



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“EVALUACIÓN *in vivo* DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Clinopodium tomentosum* (Kunth) EN  
LESIONES INDUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)”.**

**TRABAJO DE TITULACIÓN:**

TIPO TRABAJO EXPERIMENTAL

Presentado para optar por el grado académico de:

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR: JOSÉ CARLOS VÉLEZ SICHA**

**DIRECTORA: DRA. SUSANA DEL PILAR ABDO LOPÉZ M.Sc**

Riobamba-Ecuador

2019

**®2019, José Carlos Vélez Sicha**

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

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

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: Tipo Trabajo Experimental “**EVALUACIÓN *in vivo* DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Clinopodium tomentosum* (Kunth) EN LESIONES INDUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)**”, de responsabilidad del señor José Carlos Vélez Sicha, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

**NOMBRE**

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Susana del Pilar Abdo López M.Sc

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTORA DEL TRABAJO**

**DE TITULACIÓN**

BQF. Cecilia Toaquiza

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Yo, José Carlos Vélez Sicha, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de titulación; y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación, pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

---

**José Carlos Vélez Sicha**

## **DEDICATORIA**

A Dios quien ha sido mi soporte y mi guía en cada aspecto de mi vida ya que EL no ha soltado mi mano a pesar de todas las dificultades que he tenido que atravesar.

A mi mamá Zoila, ya que ella ha sido apoyo fundamental en todo mi trayecto educativo, ya que cuando quería dejarlo todo, su amor y comprensión siempre me impulsaron a continuar y seguir adelante.

A mi papá y mis hermanos Mayra, Nidia, Leslin, Alexis, Andrés, Isleny ya que ellos siempre con su ánimo, paciencia y comprensión me apoyaron para alcanzar esta meta tan anhelada a pesar de no estar siempre cerca de mí.

A mis amigos y compañeros que de igual manera mostraron siempre su apoyo incondicional con una palabra o un abrazo alentaban mi alma a poder continuar en la carrera de alcanzar esta meta.

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero agradecer primeramente a Dios por darme la vida y haberme cuidado, guiado y bendecido durante todas las etapas de mi vida y mucho más durante la etapa estudiantil, permitiendo que a pesar de las dificultades encontradas este sueño al fin se haya podido hacer realidad.

Agradecer a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por haberme permitido enriquecerme de conocimiento en sus aulas, lo cual me permitirá ser un profesional de excelencia, llevando siempre en alto el nombre de mi querida Escuela.

Agradecer infinitamente a la Dra. Susana Abdo por ser parte importante de este logro, que aparte de ser mi Tutora de Tesis ha sido como una amiga que con paciencia, siempre ha estado apoyándome y levantando el ánimo durante todo este proceso de investigación. A la BQF. Cecilia Toaquiza por haber brindado su apoyo en el desarrollo de este trabajo de investigación con su conocimiento profesional.

A mis padres y hermanos por ser la parte fundamental de mi vida y por jamás haberme dejado y siempre haber mantenido su fe en mí, ya que sin ellos este logro jamás se podría dar.

A mis amigos y compañeros que también con su compañía y palabras de ánimo me hicieron seguir adelante.

José

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

1.	MARCO TEORICO .....	3
1.1.	La piel.....	3
1.1.1.	Epidermis .....	4
1.1.2.	Dermis .....	6
1.1.3.	La Hipodermis.....	8
1.2.	Herida .....	8
1.2.1.	Clasificación de las heridas.....	8
1.3.	Cicatrización .....	10
1.3.1.	Fases de la Cicatrización.....	11
1.3.2.	Tipos de cicatrización.....	12
1.3.3.	Cicatrización Patológica.....	13
1.3.4.	Factores que influyen en la cicatrización.....	14
1.4.	Compuestos cicatrizantes y regeneradores.....	15
1.5.	Clinopodium.....	18
1.5.1.	Clasificación Taxonómica.....	18
1.5.2.	Familia Lamiaceae.....	18
1.5.3.	Genero Clinopodium.....	19
1.5.4.	Hábitat .....	19
1.5.5.	Usos medicinales .....	19
1.5.6.	Usos Etnobotánicos .....	20
1.5.7.	Estudios realizados.....	20

### CAPITULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO .....	23
2.1.	Lugar de investigación .....	23
2.2.	Recolección del material vegetal .....	23
2.3.	Reactivo biológico.....	23

2.5.	Equipos, materiales y reactivos.....	24
2.5.1.	<i>Equipos</i> .....	24
2.5.2.	<i>Materiales</i> .....	25
2.5.3.	<i>Reactivos</i> .....	26
2.6.	Técnicas y métodos.....	27
2.6.1.	<i>Identificación botánica</i> .....	28
2.6.2.	<i>Acondicionamiento del material vegetal</i> .....	28
2.6.3.	<i>Control de calidad del material vegetal</i> .....	28
2.6.4.	<i>Tamizaje fitoquímico</i> .....	31
2.6.5.	<i>Obtención del extracto etanólico de <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth)</i> ....	33
2.6.6.	<i>Control de calidad del extracto etanólico</i> .....	33
2.6.7.	<i>Cuantificación de fenoles totales</i> .....	33
2.6.8.	<i>Cuantificación de flavonoides totales</i> .....	34
2.6.9.	<i>Ensayo de la actividad antioxidante (Método DPPH*)</i> .....	34
2.6.10.	<i>Control microbiológico</i> .....	35
2.6.11.	<i>Determinación de la actividad cicatrizante</i> .....	35

### CAPITULO III

3.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	38
3.1.	Control de calidad del material vegetal .....	38
3.2.	Tamizaje Fitoquímico .....	38
3.3.	Control de calidad del extracto de <i>Clinopodium tomentosum</i> .....	40
3.4.	Cuantificación de Fenoles Totales.....	40
3.5.	Cuantificación de Flavonoides Totales .....	41
3.6.	Ensayo de actividad antioxidante .....	41
3.7.	Control microbiológico.....	42
3.8.	Evaluación de la actividad cicatrizante .....	43
3.9.	Análisis estadístico.....	46
3.10.	Examen histopatológico.....	48
	CONCLUSIONES .....	49
	RECOMENDACIONES .....	50
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Taxonomía perteneciente a <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth).....	18
<b>Tabla 1-2:</b> Equipos de laboratorio utilizados en la investigación .....	24
<b>Tabla 2-2:</b> Reactivos de laboratorio empleados en la investigación .....	26
<b>Tabla 3-2:</b> Distribución de los grupos de investigación .....	36
<b>Tabla 1-3:</b> Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth).....	41
<b>Tabla 2-3:</b> Resultados del IC <sub>50</sub> .....	42
<b>Tabla 3-3:</b> Control microbiológico de los geles a base de <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) ..	42
<b>Tabla 4-3:</b> Promedio de las longitudes de las heridas (cm) en ratones ( <i>Mus musculus</i> ) .....	43
<b>Tabla 5-3:</b> Promedio del ancho de las heridas (mm) en ratones ( <i>Mus musculus</i> ).....	44
<b>Tabla 6-3:</b> Tiempo de cicatrización de las heridas (días) .....	44
<b>Tabla 7-3:</b> Análisis de Anova de un factor según el tiempo de cicatrización de las heridas .....	46
<b>Tabla 8-3:</b> Análisis estadístico de Tukey según el tiempo de cicatrización de las heridas .....	46
<b>Tabla 9-3:</b> Examen histopatológico de la piel de los ratones ( <i>Mus musculus</i> ) .....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Estructura de la piel .....	3
<b>Figura 2-1:</b> Estructura de la Epidermis .....	5
<b>Figura 3-1:</b> Cicatrización por primera intención .....	12
<b>Figura 4-1:</b> Cicatrización por segunda intención.....	12
<b>Figura 5-1:</b> Cicatrización por tercera intención.....	13
<b>Figura 6-1:</b> Estructura flavonoide con numeración de los ciclos .....	16
<b>Figura 7-1:</b> Clasificación de los Flavonoides .....	16
<b>Figura 8-1:</b> Clinopodium tomentosum (Kunth).....	19
<b>Figura 1-2:</b> Técnicas y métodos empleados en la investigación.....	27
<b>Figura 2-2:</b> Esquema de la extracción en pasos del material vegetal, para realizar los ensayos respectivos correspondientes al tamizaje fitoquímico.....	31
<b>Figura 3-2:</b> Ensayos efectuados en el extracto etéreo .....	32
<b>Figura 4-2:</b> Ensayos efectuados en el extracto alcohólico .....	32
<b>Figura 5-2:</b> Ensayos efectuados en el extracto acuoso.....	32

## ÍNDICE DE GRÁFICO

<b>Gráfico 1-3:</b> Tiempo de cicatrización (días) de los diferentes controles y tratamientos .....	47
---	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexos A.** Recolección del material vegetal *Clinopodium tomentosum* (Kunth)
- Anexos B.** Acondicionamiento de la materia vegetal
- Anexos C.** Control de calidad del material vegetal
- Anexos D.** Tamizaje Fitoquímico
- Anexos E.** Control de Calidad del Extracto Etanólico
- Anexos F.** Obtención del extracto etanólico
- Anexos G.** Cuantificación de Fenoles totales
- Anexos H.** Cuantificación de Flavonoides totales
- Anexos I.** Determinación de la actividad antioxidante
- Anexos J.** Preparación de geles para la evaluación cicatrizante
- Anexos K.** Evaluación de la actividad cicatrizante de los geles a base de los extractos  
*Clinopodium tomentosum* (Kunth)
- Anexos L.** Examen Histopatológico
- Anexos M.** Examen microscópico de las biopsias de piel
- Anexos N.** Identificación de la materia vegetal

## RESUMEN

En el presente trabajo experimental se comprobó la actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas y flores de Pumín (*Clinopodium tomentosum* Kunth) en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*). Se realizó el control de calidad de la materia vegetal seca y del extracto etanólico que se encuentra dentro de los valores referenciales. Los metabolitos encontrados mediante el tamizaje fitoquímico fueron: esteroides, aceites, alcaloides, cumarinas, resinas, triterpenos, saponinas, taninos, fenoles, quinonas y flavonoides. El extracto etanólico se obtuvo por la maceración de las hojas secas y molidas en alcohol al 96%; luego se concentró en un rotavapor hasta sequedad total del solvente. Se realizó la cuantificación de fenoles y flavonoides totales en dichos ensayos se obtuvo 13,853 mgEQ/mL y 1, 731 mgEQ/mL respectivamente los cuales son relativamente bajos. La evaluación de la actividad cicatrizante se realizó mediante la inducción de heridas de 1.5 cm de diámetro el dorso de los ratones, se emplearon 25 ratones machos, los cuales fueron subdivididos en 5 grupos: control negativo, control positivo (ungüento cicatrizante Repitel), y por último las diferentes concentraciones del extracto etanólico (25, 100 y 300 ppm) en un gel base de carbopol. Como resultado de la evaluación cicatrizante el extracto con mayor efecto cicatrizante fue el de 300 ppm de extracto etanólico de *C. tomentosum* ya que este cerró la herida en alrededor de 10 días, en comparación con los demás tratamientos usados como el control positivo que también cerró la herida en 11 días. Es por ello que se recomienda en estudios posteriores analizar otras partes de la planta y el efecto del aceite esencial de *Clinopodium tomentosum* con el fin de determinar si estos puedan tener un mejor efecto cicatrizante y regenerador de la piel.

**Palabras claves:** <BIOQUÍMICA>, <FARMACIA>, <EVALUACIÓN CICATRIZANTE>, <PUMIN (*Clinopodium tomentosum*) (Kunth)>, <EXTRACTO ETANÓLICO>, <CICATRIZACIÓN>, RATONES (*Mus musculus*), <CUANTIFICACIÓN>, <METABOLITOS>

## SUMMARY

In this experimental work, the healing activity of the ethanolic extract of the Leaves and flowers of Pumin (*Clinopodium tomentosum* Kunth) was verified in lesions included in mice (*Mus musculus*). The quality control of the dry plant matter and the ethanolic extract found within the reference values was carried out. The metabolites found by the phytochemicals were: steroids, oils, alkaloids, coumarins, resins, triterpenes, saponins, tannins, phenols, quinones, and flavonoids. The ethanolic extract was obtained by maceration of dried and ground leaves in alcohol at 96%; afterwards it was concentrated on a rotary evaporator up to total solvent dryness.

We performed the quantification of phenols and total flavonoids in these trials were obtained 13.853 MgEQ/ml and 1.731 mgEQ/ml respectively which are relatively low. The evaluations of the mice, 25 male mice were used, which were subdivided into 5 groups: control of the ethanolic extract (25, 100 and 300 ppm) in a carbopol base gel. As a result of the healing evaluation the extract with greater healing effect was the 300 ppm of ethanolic extract of *C. Tomentosum* since this hill wound in about 10 days compared to the other treatments used as the positive control that it was closed the wound in 11 days. For this reason it is recommended in later studies to analyze other parts of the plant and the effect of the essential oil of *Clinopodium tomentosum* in order to determine if these can have a better healing and regenerated effect of the skin.

**Key words:** <BIOCHEMISTRY>, <PHARMACY>, <HEALING EVALUATION>, <PUMIN (*Clinopodium tomentosum*) (Kunth)>, <ETHANOLIC EXTRACT>, <HEALING>, <MICE (*Mus musculus*)>, <QUANTIFICATION, METABOLITES>

## INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales se han usado desde la antigüedad ya que son conocidas sus propiedades curativas de enfermedades, prevenir infecciones, curar heridas, etc, todo esto sin producir efectos secundarios graves para el paciente. De tal manera que la terapia herbal puede ser una alternativa para el tratamiento un gran número de patologías, incluidas las heridas, en la actualidad los estudios científicos están dependiendo cada vez más de la medicina ancestral y están dedicados a encontrar los mecanismos efectivos de las plantas medicinales (Jarić et al., 2018, pp. 2–4).

Según el Cuarto Informe Nacional para el Convenio sobre la Diversidad Biológica, el Ecuador cuenta con una gran biodiversidad de plantas, posee más de 17.058 especies a las cuales a la mayoría se les atribuye propiedades terapéuticas por tal motivo ha llamado la atención de muchos laboratorios extranjeros les con el fin de realizar estudios y determinar plantas medicinales que puedan tener un desarrollo terapéutico para producción de medicamentos (Acosta M, 2012, p. 15).

A menudo diferentes tipos de pacientes adquieren cicatrices ya sea por quemadura, operaciones o ruptura de tejidos por accidentes de diferente índole, es por eso que requieren de un tratamiento efectivo y rápido lo que hace a la cicatrización de heridas un desafío terapéutico. Muchos investigadores médicos buscan mejorar el cuidado de una herida con miras a promover la cicatrización rápida y adecuada, porque la cicatrización es un proceso complejo que incluye un sin número de eventos que resultan de la interrelación de diferentes estructuras celulares (Ferrándiz Foraster, 2014, p. 16).

La cicatrización se denomina como un proceso fisiológico complejo el cual tiene como finalidad la regeneración de la piel, con el objetivo de evitar fallas en la función de barrera de la misma, esto es indispensable para mantener la homeostasis y la integridad general del ser humano (Marsol, 2011, pp. 1–2).

Las plantas del género *Clinopodium* (Lamiaceae) la mayoría son usados con fines medicinales. La gente con conocimiento ancestral lo usan para preparar infusiones debido a su efecto relajante y antiinflamatorio. Estudios fitoquímicos previos en *Clinopodium* ssp. han revelado la presencia de glucósidos flavonoides, fenilpropanoides, oligómeros de ácido cafeico y saponinas. A pesar de su uso en la medicina tradicional ecuatoriana, hasta donde sabemos, no se dispone de datos sobre la composición química o la actividad biológica de las partes aéreas de *C. tomentosum* (Saltos et al., 2014, p. 30).

En Ecuador se han realizado pocos estudios tendentes a comprobar las actividades farmacológicas atribuidas al *Clinopodium tomentosum*, y, es por eso la necesidad de realizar estudios que orienten

a una adecuada utilización de este con fines terapéuticos, en esta investigación se desea Evaluar la actividad cicatrizante que puede contener la planta con el fin de atribuirle nuevos beneficios para la salud de la población, buscando de esta manera una nueva opción natural de cicatrizante para beneficiar al paciente.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar in vivo la actividad cicatrizante del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*).

### **Objetivos Específicos**

- Obtener y Analizar la calidad del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)
- Cuantificar los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en el extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)
- Evaluar actividad cicatrizante de los extractos de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a sus diferentes concentraciones mediante controles farmacológicos e histopatológicos.

## CAPÍTULO I

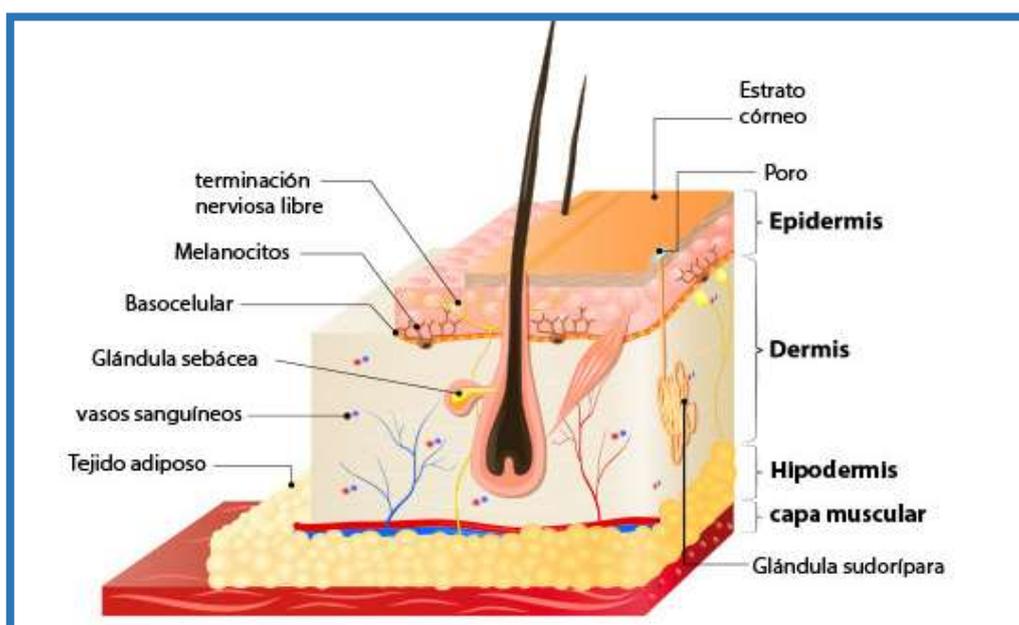
### 1. MARCO TEORICO

#### 1.1. La piel

La piel es fundamental para mantener la vida en un individuo, ya que esta sostiene todo el cuerpo externamente, esta rodea todo el cuerpo. Esta tiene una superficie de 1.6 m y un peso aproximado de 4 kg, el cual es equivalente al 6% de la masa total del cuerpo. La piel es un agente de protección en contra de agentes externos tales como los rayos UV, restringe la entrada de sustancias perjudiciales, una función fundamental es la termorregulación, en etapas de evaporación del sudor, este produce frío produciendo vasodilatación y vasoconstricción en etapas de frío, aumentando o disminución la pérdida de calor (Mojica, 2017, p. 48).

Analizando desde el exterior hacia el interior, podemos distinguir tres capas de tejido, cada una con un origen embriológico diferente o de una capa embriológica distinta:

- Epidermis.
- Dermis
- Hipodermis o tejido subcutáneo (Merino Pérez *et al.*, 2011, p. 1).



**Figura 1-1:** Estructura de la piel

Fuente: (Dermatología, 2015, p. 12)

### **1.1.1. Epidermis**

Epitelio poliestratificado queratinizado del cual nacen los folículos pilosebáceos, las denominadas glándulas sudoríparas y externamente las uñas. Esta capa de piel está constituida por 4 tipos celulares que son: melanocitos, queratinocitos, células fagocíticas de Langerhans y células de Merkel. El ciclo o tiempo de tránsito epidérmico dura unos 30 días (Serna y López, 2010, p. 853).

