

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS II

Efecto de una crema a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus* Balb/c

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

AUTORA:

LAURENTE PACHAMANGO, Katherine Guiliana

ASESOR:

Mg. CRUZADO RAZCO, José Lizardo

COASESORA:

Mg. SILVA CORREA, Carmen Rosa

TRUJILLO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Dios

Por haberme dado sabiduría, fortaleza, salud, coraje, y no dejarme solo en los momentos difíciles, y haberme permitido llegar a una de nuestras metas en este largo camino para culminar la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica.

A mis maestros

De la facultad de Farmacia y Bioquímica que con este andar por la vida influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como persona de bien y prepararnos para los retos que pone la vida.

A Mis Padres

Antonio y Marianela por su paciencia, por su perseverancia y su amor. Gracias por el apoyo brindado para hacer posible este trabajo.

A Mis Hermanos

Anthony y Crystyan por apoyarme en los momentos difíciles, en los cuales estuve a punto de desvanecer.

A Mi Tía

Mily por darme ese voto de confianza de decir yo sí puedo y poder seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor y coasesora, Mg. Cruzado Razco José Lizardo y Mg. Silva Correa Carmen Rosa, por su dedicación y apoyo, por sus sabias orientaciones y por dirigir esta tesis con gran dedicación.

Agradecemos sinceramente a la Dra. Marín Tello Carmen Luisa y al Dra. Soto Vásquez Marilú Roxana por impulsar a nuestro desarrollo con sus conocimientos, experiencias y valores.

PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO

Dando cumplimiento a lo establecido por el reglamento de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, someto a vuestra honorable consideración y elevado criterio el presente Informe de tesis II, titulado:

Efecto de una crema a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Balb/c*

Es propicia la oportunidad para evidenciar el más sincero reconocimiento a nuestra Alma Mater y toda su plana docente que con su capacidad, buena voluntad y enseñanzas que se imparten día a día contribuyen positivamente a nuestra formación profesional.

Señores miembros del Jurado dejamos a vuestra consideración la calificación del presente trabajo.

Laurento Pachamango Katherine Guiliana

JURADO DICTAMINADOR

Dra. MARÍN TELLO, Carmen Luisa.....PRESIDENTE

Dra. SOTO VÁSQUEZ, Marilú Roxana.....MIEMBRO

Mg. CRUZADO RAZCO, José Lizardo.....MIEMBRO

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

ÌNDICE

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIAL Y MÉTODO.....	7
III. RESULTADOS.....	20
IV. DISCUSIÓN	32
V. CONCLUSIONES	38
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
ANEXOS.....	45

RESUMEN

Esta investigación se desarrolló con el objeto de evaluar el efecto de una crema a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Balb/c*. Los animales de experimentación se dividieron en 5 grupos de 5 especímenes cada uno, a los que se les indujo lesiones dérmicas. Al grupo negativo no se le aplicó tratamiento; al grupo positivo se le aplicó una crema cicatrizante a base de vitaminas A y D3, ácido bórico, óxido de zinc cloruro de benzalconio; mientras que, a los grupos problema: I, II y III se le aplicó la crema formulada a base de aceite esencial de *Origanum vulgare*, dos veces al día (8 a.m. /8 p.m.), durante 8 días. Diariamente se realizó la medición de las lesiones dérmicas. Al noveno día fueron eutanasiados utilizando pentobarbital sódico 60 m/kg v.ip. Se obtuvieron muestras de piel que fueron conservadas en formol al 10% y enviadas al análisis histopatológico. Se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, con un nivel de significancia de $p < 0.05$. El análisis histopatológico de los grupos se determinó que en el grupo negativo. La epidermis, muestra zonas afectadas por la herida en las cuales no se distinguen células de la granulosa y de la capa basal; su continuidad indica el proceso reparativo de epitelización y en el grupo problema III. La epidermis indica continuidad epitelial y que corresponde al estrato espinoso principalmente. El efecto reparativo es efectivo por la presencia de colágeno denso arremolinado y fibroblastos en dirección horizontal a la dermis. Se concluye que las cremas a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* poseen efecto cicatrizante sobre lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Balb/c*, siendo el mayor efecto con la crema al de mayor concentración.

Palabras claves: Cicatrización de Heridas, crema, *Origanum vulgare*.

ABSTRACT

This research was developed in order to evaluate the effect of an essential oil-based cream of *Origanum vulgare* on skin lesions induced in *Mus musculus Balb / c*. The experimental animals were divided into 5 groups of 5 specimens each, to which skin lesions were induced. The negative group was not treated; The Positive Group was given a base of vitamins A and D3, boric acid, zinc oxide, benzalkonium chloride ; healing cream, while the problem group: I, II and III was applied the cream formulated with an essential oil base of *Origanum vulgare*, twice a day (8 a.m./8 p.m.), for 8 days. The measurement of the dermal lesions was carried out daily. On the ninth day they were euthanized using sodium pentobarbital 60 mg / kg v.i.p. Skin samples were obtained that were preserved in 10% formalin to be sent for histopathological analysis. At the end of the experience it was determined that there is a statistically significant difference between the groups, with a level of significance of 5% ($p < 0.05$). The histopathological analysis of the groups determined that it exists in the negative group. The epidermis shows areas affected by the wound in which granulosa and basal layer cells are not distinguished, their continuity indicates the reparative process of epithelialization and in group problem III. The epidermis indicates epithelial continuity and corresponds mainly to the spinous layer. The reparative effect is effective due to the presence of swirling dense collagen and fibroblasts in the horizontal direction to the dermis. It is concluded that the creams based on essential oil of *Origanum vulgare* have healing effect on skin lesions induced in *Mus musculus Balb / c*.

Key words: Wound healing, cream, *Origanum vulgare*.

I. INTRODUCCIÓN

La piel es un órgano de protección de nuestro cuerpo, que sirve de barrera con el medio externo, disminuye la pérdida de agua y temperatura, además ejerce protección contra la radiación ultravioleta y agentes infecciosos. La piel se compone de epidermis, dermis y anexos cutáneos ¹⁻².

La epidermis, está conformada por tejido epitelial; epidermis, se dermis, tejido conectivo, elastina y proteoglicanos; subyacente a la dermis, se encuentra la hipodermis, o tejido celular subcutáneo, fundamentales para el diagnóstico en dermatología de lesiones en la piel. Existen dos categorías de lesiones: lesiones primarias (sobre piel previamente sana) y lesiones secundarias (agresión externa sobre la piel) ²⁻⁵.

Al estudiar el organismo humano se puede observar que existen lesiones cutáneas que están íntimamente ligadas a diferentes patologías ocasionada accidentalmente; cuando se produce una herida, el cuerpo activa de forma natural un fenómeno biológico natural ⁶⁻⁷.

