



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA
EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA



Tema: Evaluación de la capacidad cicatrizante *in vivo* de formas farmacéuticas elaboradas con extracto etanólico de hojas de matico (*Eupatorium glutinosum*).

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autores: Ketsi Lizbeth Viracucha Chavez

Tutor: M.Sc. Dánae Fernández Rivero

Ambato – Ecuador

Febrero – 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

M.Sc. Dánae Fernández Rivero

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Titulación y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 12 de enero de 2024

.....

M.Sc. Dánae Fernández Rivero

175718120-9

TUTOR

AUTORÍA DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Ketsi Lizbeth Viracucha Chavez, manifestó que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



.....
Ketsi Lizbeth Viracucha Chavez

1805475736

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



.....
Ketsi Lizbeth Viracucha Chavez

1805475736

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firman:

.....

Presidente del tribunal

.....

Mg. Lander Vinicio Pérez Aldás

1802706596

.....

Mg. Ruth Narcisa Pérez Salinas

1802726628

Ambato, 05 de febrero de 2024

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi madre Carmita por ser el pilar más fundamental en mi vida, por demostrarme que una mujer sola y aguerrida puede salir adelante a pesar de las adversidades. Gracias infinitas por siempre, brindarme una sonrisa y las palabras de aliento en las etapas más difíciles de la carrera, por su amor y sus consejos que han hecho de mí una persona de bien, muchos de mis logros se los debo a ella. Me formo con reglas y algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivo día a día para alcanzar esta meta.

Ketsi Lizbeth Viracucha Chavez

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme su bendición a lo largo de este camino y así permitirme llegar con firmeza y dedicación.

A mi madre Carmita, mis hermanos Jessica, Vanessa y Josué, quienes con sus consejos, enseñanzas y acciones a lo largo de esta hermosa etapa supieron reconfortarme.

A mi compañero de vida Jefferson, que con su amor y palabras de aliento ha sabido sacarme sonrisas en los peores momentos, por brindarme apoyo incondicional a pesar de la distancia, gracias por enseñarme que la nobleza del corazón siempre hablara por las personas y por nunca dejarme sola aún en los momentos más difíciles. Finalmente, como no sentirme feliz al culminar esta etapa de tu mano.

A mi primer tutor PhD. Irvin Tubón gracias por compartir sus conocimientos, brindarme dirección y alentarme en cada paso de este camino. Sus comentarios y sugerencias han enriquecido mi proyecto. Trabajar bajo su supervisión ha sido una gran experiencia educativa, aprecio sinceramente el tiempo dedicado.

A mi segunda tutora M.Sc. Dánae Fernández Rivero, quien me oriento y apoyo durante todo el proceso. Su dedicación, paciencia y conocimientos han sido fundamentales para la elaboración de este proyecto.

Al Doc. Orestes López por tener paciencia a cada duda presentada para enriquecer mis conocimientos. Al docente Mg. Juan de Dios Espinoza por brindarme sus conocimientos en el área estadística de este proyecto. Al BQF Benja Román por su enseñanzas y consejos dentro del bioterio.

A la Universidad Técnica de Ambato y de manera especial a la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y biotecnología por la formación académica brindada.

A mis amig@s Wendy, Irene, Gonza, Joshua y Cayo con l@s cuáles he pasado vivencias únicas, sus consejos a lo largo de la carrera han sido invaluable, son las herman@s que me dio la vida. Gracias por ser tan increíbles conmigo, l@s llevaré en mi corazón. Gracias por todo: Nía, Carito, Lichita y Chirley.

Ketsi Lizbeth Viracucha Chavez

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DE TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE GENERAL DE TABLAS	xii
ÍNDICE GENERAL DE FIGURAS	xiii
RESUMEN EJECUTIVO	xv
ABSTRACT.....	xvi
CAPÍTULO 1.- MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. Planteamiento del problema y justificación.....	1
1.1.2. Anatomía y fisiología de la piel.....	2
1.1.2.1. Epidermis	3
1.1.2.2. Dermis	4
1.1.2.3. Hipodermis.....	5
1.1.3. Heridas	5
1.1.3.1. Clasificación de heridas.....	5
1.1.3.2. Factores que influyen en la cicatrización de heridas	6
1.1.4. Cicatrización de la herida	8
1.1.4.1. Primera Fase (Inflamación)	8
1.1.4.2. Segunda Fase (Proliferación).....	9
1.1.4.3. Tercera Fase (Remodelación)	9

1.1.5.	Fitoterapia	9
1.1.6.	Matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>).....	10
1.1.6.1.	Taxonomía.....	11
1.1.6.2.	Composición química de la planta de Matico	12
1.1.6.3.	Usos comunes.....	12
1.1.7.	Extracción de material vegetal.....	13
1.1.7.1.	Extracción etanólica	14
1.1.8.	Microencapsulación.....	14
1.1.9.	Formas Farmacéuticas de administración tópica	15
1.1.9.1.	Crema con extracto vegetal microencapsulado	16
1.1.9.2.	Hidrogel con extracto vegetal microencapsulado	17
1.1.10.	Control de Calidad.....	17
1.1.11.	Modelos Animales de experimentación	18
1.1.11.1.	<i>Rattus norvegicus</i>	19
1.2.	Objetivos	20
1.2.1.	Objetivo General	20
1.2.2.	Objetivos Específicos	20
CAPITULO II.- METODOLOGÍA		21
2.1.	Materiales.....	21
2.1.1.	Equipos de laboratorio.....	21
2.1.2.	Reactivos	21
2.1.3.	Material fungible	22
2.1.4.	Material Biológico.....	23
2.2.	Métodos.....	23
2.2.1.	Elaboración de formas farmacéuticas	23
2.2.1.1.	Recolección de las hojas de matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>).....	23
2.2.1.2.	Lavado y desinfección de las hojas.....	23

2.2.1.3.	Preparación del extracto etanólico de Matico	24
2.2.1.4.	Cálculo de rendimiento.....	24
2.2.1.5.	Microencapsulación.....	24
2.2.1.6.	Elaboración de la crema de Matico.....	25
2.2.1.7.	Elaboración del hidrogel de Matico	25
2.2.1.8.	Control de Calidad.....	25
2.2.2.	Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en formas farmacéuticas y extracto etanólico	27
2.2.2.1.	Fenoles Totales	28
2.2.2.2.	Flavonoides Totales	28
2.2.2.3.	Preparación de DPPH y Trolox.....	28
2.2.3.	Determinación del efecto cicatrizante de las formas farmacéuticas en un modelo animal.....	30
2.2.3.1.	Permiso de bioética.....	30
2.2.3.2.	Adquisición del biomodelo animal en el bioterio	30
2.2.3.3.	Ambientación del modelo animal	30
2.2.3.4.	Efecto cicatrizante	31
2.2.3.5.	Análisis estadístico	31
CAPITULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN		32
3.1.	Análisis y discusión de los resultados.....	32
3.1.1.	Elaboración de formas farmacéuticas (hidrogel y crema) a partir del extracto etanólico de las hojas de matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)	32
3.1.2.	Determinación de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante del extracto etanólico.....	41
3.1.3.	Determinación de la actividad cicatrizante de las formas farmacéuticas elaboradas y del extracto etanólico <i>in vivo</i> mediante un corte dorsal usando un modelo animal.....	45
CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		52
4.1.	Conclusiones	52

4.2. Recomendaciones.....	53
MATERIAL DE REFERENCIA.....	54
ANEXOS	66

ÍNDICE GENERAL DE TABLAS

Tabla 1. Análisis microbiológico de las dos formas farmacéuticas.....	40
Tabla 2. Cuantificación de fenoles totales de las formas farmacéuticas y extracto concentrado de matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>).....	41
Tabla 3. Cuantificación de flavonoides totales del extracto concentrado y las formas farmacéuticas de matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)	42
Tabla 4. Capacidad antioxidante del extracto concentrado y formas farmacéuticas del matico.....	44
Tabla 5. Clasificación de grupos experimentales	45
Tabla 6. Análisis de varianza día 3.....	73
Tabla 7. Análisis Tukey día 3 a una confianza de 95 %.....	73
Tabla 8. Análisis Dunnett día 3 a una confianza de 95 % día 3.	73
Tabla 9. Análisis de varianza día 5.....	74
Tabla 10. Análisis Tukey día 5 a una confianza de 95 %.....	74
Tabla 11. Análisis Dunnett día 5 a una confianza de 95 %	74
Tabla 12. Análisis de varianza día 7.....	75
Tabla 13. Análisis Tukey día 7 a una confianza de 95 %.....	75
Tabla 14. Análisis Dunnett día 7 a una confianza de 95 %	75
Tabla 15. Análisis de varianza día 14.....	76
Tabla 16. Análisis Tukey día 14 a una confianza de 95 %.....	76
Tabla 17. Análisis Dunnett día 14 a una confianza de 95 %.....	76

ÍNDICE GENERAL DE FIGURAS

Figura 1. Vista microscópica de la epidermis	4
Figura 2. Planta de Matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)	11
Figura 3. Espectroscopia de resonancia infrarroja obtenidos para el extracto concentrado de matico sin microencapsular	34
Figura 4. Mezcla de goma arábica y maltodextrina	35
Figura 5. Espectro de infrarrojo del microencapsulado de Matico.	36
Figura 6. Porcentaje del área de cicatrización en el día 3	47
Figura 7. Porcentaje del área de cicatrización en el día 5	48
Figura 8. Porcentaje del área de cicatrización en el día 7	49
Figura 9. Porcentaje del área de cicatrización en el día 14	50
Figura 10. Porcentaje del área de cicatrización durante los 14 días	51
Figura 11. A: material vegetal desinfectad, B: secado y C: trituración de material vegetal de matico.....	68
Figura 12. A: material vegetal de matico pesado, B: filtración al vacío y C: Maceración.....	68
Figura 13. A: Rotaevaporación al vacío y B: eliminación del solvente.....	68
Figura 14. A: Microencapsulación de extracto de matico y B: (FT-IR)	69
Figura 15. A: Preparación de crema de matico y B: Preparación de hidrogel de matico	
Figura 16. A: Características Organolépticas, B: Prueba de Extensibilidad, C: prueba de pH y D: prueba de viscosidad.....	69
Figura 17. Análisis Microbiológico	70
Figura 18. Curva de calibración de ácido gálico.....	70
Figura 19. A: Determinación de fenoles totales, lectura de placa en el espectrofotómetro.....	70
Figura 20. Curva de calibración de quercetina	71

Figura 21. Determinación de flavonoides totales, lectura de placa en el espectrofotómetro.....	71
Figura 22. Curva de calibración de Trolox	71
Figura 23. A: análisis de DPPH, lectura de placa en el espectrofotómetro	72
Figura 24. Distribución de 6 ratas en cada grupo.	72
Figura 24. A: realización de la herida, B: aplicación de formulaciones y C: fotografías de la herida	72
Figura 25. Días 3, 5, 7 y 14 evolución de la cicatriz.....	77

RESUMEN EJECUTIVO

Las heridas representan una importante causa de morbilidad y mortalidad a nivel global. A pesar de opciones actuales como apósitos y medicamentos tópicos, se busca un tratamiento más efectivo y asequible. Su abordaje puede llevarse a cabo mediante el uso alternativo de plantas de la medicina tradicional. El matico (*Eupatorium glutinosum*) ha demostrado propiedades antimicrobianas y cicatrizante, sugiriendo su potencial en productos cosméticos. Sin embargo, su estabilidad se ve comprometida por factores externos como la humedad y la luz.

La obtención del extracto permitió llevar a cabo la microencapsulación mediante secado por aspersion con goma arábica y maltodextrina. Se elaboró dos formas farmacéuticas: una crema y un hidrogel de matico. Además, se realizó pruebas de control de calidad, determinaciones de fenoles, flavonoides totales y actividad antioxidante. Se trató la herida con las formas farmacéuticas y el extracto a 5 grupos experimentales durante 14 días.

En la prueba *in vivo* se evaluó la capacidad cicatrizante de los 5 grupos experimentales, donde se identificó al grupo de ratas (*Rattus norvegicus*) tratado con crema de matico como el más eficaz, evidenciado por el menor porcentaje del área de la herida, con 1,3 por ciento en el séptimo.

Palabras clave: Farmacéuticas, cicatrización de heridas, *Eupatorium glutinosum*, fitoterapia, extractos vegetales.

ABSTRACT

Wounds represent an important cause of morbidity and mortality globally. Despite current options such as dressings and topical medications, a more effective and affordable treatment is being sought. Its approach can be carried out through the alternative use of traditional medicine plants. Matico (*Eupatorium glutinosum*) has demonstrated antimicrobial and healing properties, suggesting its potential in cosmetic products. However, its stability is compromised by external factors such as humidity and light.

Obtaining the extract allowed microencapsulation to be carried out by spray drying with gum arabic and maltodextrin. Two pharmaceutical forms were prepared: a cream and a matico hydrogel. In addition, quality control tests, determinations of phenols, total flavonoids and antioxidant activity were carried out. The wound was treated with the pharmaceutical forms and the extract in 5 experimental groups for 14 days.

In the *in vivo* test, the healing capacity of the 5 experimental groups was evaluated, where the group of rats (*Rattus norvegicus*) treated with matico cream was identified as the most effective, evidenced by the lowest percentage of the wound area, with 1.3 percent in the seventh.

Keywords: Pharmaceuticals, wound healing, *Eupatorium glutinosum*, phytotherapy, plant extracts.

CAPÍTULO 1.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Planteamiento del problema y justificación

Las heridas son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo (**Teshome et al., 2022**). La cicatrización de heridas es un proceso complejo que puede verse afectado por varios factores, como la edad, la nutrición y la presencia de enfermedades crónicas. Aunque existen varias opciones de tratamientos para la cicatrización de heridas, como los apósitos y los medicamentos tópicos, todavía hay una necesidad de encontrar un tratamiento más efectivo y accesible (**Sen et al., 2009**).

Además, muchos de los tratamientos actuales pueden ser costosos y no están disponibles para todas las personas que los necesitan. En farmacopeas solo existe entre el 1% y el 3% de fármacos que son predestinados a utilizarse en heridas. Existen fármacos sintéticos para la cicatrización de heridas, pero han presentado una amplia gama de efectos secundarios (**Gavimath et al., 2009**). La Organización Mundial de la Salud ha promovido la medicina tradicional debido a su fácil acceso y costos bajos. El 80% de la población mundial dependen de las plantas medicinales en la atención primaria de salud (**Bermúdez, Oliveira, & Velázquez, 2005**).

En este sentido, el matico (*Eupatorium glutinosum*) es considerado una planta medicinal usada ancestralmente para tratar quemaduras y heridas en América Latina (**Gómez & Cárdenas, 2017**). Se han llevado a cabo diversas investigaciones para explorar las propiedades curativas del matico, utilizando sus bioactivos como los alcaloides, fenoles y flavonoides. De acuerdo con lo anterior mencionado, se ha evidenciado su actividad antimicrobiana y cicatrizante, lo cual resalta su potencial como un valioso ingrediente en la formulación de productos cosméticos (**El-Seedi et al., 2002**). Los fenoles, como la quercetina, kaempferol favorecen la proliferación de fibroblastos normales de la piel.

Por lo cual, existe la necesidad de evaluar su capacidad y potencial cicatrizante como ingrediente en formas farmacéuticas **(Bustamante et al., 2015)**. Las formas farmacéuticas tales como cremas e hidrogeles ofrecen la capacidad de administración tópica, mejoran la absorción, brindan protección y humectación de la piel. Además, aseguran una aplicación eficaz y garantizan la estabilidad y vida útil del medicamento **(Vergés, 2015)**.

La crema es el vehículo de absorción máxima debido a que el excipiente se almacena en la capa cornea de la epidermis y libera de manera lenta el fármaco hacia el interior de la piel, por la gradiente de concentración **(Baravkar et al., 2008)**. Los hidrogeles bioadhesivos de aplicación tópica para la piel, muestran grandes ventajas como la resistencia prolongada durante un gran tiempo en el área de aplicación, lo cual conlleva una administración reducida del producto **(Mitura, Sionkowska & Jaiswal, 2020)**.

La utilización de modelos animales para investigaciones debe cumplir con los principios de las 3R: reducción, refinamiento y reemplazo. Estos principios permitirán garantizar el cumplimiento del trato ético y humano de los animales, con el fin de respetar el bienestar animal **(Bratcher & Reinhard, 2015)**. Los modelos *in vivo* son modelos predictivos para investigaciones de cicatrización de heridas, debido a la representación realista en el entorno de la herida en comparación con los humanos **(Gottrup, Ågren & Karlsmark, 2000)**.

En Ecuador se determinó que el matico es una planta endémica del país, debido a que solo se da en la Sierra ecuatoriana **(Ministerio de la Protección Social, 2008)**. Por lo tanto, se pretendía investigar la evaluación cicatrizante de la piel *in vivo*, con el objetivo de desarrollar una crema e hidrogel que pudiera acelerar este proceso y ofrecer un producto de origen natural.

1.1.2. Anatomía y fisiología de la piel

Para comprender la fisiología de la cicatrización de heridas, es necesario contar con conocimientos acerca de la estructura y anatomía de la piel **(Hamlin, Richardson & Menna, 2008)**. La piel constituye la mayor protección del cuerpo, abarca toda la

superficie externa y desempeña el papel de una barrera física de primera línea contra agentes externos. Además, se le reconoce como un órgano sometido a cambios constantes. La piel se compone de tres capas principales: la epidermis, considerada como la capa superior, debajo de esta se encuentra la dermis y la capa más profunda, la hipodermis **(Yousef et al., 2020)**.

1.1.2.1. Epidermis

Es considerada como la capa más externa de la piel, que carece de vascularización, está compuesta por cinco capas de tejido epitelial de tipo escamoso estratificado. En esta capa, abundan células especializadas como los queratinocitos **(Méndez et al., 2017)**.

Los queratinocitos se generan a partir de las células madre localizadas en la capa basal. Posteriormente, experimentan una transformación en corneocitos, participando activamente en la formación del estrato córneo durante un lapso de 3 a 6 semanas, como se observa en la Figura 1. Estos queratinocitos cumplen la función de sintetizar proteínas, como la queratina, con el fin de mantener la función de barrera, y proteger contra daños mecánicos y ambientales, y garantizar la salud de la piel. Además, el estrato córneo se compone de membrana celular, lípidos complejos y proteínas, conformando una barrera efectiva contra las infecciones microbianas y la deshidratación. Por otra parte, los queratinocitos basales desempeñan un papel esencial en el proceso de cicatrización de la epidermis **(Stan et al., 2021)**.