Esta es la parte superficial de la piel esta se encuentra compuesta por dos grupos de células: células dendríticas y células no dendríticas (queratinocitos). Los queratinocitos se subdividen en capas o estratos los cuales son: (Franco, 2003, p. 129).

- Capa córnea
- Capa lúcida
- Capa granulosa
- Capa espinosa
- Capa basal

#### **1.1.1.1. Epidermis Estructura**

- a) **Capa córnea:** esta capa contiene células no nucleadas, lo cual no permite que estas puedan ser coloreadas y no haga efecto los colorantes de rutina (hematoxilina y eosina), solo coloreándose con eosina. Su espesor varía según el lugar donde se encuentre, sea esta la zona de las palmas (manos) y plantas de los pies (Franco, 2003, p. 130).
- b) **Capa lúcida:** Esta capa no es fácil de identificar o reconocer debido a que solamente se la puede observar como una línea clara y brillante, que se encuentra por encima del estrato granuloso. Esta capa se encuentra conformada por varias capas de células que muestran núcleos imprecisos. Contenido en el citoplasma se encuentra la eleidina, que es una sustancia que se obtiene de la transformación de la queratohialina (Cuba, 2010, p. 1).
- c) **Capa espinosa:** es una de las capas más gruesa de la epidermis, la cual se encuentra compuesta por células poliédricas o aplanadas, que tienen actividad mitótica. Está compuesta por queratinocitos (conocidos como células espinosas, los cuales se interdigitan entre sí y forman puentes intercelulares y desmosomas). Contiene células de Langerhans. Poseen múltiples tonofilamentos que se agrupan en haces llamados tonofibrillas. El estrato

germinativo y el estrato espinoso son considerados un conjunto o capa-estrato (o red) de Malpighi (Andrade, 2014, p. 5).

- d) **Capa granulosa:** está constituida entre 1 y 4 hileras celulares. Para esto los cuerpos de Selby Odland se trasladan hacia la periferia de las células con el objetivo de colocar su contenido en el espacio intercelular; por acción de las enzimas hidrolíticas vertidas, los lípidos polares son remodelados a lípidos neutros en el espacio extracelular, mejorando la permeabilidad cutánea (Buendía y Martínez, 2018, p. 7).
- e) **Capa basal o germinativa:** la función principal es la renovación de las células epidérmicas. Esta capa contiene las células madre que dan origen a células nuevas, los queratinocitos, por división mitótica, estas células son de pequeños tamaños y de formas cubicas o cilíndricas. Las células basales contienen en su citoplasma cantidades variables de melanina esta melanina se transporta desde los melanocitos vecinos hasta el estrato celular. Los queratinocitos nuevos obtenidos por división mitótica en el estrato celular, se desplazan hacia el estrato siguiente, con lo que inician su proceso de migración hacia la superficie. El proceso se da por terminado cuando la célula se convierte en una célula queratinizada madura para luego sufrir un proceso de descamación en la superficie de la piel (Galliano Silvia, 2012, p. 2).



**Figura 2-1:** Estructura de la Epidermis

Fuente: (Adelmed, 2014, p. 1)

### *1.1.1.2. Células de la epidermis*

Pertencen a cuatro tipos celulares diferentes:

**Queratinocitos:** es el tipo celular predominante de la epidermis. Se originan en el estrato epidérmico basal. Al abandonar este estrato los queratinocitos pasan a cumplir dos actividades esenciales: producen queratinas y participan en la formación de la barrera contra el agua de la epidermis (Galliano Silvia, 2012, p. 5).

**Melanocitos:** estas células son de origen nervioso, las cuales tienen prolongaciones dendríticas estas se encuentran en la capa más profunda de la epidermis, se las nombra de ese modo ya que producen un pigmento llamado melanina la cual está encargada de dar el color a la piel (Ucm, 2014, p. 2).

**Células de Langerhans o Dendríticas:** Son células presentadoras de antígeno, migran a ganglios linfáticos contiguos donde presentan epítomos de antígenos extraños procesados a los linfocitos T. Se ubican principalmente entre las células del estrato espinoso. También se le llaman células dendríticas por sus múltiples prolongaciones largas (Andrade, 2014, p. 12).

**Células de Merkel:** estas células se encuentran en la capa basal de la epidermis, en las mucosas oral, labial y en la vaina epitelial externa y en los pulpejos de los dedos. Estas muestran rasgos neuroendocrinos y epiteliales. Se especula que pueden tener un origen neural, originado de la cresta neural. Tienen núcleo multilobulado y un gran citoplasma, el cual contiene muchos gránulos esféricos electrón-densos con variados neuropéptidos. En la membrana plasmática pueden encontrarse desmosomas, los cuales se fusionan a los queratinocitos adyacentes (Buendía y Martínez, 2018, p. 13).

### *1.1.2. Dermis*

Se localiza bajo la epidermis está compuesta por tejido conectivo, sustancia fundamental y células. El tejido conectivo se encuentra conformado por 3 tipos de fibras: fibras colágenas, fibras elásticas y fibras reticulares. Las fibras colágenas son más abundantes, su localización y espesor varía dependiendo donde se encuentre: dermis superficial o papilar son fibras delgadas, a diferencia de la dermis media y profunda (Franco, 2003, p. 23).

### 1.1.2.1. *Estructura de la Dermis*

La dermis está compuesta por dos capas: la dermis papilar y la dermis reticular.

**Dermis papilar:** es la más superficial, consiste en tejido conjuntivo laxo ubicado justo debajo de la epidermis. Los haces de fibras colágenas de esta parte de la dermis no son de gran diámetro como los de la porción más profunda. Esta delicada red colágena contiene moléculas de colágeno tipo I y III. Las fibras elásticas son filiformes y se organizan en una red irregular. La dermis papilar es muy delgada e incluye la sustancia de las papilas y las crestas dérmicas. Contiene vasos sanguíneos que irrigan a la epidermis, pero no se introducen en ella. También contiene prolongaciones nerviosas que terminan en la dermis o perforan la lámina basal para introducirse en el compartimiento epitelial (Galliano Silvia, 2012, p. 3).

**Dermis reticular:** esta es la capa con mayor espesor y se encuentra bajo la dermis papilar, donde las fibras colágenas se entretrejen con otros haces fibrosos, los cuales conforman una red; siendo este el lecho fibroso de la dermis. Las fibras colágenas se ordenan en forma paralela a la superficie cutánea originando líneas de tensión importantes en cirugía. La piel se torna un órgano muy sensible debido a las fibras nerviosas y ciertas terminaciones nerviosas pueden llegar hasta la epidermis (Cuba, 2010, p. 4).

### 1.1.2.2. *Dermis Componentes*

La dermis se encarga de la nutrición y sostén de la epidermis ya que es carente de vasos. La dermis está constituida por tres componentes: células, fibroblastos y sustancia fundamental.

**Células:** La célula más abundante e importante es el fibroblasto, este es el encargado de fabricar las fibras y la sustancia fundamental. También existen otras células tales como linfocitos, mastocitos y células de Langerhans (Yamamoto, 2001, p. 3).

**Fibroblasto:** este se encarga de fabricar fibras y sustancia fundamental es denominada como la principal célula dérmica. En este se encuentran células mononucleares, linfocitos, mastocitos, macrófagos y células de Langerhans

- *Fibras de colágeno* estas fibras son las encargadas de la rigidez y resistencia a la tracción y la flexibilidad de la dermis.
- *Fibras elásticas* estas fibras son las que permiten la flexibilidad a la piel que puede ser ocasionada por alguna tracción mecánica (Ingratta, 2017, p. 13).

**Sustancia Fundamental:** La sustancia fundamental se encuentra entre las fibras, este sirve como lubricante facilitando el movimiento cutáneo. Está compuesta principalmente de dos glicosaminoglicanos (dermatán sulfato y ácido hialurónico). La característica de esta sustancia es que puede almacenar abundantes cantidades de agua, está constituida por agua, electrolitos, glucosa, proteínas (Calle Bayón, 2007, p. 7).

### **1.1.3.            *La Hipodermis***

Hipodermis o Tejido Celular Subcutáneo se encuentra ubicado bajo la dermis el cual está constituido de tejido adiposo dentro de una red fibrosa, es un conjunto de adipocitos rodeados de tejido conjuntivo (Ucm, 2014, p. 4).

Sus funciones son: protección contra traumatismos, como aislante del frío y reservorio de energía calórica ante el ayuno. Su célula constitutiva es el adipocito, que se organiza en lobulillos, separados éstos por tabiques conectivos por donde transcurren los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. Su afección se observa como nódulos (Ingratta, 2017, p. 13).

## **1.2.                Herida**

Una herida es una lesión o laceración que se produce en el cuerpo el cual puede ser producido por medios físicos debido a golpes, desgarres o laceraciones de la piel y pueden ser clasificados por su gravedad y se decide si es necesario algún tipo de atención médica, ya que la pérdida del ambiente estéril del interior hace que pueda producirse una infección (Aragon, 2013, p. 1).

### **1.2.1.            *Clasificación de las heridas***

Las heridas se pueden clasificar de la siguiente manera:

#### **a) Según si existe o no rompimiento del tejido cutáneo**

**Heridas abiertas:** en estas se observan la separación o apartamiento de los tejidos blandos. Son las heridas más sensibles y tienen mucho riesgo de ser contaminadas con facilidad (Estrada, 2012, p. 21).

**Heridas cerradas:** estas heridas son producidas principalmente por golpes en las cuales no existe separación de tejidos; es por eso que debido al golpe se puede producir un hematoma interno bajo la piel o en las cavidades y órganos internos. Estas heridas debido a su naturaleza deben ser tratadas de manera inmediata que puede involucrar el mal funcionamiento de un órgano interno o la circulación sanguínea lo cual puede poner en riesgo la integridad del paciente (Estrada, 2012, p. 21).

#### **b) Según el nivel de complejidad**

**Heridas Simples o superficiales:** Estas son las heridas que solo pueden afectar la piel de modo tal que no se aprecia daño hacia otra parte del cuerpo, ni siquiera es apreciable la presencia de daños en las capas de la dermis (Yuste Garcia, 2014, p. 2).

**Heridas complicadas o profundas:** Estas por lo general presentan magnitudes grandes como también implican complicaciones para su suturación, ya que las mismas inmiscuyen partes blandas y gran cantidad de tejidos, incluso en ocasiones la hemorragia complica la suturación de misma (Decinti, 2013, p. 2).

#### **c) Según el tiempo el tiempo de evolución**

##### **Heridas agudas**

Heridas agudas son aquellas que se reparan por sí mismas o que también pueden repararse en un proceso ordenado en la forma y en el tiempo. No existe un tiempo definido para que se de este proceso pero podrían ser de 7 a 14 días y a cual denominamos cicatrización por primera intención. Las heridas agudas son una parte importante de la actividad asistencial diaria de hospital o centros médicos, este tipo de daños cutáneos en general precisan pocas curaciones. Las quemaduras también son consideradas heridas agudas y se deben curar por medios conservadores o quirúrgicos antes de las tres semanas (Leyva Rodríguez, 2012, p. 7).

##### **Heridas crónicas**

Este tipo de heridas debido a su complejidad pueden retrasar el tiempo de curación de la herida o incisión. En este tipo de herida puede existir excesiva inflamación y/o pobre perfusión de oxígeno. Y puede conllevar en ocasiones la aparición de enfermedades que al paso del tiempo pueden llegar a ser más graves. Dentro de las heridas crónicas comunes que pueden evolucionar en semanas hasta meses tenemos las úlceras neoplásicas, úlceras por presión, las úlceras neuropáticas (pie diabético), las úlceras vasculares (arteriales y venosas) (Esteva, 2006, p. 58).

#### **d) Clasificación de heridas según contacto con microorganismos**

**Herida limpia:** constituyen cerca del 75% de todas las heridas, esto incluye las producidas intencionalmente (como las quirúrgicas), se producen con técnica aséptica, en tejido sano que no comprometen la cavidad oral ni el tracto genito urinario y digestivo, habitualmente pueden ser tratadas aproximando primariamente los bordes, sin necesidad del uso de drenajes en forma primaria y su posibilidad de infección es cercana al 1% (Estrada, 2012, p. 23).

**Heridas limpias contaminada:** Realizadas en un medio controlado y con material estéril (quirófano) sin embargo en el transcurso de la cirugía se realiza apertura del tracto respiratorio, digestivo, urinario o la vía biliar (Antor, 2011, p. 10).

**Herida contaminada:** Perforación reciente hasta 12h. La salida de contenido intestinal se considera contaminación de la herida. Por ejemplo: gastrectomía, colectomía, apendicitis gangrenosa o colecistitis aguda (Yuste Garcia, 2014, p. 1).

**Herida sucia:** se denomina herida sucia a las heridas que pueden ser efectuadas en procedimientos quirúrgicos existiendo contaminación en el sitio quirúrgico. Por ejemplo: la exploración abdominal por peritonitis bacteriana y los abscesos intrabdominales.

En los sitios quirúrgicos puede existir una variedad muy extensa de patógenos y gérmenes multirresistentes si la infección ha ocurrido en un hospital (Decinti, 2013, p. 5).

### **1.3. Cicatrización**

La cicatrización cutánea es un proceso reparativo complejo que conduce a la regeneración del epitelio y el reemplazo de la dermis por un tejido fibroso constituido por colágeno con características diferentes al normal. Las nuevas fibras son más cortas y desorganizadas, por lo que la cicatriz nunca presenta la fuerza tensora de la piel ilesa.

Es un fenómeno fisiológico el cual tiene su inicio con la coagulación sanguínea y luego da lugar a la activación de los procesos catabólicos de limpieza para luego continuar con el proceso de regeneración cutánea y luego la estructuración cicatricial como fase final. La cicatrización conlleva tres fases: Fase inflamatoria, Fase proliferativa y Fase remodelación (Esteva, 2006, p. 55).

### **1.3.1. Fases de la Cicatrización**

#### **a) Fase inflamatoria**

Esta fase se lleva a efecto en seguida de la herida o laceración con la coagulación (cascada de coagulación), luego mediante mediadores de la coagulación (citoquinas) se reclutan PMN (polimorfonucleares neutrofilos) luego estos del mismo modo mediados por citoquinas son transformados en macrófagos, estos comienzan a fagocitar y eliminar bacterias, suciedades y contaminación que puede estar presente en la herida, los macrófagos reclutan fibroblastos, linfocitos y queratinocitos para terminar esta fase. Esta fase en promedio puede durar de 4 a 6 días hasta que los macrófagos eliminen por completo cualquier tipo de contaminación antes de empezar la regeneración celular (Salem *et al.*, 2000, p. 90).

#### **b) Fase proliferativa**

Esta fase se da por 3 etapas que se superponen entre sí:

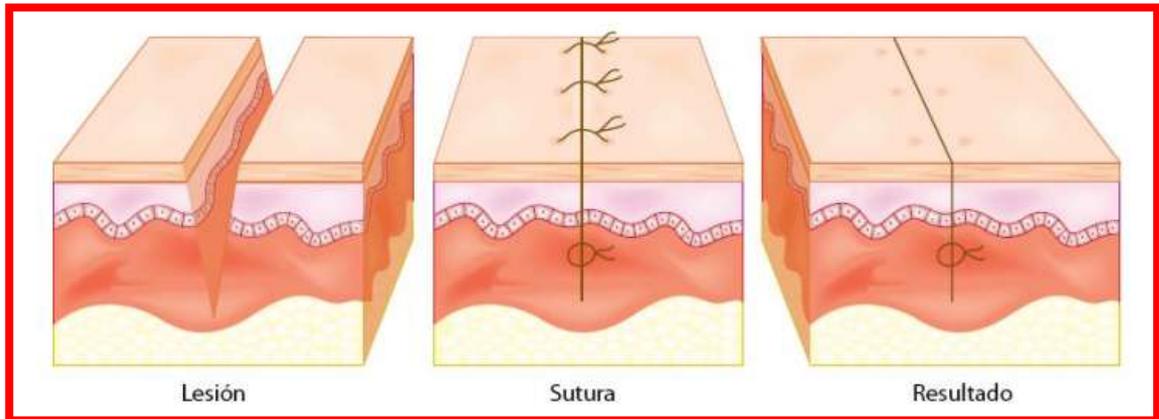
Comienza con la etapa de granulación la cual está dada por los fibroblastos (células germinales de tejido fibroso) tiene dos funciones la producción de colágeno tipo III y la estimulación de la angiogénesis que es la estimulación de generación de nuevo tejido, también se recanalizan los vasos linfáticos, para formar capilares sanguíneos. Luego se presenta la etapa de epitelización, el cual está mediado por los queratinocitos los cuales generan epitelio nuevo que va desde los bordes de la herida y están mediados por la plasmina. A continuación empieza la contracción de igual manera se encuentra mediada por los fibroblastos estos se transforman en miofibroblastos, los cuales tienen miofibrillas que se contraen y permiten el acortamiento (cierre) del tamaño de la herida formando los bordes de la herida (Decinti, 2013, p. 5).

#### **c) Fase de remodelación**

En esta fase el tejido cicatricial se forma, organiza y obtiene resistencia, esto es gracias a la contracción de la herida generada por los miofibroblastos y también gracias a la transformación (remodelación) de los paquetes de colágeno donde el colágeno tipo III (generado en la etapa de granulación) en colágeno tipo I por acción enzimática, este tipo de colágeno tiene las fibras entrecruzadas gracias a esto es más resistente; esta se da conjuntamente con la síntesis de la matriz extracelular en la fase de proliferación y puede durar entre uno y dos años dependiendo la lesión (Guarín Corredor *et al.*, 2013, p. 444).

### 1.3.2. Tipos de cicatrización

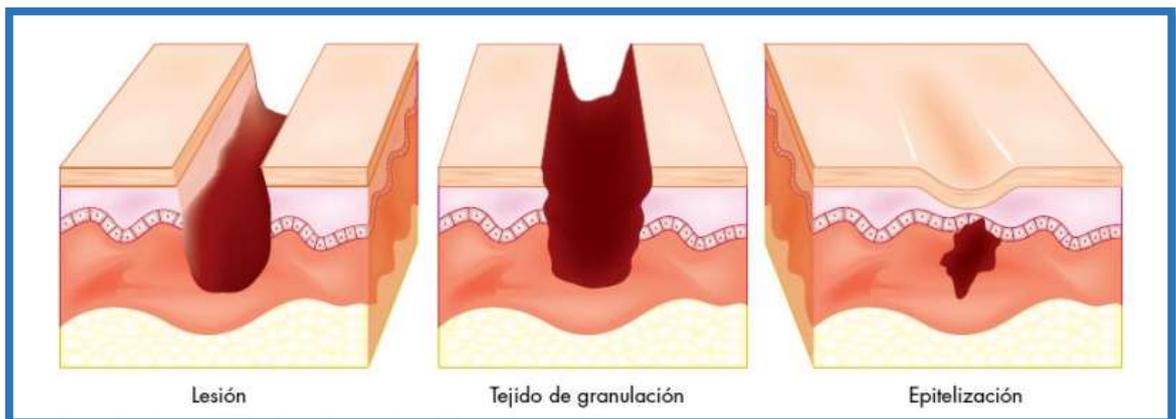
- **Cicatrización por primera intención:** esta permite que la herida se cierre con mínimo edema y no se produce infección o algún tipo de secreción propia de la herida. La característica principal de este tipo de cicatrización es que esta se cierra en poco tiempo no existe separación de bordes y existe una mínima formación de tejido cicatricial (Mas, 2008, p. 11).