La cicatrización es un proceso de reparación complejo en el que el organismo debe detener la hemorragia, reparar y cerrar la herida. Donde se debe reconstituirse el tejido dañado lo más cerca posible del tejido original que consta de una serie de etapas con el fin de reparar la lesión. Ésta se lleva a cabo en tres fases (inflamatoria, proliferativa y de reparación) En diferentes ocasiones el tratamiento de las cicatrices tiene en mejorar el aspecto y la función, Algunos de los tratamientos como el uso de corticosteroides o colágeno y antimicrobianos, no obstante, también han causado diversos efectos adversos, por lo cual ha sido

necesario recurrir a otro tipo de terapias ⁸⁻¹⁰.

Existen personas que recurren a tratamientos alternativos con la finalidad de que se lleve adecuadamente la reparación de las heridas en las personas que lo requieren. Entre los tratamientos alternativos se encuentran: la bioingeniería de la piel, electro estimulación, hidroterapia, rayos láser, oxígeno hiperbárico, diodos de emisión de luz, y la medicina tradicional a través de plantas medicinales, entre otros, como el uso popular de aceites esenciales sobre heridas ¹⁰⁻¹¹.

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades. La mayoría de éstas presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a la presencia de más de un principio activo. Estos últimos corresponden a compuestos químicos propios de la planta, que están sometidos a variables físicas, tales como humedad del suelo, condiciones de luz, temperatura y otros ¹¹.

Origanum vulgare crece en Europa y fue introducida en el siglo XVI, procedente de Oriente Medio. Dentro de sus características botánicas, se encuentran los tallos que son muy ramificados, color rojizo, altura de 40cm; sus hojas del orégano se disponen de manera opuesta, forma oval y vellosidades por el envés, pequeñas entre 5 y 15mm; sus flores de color blanco, rosado o lila. Estas flores están agrupadas en una inflorescencia (conjunto de flores) apical (en la punta del tallo). Sus flores tienen un néctar muy dulce y aromático ¹²⁻¹⁴.

Origanum vulgare ha demostrado contener diversos compuestos químicos como el timol, carvacrol, terpineno, linalol y cimeno; teniendo usos medicinales, culinarios y cosméticos, además de poseer actividad analgésica, antiinflamatoria,

antihipertensiva, antimicrobiano, repelente, antimalaria, antiespasmódico y linimentos antirreumáticos utilizados para la ciática y la artritis; y pomadas contra la dermatitis. Además, se utiliza tradicionalmente como antiséptico y cicatrizante¹⁵.

Un estudio realizado en Lima por Alva A, Bonilla P, Arroyo J. el año 2009, el cual tuvo como objetivo: evaluar la actividad cicatrizante del aceite esencial de *Schinus molle* L. “molle” a diferentes concentraciones, en comparación con un producto comercial. Se encontró que el aceite esencial del *Schinus molle* L. “molle”, constituido principalmente por monoterpenos y sesquiterpenos, en pomada y teniendo como base vaselina sólida, tuvo como resultado: posee propiedades cicatrizantes frente a heridas infectadas en ganado vacuno las que sanaban de manera apropiada; así mismo, los experimentos llevados a cabo en ratones de cepa Balb/c, corroboraron la experiencia mencionada, siendo la concentración al 2% la que presentó mayor poder cicatrizante frente a la pododermatitis y mastitis subclínicas¹⁶.

Otro estudio realizado en Chile por López C, en el año 2002, El cual tuvo el objetivo elaborar una crema a partir de aceite de la nuez pecana (que contiene omegas 3 y 6), para contrarrestar los daños cutáneos. El aceite se obtuvo por extracción con un disolvente orgánico, se le determinó su acidez y densidad. Se elaboraron 4 formulaciones diferentes de crema las cuales se probaron y se elaboró la que mejor generó resultados a partir de una encuesta realizada. De las formulaciones realizadas las mejores fueron la exfoliante y la humectante y protectora¹⁷.

Otro estudio realizado en Perú por Yaringaño J. en el año 2015, el cual tuvo como objetivo principal formular una crema dermocosmética a base de *Mauritia flexuosa* L. y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* y comprobar su efecto regenerador en piel lesionada de ratones *Mus musculus* Balb/c. Se evaluaron las características fisicoquímicas del aceite de aguaje y la oleorresina de copaiba. Posteriormente se diseñaron tres formulaciones: crema a base de aceite de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje”, crema a base de oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba”. Se emplearon ratones *Mus musculus* Balb/c de 33 ± 2.7 g de peso y como tratamientos las cremas dermocosméticas a base de aguaje al 8%, copaiba al 10% y una mezcla de ambas a las mismas concentraciones mencionadas, comparando los resultados con el grupo control (sin tratamiento) y con el grupo tratado con una crema comercial Cicalfate. Se obtuvo mayor efecto regenerador de la piel lesionada con la crema dermocosmética a base de aguaje y copaiba comprobada por presentar mayor porcentaje de cicatrización 57.4%, el cual se corroboró mediante el estudio histológico de la piel regenerada ¹⁸.

Otro estudio realizado en Perú por Paco K, Ponce L, López M. el año 2016, el cual tuvo como objetivo evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroetanólico de *Piper aduncum*, en una línea celular de fibroblastos dermales de humanos (hDFa). El extracto se obtuvo mediante extracción sólido-líquido, fue concentrado y liofilizado. Se purificaron las proteínas del extracto mediante cromatografía líquida de alta eficacia de fase reversa (RP-HPLC); las proteínas fueron identificadas por espectrometría de masas en tándem de péptidos trópticos y se analizaron por MALDI-TOF-TOF en un espectrómetro de masa ABSciex4800. Los valores de concentración efectiva media (EC₅₀), concentración inhibitoria media (IC₅₀), y el

porcentaje de proliferación celular; fueron determinados por ensayos con sales de tetrazolio (MTT). Se analizó la expresión de factores de crecimiento mediante el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa a tiempo real (RT- qPCR). El extracto hidroetanólico, de *Piper aduncum*, así como las proteínas que contiene, incrementaron la proliferación y migración de fibroblastos dermales humanos (hDFa); así mismo, aumentaron la expresión de factores de crecimiento que intervienen en el proceso de cicatrización ¹⁹.

PROBLEMA

¿Cuál es el efecto de una crema a base de aceite esencial *Origanum vulgare* sobre lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Balb/c*?

HIPÓTESIS

La crema a base de aceite esencial *Origanum vulgare* posee efecto cicatrizante sobre lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Balb/c*

OBJETIVOS

➤ OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto cicatrizante de una crema a base de aceite esencial *Origanum vulgare* sobre lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus* Balb/c.

➤ OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las características fisicoquímicas del aceite esencial de *Origanum vulgare*.
- Formular las cremas dermocosméticas a base del aceite esencial de *Origanum vulgare*.
- Realizar el control de calidad de las cremas a base del aceite esencial de *Origanum vulgare*.
- Evaluar y comparar el efecto en *Mus musculus* Balb/c de las cremas dermocosméticas a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* a diferentes dosis.

II. MATERIAL Y MÉTODO

2.1. Materiales

2.1.1 Material Botánico

Se recolecto 6 kg de hojas de *Origanum vulgare* “Orégano” de San Ignacio, Distrito de Sinsicap, Provincia de Otuzco, Región La Libertad.