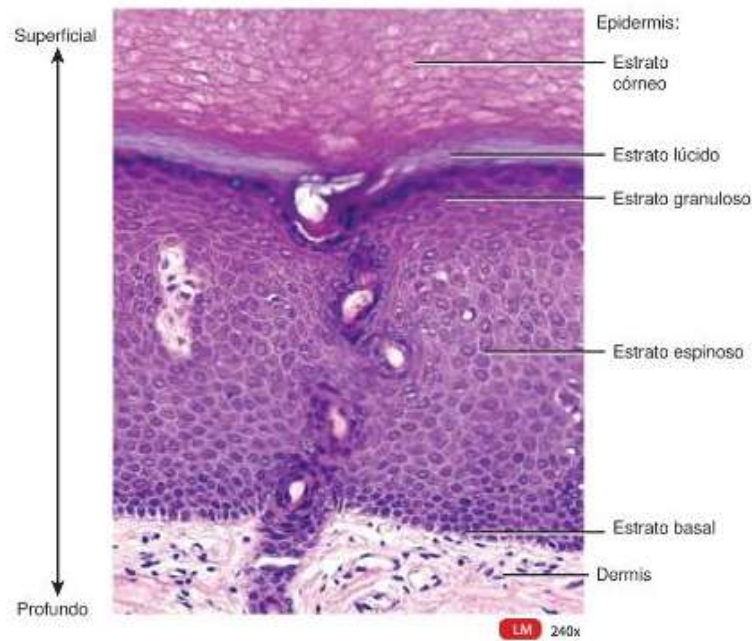


Figura 1. *Vista microscópica de la epidermis*

Fuente: (Peate, Nair & Palacios, 2019).

1.1.2.2. Dermis

La dermis está en conexión con la epidermis a través de la membrana basal y se compone de dos capas de tejido conectivo: la capa reticular y papilar. En su estructura se entran glándulas sudoríparas, cabello, folículos pilosos, músculos, neuronas sensoriales y vasos sanguíneos. Los fibroblastos, mastocitos y linfocitos son células encargadas de facilitar el proceso de cicatrización en esta región (Yousef et al., 2020).

Los fibroblastos son células que abundan en la dermis, su principal característica es encargarse de remodelar y sintetizar la matriz extracelular (ECM), la matriz está formada por elastina, colágeno, proteínas adhesivas y glucosaminoglicanos (Arenas, 2003). El colágeno, una macromolécula abundante en lisina, prolina y glicina, desempeña un papel crucial en la adhesión y migración celular, mientras que la elastina brinda elasticidad. La interacción entre la matriz extracelular y las células facilitan la colagenización y la sinterización, permitiendo así el proceso de cicatrización (Rippa, Kalabusheva, & Vorotelyak, 2019).

1.1.2.3. Hipodermis

Es la capa más profunda de la piel, también denominada capa subcutánea, está formada por tejido conjuntivo, adiposo y por los vasos sanguíneos. Su función abarca el almacenamiento de grasas, la protección de órganos adyacentes, la provisión de aislamiento y la regulación de la temperatura (**Dorado & Fraile, 2021**). En esta capa se encuentran macrófagos, células sebáceas y fibroblastos, además de vasos linfáticos y sanguíneos, así como nervios. El tejido celular subcutáneo desempeña un papel fundamental en el proceso de cicatrización, ya que afecta la aparición y formación de la cicatriz (**Rippa, Kalabusheva, & Vorotelyak, 2019**).

1.1.3. Heridas

Las heridas son lesiones en tejidos del cuerpo, que pueden afectar a la piel, vasos sanguíneos, músculos, nervios o más componentes del cuerpo. Pueden ser causadas por varios factores como: cortes, quemaduras, perforaciones, laceraciones o traumatismo. Se clasifican de acuerdo con las características y el origen (**Kujath, 2008**).

1.1.3.1. Clasificación de heridas

Existen diversas categorizaciones al intentar clasificar una lesión, y se definen las clasificaciones según la profundidad, el agente que la ocasiona o el riesgo de infección asociado. La clasificación más común se basa en el agente causal, lo que permite distinguir varios tipos de heridas como:

Heridas incisas: Las heridas incisas resultan de cortes precisos y rectos en la piel causados por objetos cortantes o afilados, como cuchillos, vidrios u objetos similares. Estas lesiones en general presentan bordes claramente definidos. La velocidad y el proceso de cicatrización pueden depender de la profundidad y ubicación específica de la herida.

Heridas contusas: Las heridas contusas se originan debido a un golpe fuerte contra el cuerpo, resultando en lesiones que no producen cortes limpios y rectos. En cambio, suelen causar magulladuras, hematomas o lesiones más amplias.

Heridas punzantes: Una herida punzante se define como una lesión originada por la inserción de objetos puntiagudos en los tejidos de la piel. La forma puntiaguda del objeto ocasiona una perforación más profunda y estrecha en comparación con otras formas de lesiones cutáneas.

Heridas por laceración: Una herida por laceración se refiere a una lesión en los tejidos cutáneos ocasionada por un corte o desgarro irregular

(Reina et al., 2002).

1.1.3.2. Factores que influyen en la cicatrización de heridas

El proceso de cicatrización está influenciado por factores endógenos o propios del paciente y factores exógenos que se incluyen en el medio ambiente como la temperatura, la humedad, los residuos contaminantes, entre otros (Kędzińska et al., 2021).

Existen una gran cantidad de factores en el proceso de cicatrización como:

Edad

La edad guarda una relación inversamente proporcional con la capacidad de cicatrización, ya que a medida que el paciente envejece, se producen cambios fisiológicos que aumentan el riesgo de una cicatrización deficiente. Estos cambios incluyen la sustitución reducida de colágeno y la disminución de la elasticidad de la piel. Además, el sistema inmunológico tiende a debilitarse, lo que aumenta la susceptibilidad a infecciones (García et al., 2021).

Deshidratación

Produce que los electrolitos sufran un desequilibrio y se altera la función celular. Este problema se presenta en pacientes con fístulas y quemaduras **(García et al., 2021)**.

Infección

La multiplicación de organismos patógenos en el tejido se da cuando el factor de virulencia en la herida se encuentra en competencia con el sistema inmunitario del paciente, causando hinchazón, dolor y aumento de exudados, por lo cual retrasa la cicatrización **(García et al., 2021)**.

La circulación sanguínea

La circulación sanguínea, al proporcionar niveles reducidos de nutrientes y oxígeno, afecta la capacidad de las células para reparar las heridas. Además, la falta de glóbulos blancos también influye negativamente en el proceso, disminuyendo la eficacia del desbridamiento del tejido dañado y resultando en una descontaminación insuficiente de la herida **(García et al., 2021)**.

Nutrición

La nutrición también influye de manera que, al consumir mayores proteínas, y alimentos ricos en vitamina A y C se obtendrá un pronto proceso de cicatrización **(García et al., 2021)**.

Temperatura

La temperatura de la herida deberá permanecer a 37 °C, si llega a disminuir causará una vasoconstricción, causando el aumento de las horas de recuperación **(García et al., 2021)**.

1.1.4. Cicatrización de la herida

El cierre de una herida puede llevarse a cabo de diferentes maneras. El cierre primario está indicado para heridas recientes causadas por incisiones precisas, sin daño significativo al tejido y con una baja contaminación. El cierre secundario, por otro lado, se realiza en heridas que no fueron atendidas de inmediato y presentan una contaminación moderada. Mientras tanto, el cierre por segunda intención es un método de curación en el cual la herida se deja abierta para permitir que cicatrice desde el interior hacia la superficie. **(Azmat & Council, 2022)**. El proceso de cicatrización está constituido por tres fases: inflamación, proliferación y remodelación.

1.1.4.1. Primera Fase (Inflamación)

La etapa de inflamación comienza con la homeostasis, con el objetivo de eliminar materiales extraños y patógenos presentes. En esta fase, los primeros protagonistas son los neutrófilos, atraídos por señales químicas provenientes de la cascada del complemento, TGF- β y las interleucinas, y este proceso se desarrolla durante las primeras 24 a 48 horas. **(Singh, Young, & McNaught, 2017)**.

A continuación, ocurre la apoptosis, donde las células mueren y son eliminadas de la capa superficial de la herida o, alternativamente, son fagocitadas por macrófagos. Posteriormente, estos macrófagos migran y desempeñan la función de fagocitar los desechos, liberando factores de crecimiento como TGF- β y EGF. Estos factores tienen la responsabilidad de regular la cascada inflamatoria, estimulando así la formación de tejido granuloso y la angiogénesis **(Singh, Young, & McNaught, 2017)**. Después de transcurrir 72 horas, los linfocitos se desplazan hacia la herida para supervisar y regular la reparación del tejido. Su función incluye la producción de colágeno y la formación de la matriz extracelular. Esta fase continúa activa hasta que se garantiza la ausencia de infección o la presencia de patógenos. **(Puhaindran, 2008)**.

1.1.4.2. Segunda Fase (Proliferación)

La fase de proliferación inicia con la síntesis de estructuras y sustancias con el propósito de reparar el tejido dañado, involucrando diversos procesos. La angiogénesis es activada, inducida por la combinación de VEGF y diversas citoquinas, en respuesta a la hipoxia. Luego, se estimula a las células vasculares a participar en la neovascularización y a reparar los vasos dañados. **(Stroncek & Reichert, 2007).**

Los fibroblastos empiezan su migración en respuesta a la estimulación de factores como TGF- β y PDGF, los cuales promueven la producción de sustancias de la matriz extracelular, tales como fibronectina y colágeno tipo III. Con el depósito de una cantidad significativa de matriz, los fibroblastos se transforman en miofibroblastos, caracterizados por su resistencia y capacidad contráctil en el tejido. En la última etapa, los miofibroblastos comienzan la contracción de la herida para facilitar su cierre **(Singh, Young, & McNaught, 2017).**

1.1.4.3. Tercera Fase (Remodelación)

Esta fase tiene como objetivo completar la maduración del tejido hasta que la piel esté formada de manera óptima, garantizando que las células estén diferenciadas de manera adecuada. Se busca lograr un equilibrio entre la generación de nuevas células y la apoptosis celular. Además, durante esta fase, se procede a reorganizar el contenido proteico, incluyendo la configuración de colágeno tipo I y III. **(Stroncek & Reichert, 2007).**

1.1.5. Fitoterapia

El uso de plantas medicinales como remedios naturales para propósitos curativos contribuyen a la ampliación del conocimiento sobre especies vegetales con propiedades medicinales. La fitoterapia interviene como medicina alopática al emplear

principios activos que contrarrestan el problema. Además, emplea matrices complejas de los vegetales, ya sea utilizando la planta entera o partes específicas como: raíz, hojas, tallos, etc. **(Avello & Cisternas, 2010)**.

Asimismo, se recurre al uso de productos de la planta obtenidos mediante tratamientos con solventes y otros medios que concentren los compuestos similares, procesos conocidos como extracción. **(Zaragozá & Villaescusa, 2006)**. En fitoterapia, se eligen plantas medicinales con el propósito de estimular y fortalecer el cuerpo, dado que estas plantas contienen diversos compuestos terapéuticos beneficiosos para la salud.

1.1.6. Matico (*Eupatorium glutinosum*)

El matico es reconocido como una planta endémica que crece en la Sierra ecuatoriana. A pesar de esto, solo el 5% de la población está familiarizado con sus beneficios medicinales. A lo largo de la historia, se ha utilizado ancestralmente por sus propiedades como sedante, antiinflamatorio, antimicrobiano y cicatrizante, atribuibles a su abundancia de metabolitos secundarios. **(Bustamante et al., 2015)**.

Se trata de arbustos perennes que logran una altura de 2 a 4 metros. Estos arbustos exhiben ramas de tono grisáceo, hojas aromáticas de disposición opuesta, de color verde brillante como se observa en la Figura 2, mide entre 7 y 10 centímetros de longitud por 2,5 a 3,5 centímetros de ancho, con márgenes dentados y un envés de tonalidad clara. Las flores se presentan en forma tubular, dispuestas en espigas solitarias, exhibiendo un color fucsia **(Bustamante et al., 2015)**.



Figura 2. Planta de Matico (*Eupatorium glutinosum*)

Fuente: (GBIF Secretariat, 2023).

1.1.6.1. Taxonomía

Descripción taxonómica del Matico (*Eupatorium glutinosum*)

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

División: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: Eupatorium

Especie: Glutinosum

Nombre científico: *Eupatorium glutinosum*

1.1.6.2. Composición química de la planta de Matico

El matico (*Eupatorium glutinosum*) presenta diversos compuestos como los fenoles, triterpenos, alcaloides, taninos, resinas, saponinas y flavonoides. Los compuestos más destacados son los fenoles y flavonoides debido a que estos metabolitos se les atribuye la actividad cicatrizante que posee esta planta **(Cruz, 2009)**.

Los fenoles son compuestos naturales y actúan modulando la inflamación, con el fin de facilitar las etapas de remodelación y disminuir el tiempo de cicatrización. Además, los polifenoles derivados de plantas son reconocidos como los compuestos que desempeñan funciones como agentes antioxidantes, antiinflamatorio y antimicrobiano durante el proceso de cicatrización de la herida **(Mssillou et al., 2022)**

Mientras que, los flavonoides desempeñan un papel crucial como agentes antioxidantes al combatir eficazmente el estrés oxidativo. Este último puede resultar perjudicial para las células en fase de cicatrización, y la presencia de antioxidantes se revela como un elemento beneficioso para contrarrestar los efectos negativos asociados con dicho estrés **(Zulkefli et al., 2023)**.

1.1.6.3. Usos comunes

En la medicina tradicional, el matico presenta diversas propiedades beneficiosas. Se utiliza la infusión de las hojas de matico como un agente cicatrizante eficaz en el tratamiento de hemorragias, y también se aplican lavados antisépticos sobre heridas. Además, se emplea en infusiones para aliviar síntomas respiratorios y malestar gastrointestinal, así como para mitigar inflamaciones y abordar la diarrea. Su aplicación tópica se extiende al tratamiento de abscesos, heridas, quemaduras y úlceras cutáneas, ofreciendo una acción natural contra hongos y bacterias **(Torre et al., 2008)**.

1.1.7. Extracción de material vegetal

La extracción permite obtener de forma selectiva compuestos bioactivos a partir de material vegetal complejo. La extracción sólido-líquido es una acción presente en gran cantidad de procesos tecnológicos en las industrias médico-farmacéuticas y química **(Zhang, Lin & Ye, 2018)**.

Existen diversos sistemas de solventes que se pueden emplear para obtener el compuesto bioactivo de productos naturales. En el caso de compuestos hidrófilos, se recurre a disolventes polares tales como metanol, etanol o acetato de etilo. En cambio, para la extracción de compuestos más lipófilos, se prefiere el uso de diclorometano o una combinación de diclorometano y metanol en una proporción de 1:1 **(Sasidharan et al., 2011)**.

Los métodos más usados son la maceración y la percolación

Maceración: En esta técnica, se emplean una variedad de disolventes, así como distintas combinaciones de tiempo y temperatura para llevar a cabo una extracción eficaz. El proceso de maceración desintegra la estructura celular, exponiendo los componentes químicos y permitiendo que reaccionen con el solvente, lo que facilita la eliminación de diversos elementos de la planta **(Bitwell et al., 2023)**.

Percolación: La percolación representa una técnica convencional empleada en la extracción de compuestos activos de un extracto líquido. Se realiza mediante una percoladora estrecha, típicamente con forma de cono. La muestra alimentaria se mezcla minuciosamente con agua, y la solución resultante se vierte desde la parte superior a través de la columna hacia un recipiente sellado. Con el transcurso del tiempo, la mezcla se filtra gradualmente, obteniéndose de este modo el extracto puro **(Sridhar et al., 2021)**.

1.1.7.1. Extracción etanólica

El fundamento de esta técnica de maceración etanólica radica en la eficaz capacidad del etanol para extraer compuestos bioactivos presentes en el material vegetal. Se enfoca en las propiedades del etanol como solvente, permitiendo la disolución eficiente de diversas moléculas, entre las cuales se encuentran compuestos de interés como flavonoides, polifenoles, alcaloides, que están presentes en varias plantas (**Rashid et al., 2021**).

Esta técnica permite que el material vegetal sea polvo o de consistencia gruesa, se sumerja en disolvente, como el etanol, durante más tiempo. Un tiempo de remojo tan prolongado rompe la pared celular e impulsa los bioactivos al disolvente (**Zhang, Lin & Ye, 2018**) y (**Jha & Sit, 2022**). La principal fortaleza de este método abarca un proceso sencillo y exento de calor, siendo apropiado para materiales sensibles a las altas temperaturas, con un costo de instalación y de mantenimiento reducido (**Jha & Sit, 2022**).

1.1.8. Microencapsulación

Los compuestos fitoquímicos bioactivos enfrentan el riesgo de inestabilidad. Pierde su actividad y se descomponen rápidamente al ser extraídos de su fuente original. En este sentido, la microencapsulación se presenta como un procedimiento para encerrar moléculas objetivo con uno o más materiales de pared para proteger y mejorar su estabilidad (**Mainente et al., 2022**). Este método actúa como un escudo protector contra condiciones ambientales perjudiciales, como la exposición a la luz y al oxígeno, así como frente a las condiciones digestivas. Su aplicación permite la distribución controlada de los compuestos bioactivos y asegura su absorción en los lugares específicos deseados (**Suárez, Paulet & Vidal, 2018**).

Existen diversos métodos de microencapsulación como: el método emulsificante y polimerizante, secado por aspersión, coacervación. Se considera como una de las mejores técnicas al método de secado por aspersión, ya que es una técnica de

microencapsulación ampliamente empleada. Este proceso posibilita la transformación de extractos líquidos en polvos, ofreciendo beneficios como mayor estabilidad, facilidad de manipulación y la capacidad de integrarse eficientemente en diversas formas farmacéuticas, alimentos y suplementos funcionales. **(Ríos-Aguirre & Gil-Garzón, 2021).**

Se utilizan diversas matrices de encapsulación en esta técnica, que incluyen polisacáridos como jarabes de maíz, almidones, maltodextrinas, carboximetilcelulosa y goma arábica. También se emplean lípidos como el ácido esteárico, así como diversas proteínas, entre las que destacan la caseína, la gelatina, el trigo y el suero de leche **(Saénz et al., 2009)**. La goma arábica funciona como un agente formador de película, generando una matriz sólida alrededor del núcleo. Este proceso posibilita la liberación controlada de la microcápsula. Por otro lado, la maltodextrina, suele emplearse como componente de revestimiento en la técnica de microencapsulación debido a su habilidad para construir una matriz estable y soluble en agua. Son el material más comúnmente empleado como matriz en el proceso de secado por aspersión, ya que cumple con los requisitos necesarios y tiene un costo reducido **(Saénz et al., 2009)**.