**Figura 3-1:** Cicatrización por primera intención

Fuente: (Elías, 2017, p. 4)

- **Cicatrización por segunda intención:** en este tipo de heridas a existido pérdida de sustancia, y esta es muy susceptible a las infecciones y a la acumulación de bacterias, si se suturarán estas heridas se produce un seroma debajo lo cual facilita las infecciones (Fornes Pujatte, 2008, p. 8).

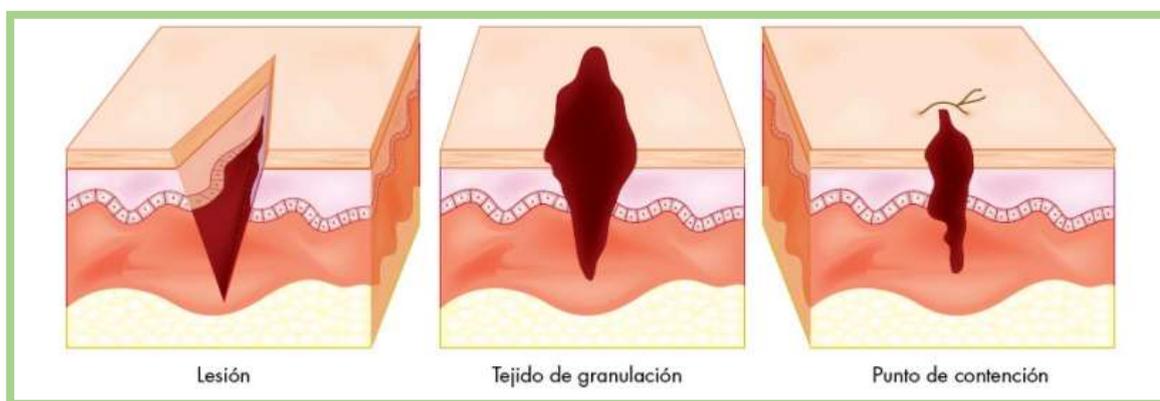


**Figura 4-1:** Cicatrización por segunda intención

Fuente: (Elías, 2017, p. 4)

- **Cicatrización por tercera intención:** Este tipo de cicatrización se denomina como uno de los mejores métodos de reparación de heridas muy contaminadas o tejidos muy dañados. Para ello el médico tratante o cirujano toma medidas de higiene y limpieza en la herida y difiere el

cierre para un período de tiempo que va desde el tercer al séptimo día de cuando se dio la lesión, para asegurar así un cerrado sin problema (Decinti, 2013, p. 6).



**Figura 5-1:** Cicatrización por tercera intención

Fuente: (Elías, 2017, p. 4)

### 1.3.3. Cicatrización Patológica

- **Cicatrices hipertróficas:** se admite que las cicatrices hipertróficas se limitan a la cicatriz; se desarrolla al poco tiempo de curar la herida, pero no crece más; suele regresar con el tiempo y suele mejorar con cirugía. El colágeno se dispone en haces lisos, finos y poco delimitados, pero orientados en paralelo (Leyva Rodríguez, 2012, p. 27).
- **Cicatrices atróficas:** el término Atrófico es usado cuando se trata de cicatrices que están ubicadas bajo la superficie de la piel circundante. Son depresiones pequeñas las cuales se originan por una gran cantidad formada del nuevo tejido conectivo es insuficiente durante el proceso de curación. Las denominadas cicatrices atróficas retraídas comúnmente son consecuencia tipos de acné bastante fuertes (Arenas, 2003, p. 130).
- **Cicatrices queloides:** es un crecimiento anormal de los bordes de la cicatriz más allá de la herida original, podemos denominarlos como un desorden en la estructura normal del colágeno, lo cual provoca un crecimiento anormal y desproporcionado. Este puede seguir creciendo al transcurrir los años después del cerrado de la herida. (Cintron y Poveda, 2008, p. 88)
- **Cicatrices retráctiles:** Las retracciones excesivas suelen ser consecuencia de la falta de orientación entre la herida y las líneas de tracción fisiológicas de la región. Se producen a menudo tras quemaduras profundas y pueden tener repercusiones funcionales importantes, en especial sobre la movilidad de los miembros. La presencia de fibroblastos procedentes de la aponeurosis en el tejido de granulación y las tracciones mecánicas a las que están sometidos son un gran estímulo para la síntesis de colágeno y aumentan la relación inhibidor de las colagenasas/colagenasas (Senet, 2008, p. 6).

- **Cicatrización insuficiente:** en este tipo de cicatrización puede existir un mínimo de regeneración cutánea la cual puede ser inestable o también ausente, y la final puede dar como consecuencia una herida crónica (Decinti, 2013, p. 7).

#### **1.3.4. Factores que influyen en la cicatrización**

**Nutrición:** la nutrición es primordial en el proceso de cicatrización de heridas, la cicatrización puede ser retrasada por entorpecimiento de la fase anabólica (Fase asimilativa, donde comienza formarse nuevo tejido y vasos sanguíneos, dura aproximadamente de 3 a 4 días) y por la presencia de edema (Miren Arruza, 2015, p. 14).

**Oxigenación:** Es importante que la oxigenación tisular sea la adecuada para favorecer la acción leucocitaria, la migración y multiplicación celular, el proceso de síntesis del colágeno y la creación de puentes intermoleculares. (García, 2011, p. 6)

**La edad:** se considera que mientras exista más edad en una persona, el proceso de cicatrización puede ser más lento aumentando la probabilidad de la aparición de cicatrices. Pero ocasionalmente en rango de edad de los 10 y los 30 años, puede existir anomalías en las cicatrización con una producción elevada de tejido conectivo lo cual puede provocar cicatrices de gran tamaño (Frontend, 2018, p. 6).

**Obesidad:** Genera mayor tensión en la herida y es más frecuente la necrosis grasa y el déficit de riego además de un aumento del riesgo de infección (Ucm, 2014, p. 3).

**Deficiencias de Vitaminas y Oligoelementos:** Estudios experimentales indican que la síntesis de colágena puede progresar a ritmo bajo con deficiencia de ácido ascórbico. La administración de cantidades relativamente pequeñas de vitaminas C restablece la cicatrización normal, y no es necesaria la saturación. La vitamina A y su deficiencia han sido implicadas en los fenómenos anormales de la cicatrización de las heridas (Escalante, 2011, p. 12).

**Estrés:** Varios estudios han demostrado que el estrés puede retrasar la cicatrización en los modelos de heridas agudas, tanto en los animales como en el ser humano. Este retraso podría deberse a una menor expresión de las citocinas proinflamatorias y de determinados factores de crecimiento durante la cicatrización en el animal estresado y a una mayor sensibilidad a la infección (Senet, 2008, p. 8).

**Fármacos:** Influyen de manera selectiva en procesos orgánicos que indirectamente se implican en el proceso de reparación. La vía de administración va a condicionar su actuación sistémica (oral/parenteral) o local (vía tópica) (García, 2011, p. 7).

**Hormonas:** Las mujeres embarazadas y los adolescentes, que tienen un equilibrio hormonal alterado, son más propensos a las cicatrices (Frontend, 2018 p. 32).

**Bacterias:** Las interacciones entre la flora y la herida suelen describirse en tres fases: contaminación, colonización e infección. La contaminación y la colonización son proliferaciones de los microorganismos en la superficie de la herida y no entorpecen la cicatrización. Por el contrario, la infección es una invasión de los tejidos sanos periféricos y subyacentes por los microorganismos que provoca una reacción del huésped con fiebre, eritema, pus y retraso de la cicatrización (Senet, 2008, p. 8).

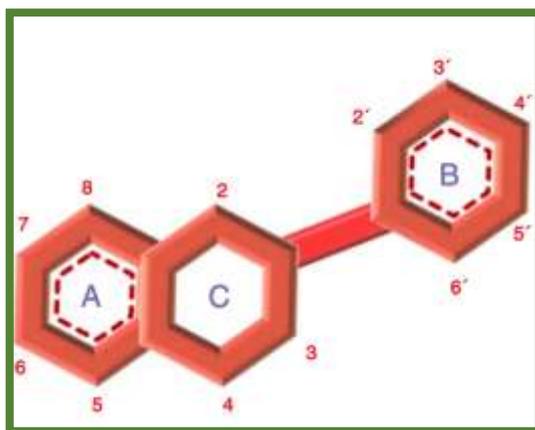
#### **1.4. Compuestos cicatrizantes y regeneradores**

##### **a) Flavonoides**

El término flavonoides denota un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo- $\gamma$ -pirano, los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares, en forma de glicósidos (Cartaya, 2001, p. 2).

Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica y se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas anti-prostanoide y anti-inflamatoria). Los flavonoides presentan otras propiedades que incluyen la estimulación de las comunicaciones a través de las uniones en hendidura, el impacto sobre la regulación del crecimiento celular y la inducción de enzimas de detoxificación tales como las monooxigenasas dependientes de citocromo P-450, entre otras (Martínez *et al.*, 2002, p. 272).

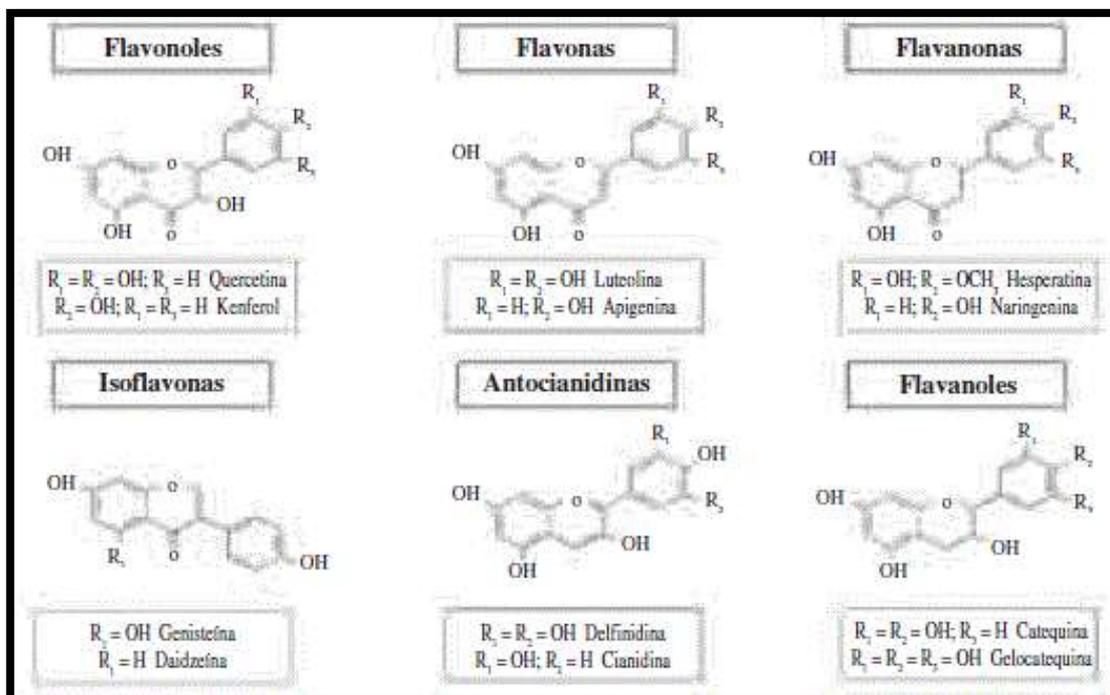
Los flavonoides están compuestos de dos anillos fenilos (A y B), ligados mediante un anillo pirano (C). Lo cual nos deja en un esqueleto de difenilpiranos: C6-C3-C6, común en la mayoría de los flavonoides. La síntesis de los flavonoides tiene lugar en las plantas a partir de unidades de acetato y aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y la tirosina. Después, estas dos últimas, dan lugar a los ácidos cinámico y parahidroxicinámico; siendo que al condensarse con las unidades de acetato dan origen a la estructura cinamol de los flavonoides. Más tarde se forman los derivados glicosilados o sulfatados (Escamilla *et al.*, 2009, p. 73).



**Figura 6-1:** Estructura flavonoide con numeración de los ciclos  
**Fuente:** (Escamilla Jiménez, Cuevas Martínez y Fonseca, 2009, p. 74)

### Propiedades

Los flavonoides son sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento. Sus heterósidos son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares. Sin embargo, cuando están en estado libre, son poco solubles en agua, pero son solubles en disolventes orgánicos más o menos oxigenados, dependiendo de su polaridad. Por otro lado, son sustancias fácilmente oxidables y, por tanto, tienen efecto antioxidante, ya que se oxidan más rápidamente que otro tipo de sustancias (López, 2002, p. 109).



**Figura 7-1:** Clasificación de los Flavonoides

**Fuente:** (Quiñones M, Aleixandre M, 2012, p. 4)

## **b) Taninos**

Son compuestos fenólicos solubles en agua, con pesos moleculares entre 500-3000, que además de dar las reacciones fenólicas usuales, poseen la habilidad de reaccionar y precipitar con alcaloides, gelatinas y otras proteínas (Fernández, 2007, p. 2).

Pueden encontrarse en todos los órganos o partes de la planta: tallos, madera, hojas, semillas y cúpulas, pero con particular abundancia en las excreciones patológicas provocadas por ciertos insectos, conocidas comúnmente con el nombre de agallas; cuando se presentan en cantidades considerables, suelen localizarse en determinadas partes, como las hojas, frutos, corteza o tallos. Es común que en las plantas herbáceas se presenten localizados en una cantidad considerable en las raíces, disminuyendo mucho la concentración cuando se trata de plantas anuales. En las plantas leñosas, tanto la localización como la abundancia son variadas (Alvarez, 1992, p. 1).

### **Clasificación de los Taninos**

**Taninos hidrolizables:** Se hidrolizan por acción de un ácido fuerte, una base fuerte, o por determinadas enzimas (Benítez C, 2012, p. 3) Están compuestos por ésteres de ácido gálico unidos a una unidad central de carbohidrato y su nombre hace referencia a su fácil capacidad para hidrolizarse en presencia de ácidos, bases o enzimas tanto in vitro como in vivo (Olivas *et al.*, 2015, p. 55).

**Taninos Condensados:** También denominadas inicialmente leucoantocianinas, existen como oligómeros solubles, con 2 a 6 núcleos fenólicos flavan-3-ol (Catequina, epicatequina, epigallocatequina o epigallocatequina 3-O-galato), o como polímeros insolubles (Isaza, 2007, p. 14).

### **Propiedades**

Los taninos que poseen propiedades astringentes y antiinflamatorias, por lo tanto, son muy útiles ante la diarrea o gastroenteritis. Además, tienen acción antioxidante que protegen a las células ante los radicales libres y permiten reducir el riesgo de enfermedades degenerativas (Gottau, 2009, p. 48).

## **c) Aceites Esenciales**

Los aceites esenciales tienen un gran interés terapéutico por sus múltiples y prácticamente infinitas propiedades, es decir, muchas veces no sólo los diluimos en aceites vegetales por sus propiedades cosméticas si no para ir un poco más allá en el tratamiento y conseguir un efecto más

profundo, más terapéutico. Así pues los aceites esenciales por ejemplo pueden ser: hidratantes, nutritivos, regeneradores celulares, antifúngicos, antibacterianos, antivíricos, immunoestimuladores, antibióticos, calmantes, tónicos, digestivos, antiinflamatorios etc. (Baraldés, 2012, p. 16).

## 1.5. Clinopodium

### 1.5.1. Clasificación Taxonómica

**Tabla 1-1:** Taxonomía perteneciente a *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Lamiales
<b>Familia</b>	Lamiaceae
<b>Género</b>	<i>Clinopodium</i>
<b>Especie</b>	<i>C. tomentosum</i>

Realizado por: José Vélez, 2018

Fuente: (Pedersen, 2000)

### 1.5.2. Familia Lamiaceae

Lamiaceae es una familia muy diversa, incluye c. 236 géneros y 7 173 especies, esta familia tiene importancia económica en varias partes del mundo, ya que muchas de sus especies se usan como condimentos (*Origanum*, *Thymus*, *Mentha*), para obtener aceites esenciales (*Lavandula*, *Pogostemon*, *Salvia*) y/o como ornamentales (*Coleus*, *Salvia*, *Scutellaria*) (Martínez *et al.*, 2013, p. 30).

En Ecuador se han registrado aproximadamente 27 géneros y 219 especies, de las cuales 29 (13,24 %) son endémicas. La mayor parte de las especies crecen en los bosques andinos, páramos y valles interandinos secos, sobre los 1000 m de altitud, con menor frecuencia en los bosques secos de la Costa, Galápagos y Amazonía. Solo siete especies se han registrado dentro de un área protegida. Tres especies crecen en Galápagos, entre ellas, *Hyptis gymnocaulos* conocida solo por el espécimen tipo. Al parecer *Hyptis florida* es la especie más común en la Costa. El género con mayor número de especies endémicas es *Salvia* con 15 especies, constituyendo el 52% de las especies de Lamiaceae endémicas del Ecuador, seguido por *Hyptis* y *Lepechinia* con cinco y

cuatro especies, *Clinopodium* y *Scutellaria* con dos especies cada una y *Stachys* con solo una especie (Moscoso y Montúfar, 2015, p.15).

### **1.5.3. Genero *Clinopodium***

El género *Clinopodium* (Lamiaceae) son plantas herbáceas, algo leñosas en la base, perennes, rizomatosas, ligeramente aromáticas. Tallos pelosos, con pelos frecuentemente retrorsos. Hojas simples, enteras, generalmente pelosas. Inflorescencia en verticilastros axilares densos. Brácteas similares a las hojas, algo más estrechas; bractéolas lineares, sobresalientes en los verticilastros, ciliadas. Flores pediceladas. Cáliz bilabiado, generalmente curvado hacia abajo, con 13 nervios, con carpostegio; labio superior con 3 dientes, labio inferior con 2 dientes triangulares, estrechos, largos, todos levemente curvados hacia arriba y ciliados. (Bothmer, 1994, p. 440)

*Clinopodium tomentosum* (Kunth) posee pequeñas flores de color amarillo, que alcanzan una altura de 30–80 cm y en el Ecuador se conoce comúnmente como “Pumin” (Vera, 2015, p. 26).



**Figura 8-1:** *Clinopodium tomentosum* (Kunth)  
Fuente: (Morley Read, 2001, p. 1)

### **1.5.4. Hábitat**

Crece en todo tipo de hábitat pero en general son especies de lugares abiertos, siendo la cuenca del Mediterráneo una de las regiones de mayor concentración. En América latina en entre 3000 y 4000 metros se está reproduciendo como planta silvestre especialmente en la zona interandina como es en la parte Norte de Perú y desde el centro hacia el Sur de Ecuador. Muchas especies del género son utilizadas como plantas medicinales (Vera, 2015, p. 26).

### **1.5.5. Usos medicinales**

La gente local utiliza las partes aéreas de la planta para preparar infusiones por su efecto relajante y como agente antiinflamatorio y antibacteriano. Estudios fitoquímicos previos en *Clinopodium ssp.* han revelado la presencia de glucósidos flavonoides, fenilpropanoides,

oligómeros de ácido cafeico y saponinas. Del mismo modo esta planta es usada como antiséptico oral (Saltos *et al.*, 2014, p. 2).

#### **1.5.6. Usos Etnobotánicos Familia Clinopodium**

***Clinopodium taxifolium***: antioxidante, antibacteriano

***Clinopodium vulgare* (albahaca silvestre)**: es astringente, estimulante cardiaco, expectorante y reduce los gases. Tradicionalmente usado para curar heridas (p. antibacterianas)

***Clinopodium grandiflorum***: Son diaforéticas y expectorantes, en infusión se utiliza contra los problemas nerviosos y los dolores de reumatismo.