2.1.2 Material Biológico

25 especímenes *Mus musculus Balb/c*, adultos, machos o hembras, seleccionados al azar, con pesos promedio de 30-35 g y de 2 meses de edad, aparentemente sanos; adquiridos en el Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud. Los especímenes se acondicionaron durante la experimentación en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo y alimentados con dieta estándar y agua ad libitum. (ANEXO 1)

2.1.3 Materiales de Laboratorio

a) De vidrio:

- 10 Tubos de ensayo
- 03 Vasos de precipitación 150 mL
- 02 Varillas de vidrio
- 01 Probeta graduada 20 mL
- 03 Pipetas 10 mL, 5 mL, 1 mL

b) Equipos e instrumentos:

- Balanza analítica OHAUS GA-200
- Equipo de montaje por arrastre de vapor SCHOTT DURAN.
- Estereoscopio MOTIC MODELO SFC-12-N2TG
- Cocina eléctrica TRISTAR KP-6185

c) Material Químico:

- 8 L Agua destilada
- 1 L Solución Salina Fisiológica
- 1 L de Alcohol yodado 70%
- 1L Alcohol etílico 70%
- 1 L Formol 40%
- 5 mL Cloroformo
- 250 g Propilenglicol
- 50 g Cera lanette

d) Insumos médicos/cosmético

- Lidocaína 2% crema x 10 g
- crema cicatrizante x 100 g
- crema depilatoria x 60 g

e) Material estéril

- 25 Bisturís
- 100 Frascos estériles de boca ancha con tapa
- 02 Frascos de polietileno, boca ancha con tapa

- 02 Frascos estériles de vidrio, con tapa
- 01 Caja de guantes quirúrgicos estériles N° 7 ½
- 01 Caja de mascarillas
- 20 g Algodón hidrofílico
- 100 Hisopos estériles
- 01 Pinza de metal estéril
- 01 Estuche de disección

f) Productos de limpieza

- Detergente
- Escobilla
- Franela
- Jabón desinfectante

g) Material de protección

- Guardapolvo
- Guantes quirúrgicos
- Mascarilla
- Gorro quirúrgico
- Gafas de seguridad

2.2 Método

2.2.1 *Origanum vulgare* (Orégano)

2.2.1.1 Recolección de la muestra

Se recolectó 6 kg de la planta de *Origanum vulgare* “Orégano” de San Ignacio, Distrito de Sinsicap, Provincia de Otuzco, Región La Libertad.

2.2.1.2 Identificación y determinación taxonómica de la especie

Un ejemplar completo de la planta *Origanum vulgare* (Orégano) se llevó al *Herbarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y verificación taxonómica según el sistema filogenético de la especie con código.59403 (ANEXO 2)

2.2.1.3 Preparación de la muestra²⁰⁻²¹

- a) **Selección de la muestra:** El material recolectado fue transportado al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, donde se eliminó las sustancias extrañas presentes en el material vegetal. Asimismo, se seleccionó las hojas en buen estado, las cuales fueron utilizadas para obtener el aceite esencial.
- b) **Lavado:** Se realizó el lavado del material vegetal para eliminar impurezas.

- c) **Pesado:** Con ayuda de una balanza se pesó el contenido adecuado de hojas para la obtención de 10 ml de aceite esencial.

2.2.1.4 Obtención del aceite esencial ²⁰⁻²¹

- a) **Destilación:** En un balón se añadió 300 ml de agua el cual se expuso al fuego, éste hirvió y calentó el interior de otro balón que contiene la materia prima (hojas) de la que se extrajo el aceite esencial.

El vapor de agua atraviesa las hojas y enriquecido por ella permite subir, siendo obligado a seguir el recorrido de los conductos. En el vapor de agua van mezcladas partículas del aceite esencial.

Para lograr condensar el vapor, se le sometió a un proceso de disminución brusca de temperatura gracias a un refrigerante de agua fría conectado a un grifo externo. Poco a poco el vapor condensó y se obtuvo en un matraz.

- b) **Decantación:** El destilado obtenido se añadió a una pera de decantación, se dejó reposar hasta observar la separación del agua y del aceite. Como el aceite es menos denso que el agua, éste se encontró encima.

Básicamente, se eliminó el agua. Se procuró que el aceite esencial no tenga residuos de agua:

- c) **Conservación:** El volumen de aceite esencial obtenido se

guardó independientemente en un frasco de vidrio de color ámbar.

2.2.1.5 Determinación del rendimiento de aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano)²²

El aceite esencial fue extraído a partir de *Origanum vulgare* (Orégano) por el método de destilación por arrastre de vapor, se obtuvo un determinado volumen que fue medido mediante el método gravimetría-volumétrico, se determinó el porcentaje de rendimiento del aceite esencial (%RAE) aplicando la siguiente fórmula:

$$\%RAE = \frac{\text{Vol. AE (mL)}}{\text{Pmuestra (g)}} \times 100$$

Donde:

% RAE: Porcentaje del rendimiento del aceite esencial

Vol. AE: Volumen del aceite esencial obtenido en mililitros.

P_{muestra}: Peso de la muestra a destilar en gramos.

2.2.1.6 Determinaciones Físico-químicas²³⁻²⁵

a) Características organolépticas

Los caracteres organolépticos incluyen color, olor, sabor y textura.

✓ Color: Se añadió aceite esencial hasta las tres cuartas partes de

un tubo de ensayo, luego se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.

- ✓ Olor: Se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10cm de largo y se introdujo en la muestra. Luego se percibió el olor y se determinó si corresponde con la característica del producto.
- ✓ Sabor: Se tomó una pequeña alícuota y se probó.
- ✓ Textura: Se tomó una alícuota y se experimentó mediante el tacto.

b) Determinación de la densidad relativa

Se determinó la densidad por el método del picnómetro.

$$\rho = \left[\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \right] \rho_w$$

Donde:

m_0 = masa del picnómetro vacío

m_1 = masa del picnómetro con agua

m_2 = masa del picnómetro con el líquido a investigar

ρ_w = densidad del agua a la temperatura experimental

c) Determinación del índice de refracción

Se determinó con ayuda del Refractómetro de Abbe. Se colocó sobre el prisma de medición una gota de aceite esencial de *Origanum vulgare*, utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se cerró el termo prisma y se ajustó el equipo moviendo el compensador cromático colocando la

intersección del retículo entre la línea límite de los campos claro y oscuro.

d) Determinación del pH

Se determinó el pH de la muestra mediante tira reactiva de pH. Se introdujo en una muestra de aceite colocada previamente en un tubo de ensayo.

e) Solubilidad

Se colocó en 6 tubos 1 mL de aceite esencial y luego se agregó a cada tubo por separado 5mL de etanol 30%, 5mL de etanol 50%, 5mL de etanol 80%, 5 mL de etanol 96%, 5 mL éter de petróleo y 5 mL de cloroformo respectivamente. Luego se agitó cada tubo y se observó.