1.1.9. Formas Farmacéuticas de administración tópica

Las formas farmacéuticas de aplicación tópica se pueden dividir en tres categorías: formas sólidas, semisólida y líquidas. Las formas semisólidas son preferidas, ya que se diseñan para ser aplicadas en la piel o en mucosas específicas con el propósito de tener un efecto local, facilitar la penetración percutánea de principios activos o actuar como agentes emolientes o protectores **(Lozano et al., 2012)**

Las formas farmacéuticas que están formados por compuestos bioactivos microencapsulados, mejoran la biodisponibilidad, solubilidad y permeabilidad de los medicamentos. Asimismo, prolongan la vida media de los fármacos en el organismo, reducen la toxicidad y facilitan la liberación dirigida o controlada de los mismos **(Pabón y González, 2017)**.

Estos compuestos activos son los ingredientes que poseen actividad terapéutica o cosmética, y se combinan con un excipiente, el cual se utiliza para brindar consistencia y estabilidad a la forma farmacéutica. Entre los excipientes comunes en cremas e hidrogel se incluyen emulsionantes, agentes gelificantes, conservantes y humectantes. **(García et al., 2015).**

1.1.9.1. Crema con extracto vegetal microencapsulado

Las cremas son descritas como preparaciones semisólidas, ya sean homogéneas o heterogéneas, que se componen de sistemas de emulsión y presentan una apariencia opaca. La consistencia y las propiedades de estas cremas son influenciadas por el tipo de emulsión, ya sea agua/aceite (hidrófobas) o aceite/agua (hidrófilas), así como la naturaleza de los sólidos presentes en la fase interna. Estas preparaciones están diseñadas para ser aplicadas en la piel o mucosas, con propósitos protectores, profilácticos o terapéuticos **(Stan et al., 2021).**

La elaboración de una crema mediante la utilización de extractos microencapsulados posibilita la inclusión de ingredientes activos encapsulados en partículas microscópicas. **(Carvalho et al., 2016).** El uso de la técnica de microencapsulación tiene la capacidad de mejorar la estabilidad de los ingredientes activos y prolongar la duración efectiva de los mismos, convirtiéndose así en un elemento fascinante para la producción de cremas. Además, estos ingredientes pueden exhibir propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas, añadiendo beneficios adicionales a la formulación de la crema. **(Mayhuasca-Ysuhuaylas et al., 2018).**

Diversos tipos de excipientes y aditivos están disponibles, los cuales pueden ser empleados de manera individual o combinada para conferir la forma y consistencia necesarias a cada producto. Entre los excipientes más comúnmente utilizados en la industria cosmética se incluyen el alcohol, agua, carbopol, propilenglicol, acetona, trietanolamina, éter de alcohol, aceites naturales, siliconas, ciclosiliconas, dimeticonas, y lanolina **(Madurga, 2009).**

1.1.9.2. Hidrogel con extracto vegetal microencapsulado

Un hidrogel se caracteriza por ser una estructura tridimensional, elástica y porosa compuesta de polímeros hidrófilos. Estos materiales poseen características que los convierten en una opción óptima para el cuidado de heridas profundas. Entre estas propiedades se incluyen la no adhesividad, la capacidad de retener la humedad, la permeabilidad a los gases, la absorción de exudados y la biocompatibilidad (Stan et al., 2021).

Los hidrogeles cicatrizantes son materiales poliméricos con una mayor capacidad de retención de agua, que se usa para acelerar y promover la cicatrización en heridas (Firlar et al., 2022). Uno de los polímeros más utilizado es la goma xantana que demuestra una notable estabilidad frente a variaciones en el pH y la temperatura, aunque no es compatible con sustancias de naturaleza catiónica. Su estabilidad se ve potenciada en presencia de sales de potasio, sodio, calcio y magnesio (Diego & Arco, 2016).

1.1.10. Control de Calidad

El control y aseguramiento de calidad son procesos cruciales que aseguran la seguridad y eficacia de formas farmacéuticas. La calidad deseada en el producto final se logra al controlar y mantener la calidad en cada etapa, desde la adquisición de la materia prima hasta que el producto llega al consumidor (Almukainzi et al., 2022).

La estabilidad de las formas farmacéuticas puede evaluarse a través de pruebas físicas (como características organolépticas, condición física y tamaño de partículas), químicas (mediante ensayos de componentes activos, pH, identificación, etc.), microbiológicas y propiedades toxicológicas (Kim et al., 2019).

El control de calidad en cremas es esencial para garantizar la seguridad, eficacia y calidad de los productos farmacéuticos y cosméticos, así como para cumplir con las

regulaciones y leyes aplicables. Además, permite mejorar continuamente los procesos de producción y los productos finales (**Almukainzi et al., 2022**).

1.1.11. Modelos Animales de experimentación

Se refiere al animal de experimentación que se cría y se reproduce en condiciones y entorno controlados, con el objetivo de emplearlo como un instrumento de medición en investigaciones científicas. Es decir, se controla su calidad microbiológica, genética y el entorno para evitar cualquier alteración que pudiera modificar el modelo animal y, por ende, afectar su respuesta en el contexto de la investigación. Todo esto se realiza con la finalidad de obtener resultados confiables y reproducibles en el ámbito experimental (**Bratcher & Reinhard, 2015**).

Las investigaciones que emplean modelos animales deben adherirse a los principios de las 3R, con el fin de asegurar un trato ético y compasivo hacia los animales. En el primero de estos principios, el reemplazo, se busca utilizar animales no sensibles (como peces) o materiales en lugar de animales vivos conscientes (**Bratcher & Reinhard, 2015**). El segundo principio, reducción, implica minimizar el número de animales utilizados en experimentos o procedimientos. Finalmente, el tercer principio, refinamiento, se refiere a la implementación de técnicas que reduzcan la incidencia o intensidad del dolor y la angustia experimentados por los animales (**Meyers et al., 2020**).

Los roedores son empleados en estudios sobre cicatrización de heridas, y se prefiere el uso de ratas en lugar de ratones debido a varias razones. Entre ellas se encuentra la diferencia en la estructura cutánea, siendo la piel de los ratones más delgada y con menos capas de queratinocitos en comparación con la piel de las ratas. Además, el tamaño más reducido de los ratones también influye en esta elección (**Meyers et al., 2020**).

1.1.11.1. *Rattus norvegicus*

Descripción taxonómica de la rata (*Rattus norvegicus*):

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Familia: Muridae

Género: Rattus

Especie: norvegicus

Nombre científico: *Rattus norvegicus*

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar la capacidad cicatrizante *in vivo* de formas farmacéuticas elaboradas a partir del extracto etanólico de las hojas de matico (*Eupatorium glutinosum*).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Elaborar formas farmacéuticas (hidrogel y crema) a partir del extracto etanólico de las hojas de matico (*Eupatorium glutinosum*)
- Analizar cuantitativamente la presencia de fenoles y flavonoides totales en las formas farmacéuticas y el extracto etanólico.
- Determinar la actividad cicatrizante de las formas farmacéuticas elaboradas y del extracto etanólico *in vivo* mediante un corte dorsal usando un modelo animal.

CAPITULO II.- METODOLOGÍA

2.1.Materiales

2.1.1. Equipos de laboratorio

- Espectrofotómetro
- Plancha de agitación
- Rotaevaporador
- Balanza analítica
- Molino
- Deshidratador por convección
- Vortex
- Refrigerador
- Homogeneizador
- Ultracongelador
- Batidora

2.1.2. Reactivos

- Etanol 70 %
- Agua destilada
- Hipoclorito de sodio
- Goma Xantana 5 %
- Ácido estearico
- Lanolina
- Glicerina
- Propilenglicol
- Trietanolamina
- Ácido citrico
- Reactivo de Folin-Ciocalteu
- Solución de carbonato de sodio 7 %

- Solución de cloruro de aluminio 2 % (p/v)
- Solución de quercetina
- Solución madre de DPPH
- Metanol
- Ácido Gálico
- EDTA
- Solución madre Trolox
- Sorbato de potasio
- Ketamina/xilacina 10 %,

2.1.3. Material fungible

- Paquete de papel Kraft
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Bisturí
- Paquete de guantes quirúrgicos
- Balón de aforo 100 mL
- Micropipeta (10 – 100 μ L, 20 – 200 μ L, 100 – 1000 μ L)
- Vaso de precipitación (100 mL, 250 mL, 500 mL)
- Probeta (10 mL, 50 mL, 100 mL)
- Frasco boeco
- Paquete de gasa
- Placa de pocillos
- Tubos eppendorf
- Paquete de fundas ziplock
- Gradilla
- Embudo de vidrio
- Agitador de vidrio
- Paquete de hielo
- Tubos de ensayo 5 mL

- Paquete de fundas rojas
- Cronómetro
- Frascos ámbar
- Jaulas para ratas
- Equipo de disección

2.1.4. Material Biológico

- *Rattus norvegicus*

2.2. Métodos

2.2.1. Elaboración de formas farmacéuticas

2.2.1.1. Recolección de las hojas de matico (*Eupatorium glutinosum*)

Se obtuvo la autorización sin fines comerciales del Ministerio del Ambiente, Agua y Transporte Ecológico (MAATE), seguido por la recolección de hojas de la planta de matico (*Eupatorium glutinosum*) en la parroquia de Quinchicoto. Las hojas recolectadas fueron almacenadas en la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UOIDE) de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

2.2.1.2. Lavado y desinfección de las hojas

Se llevó a cabo una selección del material vegetal apropiado, descartando materiales extraños y hojas secas. Luego, se desinfectó el material vegetal utilizando una solución al 10% de hipoclorito de sodio y se enjuagó con abundante agua. Posteriormente, se secó en un deshidratador a 40 °C durante 24 horas, se trituró y se almacenó en bolsas ziplock (Carrión & García, 2010).

2.2.1.3. Preparación del extracto etanólico de Matico

Se utilizó el método de maceración para obtener el extracto etanólico. Se empleó material vegetal junto con etanol al 70 %, en una proporción de 1:10 (p/v). La mezcla se dejó reposar durante 8 días en un ambiente sin luz, con agitación ocasional. Después de 4 días, se llevó a cabo un cambio de solvente. Al concluir el tiempo estipulado, el producto se filtró y se eliminó el solvente mediante un rotavapor. (Abubakar & Haque, 2020).

2.2.1.4. Cálculo de rendimiento

El rendimiento del extracto de la planta de matico se calculó mediante la fórmula mencionada por Gonelimali et al. (2018).

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{X_1}{X_0} * 100 \quad (1)$$

Donde:

X₁: Peso del extracto después de la evaporación del solvente.

X₀: Peso seco del polvo vegetal antes de la extracción.

2.2.1.5. Microencapsulación

Después de obtener el extracto concentrado de matico, se procedió a realizar una mezcla que comprendía el 33,33 % de extracto concentrado, el 33,33 % de goma arábica y el 33,33 % de maltodextrina. La goma arábica y la maltodextrina se disolvieron en 93,71 mL de agua destilada y luego se homogeneizó a 200 rpm durante un período de 10 minutos. Se utilizó un equipo de Spray Dryer, en el cual se instaló una manguera para la absorción del equipo, y se programaron los factores controlados, incluida la temperatura de entrada ajustada a 140 °C. Al alcanzar esta temperatura, se abrieron los flujos de aire y agua para regular la temperatura de salida a 80 °C, así

como el porcentaje de aspiración y la proporción de la bomba. Finalmente, el microencapsulado se recolectó en bolsas ziplock. **(López & Pazmiño, 2022).**

2.2.1.6. Elaboración de la crema de Matico

En un vaso de precipitación de 250 mL, se combinó 30 mL de agua y 10 g de trietanolamina a una temperatura de 50 °C. Simultáneamente, en otro recipiente, se procedió a fundir a baño maría 10 g de ácido esteárico y 5 g de lanolina. Asimismo, en un tercer recipiente, se llevó a cabo la fusión de 10 g de glicerina y 10 g de propilenglicol. **(Proaño & Ramos, 2013).**

En el recipiente, que contenía ácido esteárico y lanolina, se incorporó la mezcla fundida de glicerina y propilenglicol. Posteriormente, se añadió la trietanolamina y el agua, agitando la mezcla hasta que comenzó a cuajar a fuego lento. A continuación, se introdujo microencapsulado de matico a una concentración de 300 mg/kg. Para finalizar, se retiró del fuego y se permitió que se enfriara mientras se mantenía la agitación. **(Proaño & Ramos, 2013).**

2.2.1.7. Elaboración del hidrogel de Matico

El hidrogel fue preparado con un 2 % de goma xantana. Inicialmente, se disolvió 13 mg de EDTA en 100 mL de agua destilada, y se agregó 120 mg de glicerina. A continuación, se incorporó microencapsulado de matico a una concentración de 300 mg/kg a la solución mientras se agitaba. Luego, se añadió 0,8 mg de sorbato de sodio, y finalmente, se incorporó la goma xantana. **(Yaseen et al., 2021).**

2.2.1.8. Control de Calidad

Descripción organoléptica

Se extrajo una alícuota de 30 mL de la muestra de crema e hidrogel, posteriormente se depositó en un recipiente de precipitación con el fin de realizar el análisis sensorial, abordando aspectos como olor, color, apariencia y turbidez **(ARSAC, 2017).**

Determinación de pH

Se extrajo una alícuota de 30 mL, de la muestra de crema e hidrogel, con el propósito de realizar la medición directa en un pHmetro previamente ajustado (ARSAC, 2017).

Determinación de extensibilidad

Se pesó 0.2 a 0.02 g de crema e hidrogel a una temperatura de 25 °C, se sometió a presión entre dos superficies de vidrio a las cuales se añadió una carga de 100 g durante 1 minuto. La variable de interés fue el área resultante (ARSAC, 2017).

Determinación de viscosidad

Se tomó 30 ml de creme e hidrogel y se colocó en vasos de precipitación, posteriormente se introdujo el viscosímetro y se toma la señal indicada en el mismo (ARSAC, 2017).

Análisis microbiológico

El análisis microbiológico posibilita la evaluación para determinar si la selección del sistema conservante es apropiada o si la presencia de interacciones entre los componentes de la formulación podría impactar la seguridad y calidad del producto (ARSAC, 2017).

Determinación de aerobios mesófilos

Se pesó 10 g de crema e hidrogel en un Erlenmeyer estéril y se añadió 250 mL de agua de peptona al 0,1 % estéril, homogeneizando para obtener una disolución de 10^{-1} . Esta disolución se dejó reposar durante 1 hora. A partir de esta disolución, se tomó 1 mL y

se mezcló con 9 mL de agua de peptona al 0,1 %, obteniendo una disolución de 10^{-2} . Se repitió este procedimiento para obtener otras diluciones. Se preparó tubos de ensayo con tapa rosca, cada uno conteniendo 15 mL de medio de cultivo PCA (Plate Count Agar). A cada tubo con agar se le añadió 1 mL de la dilución preparada en el agua de peptona al 0,1 %. Se homogeneizó y el contenido de cada tubo se vertió en cajas de Petri. La incubación se llevó a cabo a 35 ± 2 °C durante 48 horas (**Cunha & Batista, 2005**).

Determinación de Mohos y levaduras

Se tomó un tubo de ensayo y se introdujo 9 mL de agua destilada. Se añadió al tubo 1 mL de muestra previamente homogeneizada y se agitó vigorosamente. A partir de este tubo, se extrajo 1 mL y se levantó la película plástica de la placa Petrifilm con medio de PDA (Papa Dextrosa Agar). Se colocó esta solución en el círculo de la placa, bajando la película plástica lentamente para evitar la formación de burbujas. Se registró el crecimiento de hongos y se evaluó los resultados (**Cunha & Batista, 2005**).

Determinación de coliformes totales

Se tomó un tubo de ensayo y se introdujo 9 mL de agua destilada. Se añadió al tubo 1 mL de muestra previamente homogeneizada y se agitó vigorosamente. A partir de este tubo, se extrajo 1 mL y se levantó la película plástica de la placa Petrifilm que contiene nutrientes de Bilis Roja-Violeta. Se colocó esta solución en el círculo de la placa, bajando la película plástica lentamente para evitar la formación de burbujas. Se registró el crecimiento de coliformes por la coloración roja y se evaluó los resultados (**Cunha & Batista, 2005**).

2.2.2. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en formas farmacéuticas y extracto etanólico

2.2.2.1. Fenoles Totales

La cuantificación de fenoles totales se llevó a cabo utilizando el método modificado de Folin-Ciocalteu. En este proceso, se empleó una placa de 96 pocillos, donde se colocó 10 μL de extracto concentrado, seguidos de la adición de 130 μL de agua destilada y, finalmente, 10 μL de la solución 2N del reactivo Folin-Ciocalteu. La reacción se permitió durante 6 minutos, después de los cuales se agregó 100 μL de la solución de carbonato de sodio al 7 % (p/v). La reacción se incubó a temperatura ambiente durante 90 minutos en la ausencia de luz. Para concluir, se midió la absorbancia de cada muestra a una longitud de onda de 750 nm. Se generó una curva estándar para la calibración, la cual se preparó con soluciones seriadas de ácido gálico (GAE) entre 10 a 100 mg/L. La cantidad de fenoles totales se expresó como equivalente de miligramos de ácido gálico por gramo de peso seco de la muestra (mg GAE/gDW). (Baek et al., 2021).

2.2.2.2. Flavonoides Totales

Para determinar el contenido de flavonoides totales, se empleó el método de cloruro de aluminio. En este proceso, se combinó 60 μL del extracto concentrado con 120 μL de una solución de cloruro de aluminio al 2 % (p/v), y la mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 60 minutos. Posteriormente, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm. Para la calibración, se elaboró una curva estándar de quercetina (QE) utilizando soluciones seriadas de entre 10 a 100 mg/L. El contenido de flavonoides totales se expresó como equivalente de miligramos de quercetina por gramo de peso seco de la muestra (mg QE/gDW) (N'guessan et al., 2021).

2.2.2.3. Preparación de DPPH y Trolox

Se preparó una solución madre de DPPH (150 μM), disolviendo 0,0059 g del reactivo en 100 mL de una solución diluyente compuesta por metanol-agua en proporción 80:20. Posteriormente, se protegió la solución de la exposición a la luz y se agitó durante 30-40 minutos para homogeneizarla. Además, se elaboró una solución madre de Trolox (500 μM) disolviendo 0,0125 g del reactivo en 100 mL de una solución

diluyente de metanol-agua en proporción 50:50, seguido de un proceso de agitación para homogeneizar los componentes. A partir de la solución madre de Trolox, se preparó concentraciones del reactivo de 50, 100, 200, 300, 400 y 500 μM con el propósito de generar una curva de calibración. (Bobo et al., 2015).

Medición de la actividad antioxidante

El proceso experimental se llevó a cabo en una placa de 96 pocillos, a la cual se agregó el blanco, el control y el extracto concentrado de las diversas especies vegetales bajo investigación, cada uno debidamente preparado con:

Blanco: Se colocó 180 μl de diluyente para DPPH compuesto por metanol-agua (80:20) y 20 μl de agua destilada.