***Clinopodium bolivianum***: antibacterial, antifúngica, antiviral, gastroprotector, repelente.

#### **1.5.7. Estudios realizados**

En el Ecuador se ha realizado un estudio sobre la caracterización fitoquímica de compuestos presentes en los extractos de hojas de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae) esta investigación estuvo a cargo de Mariela Beatriz Vera Saltos, Blanca Fabiola Naranjo Puente, Nicola Malafronte, Alessandra Braca, esta con su tema de investigación denominado “Phenolic compounds from *Clinopodium tomentosum* (Kunth) govaerts (Lamiaceae)” dicha investigación permitió el aislamiento de un nuevo compuesto, denominado ácido 2-O-benzoil-3-O-cinamoil-tartárico, junto con doce compuestos conocidos, alcohol dihidrodehidroconiferílico 9'-O-β-D-glucopiranosido, blumenol c glucósido, siringaresinol 4'-O-β-D-glucopiranosido, hesperetina, pinocembrina 7-O-rutinosido, ácido clinopódico E, ácido cafeico, p-Ácido coumárico, éster metílico del ácido cafeico, éster etílico del ácido cafeico, ácido rosmarínico y éster metílico del ácido rosmarínico. Su caracterización estructural se obtuvo sobre la base de extensos análisis espectroscópicos, incluidos los experimentos de resonancia magnética nuclear mono- y bidimensional (RMN 1D y 2D) y espectrometría de masas de ionización por electropulverización de alta resolución (HR-ESI-MS) (Saltos *et al.*, 2014, pp. 1–5).

En un segundo estudio realizado por Maurizio Benzo, Gianluca Gilardoni, Carlo Gandini, Gabriele Caccialanza, Paola Vita Finzi, Giovanni Vidari, Susana Abdo, Patricia Layedra con el tema de investigación Determinación de la concentración umbral de olor de los principales odorantes en aceites esenciales mediante cromatografía de gases y olfatometría técnica de dilución incremental, el objetivo de este estudio fue el de determinar el umbral de olor del aceite

esencial de *Clinopodium tomentosum*. (Kunth) Govaerts (Lamiaceae), esto se analizó mediante cromatografía de gases, olfatometría (GC – O) y técnicas de GC – MS. Los resultados obtenidos permitieron concluir que el aceite esencial de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) tiene cantidades considerables de monoterpenos, entre los cuales tenemos la iso-mentona y pulegona (monocetonas) que pueden tener actividad antimicrobiana y antiinflamatoria, estos componentes fueron los más abundantes constituyendo 41.7 y 29.9% dentro del estudio (Benzo *et al.*, 2007, pp. 131–135).

Un estudio realizado por Aldas A. en 2014 el cual lleva por tema Determinación de las propiedades físicas, composición química y evaluación de la actividad biológica y antioxidante del aceite esencial de la especie *Clinopodium taxifolium* (Kunth) Govaerts de la provincia de Loja el cual tuvo efecto sobre el hongo *Trichophyton rubrum* (500 µg/mL) y también tuvo actividad antioxidante (Morcho *et al.*, 2007, pp. 1-5).

Un estudio realizado por Claros P, *et al.* Realizado en el 2007 el cual fue la determinación de la Actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Plantago major*, *Clinopodium bolivianum*, *Caléndula officinalis* y *Piper angustifolium* por el método de difusión de disco, Se utilizaron extractos diclorometánico, hidroalcohólico y acuoso de las plantas en estudio para determinar su actividad inhibitoria por el método de difusión de discos en cultivo bacteriológico de cuatro cepas de *Helicobacter pylori* aisladas de biopsias de pacientes con patologías gástricas. La actividad de los extractos fue determinada según el diámetro del halo de inhibición. Se determinó que los extractos diclorometánico, hidroalcohólico y acuoso de *Clinopodium bolivianum*, *Caléndula officinalis* y *Piper angustifolium*, tienen actividad anti-*Helicobacter pylori*. De igual manera, el extracto hidroalcohólico de *Plantago major*. En mismo estudio se citaba un estudio realizado por Figueroa N. en 1997 el cual señalaba que los aceites esenciales de *Clinopodium bolivianum* (antes conocido como Satureja boliviana) poseen actividad antibacteriana in vitro sobre *Staphylococcus aureus* (coco gram positivo), *Bacillus subtilis*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* (bacilos gram negativo) (Claros *et al.*, 2007, pp. 1-5).

Otros estudios realizados in vivo fueron los realizados por Janneth Patricia Proaño Escudero en la ESPOCH, con el tema “Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de romero (*Rosmarinus officinalis*), matico (*Piper aduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*) en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*)” mediante este estudio se comprobó que el Romero que es perteneciente a la familia Lamiaceae tiene efecto cicatrizante, esto se comprobó mediante el uso del extracto hidroalcohólico de romero (*Rosmarinus officinalis*), matico (*Piper aduncum*) y cola de caballo (*Equisetum arvense*) para ser formulado en una crema y ser aplicada en heridas

inducidas en ratones comprobándose que posee actividad cicatrizante efectiva ya que las heridas inducidas se sanaron en 10 días esto es debido a la presencia de flavonoides en las tres plantas y taninos en la cola de caballo que al combinarse mejoraron la actividad (Proaño, 2013, pp. 64–70).

## CAPITULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de investigación

La presente investigación se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia:

- Laboratorio de Productos Naturales, Investigación y Desarrollo
- Laboratorio de Química Analítica y Química Instrumental
- Laboratorio de Análisis Clínicos y Bacteriológico
- Bioterio de la Facultad de Ciencias-Escuela de Bioquímica y Farmacia

#### 2.2. Recolección del material vegetal

El Pumin *Clinopodium Tomentosum* (Kunth) fue recolectada en la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, en el mes de mayo del 2018, a una longitud de 78°67'89.3''W y latitud de 1°66'83.1''S.

#### 2.3. Reactivo biológico

Para la determinación de la actividad cicatrizante se emplearon ratones (*Mus musculus*), los cuales fueron obtenidos en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, (ESPOCH)

#### 2.4. Descripción

- Edad: 2-3 meses
- Sexo: machos
- Peso: 25-35 g
- Alimentación: 5 gramos de balanceado por cada ratón y agua esterilizada
- Cama: tamo de arroz previamente esterilizado
- Iluminación: 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad

## 2.5. Equipos, materiales y reactivos

### 2.5.1. Equipos

**Tabla 1-2:** Equipos de laboratorio utilizados en la investigación

MÉTODO	EQUIPOS
Secado y triturado de la planta	<ul style="list-style-type: none"><li>• Molino Arthur H. Thomas</li><li>• Estufa Redline by Binder</li></ul>
Tamizaje Fitoquímico	<ul style="list-style-type: none"><li>• Balanza analítica Radwag</li><li>• Cámara UV Chromato-VUE</li></ul>
Control de calidad de la materia vegetal	<ul style="list-style-type: none"><li>• Balanza analítica Radwag</li><li>• Estufa Redline by Binder</li><li>• Desecador</li><li>• Mufla Ivymen</li></ul>
Control de calidad del extracto	<ul style="list-style-type: none"><li>• pH-metro Accumet</li></ul>
Ensayo para flavonoides, fenoles, antioxidantes	<ul style="list-style-type: none"><li>• Espectrofotómetro Cole-Parmer</li><li>• Agitador Vórtex MRC</li><li>• Baño María Memmert</li><li>• Balanza analítica Radwag</li><li>• Cronómetro</li><li>• Sonicador Branson</li></ul>
Evaluación de Actividad cicatrizante	<ul style="list-style-type: none"><li>• Autoclave Hirayama</li><li>• Balanza analítica Radwag</li><li>• Refrigerador</li><li>• Cámara de Flujo laminar</li></ul>

Realizado por: José Vélez, 2018

2.5.2. *Materiales*

**Tabla 2-2:** Materiales de laboratorio utilizados en la investigación

MÉTODO	MATERIALES
Tamizaje Fitoquímico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tubos de ensayo</li> <li>• Gradilla para tubos de ensayo</li> <li>• Pinza para tubos de ensayo</li> <li>• Reverbero</li> <li>• Vasos de precipitación de 50, 100, 250 mL</li> <li>• Espátula</li> <li>• Papel aluminio</li> <li>• Papel Filtro</li> <li>• Frasco ámbar de 500 mL</li> <li>• Embudo</li> <li>• Trípode</li> <li>• Probeta de 100 mL</li> <li>• Pipetas graduadas de 1, 5, 10 mL</li> <li>• Capilares</li> <li>• Pera de succión</li> </ul>
Control de calidad de la materia vegetal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Crisoles</li> <li>• Cápsulas</li> <li>• Pinza para crisol, capsula</li> <li>• Espátula</li> <li>• Reverbero</li> <li>• Malla metálica</li> <li>• Papel filtro libre de cenizas</li> <li>• Vaso de precipitación de 100 mL</li> </ul>
Control de calidad del extracto etanólico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Piseta</li> <li>• Vaso de precipitación de 250 mL</li> <li>• Pipeta graduada de 5, 10 mL</li> <li>• Tubos de ensayo</li> </ul>
Ensayo para flavonoides, fenoles y antioxidantes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pipetas graduadas 1, 5, 10 mL</li> <li>• Balones de aforo de 10, 25, 50, 100 mL</li> <li>• Espátula</li> <li>• Piseta</li> <li>• Puntas amarillas y azules para pipeta</li> <li>• Pipetas automáticas</li> <li>• Tubos de ensayo</li> <li>• Gradillas para tubos de ensayo</li> <li>• Papel aluminio</li> <li>• Pera de succión</li> </ul>
Determinación de actividad cicatrizante	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carbopol</li> <li>• Trietanolamina</li> <li>• Propilenglicol</li> <li>• Metilparabeno</li> <li>• Propilparabeno</li> <li>• Espátula</li> <li>• Hisopos</li> <li>• Balón de aforo de 100 mL</li> <li>• Probeta de 100 mL</li> <li>• Jeringuillas de 1, 3, 5 mL</li> <li>• Varilla de agitación</li> <li>• Bisturí</li> <li>• Frascos de vidrio de 150mL</li> <li>• Papel aluminio</li> <li>• Algodón</li> <li>• Reverbero</li> </ul>
Examen histopatológico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuba de vidrio</li> <li>• Bisturí</li> <li>• Casetes de biopsia</li> </ul>

Realizado por: José Vélez, 2018

### 2.5.3. *Reactivos*

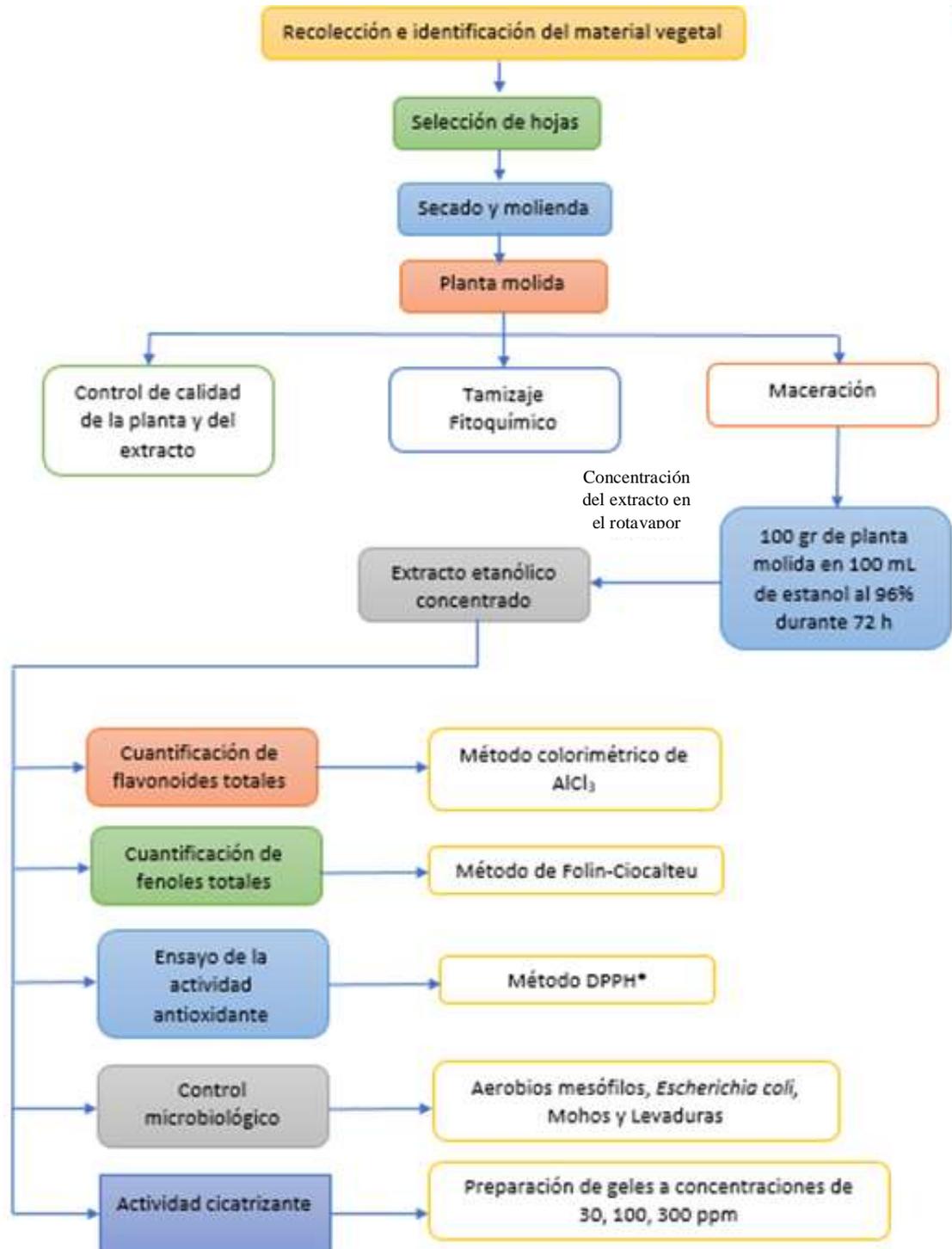
**Tabla 3-2:** Reactivos de laboratorio empleados en la investigación

MÉTODO	REACTIVO
Tamizaje Fitoquímico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Éter etílico</li> <li>• Alcohol potable 96%</li> <li>• Sudan II</li> <li>• Ácido clorhídrico 1%</li> <li>• Ácido clorhídrico concentrado</li> <li>• Dragendorff</li> <li>• Cloruro de sodio en polvo</li> <li>• Cloroformo</li> <li>• Hidróxido de sodio</li> <li>• Amonio al 5%</li> <li>• Anhídrido acético</li> <li>• Ácido sulfúrico concentrado</li> <li>• Carbonato de sodio</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Tricloruro férrico al 5%</li> <li>• Acetato de sodio</li> <li>• Ninhidrina al 2%</li> <li>• Alcohol amílico</li> </ul>
Control de calidad de la materia vegetal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ácido clorhídrico al 10%</li> <li>• Peróxido de hidrogeno</li> <li>• Agua destilada</li> </ul>
Ensayo para flavonoides totales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Quercetina</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Nitrato de sodio al 5%</li> <li>• Cloruro de aluminio al 10%</li> <li>• Hidróxido de sodio 1M</li> </ul>
Ensayo para fenoles totales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ácido galico</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Reactivo de Folin-Ciocalteu</li> <li>• Carbonato de sodio al 7,5%</li> </ul>
Ensayo para actividad antioxidante	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reactivo DPPH*</li> <li>• Metanol</li> </ul>
Determinación de actividad cicatrizante	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alcohol al 50%</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Lidocaína</li> <li>• Crema depilatoria Veet</li> </ul>
Examen histopatológico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formol</li> </ul>

Realizado por: José Vélez, 2018

## 2.6. Técnicas y métodos

Las técnicas y métodos que fueron aplicados en cada uno de los procesos de la investigación se resumen a continuación:



**Figura 1-2:** Técnicas y métodos empleados en la investigación  
Realizado por: José Vélez, 2018

### **2.6.1.            *Identificación botánica***

El material vegetal fue identificado por el PhD. José Homero Vargas López, Curador del Herbario Misael Acosta Solís de la Universidad Técnica de Ambato. ANEXO N

### **2.6.2.            *Acondicionamiento del material vegetal***

#### **2.6.2.1.        *Secado***

Para este proceso se utilizó las hojas y flores de *Clinopodium Tomentosum* (Kunth), las cuales antes de su tratamiento fueron separadas manualmente del tallo, seleccionando las hojas y flores sanas, que no se encuentren decoloradas o dañadas por organismos ajenos como hongos e insectos. Posteriormente se lavó las hojas y flores eliminando el material extraño como: tierra, polvo, etc. y como proceso final se sometió a la materia vegetal a una temperatura de secado de 45°C en una estufa de aire.

#### **2.6.2.2.        *Molienda***

Cuando el material vegetal se encuentre seco, se lo procedió a pulverizar con ayuda de un molino de cuchilla giratoria, el cual nos permitirá obtener partículas pequeñas con un tamaño entre 2 a 3 mm para luego de esto almacenarlas en un lugar libre de humedad.

### **2.6.3.            *Control de calidad del material vegetal***

#### **2.6.3.1.        *Determinación de cenizas totales***

Pesamos 2 g de muestra pulverizada en un crisol previamente tarado (peso constante), para luego incinerarla en la mufla por 2 horas a 700°C. Después de transcurrido en tiempo se colocó el crisol en un desecador para luego ser pesado repitiendo el procedimiento hasta obtener un peso constante del mismo (Miranda, 2002, pp. 8-9).

**Fórmula:**

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

C=Porcentaje de cenizas totales

M=Masa del crisol vacío (g)

M<sub>1</sub>= Masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M<sub>2</sub>= Masa del crisol con la ceniza (g)

100= Factor matemático

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

A las cenizas totales obtenidas se añadió 20 mL. de agua destilada, se tapó el crisol y se hirvió por 5 minutos. La solución obtenida se filtró a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se colocó en el crisol inicial y se carbonizó en un reverbero, para luego incinerar en la mufla a 700°C durante 2h. Posteriormente se colocó el crisol en el desecador y se pesó, este procedimiento se repitió hasta obtener peso constante (Miranda, 2002, p. 10).

**Fórmula:**

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

Ca= Porcentaje de cenizas solubles en agua

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)

Ma= Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

100= Factor matemático

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

A las cenizas totales obtenidas se añadió 20 mL. de ácido clorhídrico al 10%, se tapó el crisol con un vidrio reloj y se sometió a hervir durante 10 minutos. Para luego lavar el vidrio reloj con 5 mL. de agua destilada caliente y se unió al contenido del crisol (Miranda. 2002. p. 9).

Posteriormente se filtró la solución a través de un papel filtro libre de cenizas, se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico no muestre presencia de cloruros para eso se añadió 2 gotas de nitrato de plata 0.1 mol/L. El filtrado con el residuo se deseco a 105°C, se transfirió al crisol inicial y se procedió a incinerar en una mufla a una temperatura de 700°C, durante 2 h. después del tiempo se colocó el crisol en el desecador y se pesó; el proceso se repitió hasta que no exista variabilidad de peso (Miranda, 2002, p. 9).

**Fórmula:**

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

C=Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

M = Masa del crisol vacío (g)

M<sub>1</sub>= Masa del crisol con la muestra (g)

M<sub>2</sub>= Masa del crisol con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (g)

100= Factor matemático

#### 2.6.3.4. *Determinación del contenido de humedad*

Se pesa 2 g de muestra molida en una cápsula previamente tarada, luego se llevó a la estufa a una temperatura de 105 °C durante 3 horas, después del tiempo se colocó la cápsula al desecador y se pesó. Se colocó nuevamente la cápsula en la estufa durante 1 h y se volvió a pesar hasta obtener un peso constante (Miranda, 2002, pp. 12–13).