2.2.2 Preparación de las cremas

En un vaso de precipitación de 150 mL se preparó la mezcla de la cera lanette, vaselina líquida, ácido esteárico y alcohol cetílico a fuego lento. Se agitó hasta completa fundición de la cera. Se procedió a retirar del fuego la mezcla fundida y se sometió a una constante agitación.

En otro recipiente se mezcló metilparabeno propilparabeno, glicerina, y el aceite esencial de *Origanum vulgare* hasta su disolución, obteniendo cremas

El preparado anterior se vertió en el primer recipiente y se continuó agitando constantemente hasta enfriarse y formarse una pasta de aspecto homogéneo. Finalmente se envasó y rotuló, y se guardó a temperatura ambiente hasta su uso.

Los preparados galénicos se elaboraron en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, cumpliendo con las Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Galénicos y Recursos Terapéuticos Naturales ²⁶.

2.2.3 Control de Calidad de las cremas a base de Aceite Esencial de *Origanum vulgare* ²⁶.

Se realizó el control de calidad de todas las cremas preparadas a base de aceite esencial de *Origanum vulgare*, considerando los siguientes aspectos:

- Descripción de las características físicas
- Determinación de pH

2.2.4 Preparación de los animales de experimentación ²⁷⁻²⁸

Los animales se acondicionaron 24 horas previo a la inducción de las lesiones dérmicas se procedió a realizar la depilación de la zona dorsal de los especímenes, empleando crema depilatoria Depilex para piel sensible, se colocó la crema depilatoria por un periodo de 5 minutos y se retirará con ayuda de algodón. Este procedimiento se realizó un día antes para descartar la aparición de alguna reacción alérgica.

2.2.5 Inducción de lesiones dérmicas en los animales de experimentación ²⁸.

Modelo experimental: “Modelo *in vivo* de lesión inducida por incisión en *Mus musculus Bal/c*. Previo a la inducción de las lesiones se desinfecto la zona de trabajo con alcohol yodado y se aplicó anestésico en crema: Lidocaína al 2%, vía tópica. Se procedió a realizar el corte

perpendicularmente al eje longitudinal del ratón con bisturí, de aproximadamente 1 cm de largo por 2 mm de profundidad, cuya medición se realizó con ayuda de una regla.

2.2.6 Distribución de grupos experimentales y administración de tratamientos.

La distribución de los animales de experimentación se realizó en 5 grupos, siguiendo el criterio del azar:

- a) GRUPO CONTROL NEGATIVO: 5 especímenes de *Mus musculus Bal/c* a los que se les realizó las lesiones dérmicas y no se les aplicó ningún tratamiento.
- b) GRUPO CONTROL POSITIVO: 5 especímenes de *Mus musculus Bal/c* a los que se les realizó las lesiones dérmicas y se les administró la crema cicatrizante comercial a base de vitaminas A y D3, ácido bórico, óxido de zinc cloruro de benzalconio ; dos veces al día (8 a.m/8 p.m), durante 8 días. Se aplicó la crema con un hisopo en cantidad suficiente para cubrir la lesión dérmica.
- c) GRUPO PROBLEMA I: 5 especímenes de *Mus musculus Bal/c* a los que se les realizó las lesiones dérmicas y se le administró la crema A a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* dos veces al día (8 a.m/8 p.m), durante 8 días. Se aplicó la crema con un hisopo en cantidad suficiente para cubrir la lesión dérmica.
- d) GRUPO PROBLEMA II: 5 especímenes de *Mus musculus Bal/c* a los que se les realizó las lesiones dérmicas y se le administró la crema B a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* v/p dos veces al día (8 a.m/8 p.m), durante 8 días. Se aplicó la crema con un hisopo en cantidad suficiente para cubrir la lesión dérmica.

- e) GRUPO PROBLEMA III: 5 especímenes de *Mus musculus Bal/c* a los que se les realizó las lesiones dérmicas y se le administró la crema C a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* dos veces al día (8 a.m/8 p.m), durante 8 días. Se aplicó la crema con un hisopo en cantidad suficiente para cubrir la lesión dérmica.

2.2.7. Evaluación del efecto cicatrizante²⁷.

Se observó el tiempo de cicatrización de las heridas y se realizó los controles fotográficos respectivos durante todo el período experimental. Se tomaron diariamente las medidas de la longitud de las lesiones, haciendo uso de una regla milimetrada, obteniéndose un promedio de la longitud de las lesiones cada día durante el tiempo de experimentación.

2.2.8. Examen Histopatológico²⁸

Los animales fueron eutanasiados utilizando pentobarbital sódico 60 m/kg v.ip. Se obtuvieron muestras de piel realizando un corte de 1,5 cm de largo y 1 cm de ancho alrededor de la cicatriz. Estas muestras fueron conservadas en frascos estériles con formol diluido al 10% para su análisis histopatológico. Con estas muestras se realizaron las observaciones microscópicas teniendo en cuenta los parámetros como inflamación aguda y crónica, tejido de granulación, proliferación fibroblástica, glándulas sebáceas, etc y se evaluaron los diferentes tratamientos administrados para determinar el más efectivo.

2.2.9 Análisis estadístico

Se realizarán análisis estadístico se utilizará la técnica de análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente la prueba HSD de Tukey utilizando

Microsoft Excel 2016.

2.2.10. Aspectos éticos

En el trabajo de investigación se tuvo en cuenta las normas y procedimientos bioéticos para el manejo de animales de laboratorio establecidos internacionalmente y fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. (ANEXO 3)

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

III. RESULTADOS

Tabla 1. Determinación del rendimiento del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano)

Porcentaje de Rendimiento del aceite esencial (%RAE)	
Peso de muestra	6000 g.
Volumen de aceite esencial.	50 mL
% RAE	0.8%

Tabla 2. Características organolépticas del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano)

Características organolépticas	
Color	Amarillento
Olor	Aromático
Sabor	Amargo
Textura	Aceitoso

Tabla 3. Determinación de las características Físico- químicas del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano)

Características Físico químicas del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (Orégano)	
Densidad	0.92
pH	5
Índice de Refracción	1.47

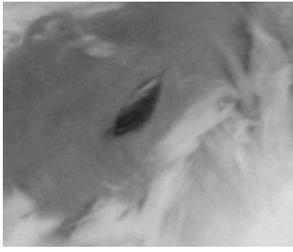
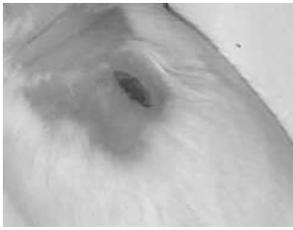
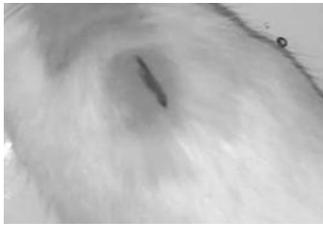
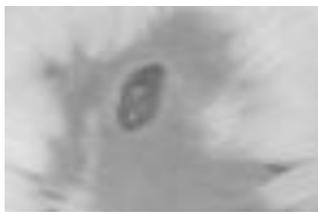
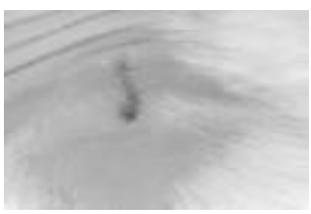
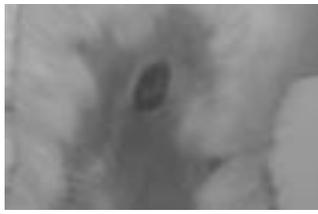
Tabla 4. Solubilidad de aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano)

