

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS AMÉRICAS

CARRERA DE FARMACIA

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DE UNA PREFORMULACIÓN DE
FITOFÁRMACO (PARA LA PIEL) A PARTIR DE ACEITE
ESENCIAL DE LAS HOJAS FRESCAS DE ORÉGANO
(*ORIGANUM VULGARE*) Y HOJAS SECAS DE ORÉGANO
(*ORIGANUM VULGARE*) PARA EL TRATAMIENTO CONTRA
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

EILEEN MARIELA ARCE GONZÁLEZ

SAN JOSÉ, COSTA RICA, NOVIEMBRE 2021

CONTENIDO

<i>Índice de Figuras</i>	5
<i>Resumen</i>	10
<i>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</i>	11
<i>Planteamiento Del Problema</i>	11
<i>Objetivos</i>	12
Objetivo General	12
Objetivos Específicos	12
<i>Justificación</i>	13
<i>Antecedentes</i>	15
Antecedentes Internacionales.....	15
Nacionales	17
<i>Proyecciones</i>	18
<i>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</i>	18
<i>Generalidades de la Piel</i>	18
Anatomía de la Piel.....	18
Epidermis.....	19
Dermis.	20
Hipodermis.	22
Anexos de la piel.....	23
Fisiología de la piel.	25
<i>Staphylococcus aureus</i>	26
Características microbiológicas.	27
Identificación.....	28
<i>Infecciones en la Piel</i>	30
Resistencia a Penicilina	31

Resistencia a Meticilina	31
Microorganismo de Prueba.....	33
Prueba de eficacia antimicrobiana.	33
Plantas Medicinales	35
Tratamientos Alternativos basados en Medicina Natural	36
Origen de la medicina natural.	36
Ventajas y desventajas de la medicina natural.	37
Fitofármaco.	38
Excipiente según Handbook.....	41
Orégano	42
Características del orégano.	42
Descripción taxonómica de <i>Origanum vulgare</i>	42
Partes por utilizar del <i>Origanum vulgare</i>	43
Composición Química	45
El aceite esencial de orégano y su uso como fitofármaco.....	45
Componentes del aceite esencial de orégano.....	46
Método para la extracción de aceites esenciales.....	61
Formas farmacéuticas semisólidas de aplicación tópica.	62
Caracterización química.	68
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	71
Diseño de la Investigación	72
Preparación de las muestras.....	76
Procedimiento para la Obtención de los Extractos de las Drogas Vegetales por Utilizar	79
Procedimiento para la caracterización química.....	88
Cromatografía de gases acoplado a masas (GCMS).	88

<i>Procedimientos para elaboración de fitomedicamentos de uso tópico:.....</i>	<i>89</i>
<i>Análisis Microbiológico</i>	<i>91</i>
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	91
<i>Determinación de la actividad antimicrobiana de las pre- formulaciones con el aceite esencial como principio activo mediante pruebas de sensibilidad por discos.</i>	<i>124</i>
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	129
REFERENCIAS	133

Índice de Figuras

Figura 1. Epitelio Anatomía	;Error! Marcador no definido.18
Figura 2 Componentes de la piel	;Error! Marcador no definido.23
Figura 3 Glándula Sebácea	;Error! Marcador no definido.25
Figura 4 Staphylococcus Aureus	;Error! Marcador no definido.30
Figura 5 Impétigo Causado por S.Aureus	;Error! Marcador no definido.32
Figura 6 Composición química de Oreganum Vulgare por CG-MS;	;Error! Marcador no definido.51
Figura 7 Estructuras Compuestos AEO.....	;Error! Marcador no definido.53
Figura 8 Estructura Química Timol.....	;Error! Marcador no definido.54
Figura 9 Espectro IR del Timol	;Error! Marcador no definido.56
Figura 10 NMR Timol.....	;Error! Marcador no definido.57
Figura 11. Estructura química Carvacrol.....	;Error! Marcador no definido.58
Figura 12. Masa Molecular Carvacrol.....	;Error! Marcador no definido.60
Figura 13. IR Carvacrol	;Error! Marcador no definido.61
Figura 14. NMR Carvacrol.....	;Error! Marcador no definido.62
Figura 15. Horno Utilizado para el secado de Hojas de Orégano.;	;Error! Marcador no definido.82
Figura 16. Hojas Frescas de Orégano.....	;Error! Marcador no definido.83
Figura 17. Hojas Secas de Orégano.....	;Error! Marcador no definido.84
Figura 18. Hojas Frescas de Orégano	;Error! Marcador no definido.85
Figura 19. Hojas Secas Orégano.	;Error! Marcador no definido.86
Figura 20. Peso de muestra Orégano Hojas Secas.	;Error! Marcador no definido.88
Figura 21. Peso muestra Orégano Fresco.....	;Error! Marcador no definido.89
Figura 22. Método Arrastre por Vapor.....	;Error! Marcador no definido.90
Figura 23. Hidrolato Obtenido.	;Error! Marcador no definido.91
Figura 24. Rotavapor	;Error! Marcador no definido.92
Figura 25. Equipo Arrastre de Vapor	;Error! Marcador no definido.100
Figura 26 Hidrolato	;Error! Marcador no definido.101
Figura 27. Filtración con Sulfato Anhídrico.....	;Error! Marcador no definido.102