**Fórmula:**

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

Hg= Pérdida en peso por desecación (%)

M= Masa de la cápsula vacía (g)

M<sub>1</sub>= Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

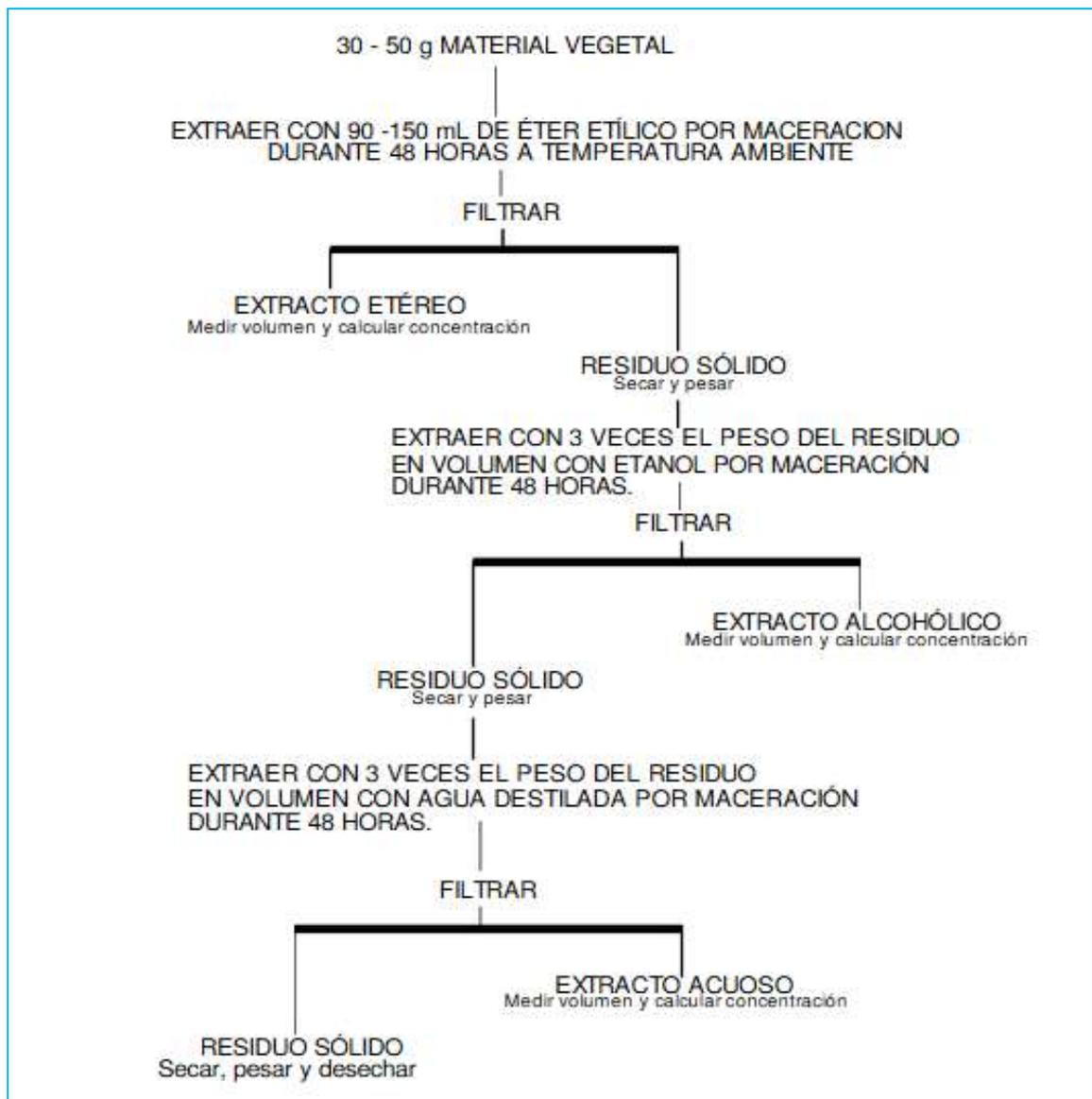
M<sub>2</sub>= Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

100= Factor matemático

#### 2.6.4. Tamizaje fitoquímico

Por medio del tamizaje fitoquímico llegamos a evaluar la presencia de compuestos activos de la materia vegetal, por medio del empleo de solventes adecuados y se basa en la formación de precipitados o cambio de color. Es un método de análisis rápido que nos da una idea de los posibles compuestos libres o metabolitos presentes en la planta (Guarnan, 2015, P 42).

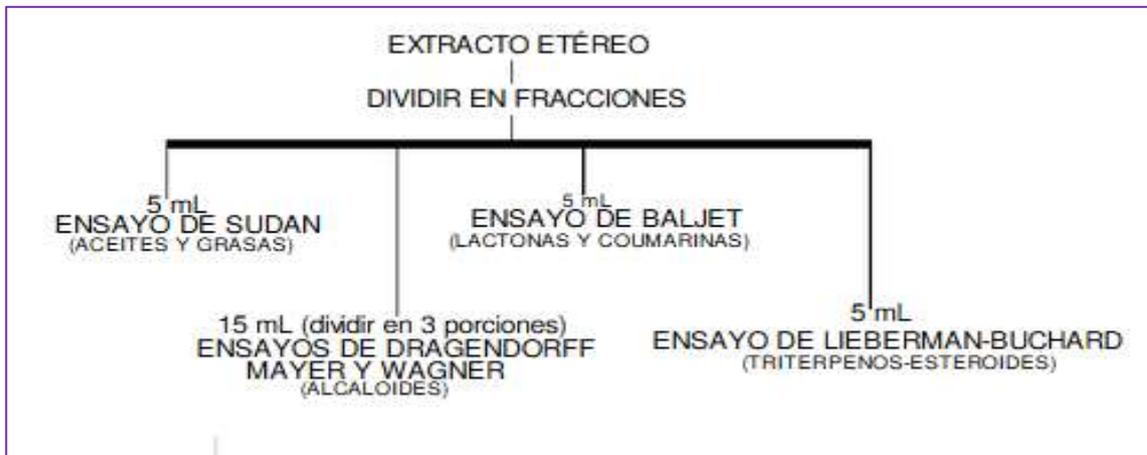
El tamizaje fitoquímico se realizó según las pruebas mostradas en el siguiente esquema.



**Figura 2-2:** Esquema de la extracción en pasos del material vegetal, para realizar los ensayos respectivos correspondientes al tamizaje fitoquímico

Fuente: (Miranda, 2002, p. 17)

Una vez que se obtuvieron los extractos etéreo, alcohólico y acuoso se realizan los ensayos correspondientes como se detalla a continuación



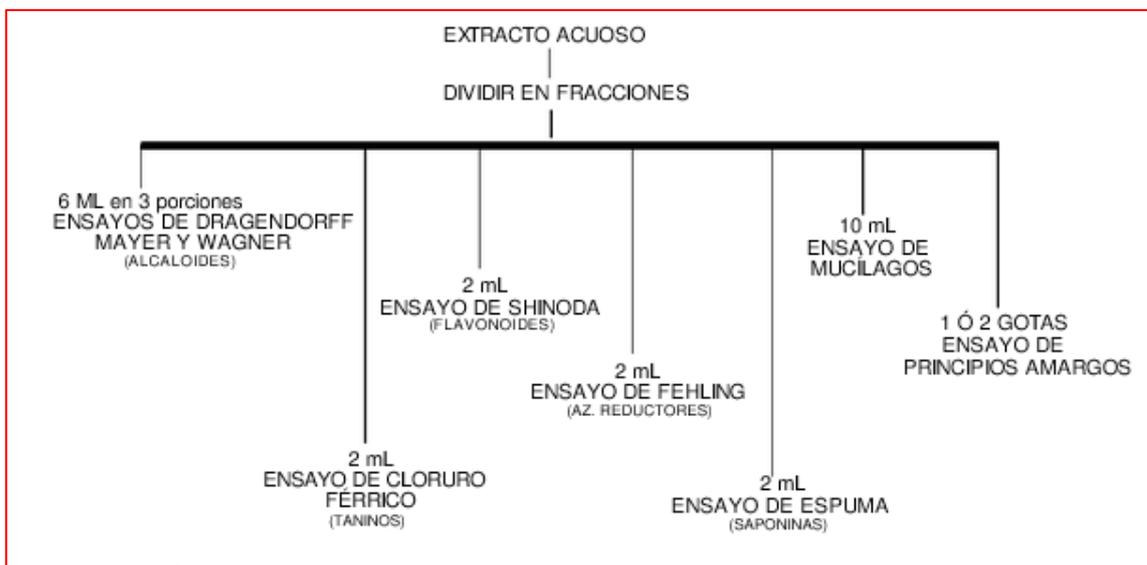
**Figura 3-2:** Ensayos efectuados en el extracto etéreo

Fuente: (Miranda, 2002, p. 18)



**Figura 4-2:** Ensayos efectuados en el extracto alcohólico

Fuente: (Miranda, 2002, p. 18)



**Figura 5-2:** Ensayos efectuados en el extracto acuoso

Fuente: (Miranda, 2002, p. 19)

### **2.6.5. Obtención del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)**

Se pesó 100 g de la planta molida y con ayuda de un embudo se transfirió a un frasco ámbar. Posteriormente se agregó 1000 mL de etanol al 96%, macerando por 72 horas. Transcurrido el tiempo se procedió a filtrar y el extracto obtenido se almacenó en un frasco para la obtención del extracto etanólico, el cual se obtuvo colocando en un balón el extracto para concentrar el mismo en el rotavapor a 50° - 55° C y a 165 rpm hasta sequedad total del alcohol. Luego transferir el extracto obtenido en recipientes estériles y ser almacenados en refrigeración para luego ser utilizados.

### **2.6.6. Control de calidad del extracto etanólico**

#### **2.6.6.1. Determinación de los requisitos organolépticos**

- **Determinación del olor:** tomar una tirilla de papel filtro sumergirlo en la muestra del extracto y sacar para luego proceder a identificar el olor característico del mismo (Miranda, 2002, p. 51).
- **Determinación del color:** se tomó un tubo de ensayo totalmente limpio y seco, al cual se le adicionó 5 mL. del extracto etanólico y posteriormente se observó el color, la presencia de partículas y separación de las capas (Miranda, 2002, p. 51).
- **Determinación del sabor:** se tomó un tubo de ensayo limpio y se colocó una pequeña cantidad de extracto, luego con el dedo índice tocar el extracto y probarle en el filo de la lengua para poder determinar el sabor característico (Miranda, 2002, p. 51).

#### **2.6.6.2. Determinación del pH**

Se calibró el pH-metro con una solución buffer, luego de esto colocamos el electrodo en el extracto para luego registrar el valor de pH analizado por el equipo (Miranda, 2002, p. 54).

### **2.6.7. Cuantificación de fenoles totales**

Se efectuó mediante el método de Folin-Ciocalteu, el mismo que se fundamenta en la reacción redox, en donde los compuestos fenólicos producen una reacción con el reactivo de Folin-

Ciocalteu. Se realizó la curva de calibración utilizando como solución estándar ácido gálico a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, se preparó la muestra problema a partir del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) (Díaz S, 2018, p. 45).

**Procedimiento:** En un balón de aforo de 25 mL, se colocó 250 µL de la solución estándar o de la muestra problema, luego se agregó 15 mL. de agua destilada y 1.25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Posteriormente se vortizó por 30 segundos, se dejó en obscuridad durante 8 minutos, se adicionó 3.75 mL de solución de carbonato de sodio al 7.5% y se aforó con agua destilada. Se vortizó durante 5 segundos dejando en obscuridad por 2 horas. Finalmente se midió en el espectrofotómetro la absorbancia a una de onda de 765 nm.

#### **2.6.8. *Cuantificación de flavonoides totales***

El contenido total de flavonoides se determinó empleando el método colorimétrico de cloruro de aluminio; en donde se elaboró la curva de calibración, empleando como solución estándar de quercetina a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Posteriormente se procedió a preparar la muestra problema a partir del extracto liofilizado. Una vez preparadas la solución estándar y la muestra problemas se realizó el siguiente procedimiento:

En un tubo de ensayo seco y limpio se colocó 1 mL de la solución estándar o de la muestra problema, luego se adicionó 4 mL de agua destilada y 0.3 mL de solución de nitrato de sodio 5%. Se colocó los tubos de ensayo en obscuridad durante 5 minutos, transcurrido el tiempo se agregó 0.3 mL de cloruro de aluminio 10%, se vortizó durante 1 minuto y se colocó nuevamente en obscuridad por 5 minutos.

Posteriormente se añadió 2 mL de hidróxido de sodio 1M, se vortizó por 15 segundos y se dejó en obscuridad por 15 minutos. Finalmente se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm. (Díaz S, 2018, p. 46).

#### **2.6.9. *Ensayo de la actividad antioxidante (Método DPPH\*)***

El método DPPH se lo realiza para evaluar el potencial de eliminación de radicales libres de una molécula antioxidante y es considerado como uno de los métodos colorimétricos estándar por su facilidad para evaluar las propiedades antioxidantes de compuestos puros (Zamani et al. 2018. p 3).

El compuesto 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre estable, que se lo emplea como un indicador que puede aceptar un radical de hidrógeno o un electrón para transformarse

en una molécula diamagnética estable denominada 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH-H) de color amarillo (Rahman et al., 2018, p 14).

En presencia de antioxidantes el DPPH suele cambiar de color púrpura a color amarillo pálido. El DPPH contribuye en adiciones homolíticas con otras especies de radicales R, dando como resultado derivados RDPPH-H-sustituidos (Zamani et al., 2018, p 3).

Se pesó 6,9 mg del reactivo DPPH\* y se aforó a 250 mL con metanol. Se procedió a medir la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm cada 30 minutos hasta que el reactivo se encuentre dentro del rango entre 0.6 a 0.8 para poder realizar el ensayo correspondiente. Posteriormente se preparó las muestras del extracto y de la solución estándar (ácido gálico) a concentraciones de 10, 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 ppm. (Díaz S, 2018, p. 47).

**Procedimiento:** En un tubo de ensayo se colocó 3.9 mg de la solución de DPPH\* agregando 100 µL de muestra del extracto o solución estándar llevando a baño maría a 37°C durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo se dejó en obscuridad durante 20 minutos midiendo la absorbancia a la misma longitud de onda utilizada. Se repitió el procedimiento con cada una de las concentraciones preparadas (Díaz S, 2018, p. 47).

#### **2.6.10. Control microbiológico**

El análisis microbiológico se realizó en el laboratorio de microbiología de la facultad, en los cuales se realizó los siguientes métodos de ensayo para la determinación de: coliformes totales (INEN 1529-7), aerobios mesófilos (INEN 1529-5) y mohos y levaduras (INEN 1529-10).

#### **2.6.11. Determinación de la actividad cicatrizante**

##### **2.6.11.1. Preparación de los geles**

Se prepararon diferentes geles a partir de los extractos etanólicos de: *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a concentraciones de 25, 100 y 300 ppm.

**Procedimiento:** Se preparó una suspensión coloidal de carbopol, previamente hidratada (24 horas), dentro de la cámara de flujo laminar se procedió agregar el extracto a las concentraciones definidas 25 ppm, 100 ppm, 300ppm, después de mezclar bien se adicionó unas pocas gotas de propilenglicol y trietanolamina y se homogenizó fuertemente para evitar separación de fases y con conseguir una consistencia adecuada del gel. Finalmente se adicionó gotas de metil y propilparabeno como conservantes.

### 2.6.11.2. Fase de inducción de la herida en los ratones (*Mus musculus*)

Para eso se utilizó crema depilatoria Veet, colocando por 5 min en la zona a depilar y mediante una gasa húmeda se procedió a retirar la crema con los restos de pelaje del dorso del ratón. Luego de proceso de depilación se dejó reposar al ratón un día con el fin de observar alguna reacción adversa o reacción alérgica por la aplicación de la crema depilatoria.

Transcurrido el tiempo para descartar alergias con una jeringuilla de 1 mm precargada con lidocaína (solución inyectable) se anestesió al ratón por vía subcutánea, luego de esperar que la lidocaína haga efecto se señaló la zona de incisión en el dorso del ratón y para luego con la ayuda de un bisturí realizar el corte en dirección longitudinal de 1.5 cm de diámetro.

### 2.6.11.3. Fase de tratamiento

En esta fase se hizo uso de un total de 25 animales de experimentación (ratones *Mus musculus*) los cuales se los dividió en grupos de 5, estos grupos fueron subdivididos en 5 machos para cada grupo. Renombrados de la de la siguiente manera:

**Tabla 4-2:** Distribución de los grupos de investigación

Control (-)	Control (+)	Extracto C1	Extracto C2	Extracto C3
A1	B1	C1	D1	E1
A2	B2	C2	D2	E2
A3	B3	C3	D3	E3
A4	B4	C4	D4	E4
A5	B5	C5	D5	E5

Realizado por: José Vélez, 2018

A: Grupo sin tratamiento

B: Grupo tratado con medicamento cicatrizante (Ungüento dérmico cicatrizante Repitel)

C: Grupo tratado con el gel a base de extracto de Pumin (*Clinopodium tomentosum*) a 25 ppm.

D: Grupo tratado con el gel a base de extracto de Pumin (*Clinopodium tomentosum*) a 100 ppm.

E: Grupo tratado con el gel a base de extracto de Pumin (*Clinopodium tomentosum*) a 300 ppm.

Con la ayuda de un hisopo previamente esterilizado se procedió a aplicar el gel respectivo a cada uno de los grupos designados, aplicándose el gel dos veces al día; por el tiempo necesario hasta que se cicatrice completamente la incisión. Diariamente medir y recoger los datos del diámetro y ancho de la incisión en cada ratón.

#### 2.6.11.4. *Examen histopatológico*

Una vez que las heridas en el dorso del ratón completaron el proceso de cicatrización, se efectuó la eutanasia a los ratones mediante el uso de éter etílico, y posteriormente se realizó un corte en el área de la cicatriz de un diámetro de 1cm. largo por 0,5 cm. de ancho en el área donde se encuentra la cicatriz, la muestra de piel se colocó en los casetes de biopsia respectivamente codificadas, para luego ser almacenadas en un frasco con formol al 10%, para su análisis histopatológico, el cual fue realizado en el Hospital Oncológico SOLCA por el Dr. Javier Robles encargado del laboratorio patológico.

#### 2.6.11.5. *Análisis estadístico*

Los resultados de la investigación fueron registrados en el programa estadístico SPSS 21, estos datos fueron analizados por test de Anova de un factor y test de Tukey para la determinación de la actividad cicatrizante los diferentes tratamientos.

## CAPITULO III

### 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1. Control de calidad del material vegetal

**Tabla 1-3:** Resultados de los parámetros de calidad de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

PARÁMETROS	RESULTADO (%)	ESPECIFICACIONES
<b>Humedad</b>	11.20 ± 0.0562	14%
<b>Cenizas Totales</b>	3.3 ± 0.0341	5%
<b>Cenizas solubles en agua</b>	1.8 ± 0.0103	2%
<b>Cenizas insolubles en ácido clorhídrico</b>	0.85 ± 0.0387	1%

Realizado por: José Vélez, 2018

Los resultados observados en la tabla 1-3 son los parámetros de humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido clorhídrico todos los valores obtenidos se encuentran dentro de los parámetros según la Farmacopea Española 2012, indicándonos que la materia vegetal o droga obtenida de las hojas y flores de *Clinopodium tomentosum* cumple con las características de calidad.