Solubilidad	
Solución	Aspecto
Solubilidad alcohol 30%	Dos fases
Solubilidad alcohol 50%	Dos fases
Solubilidad alcohol 80%	Dos fases
Solubilidad alcohol 96%	Limpio
Éter de petróleo	Enturbimiento
Cloroformo	Enturbimiento

Tabla 5. Tamaño promedio de las lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Bal/c.* durante el tiempo de experimentación

GRUPOS	Tamaño promedio de lesiones dérmicas (cm)							
	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DIA 7	DIA 8
CONTROL NEGATIVO	1,00	1,00	1,00	1,00	0,95	0,90	0,58	0,40
CONTROL POSITIVO	1,00	0,95	0,94	0,93	0,85	0,55	0,58	0,53
PROBLEMA I (0,1%)	1,00	0,85	0,88	0,85	0,82	0,68	0,58	0,45
PROBLEMA II (0,5%)	1,00	0,93	0,93	0,83	0,82	0,70	0,60	0,41
PROBLEMA III (1%)	1,00	0,90	0,85	0,78	0,72	0,55	0,43	0,33

+Los valores expresan el promedio DSM de n=5 ratones; p<0.05

DIAS	CONTROL NEGATIVO	CONTROL POSITIVO	PROBLEMA I (0.1%)	PROBLEMA II (0.5%)	PROBLEMA III (1%)
1					
2					
3					
4					

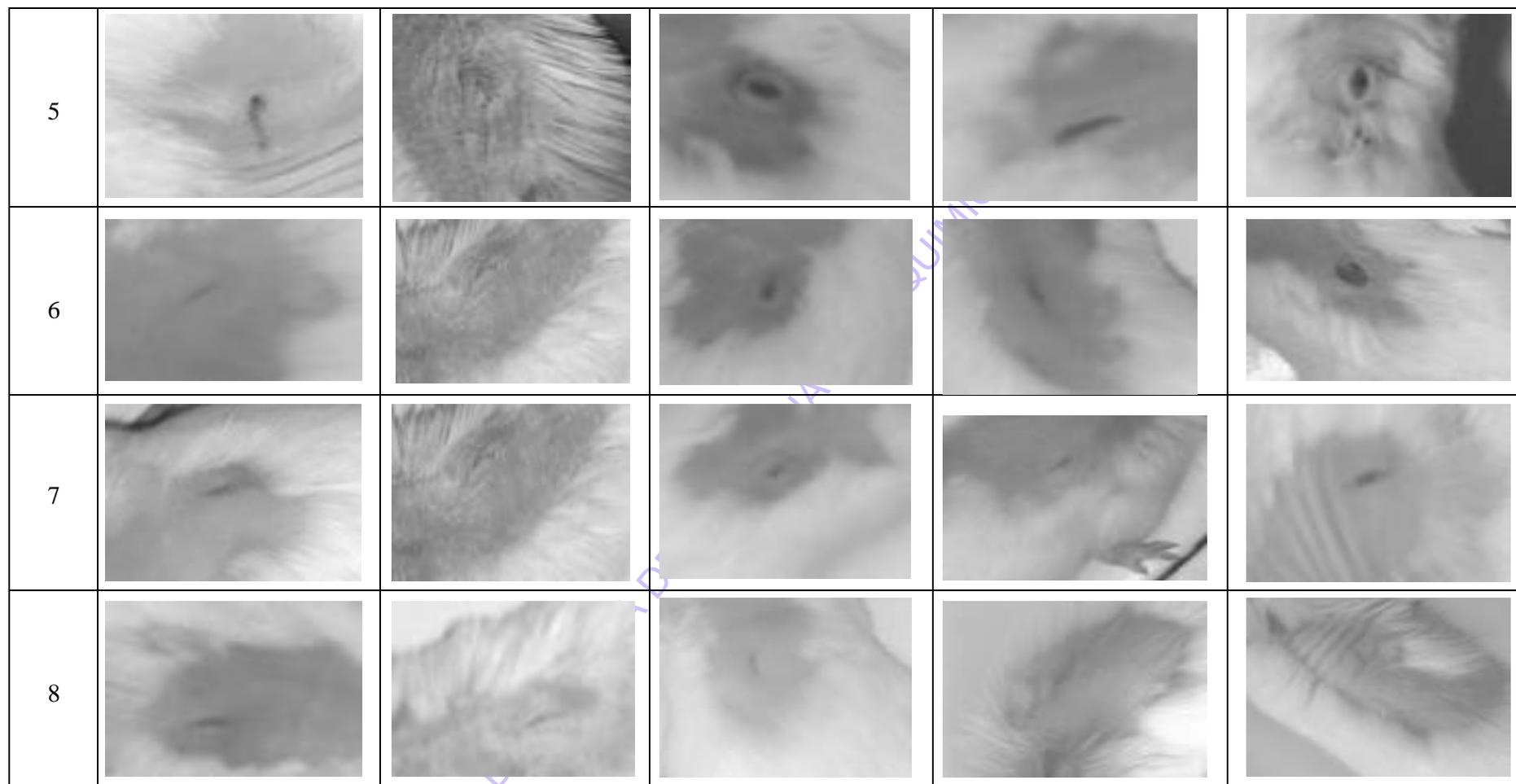


Figura 1. Evolución de las lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Bal/c*. durante el periodo experimental. Se seleccionó la mejor fotografía de cada grupo experimental por día.

Tabla 6. Variación del tamaño promedio de las lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Bal/c* durante los días de experimentación.

DÍAS	F	Probabilidad
DÍA 1	65535	2,8660
DÍA 2	3,3333	0,0302
DÍA 3	7,3571	0,0008
DÍA 4	9,2941	0,0002
DÍA 5	8,4285	0,0003
DÍA 6	15,8194	5,4880
DÍA 7	3,6875	0,0209
DÍA 8	3,7619	0,0193

Nivel de confianza de 95% y Nivel de significancia de 5% ($p < 0,05$).

Tabla 7. Variación Honestamente Significativa (prueba HSD de Tukey) de las lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Bal/c* a partir del segundo día de experimentación.