Figura 28 Sistema de destilación al vacío con Rotavapor para concentrar los extractos.	¡Error! Marcador no definido.103
Figura 29. Aceites Esenciales.....	¡Error! Marcador no definido.105
Figura 30. pH Aceite Orégano Fresco.....	¡Error! Marcador no definido.107
Figura 31. pH Aceite Orégano Seco.....	¡Error! Marcador no definido.108
Figura 32. Identificados por GS-MS en muestras de aceite esencial seco y fresco de Orégano	¡Error! Marcador no definido.109
Figura 33. Identificados por GS-MS en muestras de aceite esencial seco y fresco de Orégano.	¡Error! Marcador no definido.110
Figura 34 GC/MS Aceite esencial Hojas Frescas.....	¡Error! Marcador no definido.111
Figura 35. GC/MS Aceite esencial hojas secas.	¡Error! Marcador no definido.112
Figura 36.IR Patrón Aceite Esencia Oregano.....	¡Error! Marcador no definido.114
Figura 37. IR Aceite Esencial Orégano Seco	¡Error! Marcador no definido.115
Figura 38 Aceite esencial Orégano Fresco	¡Error! Marcador no definido.115
Figura 39 IR Carvacrol Patrón	¡Error! Marcador no definido.118
Figura 40. Diagrama de flujo de las formulaciones. ...	¡Error! Marcador no definido.121
Figura 41. Crema.....	¡Error! Marcador no definido.123
Figura 42. Ungüento.....	¡Error! Marcador no definido.125
Figura 43 Cepa Staphylococcus aureus.....	¡Error! Marcador no definido.126
Figura 44. Cámara de Flujo Laminar	¡Error! Marcador no definido.127
Figura 45. Inoculación de la Placa con S Aureus	¡Error! Marcador no definido.128
Figura 46. Blancos Negativos y Blanco Positivo	¡Error! Marcador no definido.131
Figura 47. Crema y Ungüento 60%	¡Error! Marcador no definido.131
Figura 48. Pre formulaciones.	¡Error! Marcador no definido.138

Índice de Tablas

Tabla 1	27
Tabla 2	33
Tabla 3	3334
Tabla 4	34
Tabla 5	43
Tabla 6	4344
Tabla 7	4948
Tabla 8	5150
Tabla 9	54
Tabla 10	6463
Tabla 11	6564
Tabla 12	6765
Tabla 13	7068
Tabla 14	7371
Tabla 15	8986
Tabla 16	9087
<i>Tabla 17</i>	11789
<i>Tabla 18</i>	6689
Tabla 19	9495
<i>Tabla 20</i>	106105
<i>Tabla 21</i>	109108
Tabla 22	114120
<i>Tabla 23</i>	114120
Tabla 24	115121
Tabla 25	116122
Tabla 26	116122
Tabla 27	118123
<i>Tabla 28</i>	120125

Agradecimientos

Primeramente, a Dios que me dio las fuerzas para llegar a este momento.

A mi tutor Javier Alpízar Cordero por transmitirme sus conocimientos, por darle sentido a este proyecto de investigación, el proceso no fue sencillo, sin embargo, admiro todo el tiempo y dedicación para trabajar en ello, por ser siempre tan exigente y claro con cada paso, de no ser por su persona esto no hubiese sido posible

Dedicatoria

A mi hija que no hubo mayor motor y mayor motivación para haber logrado esta meta en mi vida.

A mis papas Guillermo Arce Benavides y Carmen González Jarquín por ser no solo mis papas sino ser mi apoyo y los otros papas de Jimena que siempre estuvieron presentes para yo lograr este título

A la tía Vivi por ser la tía.

A mi persona, mi mejor amigo y mi novio porque juntos nos desvelamos, estudiamos, sufrimos, pero lo logramos.