Control: Se colocó 180 μl de solución DPPH y 20 μl de agua destilada.

Extracto: Se colocó 180 μl de solución DPPH y 20 μl de extracto diluido.

Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH

El porcentaje de inhibición se calculó acorde a la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inhibición DPPH} = \left[1 - \left(\frac{A_m - A_b}{A_c - A_b} \right) \right] \times 100 \quad (2)$$

Donde A_m correspondió a la absorbancia de la muestra, A_b a la absorbancia del blanco y A_c a la absorbancia del control.

(Bobo et al., 2015).

2.2.3. Determinación del efecto cicatrizante de las formas farmacéuticas en un modelo animal

2.2.3.1. Permiso de bioética

Se solicitó una autorización para el manejo de las ratas (*Rattus norvegicus*) al consejo de Bioética de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

2.2.3.2. Adquisición del biomodelo animal en el bioterio

Se llevó a cabo la adquisición de ratas (*Rattus norvegicus*) en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) en Riobamba, Ecuador. Se realizó solicitudes mediante formularios para obtener 30 ratas macho adultas con un peso de 250 g y edades comprendidas entre 9 y 10 meses. Ambas partes acordaron la NO REPRODUCCIÓN de las especies entregadas por la ESPOCH, garantizando la aplicación de los principios éticos relacionados con el uso y manejo adecuado de animales de laboratorio (**Fuentes et al., 2008**).

2.2.3.3. Ambientación del modelo animal

La ambientación de las treinta ratas se llevó a cabo en 5 jaulas, cada una compuesta por 6 unidades. Se colocó marcas en la cola con un marcador negro, utilizando marcas circulares, para llevar un registro diario de cada modelo animal durante 15 días hasta alcanzar un peso constante de $280 \text{ g} \pm 2$ (**Fuentes et al., 2008**). Las ratas se distribuyeron en 5 grupos: el primer grupo sirvió como control negativo, es decir, no se trató con ninguna forma farmacéutica; el segundo grupo se trató con la crema Cicatricure; el tercer grupo recibió tratamiento con crema de matico a 300 mg/kg de peso; el cuarto grupo fue tratado con hidrogel de matico a 300 mg/kg de peso, y el quinto grupo fue tratado con extracto concentrado de matico a 300 mg/kg de peso.

2.2.3.4. Efecto cicatrizante

Las ratas fueron anestesiadas con 0,1 mL de ketamina/xilacina. Se depiló el área dorsal y se realizó un corte de aproximadamente 7 mm de diámetro con un sacabocados cutáneo. Las heridas se llevaron a cabo 1 cm a la derecha y a la izquierda de la línea media, separadas por 3 cm de la zona craneal. Posteriormente, se limpió la herida con alcohol, considerando el día de corte como día 0. La aplicación de la crema, el extracto concentrado y el hidrogel de matico comenzó a partir del día 1, programándose cada 24 horas durante 14 días consecutivos. Para aplicar las formas farmacéuticas, se utilizó hisopos estériles, formando una capa fina del producto sobre la herida. **(Jahandideh et al., 2017).**

Se capturó fotografías de la cicatriz utilizando una referencia métrica en los días 3, 5, 7 y 14. Las imágenes se analizaron en la herramienta ImageJ, donde se midió el área de la cicatriz tomando el día 0 como referencia, considerándolo como el 100 % de la herida. Se llevó a cabo el análisis de las fotografías día a día desde el día 0 para generar la gráfica con los porcentajes del área de la herida **(García, 2021).**

2.2.3.5. Análisis estadístico

Estos datos se analizaron usando el software Minitab el mismo que cuenta con una licencia gratuita de 30 días. Se obtuvo gráficas descriptivas de las heridas efectuadas en las ratas. Se utilizó un ANOVA para verificar la influencia de los factores en la variable dependiente, así también, se utilizaron pruebas post hoc como, Tukey y Dunnett para comprobar la diferencia significativa entre los grupos experimentales y los grupos control. La variable respuesta fue el porcentaje del área de la herida, se usó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

CAPITULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

3.1.1. Elaboración de formas farmacéuticas (hidrogel y crema) a partir del extracto etanólico de las hojas de matico (*Eupatorium glutinosum*)

Análisis del rendimiento del extracto de matico (*E. glutinosum*)

El extracto etanólico derivado de las hojas de Matico (*E. glutinosum*), fue preparado mediante el método de maceración, debido a que es accesible y de bajo costo, además, es beneficioso y apropiado para los metabolitos secundarios que son termolábiles como los fenoles y flavonoides (Azwanida, 2005). El rendimiento porcentual se calculó utilizando la Ecuación 1, revelando que el extracto concentrado mostró un valor del 20.30 %. Un estudio previo, conducido por Neofármaco (2021), evidenció un rendimiento del 16.25 % para el extracto concentrado de *A. glutinosa*, también conocido como *Eupatorium glutinosum*, a través de una extracción etanólica de 48 horas. En contraste con este resultado, el rendimiento obtenido en nuestro estudio mostró una diferencia del 4.05 %, en comparación con la cifra reportada por el autor mencionado, evidenciando que se obtuvo un mayor rendimiento en el presente estudio.

Según Benítez et al. (2020), uno de los elementos que tiene un impacto directo en el proceso de extracción es la interacción entre el material vegetal y el solvente. La variación observada podría explicarse por el hecho de que, en el estudio mencionado, los recipientes utilizados en el proceso de maceración permanecieron inmóviles, mientras que, en esta investigación actual, se optó por agitarlos ocasionalmente. Otro de los factores que influyen en el rendimiento es el tiempo de recolección de la planta de matico, para este estudio la recolección se dio en el mes de octubre donde sucede su etapa de floración. Según (Castillo, 2013) las plantas medicinales son comúnmente recolectadas, cuando existe mayor concentración del principio activo, que frecuentemente coincide con su fase de floración.

Además, el etanol, al ser un solvente polar, presenta la facilidad para la transferencia de masa durante la extracción. También tiene baja toxicidad, esto es una crucial consideración al momento de extraer compuestos como fenoles y flavonoides, ya que serán destinados al uso humano. **(Benítez et al., 2020)**. Los fenoles y flavonoides al tener presentes grupos hidroxilos los hacen solubles en disolventes polares como el metanol **(Sultana, Anwar & Ashraf, 2009)**.

Análisis de la eficiencia del microencapsulado

Una vez obtenido el extracto concentrado se realizó una microencapsulación del extracto de matico, con el fin de recubrir el principio activo con la mezcla de polímeros. Se obtuvo 96,66 g, esto dependió de las concentraciones utilizadas en la emulsión que se preparó con maltodextrina al 33,33 %, goma arábica 33,33 %, extracto concentrado de matico 33,33 % y agua destilada. Con una temperatura de entrada de 140 °C y de salida 80 °C en el equipo Spray Dryer. Según **Quinaluisa (2018)** al emplear estas temperaturas se vuelve beneficioso, ya que resguarda los compuestos delicados de procesos de degradación y oxidación como los fenoles, además eleva la estabilidad y biodisponibilidad.

En un estudio realizado por **Karrar et al. (2021)** destaca el uso de maltodextrina como el componente de revestimiento más empleado, gracias a su asequibilidad, baja viscosidad y presenta una efectiva capacidad para prevenir la oxidación. Mientras que la goma arábica presenta una alta solubilidad y excelentes características emulsionantes, lo cual convirtió a estos polímeros naturales como material de pared reflejando altos valores de eficiencia en la encapsulación.

Las formulaciones farmacéuticas (crema e hidrogel) fueron elaboradas con microencapsulado de matico, por ende, para comprobar la eficiencia del microencapsulado se realizó la técnica de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) para la eficiencia del microencapsulado.

La técnica de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) se utiliza para obtener información sobre la composición molecular de un compuesto específico. Este método implica correlacionar el porcentaje de transmitancia con la longitud de onda (cm^{-1}), y las bandas y picos de absorbancia registrados indican las vibraciones de los átomos presentes en la muestra cuando se expone a la región infrarroja (NicDaéid, 2019). Se realizó pruebas mediante espectroscopia infrarrojo (FT-IR) con el fin de identificar de manera cualitativa la eficiencia del proceso de microencapsulado del extracto concentrado de matico (*Eupatorium glutinosum*). La Figura 3 indica el espectro del extracto concentrado de matico sin microencapsular. Se observa un pico prominente con un valor de 3500 a 3000 cm^{-1} , según Zamora et al. (2023) indica la existencia del grupo funcional OH en compuestos alcohólicos, alifáticos, flavonoides y fenólicos hidrogenado. Además, se identificó otro pico en el rango 1700 a 1500 cm^{-1} , indicando el estiramiento de banda de los grupos carbonilos C=O y C=C (Tahir et al., 2017).

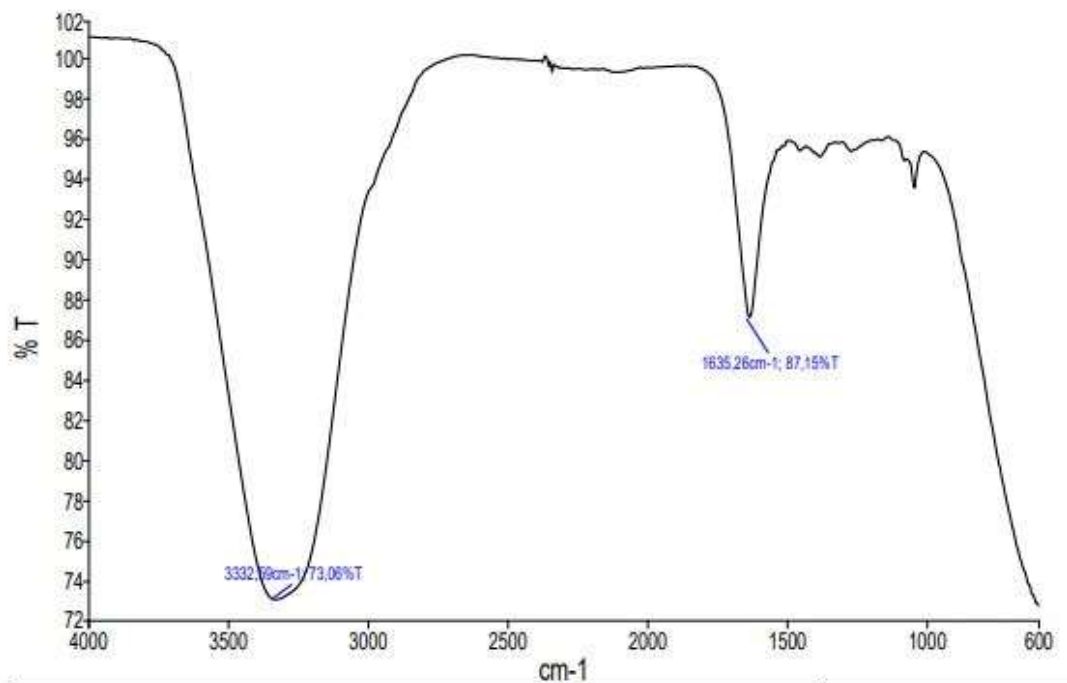


Figura 3. Espectroscopia de resonancia infrarroja obtenidos para el extracto concentrado de matico sin microencapsular

En la **Figura 4** se presenta el espectro de la mezcla de maltodextrina y goma arábica utilizado para el recubrimiento del extracto concentrado de matico (*Eupatorium glutinosum*).

Se analizó los grupos funcionales y los enlaces químicos presentes en la estructura de cada uno de los polímeros en la combinación polimérica. Se obtuvo a $3297,93\text{ cm}^{-1}$ el estiramiento de los enlaces C-O, mientras que a $2936,11\text{ cm}^{-1}$ el estiramiento de los enlaces C-O en el grupo carboxilo se ubicó en el pico de valor $1730,95\text{ cm}^{-1}$. La tensión generada en la unión C-O del grupo carboxilo también se manifiesta en dicho pico. A $1147,60\text{ cm}^{-1}$, se evidencia la tensión entre la unión C-O del grupo hidroxilo, y el pico a $1012,09\text{ cm}^{-1}$ representa el estiramiento del anillo aromático. En las investigaciones realizadas por **Srithamm & Gunasekaran (2017)** y **Tang et al., (2024)** se analizó los espectros de cada polímero de manera individual, revelando similitudes en su composición química. Estas similitudes de sus bandas quedaron evidenciadas como se aprecia en la **Figura 4**.

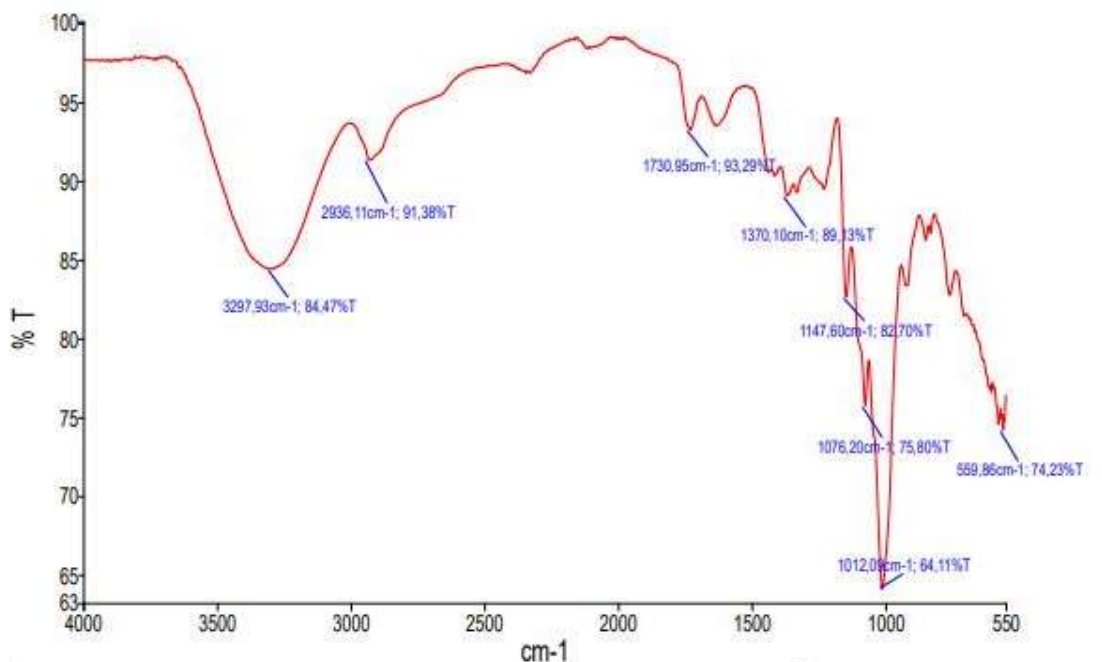


Figura 4. Mezcla de goma arábica y maltodextrina

En la **Figura 5** se observó los espectros del extracto concentrado de matico (*Eupatorium glutinosum*) sin microencapsular, la mezcla de polímeros y el microencapsulado del extracto concentrado de matico (*Eupatorium glutinosum*).

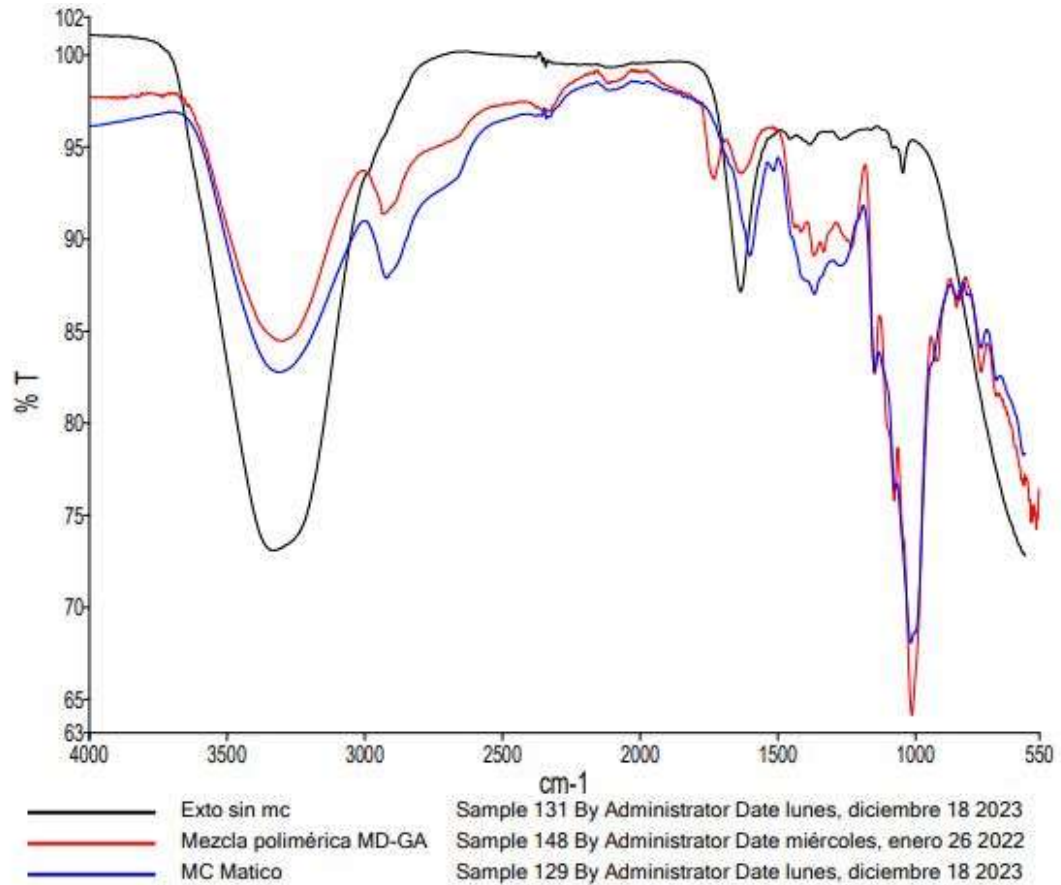


Figura 5. Espectro de infrarrojo del microencapsulado de Matico.

Se comprobó la eficiencia de la microencapsulación, al observar la similitud entre bandas presentes en las matrices poliméricas y las del material microencapsulado. Estas semejanzas se evidenciaron al constatar que el microencapsulado del extracto concentrado de matico exhibió el mismo espectro que la mezcla polimérica (Ajun et al. 2009).

Formas farmacéuticas

Diversos factores como: mecánicos, químicos, radiológicos, térmicos, metabólicos, entre otros, poseen el potencial de afectar la integridad y las funciones de la piel, lo que conduce a la formación de heridas cutáneas. Para restablecer la barrera cutánea, existen diversas alternativas de tratamiento, como el uso de cremas e hidrogeles (**Stan et al., 2021**).