#### 3.2. Tamizaje Fitoquímico

**Tabla 2-3:** Resultado del tamizaje fitoquímico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

ENSAYO (METABOLITO)	INDICADOR	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO ETANÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
<b>Sudan (Aceites y Grasas)</b>	Gotas o una película de color rojo	(++)	(NA)	(NA)
<b>Dragendorff (Alcaloides)</b>	Opalescencia (+) Tubidez definida (++) Precipitado (+++)	(-)	(+)	(+)
<b>Mayer (Alcaloides)</b>		(-)	(-)	(-)
<b>Wagner (Alcaloides)</b>		(-)	(-)	(+)
<b>Baljet (Lactonas y Cumarinas)</b>	Color rojo (+++) Precipitado rojo (+++)	(-)	(+)	(NA)
<b>Liebermann-Burchard (Triterpenos y/o Esteroides)</b>	Rosado-azul, verde intenso-visible o verde oscuro-negro (positivo)	(+)	(++)	(NA)
<b>Catequinas (Catequinas)</b>	Color verde carmelita sobre la mancha (positivo)	(NA)	(-)	(NA)
<b>Resinas (Resinas)</b>	Precipitado (positivo)	(NA)	(+)	(NA)
<b>Fehling (Azúcares reductores)</b>	Color o precipitado rojo (positivo)	(NA)	(-)	(-)

<b>Espuma (Saponinas)</b>	Altura por mas de 2 mm y permanece por mas de 2 minutos (positivo)	(NA)	(+)	(+)
<b>Tricloruro Férrico (Fenoles y Taninos)</b>	Coloración azul, rojovino o verde intenso (positivo)	(NA)	(+)	(+)
<b>Ninhidrina (Aminoácidos libres o Aminas)</b>	Coloración azul violáceo (positivo)	(NA)	(-)	(NA)
<b>Borntrager (Quinonas)</b>	Fase superior acuosa alcalina de color rosado (++) , color rojo (+++)	(NA)	(+)	(NA)
<b>Shinoda (Flavonoides)</b>	Coloración amarillo, naranja, carmelita o rojo en alcohol amílico (positivo)	(NA)	(+)	(+)
<b>Antocianidinas (Flavonoides)</b>	Color rojo a marrón en la fase amílca (positivo)	(NA)	(+)	(NA)
<b>Mucílagos (Polisacáridos)</b>	Consistencia gelatinosa (positivo)	(NA)	(NA)	(-)
<b>Principios amargos y astringentes (Principios Amargos)</b>	Sabor	(NA)	(NA)	(+)

**Interpretación:** (-) Negativo, (-) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta Evidencia, (NA) No Aplica

**Realizado por:** José Vélez, 2018

Los datos en la Tabla 2-3 son los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico los cuales se puede observar la presencia de aceites, alcaloides, cumarinas, triterpenos, esteroides, resinas, saponinas, fenoles, taninos, quinonas y flavonoides cada uno de ellos, analizados en el extracto.

Según la investigación realizada por Culqui X. en 2017 en la Tesis denominada “Determinación de la actividad antiinflamatoria de la Planta *Clinopodium tomentosum* mediante inhibición de edema plantar inducido por carragenina en ratas *Rattus novegicus*”. En el solvente etéreo se observa la presencia de metabolitos de manera muy similar, se evidenció la presencia de aceites y grasas como también triterpenos y esteroides, en el solvente etanólico se presenciaron cumarinas, triterpenos y esteroides, saponinas, fenoles y taninos, con una leve evidencia resinas, quinonas, flavonoides; y en el solventes acuoso se obtuvo alcaloides y levemente saponinas, fenoles y taninos. Los principales compuestos de *C. tomentosum*, fueron aceites y grasas, cumarinas, triterpenos, fenoles y taninos, levemente se presenciaron resinas, flavonoides y quinonas (Culqui X, 2017, p. 38).

Según el estudio de Mariela Beatriz Vera Saltos, Blanca Fabiola Naranjo Puente, Nicola Malafrente, Alessandra Braca denominado Phenolic compounds from *Clinopodium tomentosum* (Kunth) govaerts (Lamiaceae) el cual permitió el aislamiento de un nuevo compuesto, denominado ácido 2-O-benzoil-3-O-cinamoil-tartárico, junto con doce compuestos conocidos, alcohol dihidrodehidroconiferílico 9'-O-β-D-glucopiranosido, blumenol c glucósido, siringaresinol 4'-O-β-D-glucopiranosido, hesperetina, pinocembrina 7-O-rutinosido, ácido clinopódico E, ácido cafeico, p-Ácido coumárico, éster metílico del ácido cafeico, éster etílico

del ácido cafeico, ácido rosmarínico y éster metílico del ácido rosmarínico. Demostrando así la presencia de compuestos fenólicos en la composición de *Clinopodium tomentosum* (Saltos *et al.*, 2014, pp. 1–5).

### 3.3. Control de calidad del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

El control de calidad de los extractos nos permitió asegurar la identidad propia de la droga cruda, a través de los parámetros físico-químicos. Este control de calidad del extracto se efectuó siguiendo los lineamientos indicados en las Normas ramales para drogas crudas, extractos y tinturas.

**Tabla 3-3:** Control de calidad del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

PARÁMETROS		RESULTADO
Requisitos Organolépticos	Color	Verde oscuro
	Olor	Menta
	Sabor	Amargo
pH		4,89

Realizado por: José Vélez, 2018

En la tabla 3-3 se puede observar que los diferentes parámetros del control de calidad de extractos: el color que fue verde oscuro, el olor fue un olor característico muy parecido a la menta, el sabor fue un tanto amargo y ligeramente picante. En tanto que el valor del pH determinado fue 4,89, este valor de acidez es debido a la presencia de metabolitos secundarios tales como: los flavonoides, fenoles y taninos, ácidos orgánicos que le dan el característico valor ácido propio de este tipo de drogas vegetales.

### 3.4. Cuantificación de Fenoles Totales

Para la determinación de fenoles totales con los datos obtenidos en el ensayo se elaboró una curva de calibración, utilizando como solución estándar ácido gálico a concentraciones definidas (20, 40, 60, 80 y 100 ppm), utilizando los datos obtenidos se encontró el valor ecuación de la recta  $y=0,005+0,1925x$ , y un coeficiente de correlación  $R=0,9820$ ;

**Tabla 4-3:** Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

EXTRACTO ETANÓLICO	CONCENTRACIÓN ppm	mg GAE/mL de Extracto etanólico	PORCENTAJE (%)
<i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth)	2000 ppm	13,853 mgEQ/mL	1,390 %

Realizado por: José Vélez, 2018

En la Tabla 4-3 se evidencia los resultados obtenidos para la cuantificación de Fenoles Totales pertenecientes al extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a 2000 ppm fue 13,853 mgEQ/mL con un porcentaje de 1,390%, para su referencia se utilizó el estudio realizado por Ximena Culqui en el 2017 con la especie *Clinopodium Tomentosum* en el cual se obtuvo valores muy aproximados de 13,366 mgEQ/mL y un porcentaje 1,337 % siendo un valor un tanto menor al obtenido en esta investigación. (Culqui X, 2017, p. 44), lo que confirma que esta planta contiene una baja concentración de Fenoles Totales, podríamos decir por sustancias que pueden estar encubriendo la cuantificación adecuada de compuestos fenólicos, o debido a reacciones falso positivas en el Screening Fitoquímico.

### 3.5. Cuantificación de Flavonoides Totales

Para la determinación de flavonoides totales se elaboró la una curva de calibración, usando como solución estándar quercetina a concentraciones definidas (20, 40, 60, 80 y 100 ppm); utilizando los datos obtenidos se encontró el valor ecuación de la recta  $y=0,0009+0,0066x$  y un coeficiente de correlación  $R^2= 0,9991$ .

**Tabla 5-3:** Cuantificación de flavonoides totales del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

EXTRACTO ETANÓLICO	CONCENTRACIÓN ppm	mg QE/mL de Extracto etanólico	PORCENTAJE (%)
<i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth)	5000 ppm	1,731 mgEQ/mL	0,173 %

Realizado por: José Vélez, 2018

En la Tabla 5-3, podemos observar los datos obtenidos de la cuantificación de flavonoides del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a 5000 ppm el cual fue 1,731 mgEQ/mL y un porcentaje de 0,173 %, para su referencia se utilizó el estudio realizado por Ximena Culqui en el 2017 con la especie *Clinopodium tomentosum* en el cual se obtuvo valores muy aproximados de 1,680 mgEQ/mL y un porcentaje de 0,168 % siendo un valor un tanto menor al obtenido en esta investigación. Estos valores son relativamente bajos (Culqui X, 2017, p. 45).

### 3.6. Ensayo de actividad antioxidante

Para la determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico se elaboró una curva de calibración usando como solución estándar de ácido gálico, que nos dio ecuación exponencial  $y = 0,799e^{-0,024x}$  y coeficiente de correlación  $R^2=0,9817$ ; para dibujar los puntos de la curva de calibración se emplean concentraciones definidas (20, 40, 60, 80, 100 ppm) de *Clinopodium tomentosum* (Kunth), para que los valores de las absorbancias sean los adecuados y coincidan con los puntos dentro de la curva se realizaron diluciones.

**Tabla 6-3:** Resultados del IC<sub>50</sub>

MUESTRAS	CONCENTRACIÓN ppm	RESULTADO IC <sub>50</sub>
<i>Clinopodium tomentosum</i>	2000 ppm	48,339 µg/mL

Realizado por: José Vélez, 2018

En la Tabla 6-3 podemos observar los resultados de actividad antioxidante obtenidos para el extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) en el cual la actividad captadora de radicales libres fue 48,339 µg/mL como referencia para la de capacidad captadora de radicales libres para *Clinopodium tomentosum*, usaremos los datos obtenidos en la investigación realizada por Ximena Culqui en el 2017, en el cual la concentración inhibitoria 50% (IC<sub>50</sub>) fue de 47,751 µg/mL. (Culqui X, 2017, p. 46) a 2000 ppm, lo cual es un valor relativamente bajo y corrobora una baja concentración de compuestos fenólicos obtenidos en esta investigación.

### 3.7. Control microbiológico

**Tabla 7-3:** Control microbiológico de los geles a base de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

PARAMÉTROS	RESULTADOS			LIMITES DE REFERENCIA USP 35
	<i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 25 ppm	<i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) 100 ppm	<i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 300 ppm	
Aerobios mesófilos	22 UFC/mL	15 UFC/mL	13 UFC/mL	<100 UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Mohos y Levaduras	Ausencia	Ausencia	Ausencia	<10 UFC/mL

Realizado por: José Vélez, 2018

En la Tabla 7-3 muestra los resultados del análisis microbiológico del gel de *Clinopodium tomentosum* para eso se realizaron pruebas microbiológicas las cuales arrojaron resultados dentro de los valores permitidos según las normas de la USP 35 garantizando la inocuidad adecuada de nuestro gel y que puede ser aplicado sin ninguna restricción para nuestra investigación.

Los valores de aerobios mesófilos nos indican que el ambiente en el cual se trabajó para la preparación de los geles fue el más apropiado y que no hubo contaminación en el ambiente. Los valores de crecimiento de *Escherichia coli* nos indican la ausencia de los mismos lo cual nos comprueba que nuestro gel no está contaminado con material fecal. Los valores de ausencia de mohos y levaduras nos permiten darnos una idea clara de que el gel preparado tendrá una estabilidad adecuada y por lo tanto al pasar del tiempo no existirá crecimiento de hongos o levaduras dentro de la forma farmacéutica.

### 3.8. Evaluación de la actividad cicatrizante

La evaluación de la actividad cicatrizante del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) se realizó mediante la elaboración geles como forma farmacéutica tópica, los cuales fueron cuidadosamente administrados en las heridas inducidas en los ratones (*Mus musculus*) dos veces al día estas aplicaciones se realizaron hasta que la herida inducida se cierre totalmente y concluya el proceso de cicatrización de la herida (longitud y ancho de la herida).

**Tabla 8-3:** Promedio de las longitudes de las heridas (cm) en ratones (*Mus musculus*)

DÍAS	BLANCO Longitud en cm	MEDICAMENTO (Ungüento dérmico cicatrizante REPITEL) Longitud en cm	Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 25 ppm Longitud en cm	Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 100 ppm Longitud en cm	Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 300 ppm Longitud en cm
1	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
2	1.5	1.4	1.4	1.4	1.3
3	1.3	1.2	1.2	1.3	1.0
4	1.2	1.0	1.1	1.1	0.9
5	1.1	0.9	1.0	1.0	0.8
6	1.0	0.7	0.8	0.9	0.5
7	0.9	0.5	0.7	0.8	0.3
8	0.8	0.3	0.6	0.6	0.2
9	0.7	0.2	0.5	.0.5	0.1
10	0.6	0.1	0.4	0.3	0
11	0.5	0	0.3	0.2	
12	0.4		0.2	0.1	
13	0.3		0.1	0	
14	0.2		0		
15	0.1				
16	0				

Realizado por: José Vélez, 2018

La Tabla 8-3 nos muestra los diferentes resultados de los tratamientos administrados en las heridas inducidas en los ratones y fueron medidas diariamente para indicándonos cuál fue el mejor tratamiento en relación a la menor cantidad de días para cicatrización de la herida. En primer lugar tenemos al gel de *Clinopodium tomentosum* a concentración de 300 ppm, que se completó el proceso de cicatrización a los 10 días de ser administrado resultando ser el tratamiento más efectivo en la investigación, lo cual puede ser debido principalmente a la presencia de aceites esenciales y compuestos terpénicos presentes en la estructura de nuestra planta, a continuación tenemos al control positivo (Ungüento cicatrizante "Repitel") el cual terminó su proceso de cicatrización a los 11 días, en tercer lugar tenemos al gel de *Clinopodium tomentosum* a concentración de 100 ppm el cual termino el proceso de cicatrización a los 13 días, en cuarto lugar tenemos al gel de *Clinopodium tomentosum* a concentración de 25 ppm el cual concluyo su

proceso de cicatrización a los 14 días, y por ultimo tenemos al control negativo (sin tratamiento) el cual termino el proceso de cicatrización a los 16 días.

**Tabla 9-3:** Promedio del ancho de las heridas (mm) en ratones (*Mus musculus*)

DÍAS	BLANCO Ancho en mm	Control (+)	Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 25 ppm Ancho en mm	Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 100 ppm Ancho en mm	Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 300 ppm Ancho en mm
		MEDICAMENTO (Ungüento dérmico cicatrizante REPITEL) Ancho en mm			
1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
3	0.5	0.4	0.5	0.4	0.4
4	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4
5	0.4	0.3	0.4	0.3	0.3
6	0.4	0.3	0.4	0.3	0.2
7	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2
8	0.3	0.2	0.3	0.2	0.1
9	0.3	0.2	0.3	0.2	0.1
10	0.3	0.1	0.2	0.2	0
11	0.2	0	0.2	0.1	
12	0.2		0.1	0.1	
13	0.2		0.1	0	
14	0.1		0		
15	0.1				
16	0				

Realizado por: José Vélez, 2018

En la Tabla 9-3 podemos observar los parámetros de ancho de las heridas y el tiempo de cicatrización de las mismas cuando se aplicó los diferentes tratamientos en los diferentes periodos de tiempo, estos resultados nos permiten concluir que los tiempos de cierre o cicatrización de longitud y ancho de las heridas tienen concordancia, mostrándonos que el tratamiento más efectivo fue el gel de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a concentraciones de 300 ppm.

**Tabla 10-3:** Tiempo de cicatrización de las heridas (días)

GRUPOS	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Pumin) a 300 ppm	10	10	10	11	10	10,2±0.45
Medicamento (Ungüento cicatrizante REPITEL)	11	12	11	12	11	11,4±0.55
Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Pumin) 100 ppm	13	12	13	14	12	12,8±0.84
Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Pumin) a 25 ppm	14	14	14	15	14	14,2±0.45
Blanco	16	16	15	16	16	15,8±0.45

Realizado por: José Vélez, 2018

La Tabla 10-3 nos muestra los resultados del tiempo de cicatrización de las lesiones inducidas en ratones en relación a los días y tomo todo el proceso de cerrado de la herida, demostrándonos que el gel de *Clinopodium tomentosum* a concentración de 300 ppm obtuvo un promedio de 10,2 días, a continuación tenemos el control positivo (ungüento cicatrizante Repitel) con 11,4 días, en tercer lugar tenemos al gel de *Clinopodium tomentosum* a concentración de 100 ppm con un tiempo de 12,8 días, en cuarto lugar tenemos al gel de *Clinopodium tomentosum* a concentración de 25 ppm con 14,2 días y en quinto y en último lugar tenemos al control negativo (sin tratamiento) con 15,8 días para el cierre de la herida inducida. Esto puede ser debido a las diferentes sustancias bioactivas que pertenecen a la composición de las plantas con efecto cicatrizante estos fitoquímicos bioactivos incluyen varias familias químicas, como alcaloides, aceites esenciales, flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas y compuestos fenólicos. Que han demostrado una amplia gama de actividades tales como: antiinflamatorio, antibacteriano, antimicrobiano y antioxidante. Los antioxidantes desempeñan un papel determinante en la progresión de la cicatrización de heridas. Mientras que los agentes antiinflamatorios también tienen un papel clave en el proceso de curación de la herida y previenen la exacerbación de la gravedad de la herida. Los agentes antimicrobianos también son útiles en el manejo de la infección microbiana, que puede ocurrir concomitantemente en heridas graves y crónicas (Jarić *et al.*, 2018, p. 7).

Los taninos pueden ser utilizados como un medicamento en el tratamiento de la piel para úlceras y heridas esto es gracias a sus propiedades astringentes antibacterianas, los ácidos tánicos muestran actividad antimicrobiana contra patógenos (Jarić *et al.*, 2018, p. 7).

Terpenoides, triterpenoides y flavonoides también son conocidos por promover la curación de heridas debido gracias a su actividad astringente y antimicrobiana, estos son responsable de la contracción en las heridas y aumenta la de epitelización de la piel lesionada (Jarić *et al.*, 2018, pp. 7–8).

Los flavonoides también poseen potentes propiedades antioxidantes y de eliminación de radicales libres y aumentar los niveles de enzimas antioxidantes en el tejido de granuloma. Su papel en la curación de heridas se basa en su capacidad para reducir los lípidos peroxidación no solo previniendo o retardando la aparición de necrosis celular, sino también mejora de la vascularización. Los flavonoides aumentan la viabilidad de las fibras de colágeno, aumentando la circulación, previniendo el daño celular (Jarić *et al.*, 2018, p. 8).

### 3.9. Análisis estadístico

Para elaborar el análisis estadístico usamos el software estadístico SPSS 21, el cual se utilizó para la obtención de resultados estadísticos confiables, se realizó el test de Anova de un factor y test de Tukey, con el objetivo principal de obtener diferencias estadísticas significativas entre los diferentes controles y tratamientos experimentales utilizados en esta investigación.

**Tabla 11-3:** Análisis de Anova de un factor según el tiempo de cicatrización de las heridas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	98,240	4	24,560	76,750	,000
Intra-grupos	6,400	20	,320		
Total	104,640	24			

Realizado por: José Vélez, 2018

En la tabla 11-3 podemos notar los resultados obtenidos y analizados del test de Anova de un factor, podemos distinguir que existe diferencia significativa entre los diferentes controles y tratamientos con un con p-valor de 0.00, el mismo que es menor al nivel de significancia de 0.05%; esto nos lleva a deducir que se rechaza la hipótesis nula y se aceptamos la hipótesis alternativa la cual nos muestra que existe diferencia significativa con respecto al tiempo de cicatrización de los diferentes grupos controles y tratamientos experimentales.