Son mis personas y los amo inmensamente.

Resumen

La investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia antimicrobiana *in vitro* del fitofármaco elaborado con aceites esenciales de hojas secas y frescas del orégano, con base en calidad por diseño, como una posible alternativa terapéutica e innovadora frente a la bacteria *Staphylococcus Aureus* ST2341563, comprobando su actividad antimicrobiana utilizando agar de manitol sal para así determinar su CMI (concentración mínima inhibitoria). El método empleado para la obtención de los aceites esenciales presentes en las hojas de *Origanum vulgare* fue de arrastre de vapor manteniendo una temperatura constante donde la temperatura de referencia era el punto de ebullición del agua solvente empleado en la extracción, obteniendo un volumen final del aceite esencial de *Origanum vulgare* tanto para las hojas secas como para las hojas frescas.

Se realizó el proceso de identificación de las sustancias activas del orégano, para ello se empleó cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas, se identificó como componente principal principal el carvacrol con 82.04%, seguido de p-cimeno 4.71%, thymol 4.41%, 1.8 Cineole 2.63%, β -pinene, α -pinene; α -terpinene, β -myrene, 4-terpineol en pequeñas cantidades. El Carvacrol le otorga al orégano múltiples propiedades antioxidantes, microbiológicas y conservantes de alimentos, además de potenciales aplicaciones en perfumería y cosmética.

Gracias a los resultados obtenidos por el infrarrojo comparado con el patrón del aceite esencial del orégano se concluyó que tanto las hojas secas como frescas van a presentar una similitud.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Planteamiento Del Problema

Lozano y López (2013) en su artículo Interacción sinérgica de propóleo (*Propolis*) y orégano (*Lippia graveolens Kunth s.l.*) contra *Staphylococcus aureus* mencionan que, en la actualidad, junto con el desarrollo de nuevos antibióticos, se ha estado retomando la medicina natural tradicional como una alternativa de combate. Una opción promisoría para combatir cepas resistentes puede ser el uso de propóleo y orégano. Se ha definido el orégano como una combinación de diversas sustancias que contienen bálsamos, aceites etéreos, polen, vitaminas, entre otros, y que confieren propiedades antifúngicas, antibacterianas y antiinflamatorias.

Comentado [AAW1]: al

Medina y Machado (2015) señalan que, en los últimos años, el uso de antibióticos se ha considerado como una de las principales herramientas terapéuticas con la que cuenta el personal de salud para combatir las enfermedades infecciosas que atacan a la población mundial. Su gran ayuda es indiscutible, sin embargo, los microorganismos causantes de estas infecciones han desarrollado resistencia a estos medicamentos, lo que se traduce en una de las mayores amenazas para la salud humana.

Comentado [AAW2]: ;

En Alemania en el 2005 se realiza una investigación, elaborada por Mavor, Thewes y Hube en la cual indican que especialmente la especie de *Staphylococcus aureus* es de gran amenaza para los pacientes inmunosuprimidos ya que al ser una bacteria oportunista puede causar infecciones en las mucosas y la piel. Como principal conclusión se destaca la gran importancia que presenta el *Staphylococcus aureus* en la salud de las personas y el gran número de infecciones que causa, por esto los autores pretenden utilizar la tecnología para desarrollar nuevos y mejores medicamentos para tratar esta infección.

Comentado [AAW3]: realizó

Por esta razón se decide enfocar la investigación en la búsqueda de nuevos tratamientos, y de esta forma diversificar los encontrados en el mercado para tratar dicha bacteria en procura de innovar cada vez en el ámbito de la farmacología y de esta manera crear medicamentos con nuevas tecnologías o procedentes de materias primas encontradas en la naturaleza, las cuales son sometidas a diversos procedimientos y métodos para obtener las sustancias que se necesitan.

Comentado [AAW4]: Colocar al menos un punto y seguido por párrafo

Lo anterior debido a que el *Staphylococcus aureus* es el mayor patógeno humano causante de infecciones en la piel, tejidos, neumonía, septicemia e infecciones por dispositivos asociados. Las diferentes cepas resistentes a metilina y otros agentes antibacteriales han llegado a ser una

Comentado [AAW5]: Revisar redacción no brinda mucha claridad acá

preocupación mayor especialmente en el ambiente hospitalario, por la alta mortalidad debido a las infecciones sistémicas ocasionadas por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (Kayser, 2016).