Se elaboró dos formas farmacéuticas, la crema e hidrogel de matico incluye componentes con propiedades regenerativas y protectoras que promueven la regeneración de la piel deteriorada. Asimismo, fortalecen la barrera cutánea y agilizan el proceso de cicatrización. Los excipientes de la crema de matico fueron ácido esteárico, lanolina, glicerina, propilenglicol, trietanolamina, ácido cítrico. En tanto, el hidrogel estuvo conformado por EDTA, glicerina, sorbato de potasio, goma arábiga.

Según **Rowe, Sheskey & Quinn (2009)** los excipientes son elementos adicionales que contribuyen a mejorar la formulación de una forma farmacéutica. La función principal de estos excipientes consiste en actuar como un soporte para el principio activo que se pretende aplicar sobre la piel. Es importante señalar que, si bien el excipiente puede tener un impacto en la penetración del principio activo hacia las capas de la piel menos o más profundas, su contribución juega un papel esencial en la eficiencia del preparado (**Garg, Rath & Goyal, 2015**)

El ácido esteárico cuenta con propiedades emulsionante y solubilizante, se encarga de proteger y prevenir el resecamiento de la córnea de la piel, crea una barrera cutánea que ayuda a reparar la estructura lipídica deteriorada en la piel (**Mendonsa et al., 2019**). Mientras que la lanolina se puede utilizar como vehículo hidrofóbico, además es una cera hipoalérgica con efecto bacteriostático, es decir, no mata a las bacterias, pero sí inhibe la reproducción. La glicerina posee un potencial alérgico reducido y tiene la capacidad de favorecer el proceso de cicatrización (**Rowe, Sheskey & Quinn 2009**)

Propilenglicol se utiliza como un disolvente, extractante y conservante, también juega un rol crucial en mantener la textura y consistencia del producto, asegurando una aplicación uniforme **(Herbig, et al., 2023)**. La trietanolamina cumple la función de regular el pH para mantener el equilibrio ácido-base de la crema, opera como emulsionante para facilitar la mezcla de ingredientes y es un agente neutralizante mejorando la eficiencia de los demás componentes **(Shiehzhadeh et al., 2023)**.

La función primordial del ácido cítrico es de actuar como agente acidificante y regulador de pH, garantizando el equilibrio adecuado para la piel. Además, el ácido cítrico puede presentar propiedades antioxidantes que respaldan la protección cutánea contra los radicales libres, estimulando de esta manera la regeneración celular **(Rowe, Sheskey & Quinn 2009)**

Se utiliza EDTA debido a su propiedad de conservante natural, ya que permite evitar posibles reacciones reológicas y fenómenos de sensibilidad, además aumenta la viscosidad del hidrogel por su capacidad de generar complejos con iones metálicos presentes en el agua o en otros componentes **(Rowe, Sheskey & Quinn, 2017)**, glicerina es un agente humectante y contribuye a la estabilidad del hidrogel al relacionarse con los polímeros que conforma la estructura de este **(Zhang & Grinstaff, 2014)**.

El sorbato de potasio actúa como un agente conservante, también impide el desarrollo de microorganismos, incluyendo bacterias y hongos. Este excipiente interviene en el proceso metabólico de estos microorganismos, lo que conlleva la detención de su proliferación y, por consiguiente, garantiza la conservación de la integridad y estabilidad del hidrogel **(Mann & Beuchat, 2008)**. Finalmente, la goma xantana tiene la capacidad de crear una estructura tridimensional en presencia de agua, esta estructura en forma de red actúa como un entramado que aporta consistencia y resistencia al gel, además define la textura y regula la liberación de los componentes activos de la formulación **(Vizkaia, 2004)**.

Análisis del control de calidad

Es crucial llevar a cabo un control de calidad de la crema e hidrogel de matico, dado que estas están compuestas por sustancias naturales y se aplicarán directamente sobre la piel. En relación con las propiedades fisicoquímicas de las formas farmacéuticas elaboradas a partir del extracto de matico (*Eupatorium glutinosum*), se observó que, desde un punto de vista organoléptico, tanto la crema como el hidrogel exhibieron un color verde, una apariencia homogénea y untuosa, un aroma agradable, sin presencia de grumos, y una untuosidad penetrante e hidrofílica.

El pH desempeña un papel crucial en la cicatrización de heridas, ya que proporciona datos relevantes sobre el estado fisiológico de la piel y la posible presencia de infecciones (Stan et al., 2021). El pH de la crema obtenido fue de 5,51, mientras que del hidrogel fue de 5,93 y el pH del extracto concentrado fue de 5,57.

Cuando se trata de productos cicatrizantes, se observa una variación en el pH, debido a la presencia de una herida en la cual se establece un rango de pH entre 4 a 7 para la crema e hidrogel, mientras que los extractos deben ubicarse en un intervalo de 5,5 a 6,5. Con lo antes mencionado podemos precisar que las formas farmacéuticas no poseen ningún riesgo para la salud al aplicar tópicamente, ya que los resultados obtenidos de pH se sitúan dentro de los rangos permisibles para la piel, por lo tanto, posee una alta compatibilidad (Luebberding, Krueger & Kerscher, 2013).

La extensibilidad de la crema presento un valor de 4,3 cm y el hidrogel muestra 4,1 cm. Mientras que los valores obtenidos de viscosidad fueron, 3314,40 y de 47607,30 centipoise (cps). Según Deuschle et al. (2015) menciona que cuanto menor sea la viscosidad, mayor será su capacidad de extensibilidad, lo que sucede con la crema, la cual permite extenderse sobre la piel. Esto se debe a la presencia de lanolina, este excipiente ofrece lubricación y también brinda a la crema una buena capacidad de untamiento (Dantas et al., 2016). Además, la farmacopea # 30 establece los límites de extensibilidad de crema 5 e hidrogel 4,5, por ende, los resultados obtenidos se

encuentran dentro del rango establecido (**The United States Pharmacopeial Convention, 2007**).

Al realizar la prueba microbiológica se analizaron los microorganismos indicadores como aerobios mesófilos, mohos y levaduras y coliformes totales. Estos refieren a aquellas especies cuya presencia señala que los medicamentos fueron expuestos a condiciones que podrían haber ocasionado la contaminación por microorganismos peligrosos. Además, facilitan la proliferación de especies patógenas. Se utilizó estos microorganismos indicadores como reveladores de prácticas de higiene inadecuada (**Pérez et al., 2021**).

El indicador de aerobios mesófilos al estar presente en las formas farmacéuticas puede revelar la contaminación del producto en la elaboración, envasado o manipulación. Mientras que mohos y levaduras pueden causar la aceleración de la descomposición del producto, además de cambios en la textura, olor y color. Los coliformes totales manifiesta que existe contaminación de origen fecal, esto puede causar la degradación de la calidad del producto y la disminución de la vida útil (**Pérez et al., 2021**).

Se realizó las pruebas microbiológicas de las dos formas farmacéuticas (crema e hidrogel de matico) en la **Tabla 1** se muestra los parámetros microbiológicos.

Tabla 1. *Análisis microbiológico de las dos formas farmacéuticas*

Parámetros	Crema	Hidrogel	Limite
Mohos y Levaduras	Ausencia	Ausencia	<10 UFC
Aerobios Mesófilos	Ausencia	Ausencia	
Coliformes totales	Ausencia	Ausencia	

En la **Tabla 1** muestran los resultados del control de calidad de la crema e hidrogel de matico, donde se obtuvo ausencia de mohos y levaduras, aerobios mesófilos y coliformes totales para las dos formulaciones. Esto demuestra que están dentro del límite establecido por la norma INEN 2867 de productos cosméticos (**Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2015**).

3.1.2. Determinación de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante del extracto etanólico.

Se determinó la cantidad de flavonoides y fenoles totales en el extracto concentrado y las formas farmacéuticas mediante el empleo del método de cloruro de aluminio y el método de Folin-Ciocalteu. En la **Tabla 2** se representa la concentración de fenoles totales expresada en miligramos de equivalente de ácido gálico por cada gramo de peso seco (**mg EAG/g PS**). Asimismo, en la **Tabla 3** se detalla la cantidad de flavonoides totales en miligramos de equivalente de quercetina por gramo de peso seco (mg EQ/g PS).

Tabla 2. Cuantificación de fenoles totales de las formas farmacéuticas y extracto concentrado de matico (*Eupatorium glutinosum*)

Matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)	Forma	Fenoles totales mg EAG/g PS
<i>Macerado</i>	Extracto concentrado	65,30 ± 2,46
	<i>Crema</i>	58,04 ± 1,67
<i>Farmacéutica</i>	<i>Hidrogel</i>	58,02 ± 1,67

Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de Ácido Gálico por cada gramo de peso seco de extracto (mg EAG/g PS)

En la **Tabla 2** se puede evidenciar que existe una disminución de las concentraciones del compuesto fenólico del extracto concentrado de matico *Eupatorium glutinosum*

(65,30 ± 2,46 mg EAG/g PS), con respecto a sus formas farmacéuticas, ya que la crema de matico presentó un valor de 58,04 ± 1,67 mg EAG/g PS y el hidrogel de matico un valor de 58,02 ± 1,67 mg EAG/g PS. Así mismo, **Culqui (2017)** obtuvo un valor inferior de compuestos fenólicos en su estudio de *Eupatorium glutinosum*, donde reporto 43,66 mg EAG/g PS, ya que el estudio en mención utilizo una longitud de onda mayor, lo que puede indicar la diferencia en los resultados.

Un estudio realizado por **Ștefănescu et al. (2022)** indico que los compuestos fenólicos son susceptibles a diversos factores, tales como la presión y altas temperaturas. En consecuencia, la descomposición de estos compuestos fue inevitable durante la microencapsulación mediante el método de secado por aspersión. Dado que las microcápsulas fenólicas en polvo se generaron a través de procesos de homogenización y pulverización a velocidades elevadas, es probable que el estrés mecánico externo haya ocasionado daños a los compuestos fenólicos al modificar las interfases del extracto fenólico.

Tabla 3. Cuantificación de flavonoides totales del extracto concentrado y las formas farmacéuticas de matico (*Eupatorium glutinosum*)

Matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)	Forma	Flavonoides totales mg EQ/g PS
Farmacéutica	Macerado	63,22 ± 1,40
	Crema	57,83 ± 0,71
	Hidrogel	57,76 ± 1,14

Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de quercetina por cada gramo de peso seco de extracto (mg EQ/g PS)

Por otro lado, en la **Tabla 3** se puede observar la cantidad de flavonoides totales del extracto concentrado del matico; siendo de 63.22 ± 1,40 mg EQ/g PS, que, al comparar con un estudio realizado por **Andrade & Murillo. (2019)** presento un valor de 12,74

mgEQ/g PS, este valor indicó una gran diferencia con el resultado de este estudio, ya que se reportó un valor superior. Los factores que influye en el contenido de metabolitos en la matriz vegetal es el tiempo y la ubicación geográfica. Los valores del contenido de flavonoides en la crema de matico fue $57,83 \pm 0,71$ mg EQ/g PS y del hidrogel fue $57,76 \pm 1,14$ mg EQ/g PS estos resultados indican una reducción del contenido de flavonoides a comparación del extracto concentrado de matico.

Morelo et al. (2019) menciona en su estudio que la diferencia está asociada a la perdida por degradación de los compuestos fenólicos, en el proceso de secado por aspersión, además puede verse influenciado porque hubo un periodo largo de persistencia en la cámara de secado, ya que si permanece periodos cortos se puede obtener una recuperación de flavonoides de 75 %. Además, puede estar influenciado en la estabilidad oxidativa del compuesto.

Análisis de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante es generada de forma natural por las plantas en respuesta al estrés ambiental, desempeñando un papel crucial en la prevención de enfermedades asociadas al metabolismo. Estos compuestos ayudan a contrarrestar el estrés oxidativo inducido por la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, reduciendo el riesgo de enfermedades como infecciones crónicas en heridas, cáncer y neoplasia (**Chaves, Santiago, & Alías, 2020**).

La capacidad antioxidante del extracto y de las formas farmacéuticas se determinó mediante el método de DPPH. Se muestra en la **Tabla 4** la actividad antioxidante que está expresada en porcentaje de inhibición del radical libre de DPPH, tanto de las formas farmacéuticas como del extracto, calculado mediante la Ecuación 2, a su vez se reporta los μmol equivalente de Trolox/L, estos fueron obtenidos mediante la curva de calibración realizada (**ANEXO 4**).

Tabla 4. Capacidad antioxidante del extracto concentrado y formas farmacéuticas del matico

Actividad Antioxidante		
Matico (<i>Eupatorium glutinosum</i>)	% de Inhibición del radical DPPH	µmol Equivalente de Trolox/L
Extracto	67,98 ± 1,62	380,16 ± 5,12
Crema	65,59 ± 1,48	375,50 ± 8,46
Hidrogel	64,11 ± 8,46	364,58 ± 5,54

En la **Tabla 4** se observa la actividad inhibitoria del radical libre DPPH, el extracto concentrado de matico representa un valor de $67,98 \pm 1,62$ con $380,16 \pm 5,12$ µmol equivalente de Trolox/L. Mientras que en las formas farmacéuticas como crema e hidrogel se obtuvo $65,59 \pm 1,48$ con $375,50 \pm 8,46$ µmol equivalente de Trolox/L y $64,11 \pm 8,46$ con $364,58 \pm 5,54$ µmol equivalente de Trolox/L respectivamente. Según **Paladino (2008)** la capacidad antioxidante puede variar entre un extracto, crema y un hidrogel cicatrizante. Se ha evidenciado que los extractos frescos de planta poseen propiedades tanto antioxidantes como cicatrizantes. Además, es importante destacar que el extracto exhibe una notable capacidad de absorción de radicales de oxígeno, lo cual contribuye de manera significativa a su actividad cicatrizante.

Aunque las formulaciones pueden experimentar una reducción en su actividad debido a componentes como el microencapsulado de matico, esta disminución se ve afectada por las interacciones que se producen entre el material de la pared encapsulada y el componente bioactivo. En el proceso de microencapsulación, los antioxidantes presentes en la muestra quedan expuestos a condiciones químicas y físicas, lo que puede resultar la degradación de estos compuestos (**Brown et al., 2016**).

3.1.3. Determinación de la actividad cicatrizante de las formas farmacéuticas elaboradas y del extracto etanólico *in vivo* mediante un corte dorsal usando un modelo animal.

La determinación de la actividad cicatrizante se realizó en 30 ratas macho de la especie *Rattus norvegicus*, con un peso de $280 \text{ g} \pm 2$ pertenecientes a la cepa Wistar. Se emplean ratas macho debido a los cambios hormonales en el ciclo astral, ya que durante el ciclo estral la actividad de la monoaminoxidasa ovárica, se encarga de degradar intracelularmente las catecolaminas, estas desempeñan un papel fundamental en la vasoconstricción en los vasos lesionados, esto podría afectar a la respuesta inflamatoria (Valverde, 2016).

Se distribuyeron en 5 grupos experimentales:

Tabla 5. Clasificación de grupos experimentales

	Tratamientos
Grupo experimental 1	Grupo como control negativo
Grupo experimental 2	Grupo como control positivo uso de Cicatricure
Grupo experimental 3	Crema de matico a 300 mg/kg de peso
Grupo experimental 4	Hidrogel de matico a 300 mg/kg de peso
Grupo experimental 5	Extracto concentrado de matico a 300 mg/kg de peso

Se optó por trabajar con esta concentración de matico debido a que, en la investigación de (Andrade & Murillo, 2019) se indicó que a una dosis de 300 mg/kg peso se observó una disminución en la inflamación de la herida en rata. En dicho estudio se concluyó que a concentración más elevada del extracto se experimenta una mayor actividad antiinflamatoria.

Se empleó como control positivo la crema Cicatricure, ya que esta crema contiene como componentes tres tipos de extractos naturales como: extracto de hoja de *Centella* asiática está aumenta la neovascularización en la cicatrización de heridas (**Wang, Cai & Zhu, 2010**), mientras que el extracto de bulbo de *Allium Cepa* presenta características antibacterianas se utiliza para inhibir infecciones bacterianas (**Lee et al., 2023**). Finalmente, extracto de flor de *Chamonilla* contiene α -bisabolol y apigenina contribuyen a la disminución de la inflamación, favorece la limpieza de la herida, proporciona la humedad esencial para los tejidos dañados. Estos efectos potencian la tasa de regeneración celular (**Niknam et al., 2021**).

Los 5 grupos experimentales fueron anestesiados con 0,1 mL de ketamina/xilacina, para su posterior corte dorsal, con un sacabocados de 7 mm, con una profundidad de 0,3 mm, hasta la hipodermis. Se capturaron imágenes de las áreas de la herida en los días 3, 5, 7 y 14, las cuales fueron medidas en el software image J. Se toma como referencia a los días antes mencionados, ya que en un estudio de **Stupin et al. (2020)** se menciona que el proceso de cicatrización interactúa mediadores solubles extracelulares, células de la matriz tisular y células sanguíneas. Se dividen en fases: la fase inflamatoria entre 3 a 6 días que elimina agentes nocivos y bacterias y liberan factores de división celular y migración. Fase de proliferación durante 4 a 14 días se distingue por la presencia de angiogénesis y el incremento de colágeno y la formación de tejido granular y la fase de maduración, el colágeno experimenta un proceso de remodelación y alineación a lo largo de las líneas de tensión, mientras que las células innecesarias son eliminadas mediante apoptosis.

En el **Anexo 9**, se analizó el porcentaje del área de la herida mediante un análisis de varianza ANOVA seguido de la prueba Tuckey y Dunnett con un nivel de confianza del 95 % para cada grupo experimental. Se observó que existieron diferencias significativas entre los grupos experimentales.

En la **Figura 6.** se observó que al día 3 existió una diferencia significativa entre las medias de los grupos experimentales.