	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
Valor HSD	0,1036	0,1001	0,1103	0,1226	0,1227	0,1853	0,2123
Resultados	CN-PI	CN-PI	CN-PI	CN-PI	CN-PI	CN-PIII	CN-PIII
		CN-PII	CN-PII	CN-PII	CN-PII	CP-PIII	CP-PIII
		CN-PIII	CN-PIII	CN-PIII	CN-PIII	PI-PIII	PI-PIII
			CN-CP		CN-CP	PII-PIII	

Leyenda :

- CN : Control Negativo
- CP : Control Positivo
- PI : Problema I
- PII : Problema II
- PIII : Problema III

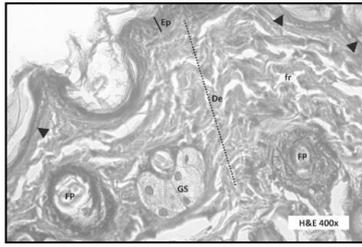


Figura 2. Corte Histopatológico de piel de *Mus musculus Bal/c*. Grupo Control Negativo.

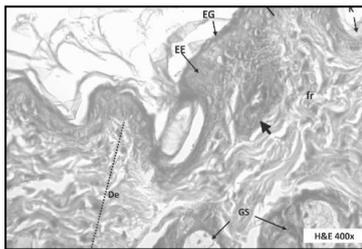


Figura 3. Corte Histopatológico de piel de *Mus musculus Bal/c*. Grupo Control Positivo.

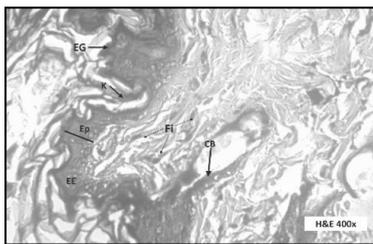


Figura 4. Corte Histopatológico de piel de *Mus musculus Bal/c*. Grupo Problema I

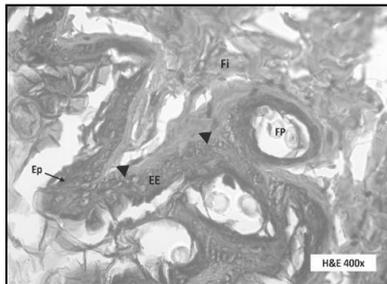


Figura 5. Corte Histopatológico de piel de *Mus musculus Bal/c*. Grupo Problema II

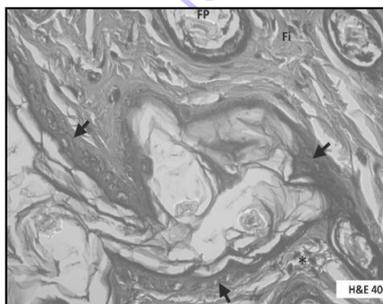


Figura 6. Corte Histopatológico de piel de *Mus musculus Bal/c*. Grupo Problema III

Tabla 8. Análisis de Control de Calidad de las cremas elaboradas a base de aceite esencial de *Origanum vulgare*

ENSAYO	CREMA 0,1 %	CREMA 0,5 %	CREMA 1 %
Características Físicas (Organolépticas)	Crema homogénea de color blanco, con olor característico.	Crema homogénea de color blanco, con olor característico.	Crema homogénea de color blanco, con olor característico.
pH	5	4	5

IV. DISCUSIÓN

El uso de plantas medicinales son una nueva alternativa en tratamientos farmacológicos, ya que contiene sustancias que van a potenciarse entre sí para obtener el efecto deseado. Estudios realizados sobre diversas plantas medicinales buscan explicar y dar a conocer sus propiedades antibacterianas y antifúngicas frente a diversos microorganismos patológicos. Desde antes, se desconocía los efectos beneficios del orégano en la salud, pero en los últimos años existe numerosas investigaciones de orégano y sus propiedades^{11,14}.

En la tabla 1, se muestra el rendimiento del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) el cual fue de 0.8%, este porcentaje es atribuido a un conjunto de factores climáticos, la altitud del lugar de cultivo, tipo de suelo, por la época de recolección y el método de extracción. Además indica que el porcentaje puede variar por el tiempo transcurrido entre la recolección y el proceso de extracción del aceite esencial. Según fichas técnicas, las estaciones de primavera y verano, son ideales para la recolección de la planta²⁴.

En la tabla 2, según las determinaciones organolépticas obtenidas del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), muestra un color característico amarillento. Un olor aromático; algunos autores lo describen como un olor fuerte picante. Además, tiene un sabor amargo y textura aceitosa característico de un aceite esencial²⁹.

En la tabla 3, según lo obtenido de las características físico-químicas del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), éste tiene una densidad de 0.92 g/ml, un índice de refracción de 1.47 y un pH 5.

De acuerdo a investigaciones anteriores, el valor del índice de refracción y densidad está relacionado con la presencia y cantidad de compuestos oxigenados aromáticos (fenoles) que presente la planta. Con respecto a la determinación del pH, los aceites esenciales de alta calidad presentan pH cercanos a 5 (máximo 5.8), los cuales se les caracteriza como aceites esenciales ácidos.³⁰

En la tabla 4, nos indica la solubilidad del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a compuestos que en la práctica normalmente se emplea como solventes orgánicos de alcohol etílico en diluciones comprendidas entre 30 y 96% y, solventes inorgánicos como éter de petróleo (bencina) y cloroformo.

Según lo indica, para solventes orgánicos la solubilidad será tanto mayor cuanto mayor sea la riqueza en componentes oxigenados. Por lo anterior se puede afirmar que el aceite esencial de orégano es prácticamente insoluble en alcohol etílico pero soluble en compuestos inorgánicos.³¹

En la tabla 5, se muestran las medidas promedio (en centímetros) de las lesiones dérmicas inducidas en los grupos de estudio. Se observa que en el grupo control negativo, la disminución de la longitud de las lesiones se presenta al quinto día (de 0.95 cm); en el grupo control positivo, la disminución de la longitud de las lesiones se presenta en el segundo día; en el problema I, II y III la disminución de la longitud de las lesiones se presenta al segundo día (de 0.85 a 0.95 cm). Al finalizar la experiencia (octavo día) las medidas de las lesiones fueron mucho menores para los grupos problema II y problema III (de 0,33 y 0,41 respectivamente) en comparación con el grupo control negativo (0,40 cm) y el grupo control positivo (0.53 cm).

En la Figura 1, se compara el tamaño de las lesiones en los grupos de estudio con respecto a los días de tratamiento, se puede afirmar que, al octavo día el menor tamaño de las lesiones se presentó en el grupo problema II y III tratados con crema a base de aceite

esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación con el grupo control negativo que no fue tratado con ningún tipo de crema y el control positivo que fue tratado con crema cicatrizante a base de vitaminas A y D3, ácido bórico, óxido de zinc cloruro de benzalconio.

Se puede visualizar en la Figura 2, de forma macroscópica, la evolución de las lesiones dérmicas durante los días tratamiento, observándose que al octavo día, en el grupo problema III el cierre completo de la herida mientras que en el grupo problema I y II es prácticamente completo, en comparación con el grupo control negativo que presenta heridas abierta aún al mismo día de finalizada la experiencia y el grupo control positivo muestra irritación y escaras. Se observa también una mejor apariencia de la piel en los grupos tratados con crema a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano).

