. Vol. 22, no. 2, pp. 5–14. [Consultado 30 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>

**CASIGNIA, M.** “Comparación del efecto cicatrizante de las tinturas elaboradas a base de matico (*Eupatorium glutinosum*) y acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) aplicado en ratones (*Mus musculus*)”. [En línea]. 2011 Riobamba: Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. [Consultado 2 octubre 2022]. Recuperado a partir de: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/3998/1/56T00524%20UDCTFC.pdf>

**CASTELO, W., GARCÍA, S., & VIÑAN, J.** Cuidado humanizado de enfermería a pacientes con pie diabético del Hospital General Santo Domingo- Ecuador. *Archivo Médico Camagüey*. [En línea]. 2 diciembre 2020. Vol. 24, no. 6, pp. 801–813. [Consultado 5 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <http://revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/7169>

**CAWICH, S., HARNARAYAN, P., BUDHOORAM, S., BOBB, N., ISLAM, S., & NARAYNSINGH, V.** Wonder of Life (*Kalanchoe pinnata*) leaves to treat diabetic foot infections in Trinidad & Tobago: a case control study. *Tropical doctor*. [En línea]. 2014. Vol. 44, no. 4, pp. 209–213. [Consultado 14 diciembre 2021]. DOI 10.1177/0049475514543656.

**COUTINHO, M.** Wound healing cream formulated with *Kalanchoe pinnata* major flavonoid is as effective as the aqueous leaf extract cream in a rat model of excisional wound. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1817012>. [En línea]. 2020. Vol. 35, no. 24, pp. 6034–6039. [Consultado 18 julio 2022]. DOI 10.1080/14786419.2020.1817012.

**CUCURÍ, M.,** “Determinación de la actividad antiinflamatoria de *Kalanchoe pinnata* mediante inhibición de edema plantar inducido por carragenina en ratas (*Rattus norvegicus*)”. [En línea]. 2017, Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [Consultado 12 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6702/1/56T00715.pdf>

**DANTAS, E.,** Local anti-inflammatory activity: Topical formulation containing *Kalanchoe brasiliensis* and *Kalanchoe pinnata* leaf aqueous extract. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 1 mayo 2019. Vol. 113, pp. 108721. DOI 10.1016/J.BIOPHA.2019.108721.

**ESTEVA, E.** El tratamiento de las heridas. *Offarm*. [En línea]. 1 septiembre 2006. Vol. 25, no. 8, pp. 54–60. [Consultado 26 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-tratamiento-heridas-13094127>

**FERNÁNDEZ, V., MUÑOZ, V., FORNES, B., & GARCIA, M.,** La cicatrización de las heridas. *Enfermería Dermatológica*. [En línea] 2008. Vol. 2, no. 3, pp. 8–15. [Consultado 27 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4606613&info=resumen&idioma=SPA>

**FUENTES, F., MENDOZA, R., ROSALES, A., & CISNEROS, R.,** Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón [En línea]. 2018 Lima. [Consultado 5 mayo 2022]. ISBN 9789972857690. Recuperado a partir de: [www.ins.gob.pe](http://www.ins.gob.pe)

**FÜRER, K., SIMÕES, A., VON, U., HAMBURGER, M., & POTTERAT, O.,** *Bryophyllum pinnatum* and Related Species Used in Anthroposophic Medicine: Constituents, Pharmacological Activities, and Clinical Efficacy. *Planta medica*. [En línea]. 1 julio 2016. Vol. 82, no. 11–12, pp. 930–941. [Consultado 6 diciembre 2021]. DOI 10.1055/S-0042-106727.

**GALLEGOS, M., & GALLEGOS, D.,** Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*. [En línea]. 30 noviembre 2017. Vol. 78, no. 3, pp. 315–321. [Consultado 5 diciembre 2021]. DOI 10.15381/ANALES.V78I3.13767.

**GARCÍA, F., GAGO, M., CHUMILLA, S., GAZTELU, V.,** Abordaje de enfermería en heridas de urgencias. *Gerokomos*. [En línea]. 2013. Vol. 24, no. 3, pp. 132–138. [Consultado 3 diciembre 2021]. DOI 10.4321/S1134-928X2013000300007.