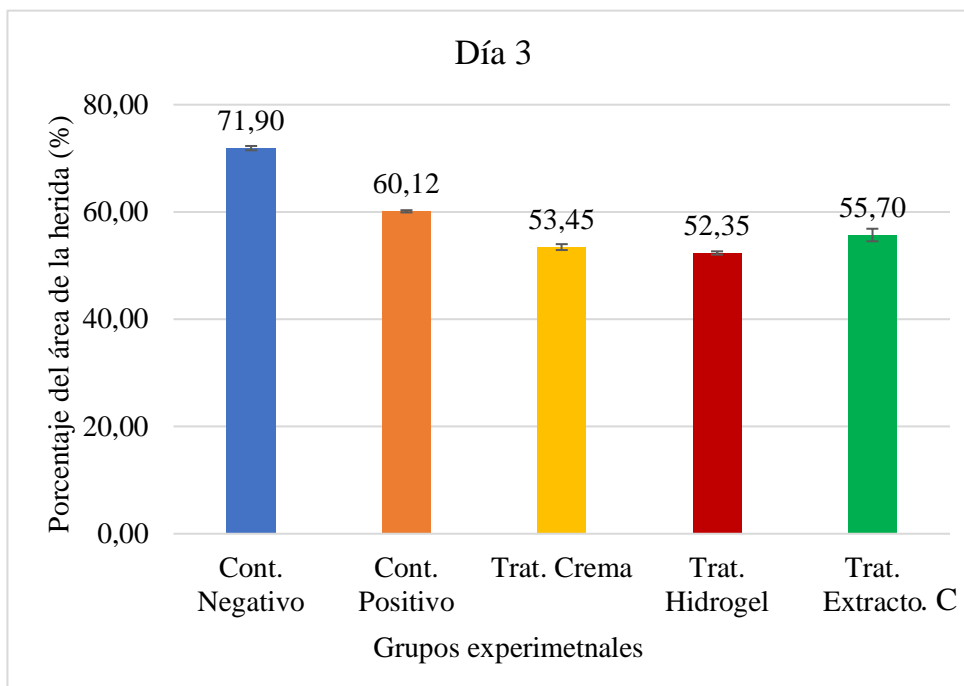


Figura 6. Porcentaje del área de cicatrización en el día 3

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y presentan la media, $\alpha < 0,05$ ANOVA post hoc prueba Tuckey y Dunnett para el porcentaje del área de la herida.

En la **Figura 7** se observa que al día 5 de experimentación sugiere que el tratamiento de crema e hidrogel de matico con valores de $32,37 \pm 1,77$ % y $32,22 \pm 1,73$ % respectivamente, con aplicación directa en la herida, presentaron el mejor efecto sobre el porcentaje de cicatrización, que los otros 3 tratamientos analizados en este estudio, esto se ha evidenciado mediante el análisis estadístico como se muestra en el **Anexo 9.**

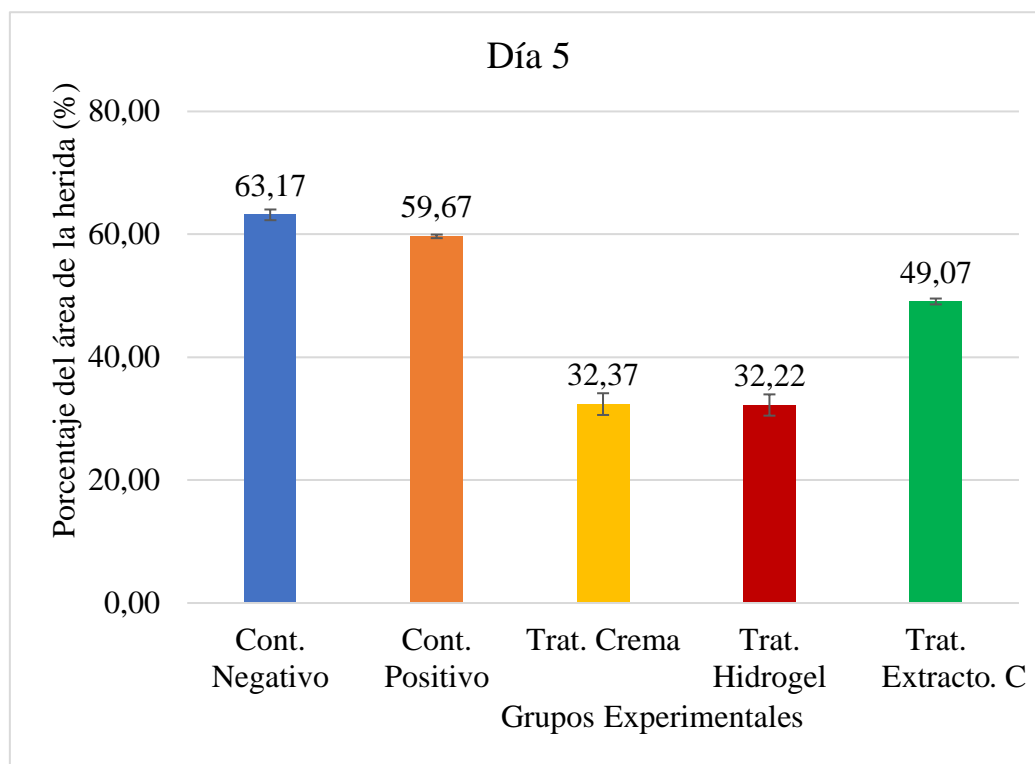


Figura 7. Porcentaje del área de cicatrización en el día 5

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y presentan la media, $\alpha < 0,05$ ANOVA post hoc prueba Tuckey y Dunnett para el porcentaje del área de la herida.

En la **Figura 8** se observó una reducción en el grupo experimental que fue tratado con la crema de matico al presentar 1,3 % del área de la herida aún presente, mientras que el área del tratamiento con hidrogel de matico tiene un valor de 10,08 % y el tratamiento con extracto concentrado de matico tiene un valor de 22,97. Mientras que los valores del control negativo y positivo son 66,15 % y 50,33 % respectivamente. Según **Huynh et al. (2023)** que tiene un porcentaje del área de la herida de 3,2 % de la crema de *Chromolaena odorata* donde se obtienen valores similares del área de la herida con relación a los valores del estudio, por lo que, los compuestos bioactivos protegieron y estabilizaron la crema para mantener sus propiedades biológicas a comparación del extracto crudo. Además, los compuestos bioactivos encapsulados aseguran su estabilidad durante la formulación y la administración controlada del fármaco.

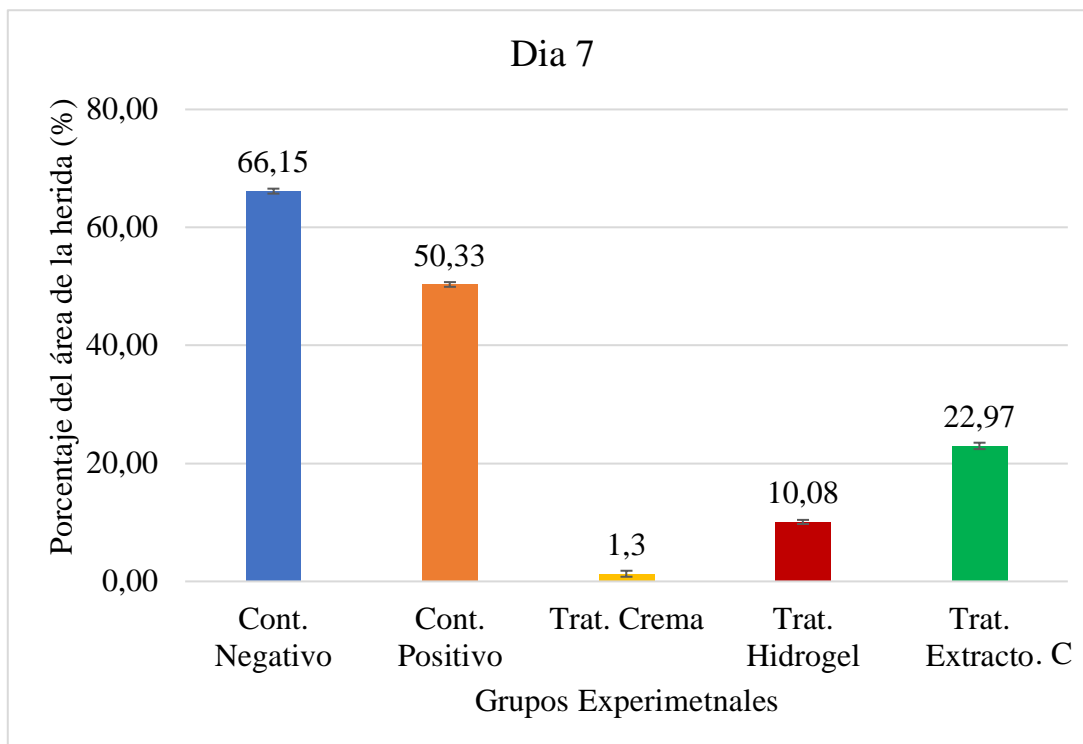


Figura 8. Porcentaje del área de cicatrización en el día 7

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y presentan la media, $\alpha < 0,05$ ANOVA post hoc prueba Tuckey y Dunnett para el porcentaje del área de la herida.

En el día 14 del experimento, se observó en la **Figura 9** que no es notable la diferencia entre los grupos de experimentación como el control positivo, tratamiento con crema, hidrogel y extracto concentrado de matico, debido a que la herida ya no tiene cicatriz, mientras que el control negativo aún presenta 35,38 % del área de la herida aun presente en el animal. En un estudio realizado por **Casignia (2015)** indico que el promedio de días de cicatrización del control negativo es de 23 días debido a que solo presenta una limpieza con alcohol.

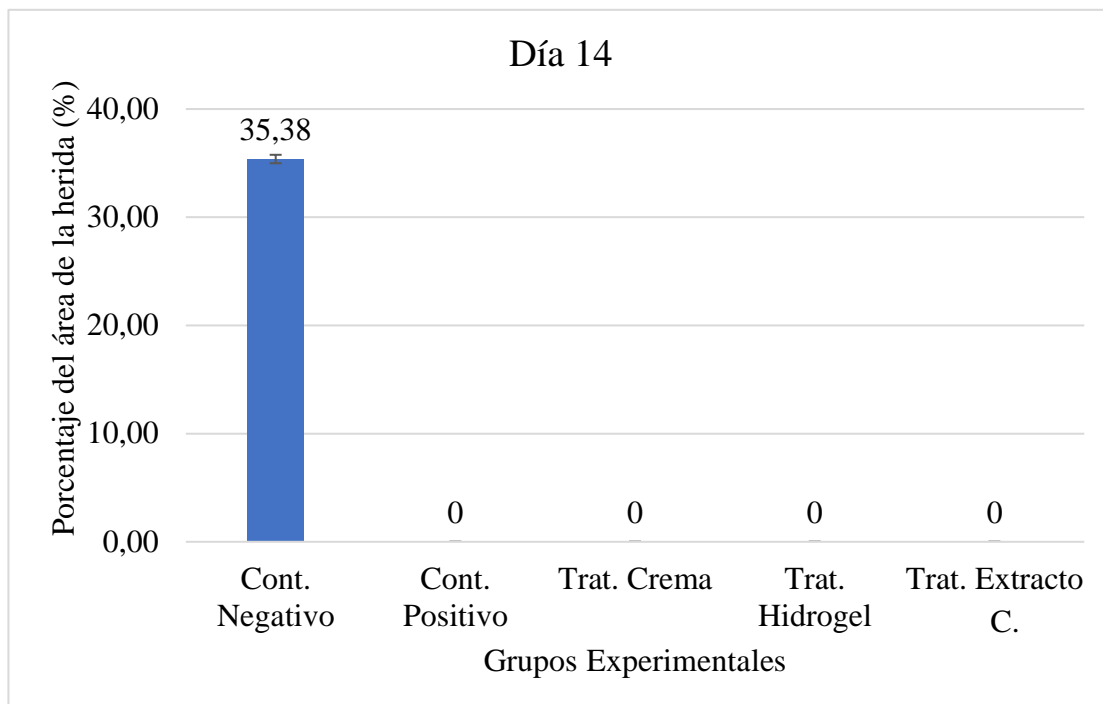


Figura 9. Porcentaje del área de cicatrización en el día 14

Nota: Los datos que se muestran son la media de 6 réplicas y presentan la media, $\alpha < 0,05$ ANOVA post hoc prueba Tuckey y Dunnett para el porcentaje del área de la herida.

El análisis detallado de la **Figura 10**, representó el porcentaje de área de la herida en función del tiempo, proporcionó una comprensión profunda de cómo los diversos grupos experimentales impactaron en el proceso de cicatrización.

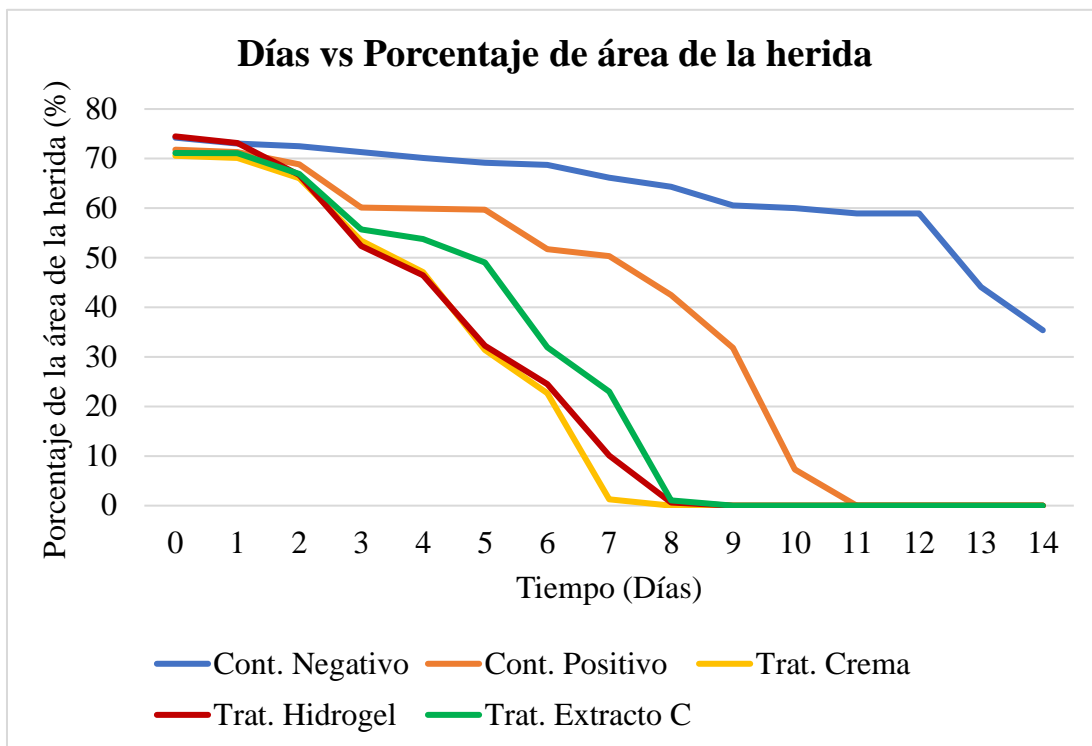


Figura 10. Porcentaje del área de cicatrización durante los 14 días

La **Figura 10** indicó que, a lo largo de los 14 días, se observaron cambios notables en los resultados, esto se puede constatar en **Anexo 10**. Se destacó que el tratamiento con la Crema de Matico exhibió una reducción gradual en el porcentaje de área de la herida, sugiriendo una posible eficacia en el proceso de cicatrización. Esta disminución se acentuó particularmente en el día 8. Además, para el día 9, tanto el tratamiento con hidrogel de matico como el extracto concentrado de matico alcanzaron su etapa final de cicatrización. Hacia el día 11, el Control Positivo logró cumplir con su objetivo, mientras que el Control Negativo, a lo largo de los 14 días de análisis, no alcanzó la completa cicatrización, concluyendo con un valor del 35,38 % al término del estudio.

CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- La extracción del extracto concentrado del matico reflejo un rendimiento de 20,30 %. La identificación de la eficiencia del microencapsulado reflejo que existió semejanzas entre las bandas observadas en la mezcla de goma arábica y maltodextrina y el microencapsulado del extracto concentrado de matico. La crema e hidrogel de matico presentaron características organolépticas de aspecto homogéneo, color verde, olor agradable, sin presencia de grumos, su pH fue de 5,51 y 5,93 respectivamente, mientras que el pH del extracto fue de 5,57, la extensibilidad de la crema fue de 4,1 y del hidrogel 4,3; la viscosidad de la crema fue de 3314,40 y del hidrogel es de 47607,30 cps y existió ausencia de mohos y levaduras, aerobios mesófilos y coliformes totales.
- El porcentaje de fenoles totales en el extracto concentrado de matico fue $65,30 \pm 2,46$, mientras que en la crema e hidrogel de matico fue $58,04 \pm 1,67$ y $58,02 \pm 1,67$. Mientras que los flavonoides totales presentaron valores de $63,22 \pm 1,40$, la crema de matico $57,83 \pm 0,71$ y el hidrogel de matico $57,76 \pm 1,14$ y finalmente analizo la actividad antioxidante en el extracto concentrado, crema e hidrogel de matico, con valores expresados e inhibición de radical DPPH del 67,98 %, 65,59 y 64,11 % respectivamente.
- En relación con la prueba in vivo durante 14 días de experimentación, se analizó los días 3 donde presento una diferencia de medias en los grupos de experimentación,5 existió una disminución del porcentaje del área de la herida del grupo tratado con crema e hidrogel 32,37 % y 32,22 % respectivamente en relación con el control negativo,7 se identificó como mejor forma farmacéutica a la crema de matico porque presento un porcentaje del área de la herida de 1,3 % y finalmente al día 14 no es notable el porcentaje del área de la herida en el grupo de crema, hidrogel, extracto concentrado de matico y el control positivo, mientras que el control negativo aún presenta 35,38 % del área de la herida.

4.2. Recomendaciones

- Aplicar diversos métodos de extracción y diferentes solventes para incrementar tanto el contenido de metabolitos secundario y el rendimiento.
- Determinar la eficiencia cuantitativa para conocer si el compuesto activa se encuentra dentro del microencapsulado.
- Realizar un análisis histopatológico para identificar las células presentes en los días más destacados del proceso de cicatrización.