El Análisis de Varianza (ANOVA) mostrada en la Tabla 6, demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa los días 2,3, 4, 5,7 y 8 en al menos un grupo de estudio, con 95% de confianza ($p < 0,05$); en contraste con los días: 1 y 6 de la experiencia. Cuando el valor de la probabilidad es menor al valor F, se dice que “por lo menos un grupo es distinto” pero no se sabe qué valor es distinto, en ese caso se hace el análisis de variación honestamente significativa (prueba HSD de Tukey), se muestran los grupos en los que hubo una diferencia honestamente significativa desde el segundo al octavo día en el que finalizó el tratamiento. En la Tabla 7, existe las diferencias entre grupos evaluados por día, si el valor absoluto de las diferencias es mayor a valor HSD, se dice que esos grupos son distintos. En la tabla nos muestra los resultados con valores distintos obtenidos, no se encontró diferencia significativa entre los grupos control negativo, positivo, problema I y problema II, pero si una diferencia marcada de todos estos grupos con el grupo Problema III. Lo que nos permite indicar que la crema a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* tiene efecto sobre las lesiones dérmicas.

El uso de *Origanum vulgare* (orégano). El aceite esencial ha llegado ser un productos de cuidado de la piel además de ser usado como una alternativa terapéutica buena y muchos de estos contribuyen al aporte científico. El *Origanum vulgare* (orégano) se ha utilizado como uso medicinales, culinarios y cosméticos, además de poseer actividad analgésica, antiinflamatoria, antihipertensiva, antimicrobiano, repelente, antimalárica, antiespasmódico y Además, se utiliza tradicionalmente como antiséptico y cicatrizante.³²

La composición química elemental del *Origanum vulgare* (Orégano), como en el resto de biomoléculas orgánicas. En los aceites esenciales se han logrado encontrado diferencias cuantitativamente significativas en sólo dos fenoles isoméricos, carvacrol (0.1-56.6%) o fenol no-cristalizable y timol (7.9-53.6%) o fenol cristalizable; incluyéndose sus precursores biosintéticos el γ -terpineno y el p-cimeno. Principalmente carvacrol y timol y en menor proporción se encuentran fenoles, pinemo y ciremo como también sesquiterpenos y alfa-thuyona, dipenteno, alfa-terpineno y otros.^{33,34}

Por lo tanto el componente principal y que se le atribuye al *Origanum vulgare* ante una cicatrización se deba a la acción carvacrol, en un modelo de la enfermedad de células de la piel humana. El aceite esencial que contenga este componente produce efectos antiproliferativos y significativamente inhibiendo varios en biomarcadores inflamatorios, incluyendo la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1), vascular molécula de adhesión celular 1 (VCAM-1), intracelular molécula de adhesión celular 1 (ICAM-1), proteína inducida por gamma-interferón 10 (IP-10), interferón-inducible de células T alfa quimioatrayente (I-TAC), y monoquina inducida por el interferón gamma (MIG) y también significativamente inhibida biomarcadores remodelación tisular, es decir, colágeno I, colágeno III, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), metaloproteinasas de matriz 1 (MMP-1), inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1), inhibidor tisular de metaloproteinasas (TIMP) 1 y 2. Un biomarcador

inmunomodulador, macrófagos, factor estimulante de colonias (M-CSF). Estos hallazgos, junto con los estudios existentes apoyan en gran parte el anti-inflamatorio, la remodelación de tejidos, inmunomodulador. En la cual este estudio proporciona la evidencia de la actividad biológica de aceite esencial en fibroblastos dérmicos humanos, Sugerimos que el aceite esencial, con carvacrol es un principal componente activo.^{35,37}

En la Figura 2 y 3, correspondiente a la observación microscópica del corte histopatológico de piel del grupo control negativo y el grupo control positivo se observa un proceso de curación de heridas (cicatrización) en las que se aprecia abundante actividad de fibroblastos para “rellenar la herida”

En la Figura 4 y 5, correspondiente a la observación microscópica del corte histopatológico de piel del grupo problema I y II se observa reepitelización reparativa, folículos pilosos, fibroblastos que permite la restitución dérmica progresiva durante el proceso cicatricial (curación de heridas), en la Figura 6 se observa la efectividad por la presencia de colágeno denso arremolinado y fibroblastos (Fi) en dirección horizontal a la dermis. Hallazgos que corresponden a la maduración para la reconstitución dérmica, atribuible el efecto en mayor concentración del aceite esencial de orégano.

En la Tabla 8, nos muestra el análisis de control de calidad de las cremas elaboradas a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano).

Por todo lo anteriormente expuesto se determina que las cremas formuladas a base de aceite esencial con un componente principal carvacrol del *Origanum vulgare* (Orégano) poseen efecto cicatrizante, promoviendo el proceso de cicatrización rápida de las heridas y por sus propiedades biológicas y farmacológicas, incluyendo antioxidantes, antibacterianos, antifúngicos, anticancerígenos, y las propiedades anti-inflamatorio; siendo la crema que presentó mayor efectividad, aquella elaborada a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) a mayor dosis. en comparación con una con

crema cicatrizante a base de vitaminas A y D3, ácido bórico, óxido de zinc cloruro de benzalconio.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

V. CONCLUSIONES

1. Las cremas a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) poseen efecto cicatrizante sobre lesiones dérmicas inducidas en *Mus musculus Bal/c* a las concentraciones de 0.1%, 0.5% y 1% V/P.
2. La crema a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) al 1 % V/P posee mayor efecto en el proceso de cicatrización.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Tribodeau G, Patton K. Anatomía y Fisiología. En:Diorki Servicios Integrales.Vol 2. 6a ed. España; 2009.p.1023-1032.
2. Gartner L, Hiatt J. Texto Atlas de Histología. Vol 1. 2a ed. México: McGraw-Hill; 2002.p.317-322.
3. Navarrete G. Histología de la piel. Vol 2. 4a ed. México: McGraw-Hill; 2003.p.130-132.
4. Sánchez I, Quesada A, Cedeño M.Lesiones elementales en dermatología. Rev méd de cos ric y cen amé [Internet].2010 [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/594/art4.pdf>.
5. Serna J, Vitales M, López M, Molina A. Dermatología. Artículo en línea. [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo2/CAP04.pdf>.
6. Saenz M. Manifestaciones cuataneas de las enfermedades sistémicas. Rev Med Clin [Internet].2010 [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: https://www.clinicalascondes.cl/Dev_CLC/media/Imagenes/PDF%20revista%20m%C3%A9dica/2011/6%20nov/5_Manifestaciones_cutaneas_de_las_enfermedades_sistemicas-8.pdf.
7. Velandia D. Evaluación de la actividad cicatrizante y caracterización fitoquímica de *Dracontium croatii*. Colombia 2009. Tesis para optar por el título de Magister en Ciencias Farmacéuticas. Artículo en línea. [Acceso: Marzo 2018].Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8469/1/192529.2009.pdf>.