La importancia de la elaboración de nuevos productos naturales se vuelve cada vez más valiosa y de interés para las entidades farmacéuticas, ya que este tema no solo es de interés nacional, sino mundial, en especial la utilización de fuentes naturales debido a que pueden ser utilizados como alternativa o bien coadyuvantes menos invasivos si se comparan con los medicamentos convencionales actuales, por lo que se plantea la siguiente pregunta:

¿Existe realmente un efecto antibacteriano de *Origanum vulgare* sobre el *Staphylococcus aureus*?

Comentado [AAW6]: Al menos un punto y seguido

Objetivos

Objetivo General

-Desarrollar un diseño de fitomedicamento a partir del aceite esencial de orégano de hojas secas y hojas frescas para evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* para tratar el *Staphylococcus aureus*.

Objetivos Específicos

-Extraer el aceite esencial de las hojas secas del *Origanum vulgare* (orégano) y hojas frescas del *Origanum vulgare* (orégano) de las partes aéreas de esta planta, utilizando agua como disolvente mediante la técnica de arrastre con vapor.

- Identificar las concentraciones y principales compuestos químicos del aceite esencial del orégano, mediante cromatografía de gases acoplado a masas (GCMS) y espectroscopía infrarroja.

- Diseñar formulaciones de fitomedicamento de uso tópico a diferente concentración para determinar cuál es la mejor para el tratamiento del *S. aureus* bajo la filosofía de calidad por diseño a partir de los extractos obtenidos.

- Analizar la calidad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus*, por medio del método de medición de los halos de inhibición

Justificación

Es de gran importancia poder realizar la presente investigación, ya que con esto se pretende afirmar la actividad antibacteriana y eficacia de las plantas medicinales sobre los problemas de resistencia farmacológica que presenta la bacteria *Staphylococcus aureus* frente a los otros medicamentos actuales que están al alcance de la población para tratarla y así tener otra opción más accesible.

En la investigación de Bahl *et al.* (2014) realizada para evaluar la participación en las infecciones odontológicas se logró aislar diferentes bacterias aeróbicas, tales como estafilococos, *Streptococcus viridans*, especies de *Corynebacterium* y *Pseudomona aeruginosa*, así como *Staphylococcus aureus* con presencia del 20%, siendo esta una bacteria comensal y un patógeno humano, aproximadamente el 30% de la población está colonizada por *S. aureus*. Al mismo tiempo es una de las principales causas de bacteremia y endocarditis infecciosa, así como de infecciones osteoarticulares, de piel y tejidos blandos.

Las bacterias son agentes infecciosos que en su gran mayoría generan daño en la salud pública. Esto ha revolucionado la síntesis química de antimicrobianos, sin embargo, la mayoría de este grupo de medicamentos está generando resistencia microbiana. Por ello esta investigación pretende demostrar la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* del aceite esencial de *Origanum vulgare* porque esta especie vegetal tiene un amplio uso medicinal. Los resultados permitirán disponer de alternativas en cuanto al uso de productos naturales para el desarrollo de nuevos productos que puedan prevenir, aliviar o curar infecciones de tipo bacteriano.

Con dicha investigación la principal relevancia social es que se pretende dar un aporte al campo farmacéutico del país, demostrando la eficacia que presenta el aceite esencial de orégano sobre el *Staphylococcus aureus* y con esto poder desarrollar una propuesta de fitomedicamento que ayude en el tratamiento para la piel, donde se beneficiarán los pacientes a los que el tratamiento tradicional no les ha hecho el efecto esperado principalmente por la presencia de alguna resistencia a los medicamentos.

En el 2018, la Organización Mundial de la Salud señaló que una de las mayores amenazas a las que se enfrenta el mundo tanto en los países de ingresos altos como en los ingresos bajos es la alta resistencia que han desarrollado ciertos microorganismos a los antibióticos. Algo preocupante es que existen menos medicamentos antimicrobianos en fases de investigación, lo que

demuestra que por un largo periodo no existirán nuevas alternativas para tratar dichas infecciones, esto deja como consecuencia incremento en costos médicos y sobrepoblación en hospitales ya que aumenta la mortalidad.

Sin embargo, Maguna, y Romero (2006) mencionan que el uso de las plantas con fines terapéuticos en la medicina tradicional es un aporte fundamental, debido a que existe una amplia variedad de sustancias químicas vegetales que poseen una gran acción farmacológica. Si se lleva una investigación un poco más profunda, en las propiedades de las plantas se pueden encontrar nuevos agentes activos. Dentro de las áreas en las que se han hecho investigaciones se encuentra la evaluación de la actividad biológica, esta puede variar desde la inhibición completa o parcial del crecimiento microbiano hasta tener un efecto bactericida.