MATERIAL DE REFERENCIA

- Abubakar, A., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. Wolters Kluwer Medknow Publications. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Ajun, W., Yan, S., Li, G., & Huili, L. (2009). Preparation of aspirin and probucol in combination loaded chitosan nanoparticles and in vitro release study. *Carbohydrate Polymers*, 75(4), 566-574.
- Almukainzi, M., Alotaibi, L., Abdulwahab, A., Albukhary, N. y El Mahdy, AM (2022). Investigación de calidad y seguridad de preparaciones cosméticas tópicas de uso común. *Informes Científicos*, 12 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21771-7>
- Andrade, J. & Murillo, M. (2019). Evaluación de la actividad antiinflamatoria de *Aristeguietia glutinosa* en ratones *Mus musculus*. [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. DSpace ESPOCH.
- ARCSA. (2017). Especificaciones fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas para los productos cosméticos de bajo riesgo. Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria.
- Arenas, J. (2003). Las heridas y su cicatrización. *OFFARM*, 22, 126–132.
- Avello, L. & Cisternas, F. (2010). Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Revista Medica de Chile*, 138(10), 1288–1293. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872010001100014>
- Azmat, C., & Council, M. (2022). Wound Closure Techniques. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Azwanida, N. (2015). A Review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04 (03), 3–8.
- Baek, S., Cao, L., Jeong, S., Kim, H., Nam, T., & Lee, S. (2021). The comparison of total phenolics, total antioxidant, and anti-tyrosinase activities of korean sargassum species. *Journal of Food Quality*, 2021, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2021/6640789>

- Benítez, R., Sarria, A., Gallo, A., Pérez O., Álvarez, H., & Giraldo, I. (2020). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 15(1), 31–40. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>
- Bitwell, C., Indra, S., Luke, C., & Kakoma, K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>
- Bobo, G., Davidov, G., Arroqui, C., Vírseda, P., Marín, M., & Navarro, M. (2015). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. <https://doi.org/10.1002/JSFA.6706>
- Bratcher, A., & Reinhard, R. (2015). Creative implementation of 3Rs principles within industry programs: Beyond regulations and guidelines. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. American Association for Laboratory Animal Science.
- Bravo, E. (2014). *La biodiversidad en el Ecuador*. [Tesis de Grado, Universidad Politécnica Salesiana]. DSpace UPS. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/6788>
- Brown, K., Solval, M., Chotiko, A., Alfaro, L., Reyes, V., Liu, C., Dzandub, B., Kyereh, E., Goldson, A., Thompson, I., & Sathivel, S. (2016). Microencapsulation of ginger (*Zingiber officinale*) extract by spray drying technology. *LWT*, 70, 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.030>
- Bustamante, S., Álvarez, N., Mendiburen, R., Vergara, F., Zárate, I., Collado, C., & Morales, M. (2015). Fundamentación Preclínica Del Uso Etnomédico De Matico (*Buddleja globosa* Hope). *Revista de Fitoterapia*, vol. 15, no. 1, pp. 3751.
- Carrión, A., & García, C. (2010). *Preparación De Extractos Vegetales: Determinación De Eficiencia De Metódica* [Tesis de grado, Universidad de Cuenca]. DSpace Universidad de Cuenca. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2483>
- Carvalho, I., Estevinho, B., & Santos, L. (2016). Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products - A review.

International Journal of Cosmetic Science. Blackwell Publishing Ltd.
<https://doi.org/10.1111/ics.12232>

- Casignia, A (2015). comparación del efecto cicatrizante de las tinturas elaboradas a base de matico (*Eupatorium glutinosum*) y acíbar de sábila (*Aloe barbadensis*) aplicado en ratones (*Mus musculus*). [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. DSpace ESPOCH.
- Castillo, Q. (2013). Estudio de metabolitos secundarios de especies del género *Eupatorium* endémico de Santo Domingo. Universidad de las Palmas de Gran Canarias.
- Chaves, N., Santiago, A., & Aliás, J. C. (2020). Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/antiox9010076>
- Cruz, P. (2009). *Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de mazanilla (Matricaria Chamomilla) matico (Aristiguetia Glutinosa) y marco (Ambrosia arborencens)*. [Tesis de pregrado Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. DSpace ESPOCH.
- Culqui, X. (2017). *Determinación de la actividad antiinflamatoria de la planta Clinopodium tomentosum mediante inhibición de edema plantar inducido por carragenina en ratas Rattus norvegicus* [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. DSpace ESPOCH.
- Cunha, A. da & Batista, T (2005). Farmacognosia y fitoquímica. En Farmacognosia e fitoquímica (págs. 291-336).
- Dantas, B., Reis, B., Damasceno, D., Rolim, A., Rolim, J., Carvalho, O., Quintans, L., Da Silva, G. (2016). Development and Evaluation of Stability of a Gel Formulation Containing the Monoterpene Borneol. *Scientific World Journal*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7394685>
- Deuschle, V. C. K. N., Norbert Deuschle, R. A., Bortoluzzi, M. R., & Athayde, M. L. (2015). Physical chemistry evaluation of stability, spreadability, in vitro antioxidant, and photo-protective capacities of topical formulations containing *Calendula officinalis* L. Leaf extract. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(1), 63–75. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000100007>
- Diego, M. d., & Arco, J. d. (2016). *Geles*. Farmacéutica, directora técnica de Vencaser.

- Dorado, JG y Fraile, PA (2021). Anatomía y fisiología de la piel. *Pediatría Integral*, 25 (3), 156.e1-156.e13.
- El-Seedi, R., Ohara, T., Sata, N., & Nishiyama, S. (2002). Antimicrobial diterpenoids from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 81(2), 293–296. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00101-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00101-0)
- Firlar, I., Altunbek, M., McCarthy, C., Ramalingam, M., & Camci-Unal, G. (2022). Functional Hydrogels for Treatment of Chronic Wounds. *Gels*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/gels8020127>
- Fretes, F. (2010). *Plantas Medicinales Y Aromáticas: Una Alternativa De Producción Comercial*. Agencia Del Gobierno De Los Estados Unidos Para El Desarrollo Internacional (USAID), pp. 7-60.
- Fuentes, F., Mendoza, R., Rosales, A., & Cisneros, A. (2008). *Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón*. Instituto nacional de salud (pp. 1–54).
- García, B., Roig, S., & Rebollar, C. (2015). Ungüentos, pomadas, cremas, geles y pastas: ¿Es todo lo mismo?. *Form Act Pediatr Aten Prim*, 8 (4), 3.
- García, E. (2021). *Análisis del efecto de la terapia de luz led de baja densidad de energía en el proceso de la cicatrización de un modelo murino alopecico* [Tesis de pregrado. Benemérita Universidad Autónoma De Puebla].
- García, I., Sisamón, I., Ponce, J., Delgado, B., Lozano, S., & Muñoz, C. (2021). Revisión sistémica: Factores que afectan a la cicatrización de las heridas. *Revista Sanitaria de Investigación*, ISSN-e 2660-7085, Vol. 2, No. 9 (Edición Septiembre), 2021, 2(9), 160.
- Garg, T., Rath, G., & Goyal, K. (2015). Comprehensive review on additives of topical dosage forms for drug delivery. *Drug Delivery*. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.3109/10717544.2013.879355>
- GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei>
- Gómez, M., & Cárdenas, M. (2017). Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto acuoso de *Eupatorium glutinosum* en heridas cutáneas inducidas en ratones. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*, 42(1), 13-18.

- Gonelimali, F., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., & Hatab, S. (2018). Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Sviscosilage Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01639>
- Gottrup, F., Ågren, S., & Karlsmark, T. (2000). Models for use in wound healing research: A survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. *Wound Repair and Regeneration*. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.2000.00083.x>
- Hamlin, L., Richardson, M., & Menna, D. (2008). *Enfermería perioperatoria. Texto introductorio*. Editorial El Manual Moderno.
- Herbig, E., Evers, H., Gorissen, S., & Köllmer, M. (2023). Rational Design of Topical Semi-Solid Dosage Forms-How Far Are We? *Pharmaceutics*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071822>
- Huynh Luu, N. D., Dang, L. H., Vo Le, T. V., Ngoc Do, T. D., Thi Nguyen, T. T., Thi Nguyen, T. T., ... Tran, N. Q. (2023). Topical cream based on nanoformulation of *Chromolaena odorata* extract for accelerating burn wound healing. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 82. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104360>
- Jahandideh, M., Hajimehdipoor, H., Mortazavi, S., Dehpour, A., & Hassanzadeh, G. (2017). Evaluation of the wound healing activity of a traditional compound herbal product using rat excision wound model. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16, 153–163.
- Jha, K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Karrar, E., Mahdi, A., Sheth, S., Mohamed Ahmed, A., Manzoor, F., Wei, W., & Wang, X. (2021). Effect of maltodextrin combination with gum arabic and whey protein isolate on the microencapsulation of gurun seed oil using a spray-drying method. *International Journal of Biological Macromolecules*, 171, 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.045>

- Kędzierska, M., Blilid, S., Miłowska, K., Kołodziejczyk-Czepas, J., Katir, N., Lahcini, M., Kadib, A., Bryszewska, M. (2021). Insight into factors influencing wound healing using phosphorylated cellulose-filled-chitosan nanocomposite films. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21). <https://doi.org/10.3390/ijms222111386>
- Kim, J, Lee, K., Jerng, U & Choi, G. (2019). Comparación global de parámetros de prueba de estabilidad y métodos de prueba para productos herbarios terminados. *Medicina alternativa y complementaria basada en la evidencia*. Hindawi limitada. <https://doi.org/10.1155/2019/7348929>
- Kujath, P. (2008). Wounds – From Physiology to Wound Dressing: In Reply. *Deutsches Ärzteblatt International*. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2008.0558>
- Lee, S., Kwon, J., Seo, B., Kim, K., Lee, H., Lee, T., Shick, P., Choi, J., Lee, S., & Ye, S. K. (2023). Anti-inflammatory effects of *Allium cepa L.* peel extracts via inhibition of JAK-STAT pathway in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 317. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116851>
- López, O., & Pazmiño, N. (2022). *Extracción y microencapsulación de licopeno extraído a partir de residuos de tomate de árbol (Solanum betaceum) y su formulación en cápsulas duras* [Tesis de Maestría, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Universidad Técnica de Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/35437>
- Lozano, C., Córdoba, D., & Cordoba, M. (2012). *Manual de tecnología farmacéutica*. ELSEVIER.
- Luebberding, S., Krueger, N., & Kerscher, M. (2013). Skin physiology in men and women: In vivo evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH. *International Journal of Cosmetic Science*, 35(5), 477–483. <https://doi.org/10.1111/ics.12068>
- Madurga, M. (2009). El papel de la cosmética: excipientes y conservantes The role of cosmetics: excipients and preservatives. *Pediatr Aten Primaria*, 11(15), 81–100.
- Mainente, F., Piovan, A., Zanoni, F., Chignola, R., Cerantola, S., Faggin, S., Giron, M., Filippini, R., Saraglia, R., & Zoccatelli, G. (2022). Spray-drying Microencapsulation of an Extract from *Tilia tomentosa* Moench Flowers:

- Physicochemical Characterization and in Vitro Intestinal Activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 77(3), 467–473. <https://doi.org/10.1007/s11130-022-00995-y>
- Mann, A., & Beuchat, R. (2008). Combinations of antimycotics to inhibit the growth of molds capable of producing 1,3-pentadiene. *Food Microbiology*, 25(1), 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.06.005>
- Mayhuasca, O., Arroyo, J., & Franco, C. (2018). Efecto antiinflamatorio de la emulsión dérmica del extracto etanólico de *Peperomia choroniana* D. CD. (*ipitanki*) en edema auricular inducido por xilol en ratones. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 2(4), 817–822. <https://doi.org/10.26722/rpmi.2017.24.68>
- Méndez, M., Sánchez, G., Guillamas, C., Hernando, A., Gutiérrez, E., Tordesillas, L. (2017). Anatomía, fisiología y patología del aparato respiratorio (Técnicas básicas de enfermería). España: Editorial Editex.
- Mendonça, S., Pradhan, A., Sharma, P., Prado, B., Murthy, N., Kundu, S., & Repka, A. (2019). A quality by design approach to develop topical creams via hot-melt extrusion technology. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 136. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.06.002>
- Meyers, S., Andrade, M., Caetano, F., Guimaraes, R., Leite, N., Leite, N., & Frade, C. (2020). Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *International Journal of Experimental Pathology*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/iep.12346>
- Ministerio de la Protección Social. (2008). *Vademécum de Plantas Medicinales*. Universidad Nacional, 120–121
- Morelo, G., Giménez, B., Márquez-Ruiz, G., Holgado, F., Romero-Hasler, P., Soto-Bustamante, E., & Robert, P. (2019). Influence of the physical state of spray-dried flavonoid-inulin microparticles on oxidative stability of lipid matrices. *Antioxidants*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/antiox8110520>
- Mssillou, I., Bakour, M., Slighoua, M., Laaroussi, H., Saghrouchni, H., Ez-Zahra, F., Layoussi, B., & Derwich, E. (2022). Investigation on wound healing effect of Mediterranean medicinal plants and some related phenolic compounds: A

- review. *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115663>
- N'guessan, B., Asiamah, A., Arthur, N., Frimpong-Manso, S., Amoateng, P., Amponsah, S., Kukuia, K., Sarkodie, J., Opuni, K., Asiedu, I., & Appiah-Opong, R. (2021). Ethanolic extract of *Nymphaea lotus L. (Nymphaeaceae)* leaves exhibits in vitro antioxidant, in vivo anti-inflammatory and cytotoxic activities on Jurkat and MCF-7 cancer cell lines. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03195-w>
- Neofármaco. (2021). Quiénes somos - Laboratorio Neofarmaco Cia. Ltda. <https://neofarmaco.com/quienes-somos/>
- NicDaéid, N. (2019). Forensic sciences | Systematic drug identification. In *Encyclopedia of Analytical Science* (pp. 75–80). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14457-9>
- Niknam, S., Tofighi, Z., Faramarzi, A., Abdollahifar, A., Sajadi, E., Dinarvand, R., & Toliyat, T. (2021). Polyherbal combination for wound healing: *Matricaria chamomilla L.* and *Punica granatum L.* *DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(1), 133–145. <https://doi.org/10.1007/s40199-021-00392-x>
- Pabón, Y., & González, L. (2017). *Formas farmacéuticas*. Ediciones Universidad Cooperativa de Colombia. <https://doi.org/https://doi.org/10.16925/greylit.2110>
- Paladino, S. C. (2008). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera L.*). Facultad de Ciencias Agrarias, Sede Mendoza, 100.
- Peate, I. (Il.), Nair, M. (Il.) & Palacios, J. (Trad.). (2019). *Anatomía y fisiología para enfermeras*. Editorial El Manual Moderno.
- Pérez, P., Farrés, G., Silva, L., Viñuela, C., Pahissa, A., Gómez, M., Drets, P., Oliver, R., Montoya, C., Pérez, J., Snacho, E., Monclús, M., Prieto, X., & Ramos, J. (2021). Cosméticos microbiológicamente seguros. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios (AEMPS).
- Proaño, J., & Ramos, I. (2013). *Comprobación del Efecto Cicatrizante de una Crema a Base de Romero (Rosmarinus officinales), Matico (Pier aduncum) y Cola de Caballo (Equisetum arvense) en Heridas Inducidas en Ratones* [Tesis de

- Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. DSpace ESPOCH.
<http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/2611>
- Puhaindran, M. E. (2008). Principles of wound healing. In *Diabetic Foot Problems* (pp. 395–402). World Scientific Publishing Co.
https://doi.org/10.1142/9789812791535_0028
- Quinaluisa, C. (2018). Microencapsulación de componentes bioactivos de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*) mediante secado por aspersión. [Tesis de Maestría, Universidad Técnica de Ambato].
- Rai, P., Poudyl, P., & Das, S. (2019). Pharmaceutical Creams and their use in wound healing: A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(3-s), 907-912.
- Rashid, S., Majeed, R., Nisar, B., Nisar, H., Bhat, A., & Ganai, A. (2021). Phytomedicines: Diversity, extraction, and conservation strategies. In *Phytomedicine: A Treasure of Pharmacologically Active Products from Plants* (pp. 1–33). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824109-7.00009-1>
- Ríos-Aguirre, S., & Gil-Garzón, M. (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión. *Tecnológicas*, 24 (51), e1836. <https://doi.org/10.22430/22565337.1836>
- Rippa, L., Kalabusheva, P., & Vorotelyak, A. (2019). Regeneration of dermis: Scarring and cells involved. *Cells*, 8(6). <https://doi.org/10.3390/cells8060607>
- Rowe, C., Sheskey, P. & Quinn, M. (2009). Manual de excipientes farmacéuticos. Libros Digitales-Prensa Farmacéutica.
- Rowe, C., Sheskey, J., & Quinn, E. (2017). Handbook of Pharmaceutical Excipients Ed. 8th. Handbook of Pharmaceutical Excipients, 633–643.
- Saénz, C., Tapia, S., Chávez, J., & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.095>
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, M., & Yoga Latha, L. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i1.60483>
- Sen, C., Gordillo, G., Roy, S., Kirsner, R., Lambert, L., Hunt, T., & Longaker, M. (2009). Piel humana. heridas: una amenaza importante y creciente para la salud

- pública y la economía. *Reparación y regeneración de heridas*, 17(6), 763-771.
doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00543
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (2015). NTE INEN 2867- Productos Cosméticos: Requisitos, INEN.
- Shiehzadeh, F., Mohebi, D., Chavoshian, O., & Daneshmand, S. (2023). Formulation, Characterization, and Optimization of a Topical Gel Containing Tranexamic Acid to Prevent Superficial Bleeding: In Vivo and In Vitro Evaluations. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(4), 261–269.
<https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2022.60687>
- Singh, S., Young, A., & McNaught, C. (2017). The physiology of wound healing. *Surgery (United Kingdom)*. Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2017.06.004>
- Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, S., Kapoor, A., Vo, N., & Prabhakar, S. (2021). Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: a review. *Environmental Chemistry Letters. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH*. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01217-8>
- Sritham, E., & Gunasekaran, S. (2017). FTIR spectroscopic evaluation of sucrose-maltodextrin-sodium citrate bioglass. *Food Hydrocolloids*, 70, 371–382.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.04.023>
- Stan, D., Tanase, C., Avram, M., Apetrei, R., Mincu, B., Mateescu, L., & Stan, D. (2021). Wound healing applications of creams and “smart” hydrogels. *Experimental Dermatology*. John Wiley and Sons Inc.
<https://doi.org/10.1111/exd.14396>
- Ștefănescu, E., Nemes, A., Teleky, E., Călinoiu, F., Mitrea, L., Martău, A., Szabo, K., Mihai, M., Vodnar, D., & Crișan, G. (2022). Microencapsulation and Bioaccessibility of Phenolic Compounds of Vaccinium Leaf Extracts. *Antioxidants*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/antiox11040674>
- Stroncek, D., & Reichert, M. (2007). Overview of wound healing in different tissue types. In *Indwelling Neural Implants: Strategies for Contending with the in Vivo Environment* (pp. 3–38). CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9781420009309.pt1>
- Stupin, V., Manturova, N., Silina, E., Litvitskiy, P., Vasin, V., Artyushkova, E., ... Aliev, S. (2020). The effect of inflammation on the healing process of acute

- skin wounds under the treatment of wounds with injections in rats. *Journal of Experimental Pharmacology*, 12, 409–422. <https://doi.org/10.2147/JEP.S275791>
- Suárez, O., Paulet, P., & Vidal, L. (2018). Microstructure of *Annona muricata* L. Leaves Extract Microcapsules Linked to Physical and Chemical Characteristics. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 08(03), 178–193. <https://doi.org/10.4236/jeas.2018.83009>
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167–2180. <https://doi.org/10.3390/molecules14062167>
- Tahir, E., Xiaobo, Z., Zhihua, L., Jiyong, S., Zhai, X., Wang, S., & Mariod, A. (2017). Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Food Chemistry*, 226, 202–211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.024>
- Tang, Y., Gao, C., Zhang, Y., & Tang, X. (2024). Structure and functionality of cinnamaldehyde/chitosan/gum Arabic complex particles. *Food Hydrocolloids*, 146. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109220>
- Teshome, N., Degu, A., Ashenafi, E., Ayele, E., & Abebe, A. (2022). Evaluation of Wound Healing and Anti-Inflammatory Activity of Hydroalcoholic Leaf Extract of *Clematis simensis* Fresen (*Ranunculaceae*). *Clinical cosmetic and investigational dermatology*, 15, 1883–1897. <https://doi.org/10.2147/CCID.S384419>
- The United States Pharmacopeial Convention. (2007). *Farmacopea de los Estados Unidos de América*
- Torre, L., Navarrete, H., Muriel P., Barco, J., & Balslev, H. (2008). Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador. Quito: Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador; Aarhus: Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus.
- Valverde, A. R. (2016). Cicatrización. *Revista Médica Sinergia*, Vol.1 (Num:9), pp:13 - 17.