8. Arenas J. Las heridas y su cicatrización. Rev Fac Med [Internet].2010 [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: [file:///D:/katy%20linda/TESIS/13047753_S300_es%20\(1\).pdf](file:///D:/katy%20linda/TESIS/13047753_S300_es%20(1).pdf).
9. Castillo Heridas métodos de tratamiento. Medisan [Internet].2010 [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol8_n1_04/san07104.htm.
10. Cabezas G. Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*). Tesis de grado previa a la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico. Ecuador. 2014. En línea. [Acceso: Marzo 2018].Disponible en: [http://dspace.esPOCH.edu.ec/browse?value=MASTUERZO+\(Tropaeolum+Majus\)&type=subject](http://dspace.esPOCH.edu.ec/browse?value=MASTUERZO+(Tropaeolum+Majus)&type=subject).
11. Mostacero J. Plantas medicinales del Perú: taxonomía, ecogeografía, fenología y etnobotánica.En: Asamblea Nacional de Rectores.Vol 1. 6a ed.Perú; 2011.p. 34-39.
12. Muñoz L. Plantas medicinales españolas: *origanum vulgare l. (Lamiaceae)* (Orégano). Vol 2.13a ed.España:McGraw-Hill;2002.p.273-279.
13. Aguilar X, Valle G, González G, Murillo B. Guía de cultivo de orégano.En: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. Instituto Politécnico Nacional No. 195 Col. Playa Palo de Santa Rita Sur. La Paz, Baja California Sur. Vol 1. 2a ed. México: McGraw-Hill; 2013.p.17-20.
14. Arango M. Plantas medicinales: botánica de interés médico.En:Nueva Granada. Biblioteca de Cultura.Vol 2. 9a ed.Colombia; 2001.p.252-261.

15. Arcila C, Loarca G, Lecona S, González E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. En: University of Illinois, Urbana-Champaign. Vol 1. 13a ed. New York: McGraw Hill; 2004. p. 123-141.
16. Alba A, Bonilla P, Arroyo J. Actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *schinus molle l.* “molle” en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones. An Fac Med. [Internet]. 2014 [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/viewFile/3384/4505>.
17. López C. Elaboración de una crema cutánea suavizante con aceite de nuez. [Internet]. 2004 [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: http://www.feriadelasciencias.unam.mx/antecedentes/feria20/feria204_01_elaboracion_de_una_crema_cutanea_suavizante_con_ac.pdf.
18. Yaringaño J. Formulación de una crema dermocosmética a base de *Mauritia flexuosa L. f.* y *Copaifera reticulata var. Peruviana* con efecto regenerador de la piel lesionada en ratones *Mus musculus Balb/c*. Perú. 2015. Artículo en línea. [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/4454/Yaringa%C3%B1o_mj.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
19. Paco K, Ponce L, López M. Determinación del efecto cicatrizante de *Piper aduncum* (matico) en fibroblastos humanos. Perú. 2016. Artículo en línea. [Acceso: Agosto 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/308036401_Determinacion_del_efecto_cicatrizante_de_Piper_aduncum_Matico_en_fibroblastos_humanos.
20. Armijo C. Modelamiento y simulación del proceso de extracción de aceites esenciales mediante la destilación por arrastre con vapor. Revista Peruana de

- Química e Ingeniería Química. Perú 2016. Artículo en línea. [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4967/4035>.
21. Cerutti M, Neumayer F. Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. Artículo en línea. [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/877/87701214.pdf>.
22. Bocún B, Zari G, Ruiz S, Soto M, Venegas E, Cuéllar A, Medina L. Guía de Prácticas Asignatura de Farmacognosia. Universidad Nacional de Trujillo. 2017.
23. Marca M. Actividad antimicótica “*in vitro*” del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” frente a *Candida albicans* ATCC 6538. 2012. Artículo en línea. [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: http://200.37.105.196:8080/bitstream/handle/unjbg/202/87_2013_Marca_Cuello_MR_FACS_Farmacia_y_Bioquimica_2013.pdf?sequence=1
24. Acevedo D, Navarro M, Monroy L. Composición Química del Aceite Esencial de Hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). Inf. tecnol. [Internet] 2013 [Acceso: Febrero 2018]. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071807642013000400005&lng=es&nrm=iso.
25. Paz M. Uso Industrial de plantas aromáticas y medicinales: análisis químico de plantas aromáticas y medicinales. España. 2009. Artículo en línea. [Acceso: Marzo 2018]. Disponible en: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>.

26. Ministerio de Salud. Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Galénicos y Recursos Terapéuticos Naturales. 2010. Lima-Perú.
27. Guillermo F, Bonilla P, Arroyo J. Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *Peperomias cutellaefolia* R. et P. en geles aplicados a *Rattus norvegicus*. Folia dermatol. Perú 2005; 16 (1): 15-22.
28. González R. Modelos experimentales para la evaluación de la acción cicatrizante de medicamentos. Rev Cubana de Farm 2002; 36(3):189-96.
29. Villavicencio G, Astelu J. Efecto Antimicótico *in vitro* de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*. Odontología Sanmarquina. [Internet]. 2016 [Acceso: Febrero 2018]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/12907>.
30. Albado P, Saez E, Flores G. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Rev Med Hered [Internet] 2001. [Acceso: Febrero 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2001000100004&lng=es.
31. Namuche J, Valdiviezo J. Características fisicoquímicas y porcentaje relativo de los componentes hidrocarbonados y oxigenados del aceite esencial de las hojas de *Lantana camara* L. “Santa María”. [Tesis] Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5851/Namuche%20Machco%20Juan%20Carlos%202017.pdf?sequence=1>
32. Linares N. Plantas Medicinales. Taller la Farmacia de la Naturaleza. Madrid.2013. [Acceso: Agosto 2018]. Disponible en:

http://www.fademur.es/_documentos/ponencias/Ponencia_Fademur_farmacia_OK.pdf

33. Arcila C, Loarca G, González E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. PROPAC (Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República), Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.Mexico. 2015. Artículo en línea. [Acceso: Agosto 2018]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/262442668_El_oregano_propiedades_composicion_y_actividad_biologica_de_sus_componentes
34. Tellez L. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna. En: Universidad Nacional Agraria La Molina. Vol 2. 2a ed.Perú;2017.p.195-2005.
35. Cebrián J. Diccionario Integral de Plantas Medicinales.Barcelona. 2002;23(1):1-5.
36. Cameroni G. Ficha técnica Orégano "Origanum vulgare". Argentina. 2013. Artículo en línea. [Acceso: Agosto 2018].Disponible en:
http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/aromaticas/productos/Oregano_2013_03Mar.pdf.
37. Tory L, Han X. Anti-inflamatorio, la remodelación de tejidos, inmunomoduladores, antineoplásicos y actividades de orégano (*Origanum vulgare*) aceite esencial en una piel humana. EE.UU.2017. Artículo en línea. [Acceso: Agosto 2018]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5801825/>.pdf.