**GARCÍA, J., & HURLÉ, J.,** Anatomía humana. 2005 primera. Madrid. ISBN 84-486-0522-5.

**GARCÍA, L., ROJO, D., GARCÍA V., & HERNÁNDEZ, M.,** Plantas con propiedades antiinflamatorias. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. [En línea]. septiembre 2002. Vol. 21, no. 3. [Consultado 30 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002002000300012&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002002000300012&script=sci_arttext&tlng=pt)

**GONZALES, A.,** Raíz. *Botánica Morfológica*. [En línea]. 2013. [Consultado 6 agosto 2022]. Recuperado a partir de: [www.biologia.edu.ar/botanica](http://www.biologia.edu.ar/botanica)

**GONZÁLEZ, R.,** Modelos experimentales para la evaluación de la acción cicatrizante de medicamentos. *Revista Cubana de Farmacia*. 15 mayo 2002. Vol. 36, no. 3, pp. 189–196.

**INEC.** Estadísticas Vitales. *Presentación de PowerPoint*. [En línea]. 2020. [Consultado 5 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion\\_y\\_Demografia/Defunciones\\_Generales\\_2020/2021-06-10\\_Principales\\_resultados\\_EDG\\_2020\\_final.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion_y_Demografia/Defunciones_Generales_2020/2021-06-10_Principales_resultados_EDG_2020_final.pdf)

**JARA, E.,** Prevención de Infecciones Puerperales con Churiyuyo (*Kalanchoe pinnata*), una experiencia de las Parteras Tradicionales en Napo Ecuador. *La U Investiga*. [En línea]. 30 junio 2016. Vol. 3, no. 1, pp. 89–96. [Consultado 9 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <http://revistasoj.sj.uta.edu.ec/index.php/lauinvestiga/article/view/226>

**JARIĆ, S., KOSTIĆ, O., MATARUGA, Z., PAVLOVIĆ, D., PAVLOVIĆ, M., MITROVIĆ, M., & PAVLOVIĆ, P.,** Traditional wound-healing plants used in the Balkan region (Southeast Europe). *Journal of Ethnopharmacology*. 30 enero 2018. Vol. 211, pp. 01–63. DOI 10.1016/J.JEP.2017.09.018.

**KHAN, M., PATIL, P., & SHOBHA, J.,** Influence of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) leaf extract on wound healing in albino rats. *JOURNAL OF NATURAL REMEDIES*. [En línea]. 2004. Vol. 4, no. 1, pp. 41–46. [Consultado 7 agosto 2022]. Recuperado a partir de: [https://www.researchgate.net/publication/260320934\\_Influence\\_of\\_Bryophyllum\\_pinnatum\\_Lim\\_Leaf\\_Extract\\_on\\_Wound\\_Healing\\_in\\_Albino\\_Rats](https://www.researchgate.net/publication/260320934_Influence_of_Bryophyllum_pinnatum_Lim_Leaf_Extract_on_Wound_Healing_in_Albino_Rats)

**KUMAR, S., CHOWDHURY, A., DAS, J., HOSEN, Z., UDDIN, R., & SHAHEDUR, R.,** A review of the traditional medicinal uses of *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae). *International Journal of Pharmacy and Pharmacology*. [En línea]. 2020. Vol. 10, no. 1, pp. 001–005. [Consultado 5 agosto 2022]. Recuperado a partir de: <https://www.internationalscholarsjournals.com/articles/a-review-of-the-traditional-medicinal-uses-of-kalanchoe-pinnata-crassulaceae.pdf>

**MAJAZ, Q.,** The miracle plant (*kalanchoe pinnata*): a phytochemical and pharmacological review. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*. [En línea]. 2011. Vol. 2, no. 5, pp. 1478–1482. [Consultado 5 mayo 2022]. Recuperado a partir de: [www.ijrap.net](http://www.ijrap.net)

**MARIEB, E.,** *Anatomía y Fisiología Humana*. Novena. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN S.A.

**MATTHEW, S., KUMAR J., A., JAMES, M., MATTHEW, C., & BHOWMIK, D.,** Analgesic And Anti-Inflammatory Activity of *Kalanchoe Pinnata* (Lam.) Pers. *Journal of Medicinal Plants Studies Year*. [En línea]. 2013. No. 1. [Consultado 30 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: [www.plantsjournal.com](http://www.plantsjournal.com)

**MESA, M., RAMÍREZ, M, AGUILERA, C., RAMÍREZ, A., & GIL, A.,** Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los cucuminoides. *Ars pharm*. julio 2000. Vol. 41, no. 3, pp. 307–321.