**Tabla 12-3:** Análisis estadístico de Tukey según el tiempo de cicatrización de las heridas

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Gel Clinopodium tomentosum 300 ppm	5	10,20			
Medicamento (ungüento cicatrizante Repitel)	5		11,40		
Gel Clinopodium tomentosum 100 ppm	5			12,80	
Gel Clinopodium tomentosum 25 ppm	5				14,20
Blanco	5				15,80

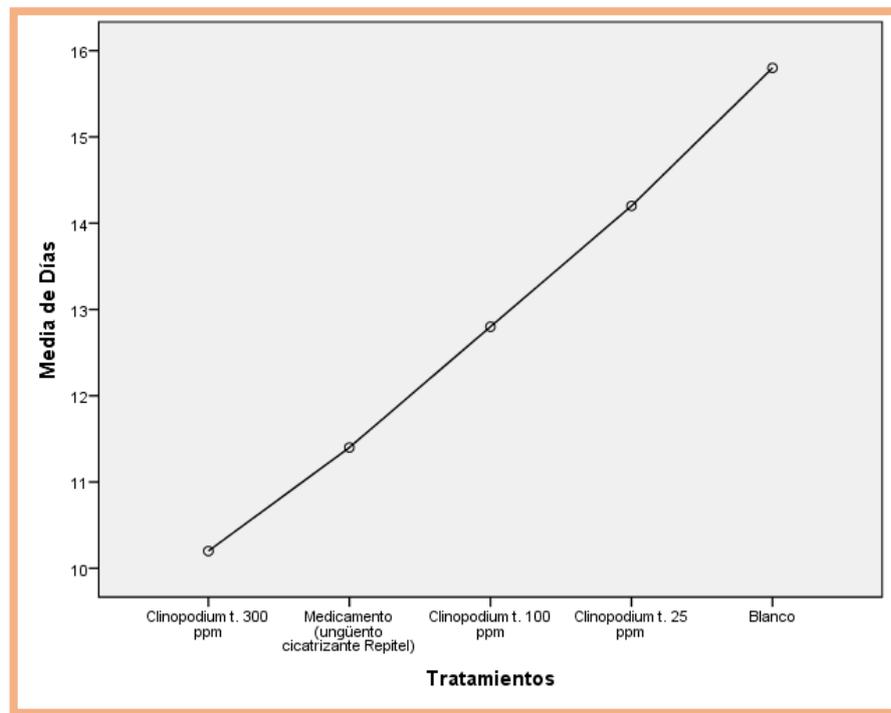
Se observan las medias de los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

Realizado por: José Vélez, 2018

En la tabla 12-3 podemos evidenciar la prueba de subconjuntos de grupos de Tukey, el cual nos dio como resultado que el Gel de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a concentración de 300 y en control (+) el medicamento (ungüento cicatrizante Repitel) tienen un elevado efecto cicatrizante con respecto a los demás tratamientos, esto se debe a que sus medias no son iguales estadísticamente con respecto a los demás subconjuntos. El subconjunto de el Gel de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a concentración de 100 ppm difiere sus medias del primer subconjunto, podemos observar que para el subconjunto de Gel de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a

concentración de 25 ppm y Blanco el valor de sus medias son algo similares. Comparando las medias entre los subconjuntos podemos deducir que existen diferencias significativas entre los subconjuntos de investigación analizados.



**Gráfico 1-3:** Tiempo de cicatrización (días) de los diferentes controles y tratamientos  
Realizado por: José Vélez, 2018

El gráfico 1-3 podemos observar gráficamente el tiempo en días en el que se cicatrizó las heridas inducidas en los ratones en relación al tratamiento aplicado a los diferentes grupos experimentales. Podemos ver que para entender de mejor manera el gráfico este se divide en el eje Y (ordenadas) el cual representa el tiempo que demoró en cicatrizar las heridas inducidas y el eje X (abscisas) en el cual se muestran los diferentes controles y tratamientos aplicados, estas evidencias nos permiten dictaminar que el tratamiento que obtuvo la mayor efectividad cicatrizante fue el Gel de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) a concentración de 300 ppm, con un tiempo de cicatrización de 10 días como se muestra en la gráfica estadística obtenida del SPSS 21.

### 3.10. Examen histopatológico

**Tabla 13-3:** Examen histopatológico de la piel de los ratones (*Mus musculus*)

GRUPOS	FIBROSIS	CONGESTIÓN VASCULAR	EDEMA	PMN	MMN
Blanco	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 25 ppm	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) 100 ppm	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
MEDICAMENTO (Ungüento dérmico cicatrizante REPITEL)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Gel de extracto <i>Clinopodium tomentosum</i> (Kunth) a 300 ppm	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

**Interpretación:** Polimorfonucleares (PMN); Monomorfonucleares (MMN); No se observa (-); Baja (+); Moderada (++); Alta (+++)  
**Realizado por:** José Vélez, 2018

En la Tabla 13-3 se muestran los resultados del análisis histopatológico de la muestra de piel cicatrizada de los ratones, siguiendo los siguientes parámetros: fibrosis, congestión vascular, edema, polimorfonucleares (PMN), monomorfonucleares (MMN). Podemos observar en la tabla que todos los tratamientos muestran la presencia de fibrosis esto es debido al incremento del tejido conectivo en la zona de la cicatriz ya esto es consecuencia del proceso de reparación celular en la zona lesionada. (Asto S, 2015, p. 56) Los resultados de la congestión vascular y edema van de la mano debido que muestran que existe acumulación de sangre en los vasos sanguíneos debido a la congestión de los mismos lo que produce una acumulación de líquido en el espacio intersticial de los tejidos provocando como resultado la aparición del edema en la zona de la cicatriz esto se muestra en los tratamientos del blanco y el gel de *Clinopodium tomentosum* a concentración de 25 ppm. (Villalba, 2014, p. 2283) Para los valores de monomorfonucleares (MMN) (actividad fagocítica) y polimorfonucleares (PMN) estos son indicativos de la presencia de infecciones agudas y crónicas respectivamente ya que estos parámetros son primordiales después de la herida ocasionada ya que estos se encargan de mantener la herida libre de microorganismos patógenos, estos resultados aparecieron como positivos para los tratamientos del blanco y de gel de *Clinopodium tomentosum* a concentración de 25 ppm lo cual volvió lento el proceso de cicatrización debido a que el proceso de infección en este tratamiento no se detuvo hasta el final de la cicatrización (Asto S, 2015, p. 56).

## CONCLUSIONES

Los resultados del control de calidad de la materia vegetal seca (*Clinopodium tomentosum*) se encuentran dentro de los valores referenciados por la Real Farmacopea Española 2002 y nos indicó que el material vegetal cumple con las especificaciones de calidad. Del mismo modo los resultados del control de calidad del extracto etanólico (96%), nos muestra que este cumple con los requisitos de calidad según las Normas Ramales para drogas crudas, extractos y tinturas.

Según el tamizaje fitoquímico de las hojas *Clinopodium tomentosum* (Kunth) (extractos etéreo, alcohólico y acuoso) se evidencia la presencia de: aceites, alcaloides, cumarinas, triterpenos, esteroides, resinas, saponinas, fenoles, taninos, quinonas y flavonoides. La cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y flavonoides totales mediante técnica colorimétrica da como resultado 13,853 mgEQ/mL y 1,731 mgEQ/mL respectivamente los cuales son relativamente bajos.

Para la evaluación de la actividad cicatrizante en ratones (*Mus musculus*) por el método de inducción de heridas, se usó el software estadístico SPSS 21, los resultados obtenidos nos permitieron concluir que el gel de *Clinopodium tomentosum* con mayor efecto cicatrizante fue el de 300 ppm ya que las heridas tratadas fueron cicatrizadas en un lapso de 10 días que fue el tiempo más corto en relación a los otros tratamientos el control positivo (11 días), gel de *C. tomentosum* 100 ppm (13 días), gel de *C. tomentosum* 25 ppm (14 días) y el control negativo (16 días) estos resultados también fueron confirmados con la ayuda de los resultados obtenidos en el análisis histopatológico efectuado en las biopsias de piel cicatrizadas los cuales mostraron que para el mejor tratamiento hubo un correcto estado de la cicatriz sin secuelas de infecciones o procesos tardíos de regeneración celular.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar la investigación de los cicatrizantes a base de *Clinopodium tomentosum* como regenerador celular, se recomienda investigar una forma farmacéutica más apropiada que potencie las propiedades cicatrizantes de la planta.
- Se recomienda realizar análisis del aceite esencial de *Clinopodium tomentosum* con el fin de confirmar si este es el compuesto activo con propiedad cicatrizante, ya que hay evidencia de una gran cantidad de estos en la estructura de la planta.
- Se recomienda realizar ensayos de toxicidad de la planta *Clinopodium tomentosum* con el fin de determinar posibles efectos secundarios no favorables para las personas que puedan hacer usos esta.

## BIBLIOGRAFÍA

**ACOSTA SOLIS M.** *Divisiones fitogeográficas y formaciones geobotánicas del Ecuador, Divisiones fitogeográficas y formaciones geobotánicas del Ecuador.* Quito: Casa de la Cultura Ecuatoriana. [en línea], 1968. [Consulta: 2 de noviembre de 2018]. Disponible en: [https://issuu.com/jpinto/docs/1968\\_acosta\\_divfitogformgeobecu\\_cas](https://issuu.com/jpinto/docs/1968_acosta_divfitogformgeobecu_cas)

**ADELMEDE.** *Mecanismo natural de hidratación, Centro Médico Adelméde.* [en línea], 2014. [Consultado: el 2 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://adelmed.blogspot.com/2014/01/mecanismo-naturales-de-hidratacion.html>

**ALVAREZ, C.** “Taninos”, *Revista de Química*, [en línea], 1992. 6(1), pp. 47–63. [Consultado: el 26 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/4619/4606>.

**ANDRADE, A.** *Sistema Tegumentario Piel y Cicatrización.* Mexico. [en línea], 2014. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/PDF/Portal\\_de\\_Recursos\\_en\\_Linea/Presentaciones/SISTEMA\\_TEGUMENTARIO.pdf](http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/PDF/Portal_de_Recursos_en_Linea/Presentaciones/SISTEMA_TEGUMENTARIO.pdf)

**ANTOR, F.** *Heridas. El proceso biológico de la cicatrización.* Mexico. [en línea], 2011. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: [https://personal.us.es/antorfernan/Pagina\\_personal-Cirugia/Apuntes\\_files/Apuntes\\_Tema\\_4.-Heridas.pptx.pdf](https://personal.us.es/antorfernan/Pagina_personal-Cirugia/Apuntes_files/Apuntes_Tema_4.-Heridas.pptx.pdf)

**ARAGON, A.** *Heridas.* Mexico. [en línea], 2013. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://www.aragon.unam.mx/directorio/proteccion\\_civil/pdf/Heridas.pdf](http://www.aragon.unam.mx/directorio/proteccion_civil/pdf/Heridas.pdf)

**ARENAS, J.** “Las Heridas y su Cicatrización”, *Elsevier. Doyma*, 22(5), pp. 11–186. [en línea], 2003. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-las-heridas-su-cicatrizacion-13047753>

**ASTO, S.** “Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos de hojas de Llantén de paramo (*Plántago australis*) en lesiones , inducidas en ratones (*Mus musculus*)”. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [en línea], 2015. [Consultado: el 2 de noviembre de 2018]. Disponible en: [http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4561/1/56T00582\\_UDCTFC.pdf](http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4561/1/56T00582_UDCTFC.pdf)

**FORNES, P.** *Enfermería Dermatológica*. Valencia. [en línea], 2008. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://anedidic.com/descargas/formacion-dermatologica/03/la-cicatrizacion-de-las-heridas.pdf>

**BARALDÉS XÉNIA.** “Aceites Naturales”, *Vida Natural*. [en línea], 2012. [Consultado: el 9 de enero de 2019]. Disponible en: [https://exceltictherapeutic.com/wp-content/uploads/2017/12/Aceites-naturales\\_Exceltic.pdf](https://exceltictherapeutic.com/wp-content/uploads/2017/12/Aceites-naturales_Exceltic.pdf)

**BENÍTEZ CRUZ, G.** *Taninos Generalidades*. [en línea], 2012. Granada. doi: <https://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822004000500005>.

**BENZO, M. ET AL.** “Determination of the threshold odor concentration of main odorants in essential oils using gas chromatography–olfactometry incremental dilution technique”, *Journal of Chromatography A*. Elsevier, 1150(1–2), pp. 131–135. [en línea], 2007. doi: 10.1016/J.CHROMA.2007.02.031.

**BOTHMER, R.** *Clinopodium*. Madrid. [en línea], 1994. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/12\\_140\\_28\\_Clinopodium.pdf](http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/12_140_28_Clinopodium.pdf)

**BRACA, A. ET AL.** “Phenolic Compounds from *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae)”, *Journal of the Brazilian Chemical Society*. Brazilian Chemical Society, 25(11), pp. 2121–2124. [en línea], 2014. doi: 10.5935/0103-5053.20140181.

**BUENDÍA E, MAZUECOS B, CAMACHO M.** *Manual de Dermatología, Anatomía y Fisiología de la piel*. Segunda, *Manual de Dermatología*. Segunda. Sevilla. [en línea], 2018. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://media.axon.es/pdf/119730\\_1.pdf](http://media.axon.es/pdf/119730_1.pdf)

**CALLE BAYÓN, F.** *Enfermería Dermatológica. La piel es nuestra casa y nuestro abrigo.* Barcelona. [en línea], 2007. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4619647>.

**CARTAYA, O.** “Flavonoides: Características Químicas y Aplicaciones”, *Revista del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas*, 22(2), pp. 5–14. [en línea], 2001. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>

**CINTRON MACHÓN, POVEDA XATRUCH J.** *Revisión La cicatrización queloide (Keloid scarring) Acta Médica Costarricense, Colegio de Médicos y Cirujanos Resumen.* Costa Rica. [en línea], 2008. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v50n2/a04v50n2.pdf>

**CUBA, R.** *Sistema Tegumentario.* Cuba. [en línea], 2010. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/histologia/sistema\\_tegumentario.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/histologia/sistema_tegumentario.pdf)

**CULQUI X.** *Determinación de la actividad Antiinflamatoria de la Planta Clinopodium tomentosum en edema plantar inducido por carragenina en ratas.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [en línea], 2017. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6788/1/56T00717.pdf>

**DECINTI, E.** *Bases de Medicina Clínica-Cirugía General-Heridas.* Chile. [en línea], 2013. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://www.basesmedicina.cl/cirugia/16\\_1\\_heridas/16\\_1\\_heridas.pdf](http://www.basesmedicina.cl/cirugia/16_1_heridas/16_1_heridas.pdf)

**DÍAZ, S.** *Determinación de la actividad cicatrizante de la planta Salvia Real (Salvia sagittata) mediante lesiones inducidas en ratones (Mus musculus).* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [en línea], 2018. [Consultado: el 3 de noviembre de 2018] Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/8901/1/56T00791.pdf>

**ELÍAS, L.** *Taller de Episiotomía*. El Salvador. [en línea], 2017. [Consultado: el 2 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://www.medicina.ues.edu.sv/deptoginecologiyobstetricia/gyo2pdf/Rotafolioepisiotomia.pdf>

**ESCALANTE, V.** *Fisiología de la Cicatrización, Médicos Ecuador*. [en línea], 2011. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos/1/fisiologia\\_de\\_la\\_cicatricacion.htm](http://www.medicosecuador.com/librosecng/articulos/1/fisiologia_de_la_cicatricacion.htm)

**ESCAMILLA J, CUEVAS M, FONSECA, J.** *Flavonoides y sus acciones antioxidantes, Rev Fac Med UNAM*. Mexico. [en línea], 2009. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: [www.medigraphic.com](http://www.medigraphic.com)

**ESTEVA, E.** “El tratamiento de las heridas”, *Elsevier*. Doyma, 25(8), pp. 54–60. [en línea], 2006. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-tratamiento-las-heridas-13094127>

**ESTRADA, S.** *Enfermería en curación de heridas*. Buenos Aires. [en línea], 2013. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.roemmers.com.ar/sites/default/files/Cuidados de Enfermeria en las Heridas.pdf>

**FERNÁNDEZ, K.** *Caracterización de Taninos*. Argentina. [en línea], 2007. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.politecnica.pucrs.br/laboratorios/taninos/restrito/caracterizacion-taninos.pdf>

**FERRÁNDIZ FORASTER, C.** *Dermatología clínica*. Mosby/Doym. Editado por Elsevier. España: Elsevier. [en línea], 2014. [Consultado: el 2 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://tienda.elsevier.es/dermatologia-clinica-studentconsult-en-espanol-9788490221471.html>

**FRANCO, G.** *Histología de la piel, MG Rev Fac Med UNAM*. Mexico. [en línea], 2013. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no46-4/RFM46403.pdf>

**GALLIANO SILVIA.** *Histología y Embriología II Prof. Titular: Dra. Silvia Galliano Ayudante Docente Alumno: Constanza Cesario I.* Argentina. [en línea], 2012. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: [https://www.cemic.edu.ar/descargas/repositorio/2Guia 15 Piel.pdf](https://www.cemic.edu.ar/descargas/repositorio/2Guia%2015%20Piel.pdf)

**GARCÍA, F.** *Cuidados para la curación de heridas y quemaduras.* Barcelona. [en línea], 2011. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: [https://salud.asepeyo.es/wp-content/uploads/2011/09/591\\_Manual\\_Heridas y quemaduras.pdf](https://salud.asepeyo.es/wp-content/uploads/2011/09/591_Manual_Heridas_y_quemaduras.pdf)

**GOTTAU, G.** *¿Qué son y qué propiedades tienen los taninos?, Vitónica.* [en línea], 2009. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.vitonica.com/alimentos/que-son-y-que-propiedades-tienen-los-taninos>

**GUARÍN CORREDOR, C. ET AL.** “Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas Wound healing process of skin, endogenous fields related and chronic wounds”, *Revista de la Facultad de Medicina*, 61(4), pp. 441–448. [en línea], 2013. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v61n4/v61n4a14.pdf>

**INGRATTA, S.** *Dermatología Pautas Básicas para su aprendizaje.* Primera. Editado por E. de la U. de la Plata. Argentina. [en línea], 2017. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/60987>.

**ISAZA, J.** “Taninos o Polifenoles Vegetales”, *Scientia et technica*, 18(33), pp. 13–18. [en línea], 2007. [Consultado: el 26 de octubre de 2018]. Disponible en: [scientia@utp.edu.co](mailto:scientia@utp.edu.co)

**JARIĆ, S. ET AL.** “Traditional wound-healing plants used in the Balkan region (Southeast Europe)”, *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier, 211(2), pp. 311–328. 2018 doi: 10.1016/J.JEP.2017.09.018.

**LEYVA RODRÍGUEZ, F.** *Heridas y Cicatrización en Enfermería Guía Comprometidos con la formación*. Bolivia, La Paz. [en línea], 2012. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: [https://www.ulceras.net/userfiles/files/guia Heridas y Cicatrices en enfermeria OK.pdf](https://www.ulceras.net/userfiles/files/guia%20Heridas%20y%20Cicatrices%20en%20enfermeria%20OK.pdf)

**LISBETH GÓMEZ, C.** *Validación del Efecto Cicatrizante de las Hojas de Ciprés (Cupressus, sp.), Ajenjo (Artemisia absinthium), de las Partes Aéreas del Tomillo (Thymus vulgaris) y de la Corteza de Nance (Byrsonima crassifolia) en Heridas Producidas a Ratas Albinas*. Universidad de San Carlos de Guatemala. [en línea], 2015. (Consultado: el 29 de octubre de 2018). Disponible en: [http://www.repositorio.usac.edu.gt/477/1/06\\_3761.pdf](http://www.repositorio.usac.edu.gt/477/1/06_3761.pdf)

**LÓPEZ LUENGO, M.** “Flavonoides”, *Offarm*, 21(4), pp. 108–112. [en línea], 2002. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13028951>

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID** *Estratos de la Epidermis*. Madrid. [en línea], 2014. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/420-2014-02-07-20-Tumores-piel-texto.pdf>

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID** *Respuesta Inflamatoria aguda Loco-regional Postraumática II (reparación), espuesta Inflamatoria aguda Loco-regional Postraumática II (reparación)*. Madrid. [en línea], 2014. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: [https://www.ucm.es/data/cont/docs/420-2014-03-20-05 Regeneracion.pdf](https://www.ucm.es/data/cont/docs/420-2014-03-20-05%20Regeneracion.pdf)

**MARSOL, I.** *PIEL NORMAL Proceso de cicatrización de las heridas*. Barcelona. [en línea], 2011. [Consultado: el 2 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/sdfe/pdf/download/eid/1-s2.0-S0213925106724704/first-page-pdf>

**MARTÍNEZ FLÓREZ, S. ET AL.** “Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes”, *Nutr. Hosp*, 6(6), pp. 271–278. [en línea], 2002. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

**MARTÍNEZ GORDILLO, M. ET AL.** “Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo Genera of Lamiaceae from Mexico, diversity and endemism”, *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Mexico, 84(2), pp. 30–86. doi: 10.7550/rmb.30158.