- Vergés, E. (2015). *Capítulo 17.-Formas Farmacéuticas*. Lectura de Generalidades Farmacéuticas, 175–176.
- Vizkaia, C. d. (2004). Formulación magistral de medicamentos. acofarma.
- Wang, M., Cai, W., & Zhu, Y. (2010). Mechanisms of angiogenesis: Role of hydrogen sulphide. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 37(7), 764–771. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2010.05371.x>
- Yaseen, M., Faisal, G., Fuaat, A., Affandi, K., Alallam, B., & Mohd., M. (2021). Preparación de hidrogel de extracto de raíz de *Eurycoma longifolia* Jack (EL) *Tongkat Ali* (Ta) para aplicación en heridas. *Revista de farmacognosia*, 13 (6), 1456–1463. <https://doi.org/10.5530/PJ.2021.13.185>
- Yousef, H., Alhajj, M., & Sharma, S. (2020). Anatomy, Skin (Integument), Epidermis. *StatPearls Publishing*, 8–11.
- Zamora, L., Vispo, N., De Lima, L., Mora, R., Machado, A., & Alexis, F. (2023). Hydrogel for the Controlled Delivery of Bioactive Components from Extracts of *Eupatorium glutinosum* Lam. Leaves. *Molecules*, 28(4). <https://doi.org/10.3390/molecules28041591>
- Zaragozá F., & Villaescusa L. (2006). Fitoterapia. *Revista de La Sociedad Española Del Dolor*. <https://doi.org/10.1007/88-470-0505-1>
- Zhang, H., & Grinstaff, W. (2014). Recent advances in glycerol polymers: Chemistry and biomedical applications. *Macromolecular Rapid Communications*, 35(22), 1906–1924. <https://doi.org/10.1002/marc.201400389>
- Zhang, W., Lin, G., & Ye, C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zulkefli, N., Che Zahari, M., Sayuti, H., Kamarudin, A., Saad, N., Hamezah, S., Bunawan, H., Baharum, S., Mediani, A., Ahmed, Q., Harun, A., & Sarian, M. N. (2023). Flavonoids as Potential Wound-Healing Molecules: Emphasis on Pathways Perspective. *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms24054607>

ANEXOS

Anexo 1. *Permiso del Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE) para recolección de muestra vegetal sin fines de lucro para investigación científica.*



PRONUNCIAMIENTO FAVORABLE No. MAATE-ARSFC-2023-3533

Srta. **VIRACUCHA CHAVEZ KETSI LIZBETH.**

Una vez que la propuesta para Autorización de Recolección de Especímenes de la Diversidad Biológica Sin Fines Comerciales para Investigación Científica, ha sido analizada, el Ministerio del Ambiente y Agua en uso de las atribuciones que le confiere el Acuerdo Interministerial SENESCYT-MAE N°001 aprueba el Proyecto **Evaluación de la capacidad cicatrizante in vivo de formas farmacéuticas elaboradas con extracto etanólico de hojas de matico Eupatorium glutinosum**, al haber cumplido con los parámetros técnicos, administrativos y legales, establecidas en la ley.

Por lo dispuesto, se solicita realizar el pago correspondiente en:

BANECUADOR

RUC MAATE: 1768192860001

CUENTA CTE. No. 3001480604 / SUB-LÍNEA: 190499

TIPOS DE SERVICIOS: Servicios de Áreas Protegidas y Vida Silvestre

En base a lo dispuesto en el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria.

Atentamente,

VEINTIMILLA YANEZ DAVID ALEJANDRO

DIRECCIÓN DE BIODIVERSIDAD

Anexo 2. Autorización de manipulación de animales de experimentación extendido por la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).



Oficio Nro. ESPOCH-CIBE-2023-0036

Riobamba, 13 de octubre de 2023

Asunto: AVAL CBIESPOCH

Señora Licenciado
Danae Fernández Rivera,
Docente
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
En su Despacho

De mi consideración:

Reciba un cordial saludo, a la vez que me dirijo a usted para comunicarle que, luego de la evaluación por pares, el proyecto de titulación "Evaluación de la capacidad cicatrizante *in vivo* de formas farmacéuticas elaboradas con extracto etanólico de hojas de matico (*Eupatorium glutinosum*)", me permito indicar que fue **APROBADO** sin ninguna observación, por lo tanto, se extiende el **AVAL** por parte del Comité de Bioética en Investigación de la ESPOCH

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,
SABER PARA SER



Ing. María Rafaela Viteri Uzcátegui, MSc.
PRESIDENTA DEL COMITÉ INSTITUCIONAL DE BIOÉTICA

Documento generado con el sistema de gestión de documentos

0/1



Riobamba-Ecuador / Pasadimita Barrios 11/5 / Código Postal 2002155
Teléfono: 033 320 2993-300 / Telefax: 033 3317-001

esPOCH.edu.ec

Anexo 3. Preparación del extracto de Matico



Figura 11. A: material vegetal desinfectad, B: secado y C: trituración de material vegetal de matico

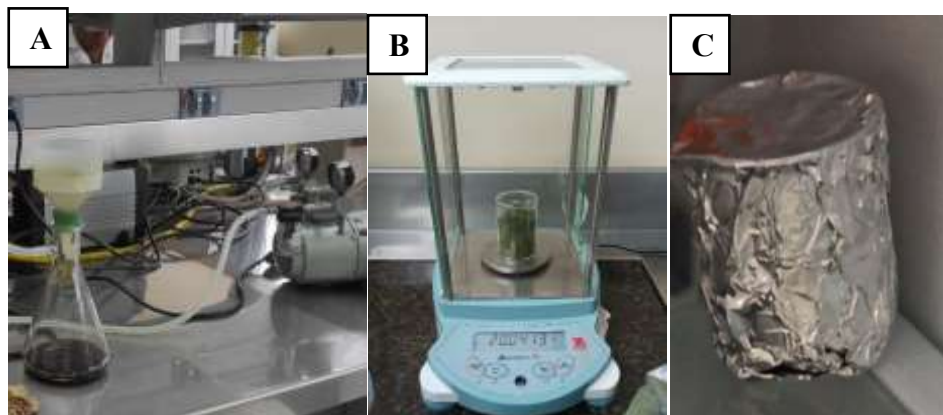


Figura 12. A: material vegetal de matico pesado, B: filtración al vacío y C: Maceración



Figura 13. A: Rotaevaporación al vacío y B: eliminación del solvente

Anexo 4. Microencapsulación

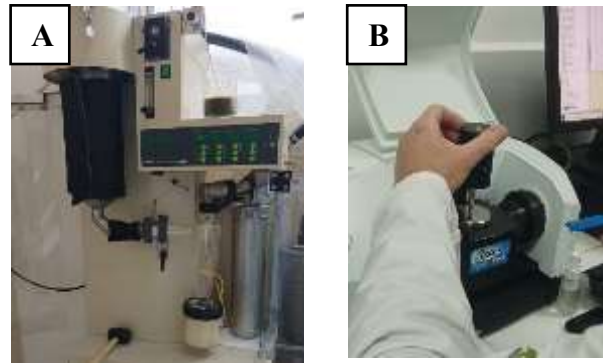


Figura 14. A: Microencapsulación de extracto de matico y B: (FT-IR)

Anexo 5. Elaboración de Formas Farmacéuticas

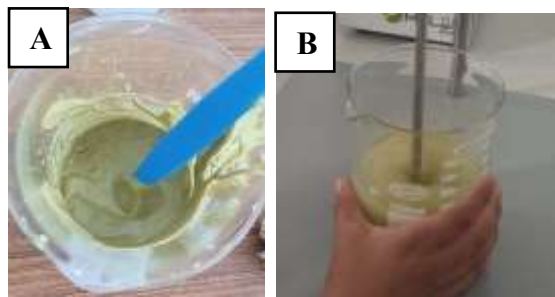


Figura 15. A: Preparación de crema de matico y B: Preparación de hidrogel de matico

Anexo 5. Control de calidad

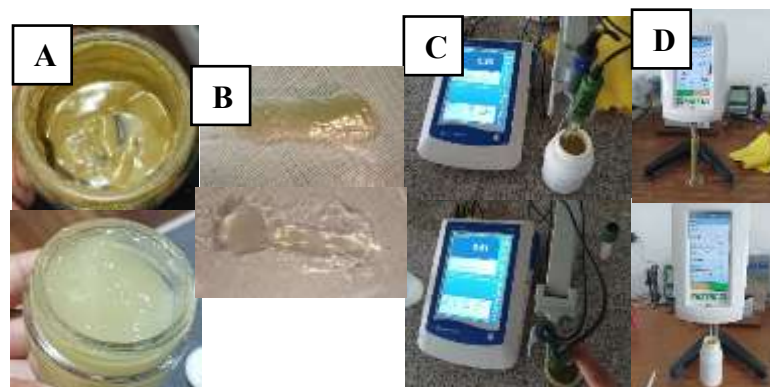


Figura 16. A: Características Organolépticas, B: Prueba de Extensibilidad, C: prueba de pH y D: prueba de viscosidad.



Figura 17. Análisis Microbiológico

Anexo 6. Cuantificación de Fenoles

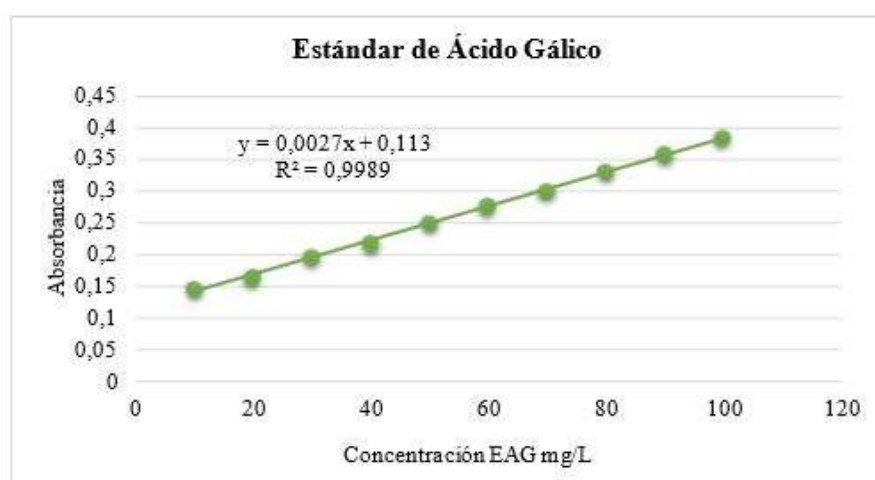


Figura 18. Curva de calibración de ácido gálico



Figura 19. A: Determinación de fenoles totales, lectura de placa en el espectrofotómetro

Anexo 7. Cuantificación de Flavonoides Totales

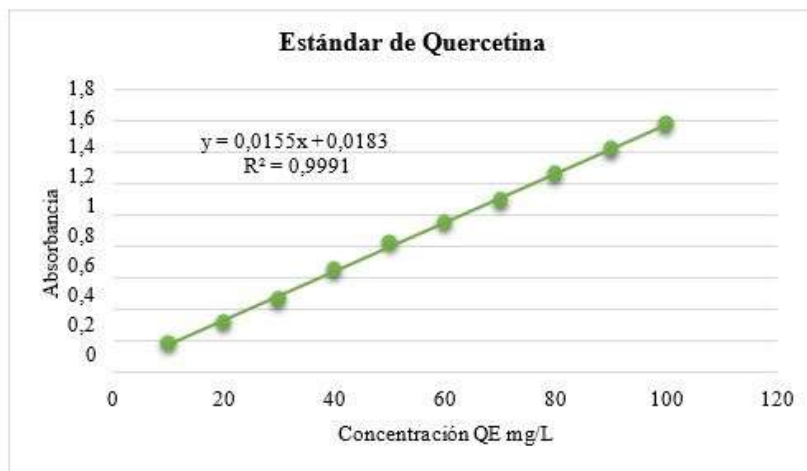


Figura 20. Curva de calibración de quercetina



Figura 21. Determinación de flavonoides totales, lectura de placa en el espectrofotómetro

Anexo 8. Cuantificación de la Actividad Antioxidante

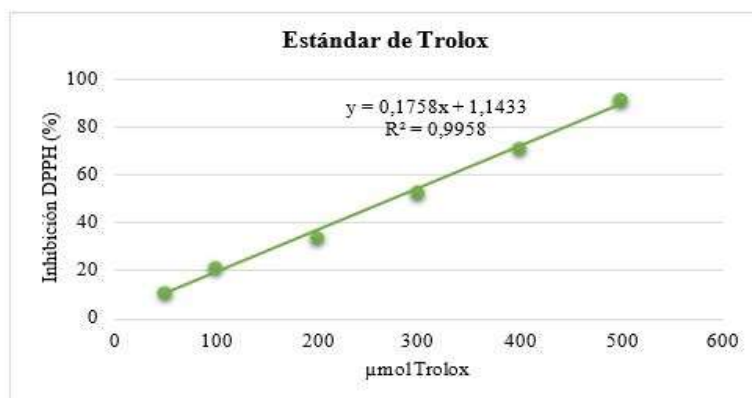


Figura 22. Curva de calibración de Trolox



Figura 23. A: análisis de DPPH, lectura de placa en el espectrofotómetro

Anexo 9. Ambientación de Ratas



Figura 24. Distribución de 6 ratas en cada grupo.

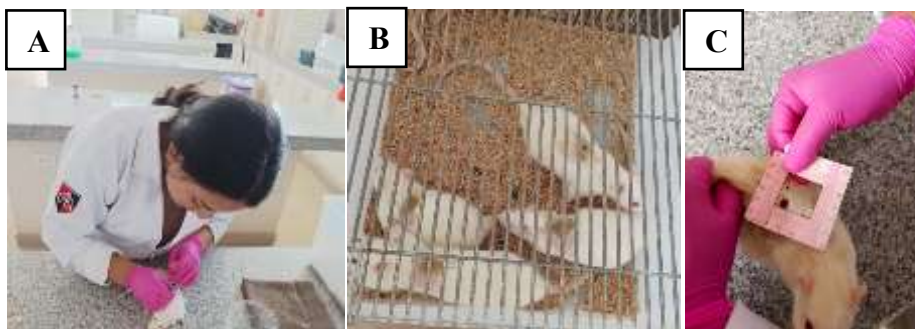


Figura 24. A: realización de la herida, B: aplicación de formulaciones y C: fotografías de la herida

Anexo 9. Análisis ANOVA, Tuckey y Dunnett

Tabla 6. Análisis de varianza día 3.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
G. Experimentales	4	0,151879	0,037970	958,99	0,000
Error	25	0,000990	0,000040		
Total	29	0,152869			

Tabla 7. Análisis Tukey día 3 a una confianza de 95 %.

G. Experimentales	N	Media	Agrupación
T1	6	0,71900	A
T2	6	0,601167	B
T5	6	0,55700	C
T3	6	0,53450	D
T4	6	0,52350	E

Tabla 8. Análisis Dunnett día 3 a una confianza de 95 % día 3.

G. Experimentales	N	Media	Agrupación
T1 (control)	6	0,71900	A
T2	6	0,601167	
T5	6	0,55700	
T3	6	0,53450	
T4	6	0,52350	

Tabla 9. *Análisis de varianza día 5.*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
G. Experimentales	4	0,646535	0,161634	1119,92	0,000
Error	25	0,003608	0,000144		
Total	29	0,650143			

Tabla 10. *Análisis Tukey día 5 a una confianza de 95 %.*

G. Experimentales	N	Media	Agrupación
T1	6	0,69167	A
T2	6	0,59667	B
T5	6	0,49067	C
T3	6	0,32367	D
T4	6	0,32217	D

Tabla 11. *Análisis Dunnett día 5 a una confianza de 95 %.*

G. Experimentales	N	Media	Agrupación
T1 (control)	6	0,69167	A
T2	6	0,59667	
T5	6	0,49067	
T3	6	0,32367	
T4	6	0,32217	

Tabla 12. *Análisis de varianza día 7.*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
G. Experimentales	4	1,79398	0,448494	22115,08	0,000
Error	25	0,00051	0,000020		
Total	29	1,79448			

Tabla 13. *Análisis Tukey día 7 a una confianza de 95 %.*

G. Experimentales	N	Media	Agrupación
T1	6	0,66150	A
T2	6	0,50333	B
T5	6	0,22967	C
T4	6	0,10083	D
T3	6	0,01300	E

Tabla 14. *Análisis Dunnett día 7 a una confianza de 95 %.*

G. Experimentales	N	Media	Agrupación
T1 (control)	6	0,66150	A
T2	6	0,50333	
T5	6	0,22967	
T4	6	0,10083	
T3	6	0,01300	

Tabla 15. *Análisis de varianza día 14.*

G. Experimentales	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamientos	4	0,600951	0,150238	50190,75	0,000
Error	25	0,000075	0,000003		
Total	29	0,601025			

Tabla 16. *Análisis Tukey día 14 a una confianza de 95 %.*

G. Experimentales	N	Media	Agrupación
T1	6	0,35383	A
T5	6	0,000000	B
T4	6	0,000000	B
T3	6	0,000000	B
T2	6	0,000000	B

Tabla 17. *Análisis Dunnett día 14 a una confianza de 95 %.*

G. Experimentales	N	Media	Agrupación
T1 (control)	6	0,35383	A
T5	6	0,000000	
T4	6	0,000000	
T3	6	0,000000	
T2	6	0,000000	

Anexo 10. Matriz de la herida en ratas


























	Control Negativo	Control positivo	Crema de Matico	Hidrogel de Matico	Extracto concentrado de matico
Día 0					
Día 3					
Día 5					
Día 7					
Día 14					

Figura 25. Días 3, 5, 7 y 14 evolución de la cicatriz