**NAYAK, B., MARSHALL, J., & ISITOR, G.,** Wound healing potential of ethanolic extract of *Kalanchoe pinnata* Lam. leaf--a preliminary study. *Indian journal of experimental biology*. junio 2010. Vol. 48, no. 6, pp. 572–6.

**OBREGÓN, Y., PÉREZ, A., OBREGÓN, K., APARICIO, R., ROJAS, L., USUBILLAGA, A., & CARMONA, J.,** Volatile Constituents of the Leaves of *Kalanchoe pinnata* From the Venezuelan Andes. *Natural Product Communications*. 27 mayo 2019. Vol. 14, no. 5, pp. 1–3. DOI 10.1177/1934578X19842703.

**OKWU, D., & NNAMDI, F.,** Novel antimicrobial phenanthrene alkaloid from bryopyllum pinnatum. *E-Journal of Chemistry*. 2011. Vol. 8, no. 3, pp. 1456–1461. DOI 10.1155/2011/972359.

**OMS,** *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023*. 1. ISBN 9789243506098.

**ORTUÑO, M.,** *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes - Manuel Francisco Ortuño Sánchez - Google Libros*. [En línea]. 2006. Madrid. [Consultado 5 mayo 2022]. Recuperado a partir de: <https://books.google.com.pr/books?id=cW5TsDKqx9wC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>

**PAREDES, D., BUENAÑO, M., & MANCERA, N.,** Use of medicinal plants in the san jacinto community - ventanas municipality, los ríos – ecuador. *U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. [En línea] junio 2015. Vol. 18, no. 1, pp. 39–50. [Consultado 12 septiembre 2022]. Recuperado a partir de: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v18n1/v18n1a06.pdf>

**PENNACCHIO, Len A.,** Insights from human/mouse genome comparisons. *Mammalian genome: official journal of the International Mammalian Genome Society*. [En línea]. 1 julio 2003. Vol. 14, no. 7, pp. 429–436. [Consultado 7 junio 2022]. DOI 10.1007/S00335-002-4001-1.

**QUIÑONES, M., MIGUEL, M., & ALEIXANDRE, A.,** Revisión Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*. 2012. Vol. 27, no. 1, pp. 76–89. DOI 10.3305/nh.2012.27.1.5418.

**RAHMAN, R., AL-SABAHI, J., GHAFAR, A., NADEEM, F., & UMAR, A.,** Phytochemical, morphological, botanical, and pharmacological aspects of a medicinal plant: *Kalanchoe pinnata*-A review article. *IJCBS*. [En línea]. 2019. Vol. 16, pp. 5. [Consultado 20 julio 2022]. Recuperado a partir de: [www.iscientific.org/Journal.html](http://www.iscientific.org/Journal.html)

**RAJSEKHAR, P., BHARANI, R., RAMACHANDRAN, M., ANGEL, K., PRIYA, S., & RAJSEKHAR, V.,** The “Wonder Plant” *Kalanchoe pinnata* (Linn.) Pers.: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. [En línea]. 2016. Vol. 6, no. 03, pp. 151–158. [Consultado 2 octubre 2022]. DOI 10.7324/JAPS.2016.60326.

**RAMÍREZ, G.,** Fisiología de la cicatrización cutánea. *Revista Facultad de Salud - RFS*. junio 2010. Vol. 2, no. 2, pp. 69–78.

**ROMERO, W., BATISTA, Z., LUCCA, M., RUANO, A., GARCÍA, M., RIVERA, M., GARCÍA, J., & SÁNCHEZ, S.,** El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. [En línea]. 1 abril 2016. Vol. 33, no. 2, pp. 288–299. [Consultado 4 enero 2022]. DOI 10.17843/RPMESP.2016.332.2169.