**MAS, J.** *Cicatrización de Heridas, Revisat*. Barcelona. [en línea], 2008. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://web.intercom.es/jorgemas/Libro\\_Sutura.pdf](http://web.intercom.es/jorgemas/Libro_Sutura.pdf)

**MEDERMA** *Diversos factores influyen en la formación de cicatrices - Mederma*, <http://www.mederma-world.com>. Merz Pharmaceuticals GmbH, Frankfurt am Main, Germany. [en línea], 2018. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://www.mederma-world.com/es/about\\_scars/influencing\\_factors/index.jsp](http://www.mederma-world.com/es/about_scars/influencing_factors/index.jsp)

**MERINO PÉREZ, J. ET AL.** *Fisiología General la Piel: Estructura y Funciones*. Cantabria, España. [en línea], 2011. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%252011-Bloque%2520II-La%2520Piel.%2520Estructura%2520y%2520Funciones.pdf>

**MIRANDA, M.** “Métodos de Análisis de Drogas y Extractos”, *Farmacognosia y Productos Naturales*. Habana, 2(1), pp. 8–30. 2002

**MIREN, B. ASLA, A.** *El papel de la nutrición en la cicatrización de las heridas*. Universidad del País Vasco. [en línea], 2018. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.enfermeriaaps.com/portal/wp-content/uploads/2017/03/Papel-de-la-nutricion-en-la-cicatrizacion-de-las-heridas.pdf>

**MOJICA, A.** “Actividad electrodérmica aplicada a la psicología: análisis bibliométrico Electrodermal activity applied to psychology: bibliometric analysis Revisión”, *Revista Mexicana de Neurociencia Julio-Agosto*, 18(4), pp. 46–56. [en línea], 2015. (Consultado: el 28 de octubre de 2018). Disponible en: [http://revmexneuroci.com/wp-content/uploads/2017/09/RevMexNeuroci\\_2017\\_18\(4\)-46-56-\(R\).pdf](http://revmexneuroci.com/wp-content/uploads/2017/09/RevMexNeuroci_2017_18(4)-46-56-(R).pdf).

**MORLEY READ** *Flora of Ecuador: Lamiaceae, Clinopodium t.* [Consultado: el 2 de noviembre de 2018]. Disponible en: [http://www.morley-read.com/flora/lamiaceae/source/clinopodium\\_tomentosum\\_\\_ch.html](http://www.morley-read.com/flora/lamiaceae/source/clinopodium_tomentosum__ch.html)

**MOSCOSO A, MONTÚFAR R.** *Especies de Lamiaceae, Libro Rojo de las plantas endémicas del Ecuador.* [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/ListaEspeciesPorFamilia/500244>

**OLIVAS AGUIRRE, F. J. ET AL.** “Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud”, *Nutr Hosp*, 31(1), pp. 55–66. 2015 [Consultado: el 4 de noviembre de 2018]. doi: 10.3305/nh.2015.31.1.7699.

**PEDERSEN, J.** “Distribution and taxonomic implications of some phenolics in the family Lamiaceae determined by ESR spectroscopy”, *Biochemical Systematics and Ecology*. Pergamon, 28(3), pp. 229–253. 2000 [Consultado: el 4 de noviembre de 2018]. doi: 10.1016/S0305-1978(99)00058-7.

**PROAÑO, J.** *Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de romero (Rosmarinus officinalis), matico (Piper aduncum) y cola de caballo (Equisetum arvense) en heridas inducidas en ratones (Mus musculus).* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. [en línea], 2013. [Consultado: el 4 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/2611/1/56T00386.pdf>

**QUIÑONES M, ALEIXANDRE M.** “Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular”, *Nutrición Hospitalaria*. Madrid: Jarpyo Editores, 27(1), pp. 76–89. [en línea], 2012. [Consultado: el 29 de octubre de 2018]. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112012000100009](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009)

**SALEM, C. ET AL.** *Heridas. Conceptos generales.* Chile. [en línea], 2000. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://mingaonline.uach.cl/pdf/cuadcir/v14n1/art15.pdf>

**SENET, P.** *Fisiología de la cicatrización cutánea, EMC - Dermatología.* 2008. Mexico. doi: 10.1016/S1761-2896(08)70356-X.

**SERNA V, LÓPEZ A, MOLINA, J.** *Bases Fisiológicas. Histología y fisiología de la piel.* España. [en línea], 2010. [Consultado: el 27 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo2/CAP04.pdf>

**VERA, M.** *Chemical study of plants belonging to Ecuadorian flora.* University of Pisa. 2015. doi: 10.1080/14786419.2013.843179.

**VILLALBA, V.** “Trastornos Hermodinamicos II: Hiperemia, Congestión, Hemorragia y Hemostasia”, *Revistas Bolivianas.* La Paz: Revistas Bolivarianas, 43(1), pp. 2–5. [en línea], 2014. [Consultado: el 2 de noviembre de 2018]. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400008&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000400008&script=sci_arttext)

**YAMAMOTO, M.** “Fisiología de la piel”, *Revista Peruana de Dermatología.* Perú, 11(2), pp. 1–3. [en línea], 2001. [Consultado: el 4 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://www.cedlabs.com/wp-content/uploads/2015/09/Estructura-y-Funcion-de-la-Piel.pdf>

**YUSTE GARCIA, P.** *Infecciones Quirúrgicas, Madrid: Universidad Complutense, Departamento de Cirugía.* Madrid. [en línea], 2010. [Consultado: el 28 de octubre de 2018]. Disponible en: [https://www.ucm.es/data/cont/docs/420-2014-03-20-07\\_Infecciones\\_quirurgicas.pdf](https://www.ucm.es/data/cont/docs/420-2014-03-20-07_Infecciones_quirurgicas.pdf)

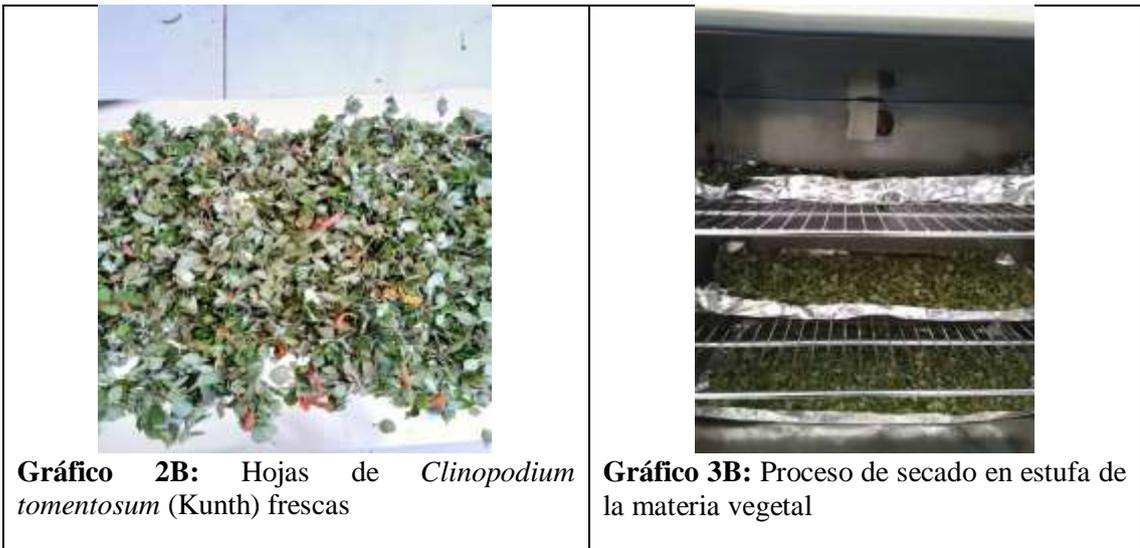
## ANEXOS

### Anexos A. Recolección del material vegetal *Clinopodium tomentosum* (Kunth)



**Gráfico 1A:** *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

### Anexos B. Acondicionamiento de la materia vegetal



**Gráfico 2B:** Hojas de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) frescas



**Gráfico 3B:** Proceso de secado en estufa de la materia vegetal



**Gráfico 4B:** Hojas de *Clinopodium tomentosum* (Kunth) secas



**Gráfico 5B:** Proceso de molienda de la materia vegetal

**Anexos C. Control de calidad del material vegetal**



**Gráfico 6C:** Determinación de humedad



**Gráfico 7C:** Determinación de cenizas totales



**Gráfico 8C:** Determinación de cenizas solubles e insolubles

**Anexos D. Tamizaje Fitoquímico**



**Gráfico 9D: Extracto etéreo**

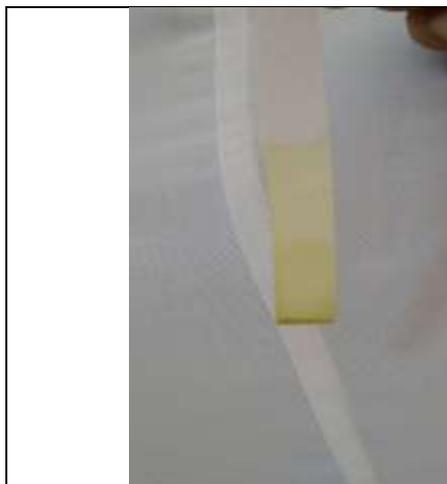


**Gráfico 10D: Extracto alcohólico**



**Gráfico 11D: Extracto acuoso**

### Anexos E. Control de Calidad del Extracto Etanólico



**Gráfico 12E:** Determinación de color



**Gráfico 13E:** Determinación de pH

### Anexos F. Obtención del extracto etanólico



**Gráfico 14F:** Material vegetal seco y Alcohol al 96%



**Gráfico 15F:** Proceso de Maceración

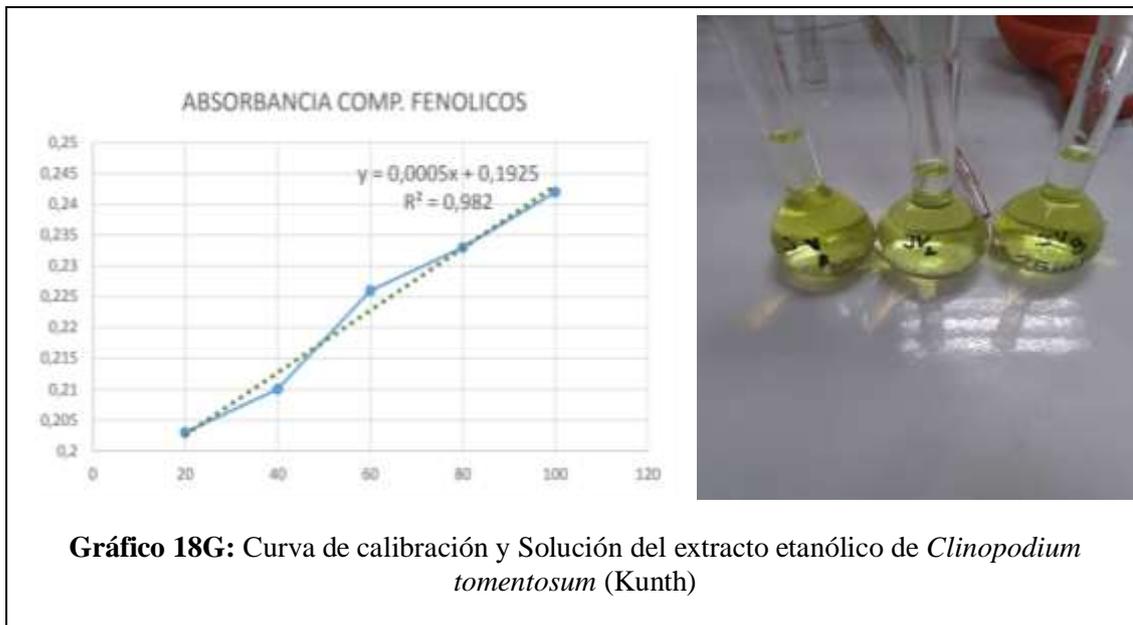


**Gráfico 16F:** Concentración en el rotavapor

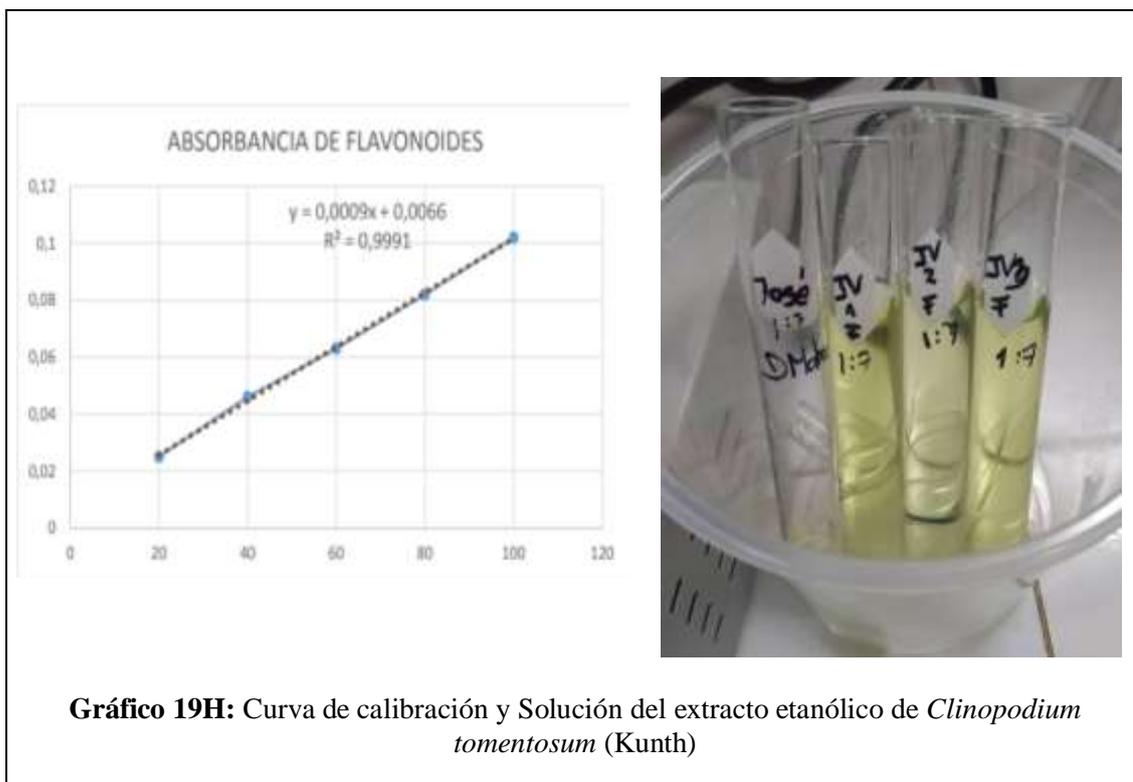


**Gráfico 17F:** Extracto etanólico

### Anexos G. Cuantificación de Fenoles totales



### Anexos H. Cuantificación de Flavonoides totales



**Anexos I.** Determinación de la actividad antioxidante



**Gráfico 20I:** Solución del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Pumin)

**Anexos J.** Preparación de geles para la evaluación cicatrizante



**Gráfico 21J:** Preparación de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)



**Gráfico 22J:** Preparación de los geles a base del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)



**Gráfico 23J:** Obtención de geles del extracto etanólico de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)

**Anexos K.** Evaluación de la actividad cicatrizante de los geles a base de los extractos de *Clinopodium tomentosum* (Kunth)



**Gráfico 24K:** Selección y pesado de los ratones (*Mus musculus*)



**Gráfico 25K:** Periodo de ambientación de los ratones (*Mus musculus*)



**Gráfico 26K:** Depilación de dorso del ratón



**Gráfico 27K:** Materiales para la realización de las incisiones en el dorso de los ratones



**Gráfico 28K:** Materiales para la aplicación de los geles en el dorso lesionado de los ratones



**Gráfico 29K:** Proceso de Cicatrización

**Anexos L. Examen Histopatológico**



**Gráfico 30L:** Eutanasia del Ratón



**Gráfico 31L:** Materiales para la obtención de la muestra de piel

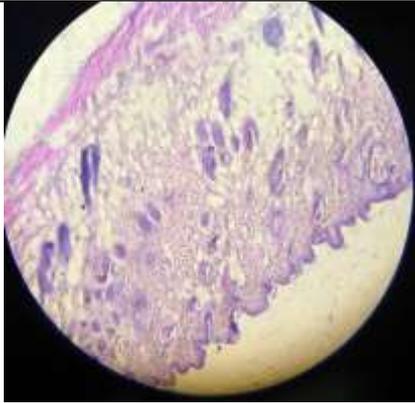


**Gráfico 32L:** Muestras de piel cicatrizada

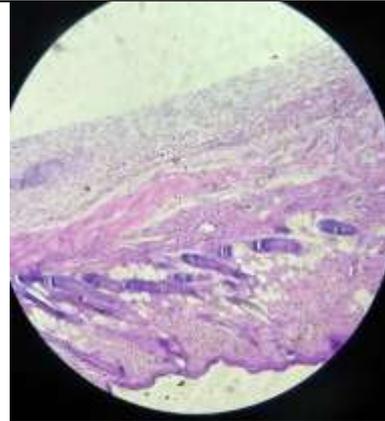


**Gráfico 33L:** Casetes de muestras de piel en formol al 10%

**Anexos M.** Examen microscópico de las biopsias de piel



**Gráfico 34M:** Blanco



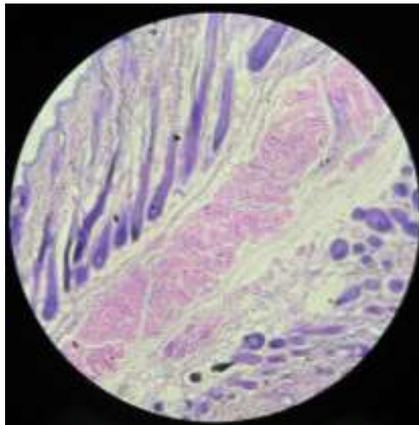
**Gráfico 35M:** *Clinopodium tomentosum* (Kunth) 25 ppm



**Gráfico 36M:** *Clinopodium tomentosum* (Kunth) 100 ppm



**Gráfico 37M:** Medicamento (ungüento cicatrizante Repitel)



**Gráfico 38M:** *Clinopodium tomentosum* (Kunth) 300 ppm

## Anexos N. Identificación de la materia vegetal



Ambato, 29 de noviembre del 2018

Of. 06-AMAS-2018

Ing.  
Pablo Pazmiño  
**DIRECTOR PROVINCIAL DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE DE TUNGURAHUA**  
Presente.-

De mis consideraciones:

Primeramente permítame saludarle y desearle éxitos en sus funciones que acertadamente desempeña en beneficio del medio ambiente de nuestro país. Por intermedio del presente me permito informar que la Dra. Susana Abdo Directora del Proyecto "Evaluación in vivo de la actividad cicatrizante de extarcto etanólico de *Clinopodium tomentosum* Kunth en lesiones inducidas en ratones *Mus musculus*". Realiza la entrega a través de su estudiante Sr. José Vélez integrante de su grupo de investigación de un duplicado de la siguiente colección botánica: a) *Clinopodium tomentosum* Kunth al Herbario Ambato Misael Acosta Solís (AMAS) de la Universidad Técnica de Ambato. Material que se mantendrá bajo la custodia de nuestra institución.

Sin otro particular, agradezco y suscribo.

Atentamente,

PhD. José Homero Vargas López  
CURADOR HERBARIO (AMAS)