**SALADIN, K.,** Anatomía fisiología “La unidad entre forma y función”. Sexta. México, D. F: Salas, Emilio.

**SALEM, C., PÉREZ, J., HENNING, E., UHEREK, F., SCHULTZ, C., BUTTE, J., & GONZÁLEZ, P.,** Heridas. Conceptos generales. *Cuadernos de Cirugía*. [En línea]. 14 mayo 2000. Vol. 14, no. 1, pp. 90–99. [Consultado 26 diciembre 2021]. DOI 10.4206/CUAD.CIR.2000.V14N1-15.

**SANTOS, S., ZURFLUH, L., MENNET, M., POTTERAT, O., MANDACH, U., HAMBURGER, M., & SIMÕES, A.,** *Bryophyllum pinnatum* Compounds Inhibit Oxytocin-Induced Signaling Pathways in Human Myometrial Cells. *Frontiers in pharmacology*. [En línea]. 18 febrero 2021. Vol. 12. [Consultado 2 mayo 2022]. DOI 10.3389/FPHAR.2021.632986.

**SIMÕES, A., LAPAIRE, O., HÖSLI, I., WÄCHTER, R., FÜRER, K., SCHNELLE, M., MENNET, M., SEIFERT, B., & MANDACH, U.,** Two Randomised Clinical Trials on the Use of *Bryophyllum pinnatum* in Preterm Labour: Results after Early Discontinuation. *Complementary Medicine Research*. [En línea]. 1 septiembre 2018. Vol. 25, no. 4, pp. 269–273. [Consultado 2 mayo 2022]. DOI 10.1159/000487431.

**SOARES, M., MARQUES, L., DOS, L., LEAL, D., PALMERO, C., TOMA, H., PEREIRA, E., NASCIUTTI, L., & SOARES, S.,** Wound healing cream formulated with *Kalanchoe pinnata* major flavonoid is as effective as the aqueous leaf extract cream in a rat model of excisional wound. *Natural product research*. [En línea]. 2021. Vol. 35, no. 24. [Consultado 14 diciembre 2021]. DOI 10.1080/14786419.2020.1817012.

**TORRA, J.**, Incidencia, tipología y medidas de prevención y tratamiento de las lesiones cutáneas asociadas al uso de EPI en profesionales sanitarios durante la pandemia de COVID-19 en España. Estudio colaborativo GNEAUPP-Cátedra de estudios avanzados en heridas GNEAUPP - FSJJ - Universidad de Jaén. *Gerokomos*. [En línea]. 1 marzo 2021. Vol. 32, no. 1, pp. 32–42. [Consultado 3 diciembre 2021]. DOI 10.4321/S1134-928X2021000100009.

**TORTORA, G., & DERRICKSON, B.**, *Principios de Anatomía y Fisiología*. 2016 - 13era. México, D. F: Editorial Médica Panamericana .S.A. DE C.V.

**TRESGUERRES, A., VILLANÚA, Á., & LÓPEZ, A.**, 2008. *Anatomía y fisiología del CUERPO HUMANO*. Primera. Madrid. ISBN 987-84-481-6890-2.

**TROIANI, H., PRIMA, A., MUIÑO, W., TAMAME, M., & BEINTICINCO, L.**, *Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía*. [En línea]. 2017 La Pampa - Argentina. [Consultado 6 agosto 2022]. ISBN 978-950-863-321-7. Recuperado a partir de: <http://www.unlpam.edu.ar/images/extension/edunlpam/QuedateEnCasa/botanica-morforlogia-taxonomia-y-fitogeografia.pdf>

**TUBON, I.**, *Clinopodium tomentosum (Kunth)* Govaerts Leaf Extract Influences in vitro Cell Proliferation and Angiogenesis on Primary Cultures of Porcine Aortic Endothelial Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020. Vol. 2020. DOI 10.1155/2020/2984613.

**VALENCIA, C.**, Cicatrización: proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas Artículo de Revisión. *Investigaciones Andina*. 2010. Vol. 12, no. 20, pp. 85–98.

**VICKERS, A., ZOLLMAN, C. & LEE, R.**, Herbal medicine. *The Western Journal of Medicine*. [En línea]. agosto 2001. Vol. 175, no. 2, pp. 128. [Consultado 29 diciembre 2021]. DOI 10.1136/EWJM.175.2.125.

**VÍLCHEZ, H., INOCENTE, M., & FLORES, O.**, Actividad cicatrizante de seis extractos hidroalcohólicos de plantas en heridas incisas de *Rattus norvegicus albinus*. *Revista Cubana de Medicina Militar*. [En línea]. 2020. Vol. 49, no. 1, pp. 14. [Consultado 18 julio 2022]. Recuperado a partir de: <http://www.revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/489/448>



**VILLA, D., OSORIO, M., & VILLACIS, N.,** 2020. Extracción, propiedades y beneficios de los mucílago. *Dominio de las Ciencias*. 16 abril 2020. Vol. 6, no. 2, pp. 503–524. DOI 10.23857/DC.V6I2.1181.

**WET, H., NZAMA, V., & VUUREN, S.,** Medicinal plants used for the treatment of sexually transmitted infections by lay people in northern Maputaland, KwaZulu–Natal Province, South Africa. *South African Journal of Botany*. [En línea]. 2012. Vol. 78, pp. 12–20. DOI 10.1016/J.SAJB.2011.04.002.

**YEUNG, S., HERNANDEZ, M., MAO, J., HAVILAND, I., & GUBILI, J.,** Herbal medicine for depression and anxiety: A systematic review with assessment of potential psycho-oncologic relevance. *Phytotherapy research : PTR*. [En línea]. 1 mayo 2018. Vol. 32, no. 5, pp. 865–891. [Consultado 2 octubre 2022]. DOI 10.1002/PTR.6033.

**ZARATE, G., PIÑA, S., & ZARATE, A.,** Clasificación de las heridas. Autores. *Manual de heridas y suturas*. 2020. Vol. 1, no. 1, pp. 1–9.

**ZAVALA, A., BENZAQUEN, R., MALAVÉ, E., SÁENZ, A., CALEBOTTA, A., & RIVERO, A.,** Cicatrización de las heridas. *Dermatología Venezolana*. [En línea]. 2009. Vol. 47, no. 3 y 4, pp. 8–12. [Consultado 27 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <http://revista.svderma.org/index.php/ojs/article/view/20>

**ZEAS, I., & ORDÓÑEZ, M.** *Dermatología básica para el médico general*. [En línea]. 2016 Primera. Cuenca. [Consultado 20 diciembre 2021]. ISBN 978-9978-14-333-9. Recuperado a partir de: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26151/3/DERMATOLOGIA%20BASICA.pdf>

## ANEXOS

### ANEXO A: CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DEL HERBARIO DE LA ESPOCH.

	<b>HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)</b> ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL CHIMBORAZO Panamericana sur Km 1, fono: (03) 2 998-200 ext. 700123, jcaranqui@yahoo.com Kiobamba Ecuador
<b>Ofc.No.038.CHEP.2021</b>	
1 de diciembre del 2021	
<b>Msc. Karen Acosta</b>	
<b>RESPONSABLE TÉCNICA</b>	
<b>CONTRATO MARCO DE ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS</b>	
<p>Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente certifico que dentro del Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos asignado con el : Nro-MAE-DNB-CM-2018-0086. que la señorita Bayas Sánchez Martha Guadalupe con CI: 1804985370, tesista de Bioquímica y Farmacia, se identificó: <i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Kurz. Esta especie es cultivada , se revisó en el herbario y se archivarán en el lapso de un año para los fines pertinentes. Es todo cuanto puedo decir en honor a la verdad y la interesada puedo usar el presente certificado como crea conveniente</p>	
Atte.	<p><b>JORGE MARCELO CARANQUI ALDAZ</b></p> <p>Firmado digitalmente por JORGE MARCELO CARANQUI ALDAZ Fecha: 2021.12.01 11:42:33 -05'00'</p> <p>Ing. Jorge Caranqui Msc. BOTANICO HERBARIO ESPOCH</p>
<b>FACULTAD DE RECURSOS NATURALES</b>	

**ANEXO A: RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.**



**ANEXO B: SELECCIÓN Y SECADO DE LAS HOJAS DE *Kalanchoe pinnata*.**



**ANEXO C: MOLIENDA DEL MATERIAL VEGETAL SECO.**



**ANEXO D: ANÁLISIS MACROSCÓPICO Y MICROSCÓPICO DE LA PLANTA *Kalanchoe pinnata*.**



## ANEXO E: DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

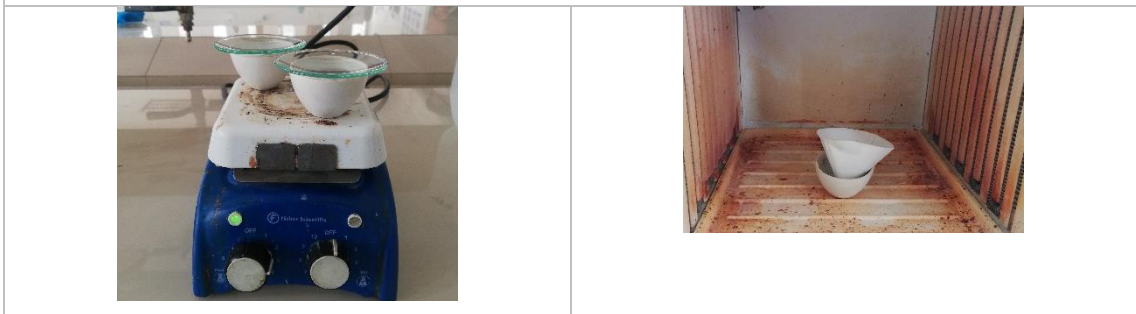


## ANEXO F: DETERMINACIÓN DE CENIZAS.

### CENIZAS TOTALES








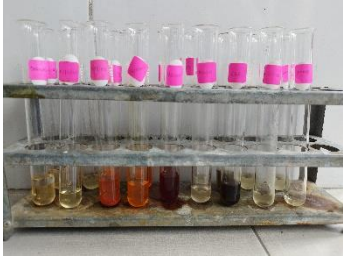


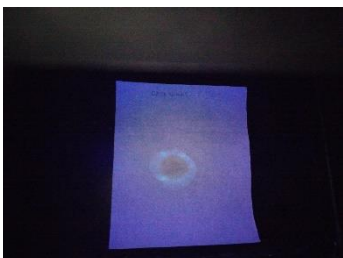
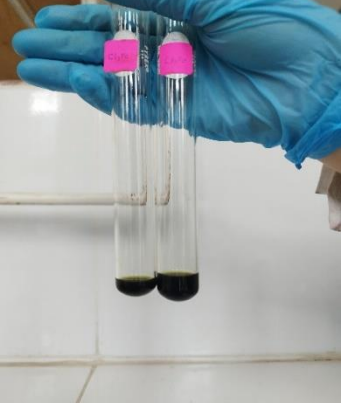

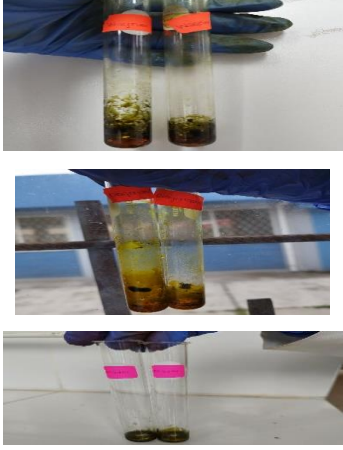
### CENIZAS SOLUBLES EN AGUA



### CENIZAS INSOLUBLES EN HCL



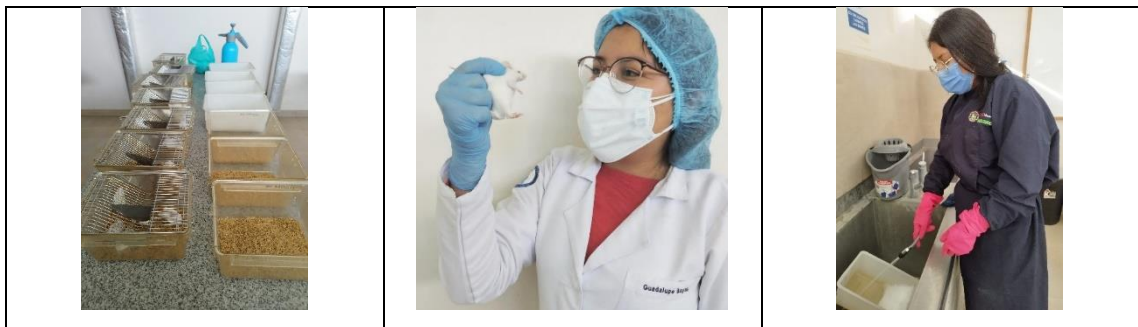
**ANEXO G: TAMIZAJE FITOQUÍMICO.**

	 <p><b>Extractos filtrados</b></p>	
 <p><b>Extracto etéreo</b></p>	 <p><b>Extracto alcohólico</b></p>	 <p><b>Extracto acuoso</b></p>
 <p><b>Liebermann–Burchard</b> (Triterpenos y esteroides)</p>	 <p><b>Sudan</b> (Lípidos)</p>	 <p><b>Catequinas</b> (Catequinas)</p>
 <p><b>Tricloruro férrico</b> (Compuestos fenólicos y taninos)</p>	 <p><b>Shinoda</b> (Flavonoides)</p>	 <p><b>Alcaloides</b> (Dragendorff, Mayer, Wagner)</p>

**ANEXO H: CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO.**



**ANEXO I: AMBIENTACIÓN DE MODELOS EXPERIMENTALES.**



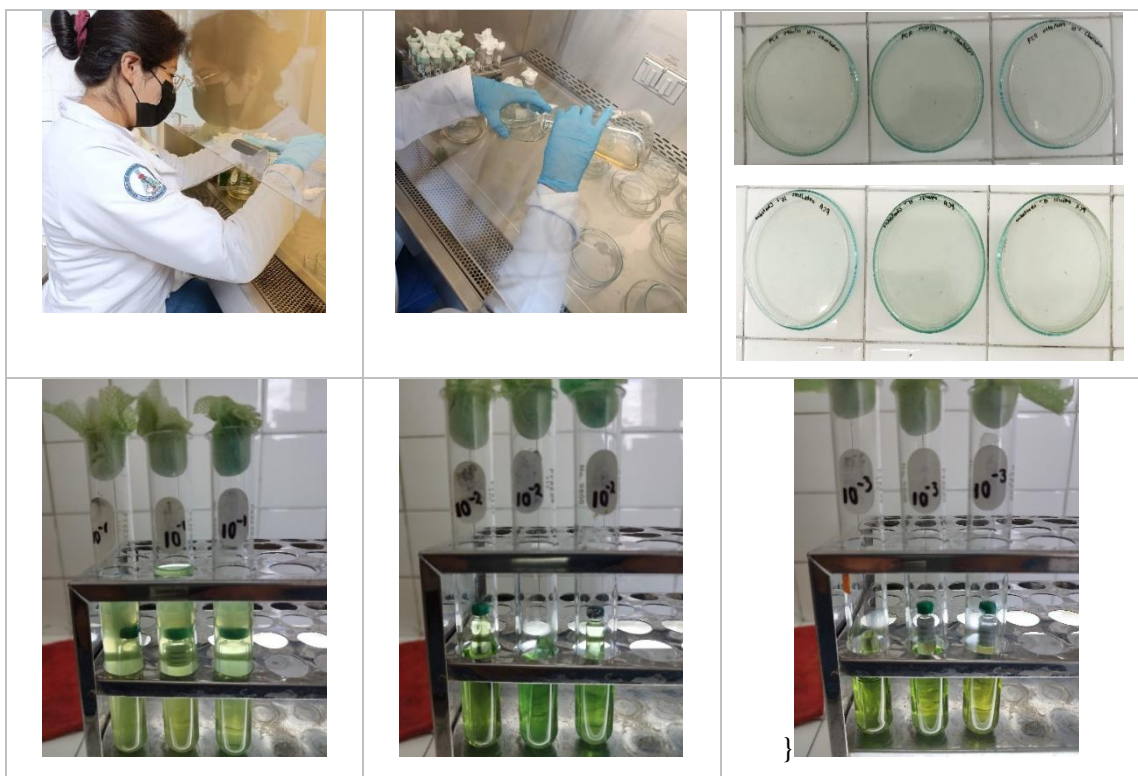
**ANEXO J. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO LIOFILIZADO.**



## ANEXO K: PREPARACIÓN DE GELES.



## ANEXO L: CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS GELES.



## ANEXO M: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE.