Según Gutiérrez y Busatta (2018), los aceites esenciales han sido una alternativa muy importante para la preservación de alimentos. La actividad antimicrobiana de algunos aceites ha sido estudiada *in vitro*, sin embargo, el uso de aceites esenciales para inhibir el crecimiento microbiano en alimentos ha sido menos estudiado. Esto se debe principalmente al impacto sensorial de los aceites esenciales, que requieren compatibilidad, además se ha observado una variabilidad en la composición, lo que demuestra su potencial antimicrobiano. Es una manera difícil de garantizar una actividad antimicrobiana constante.

La Organización Mundial de la Salud, en el 2018, publicó un artículo donde menciona que las principales bacterias resistentes más frecuentes eran *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, y *Salmonella*. Se conoce la resistencia bacteriana como un fenómeno que va en aumento. El uso inadecuado de los antimicrobianos ha provocado que la mayoría ya no sea eficaz para tratar algunas infecciones, como es el caso de neumonía, tuberculosis, infecciones urinarias, salmonelosis, cuyo tratamiento es un poco complicado de asignar debido a que la mayoría de los medicamentos que se utilizan para contrarrestarlas presentan resistencia.

El estudio planteado es de alta significancia en diversos aspectos, desde el punto de vista teórico complementa e incrementa los conocimientos previos acerca del empleo del orégano como agente antimicrobiano natural; desde el punto de vista clínico, de acuerdo con los resultados obtenidos puede ser recomendado o aplicado a pacientes de manera exitosa para controlar el desarrollo de las colonia de *Staphylococcus aureus*, mediante un tratamiento de bajo costo, fácil de adquirir y con efectos secundarios mínimos.

Antecedentes

Antecedentes Internacionales

En el año 2004, en México, Arcila, Loarca, Lecona y González publicaron un artículo, el cual, mediante un enfoque cualitativo estudió el método de extracción del aceite esencial de orégano y cómo su calidad se puede ver afectada por el origen del material más que por el medio ambiente, mientras que otros autores indicaban que se veía más afectada por las condiciones del medio ambiente al cual estaba expuesto el cultivo, ya sea por la cantidad de luz o riego, así como la estación del año en la que se realizó el corte del cultivo. A manera de conclusión se destacó que el orégano presentó un gran potencial antioxidante, así como bactericida e insecticida, lo cual promovía un mejor aprovechamiento de dicho cultivo para su uso en la salud.

Bhat V., Sharma S., Shetty V., Shastry C., Vaman C., Shenoy S., *et al.* (2018) realizaron el estudio “Caracterización del agente antifúngico *Origanum vulgare*, contra *Candida spp.* aislado de pacientes con estomatitis protésica, estudio in vitro”. Se extrajo el aceite esencial de las hojas secas de *O. vulgare* por hidrodestilación, se determinó la CMI del *O. vulgare* y a través del método de difusión en pocillos se determinó su actividad antifúngica usando como control positivo al fluconazol, por último, la caracterización se realizó por espectroscopía infrarroja. La CMI fue de 0.024%; *O. vulgare* presentó un halo inhibitorio de 30 mm frente a 19 mm para el fluconazol y el grupo funcional activo fue el carvacrol. Las conclusiones fueron que el grupo del aceite de orégano funcional es carvacrol y que presenta efecto antimicótico sobre *Candida spp.* incluso mayor que el fluconazol.

La composición química de la planta de orégano destaca por presentar aceite esencial (0,1 a 1%), cuya composición es timol, beta-bisaboleno, cariofileno, p-cimeno, borneol, linalol, acetato de linafilo, alfa y beta-pinenos, alfa-terpineno, ácidos fenolcarboxílicos: caféico, clorogénico y rosmarínico, flavonoides: derivan del apigenol, luteolol, kenferol, diosmetol, taninos, triterpenos (derivados del ácido ursólico y oleanólico). Siendo los metabolitos principales encontrados en el aceite esencial: carvacrol, timol, cimeno y el terpineno. (Fonegra, 2007)

El trabajo investigativo “El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes”, de los autores Arcila, Loarca y González (2004), menciona que el orégano posee una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos patógenos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*,

Comentado [AAW7]: Los antecedentes deben establecer en orden cronológico del más antiguo al más reciente

Comentado [AAW8]: Indicar el significado de esto ...
Concentración Mínima Inh...

entre otros. Estas características son importantes para la industria alimentaria puesto que pueden favorecer la inocuidad y estabilidad de los alimentos como también protegerlos contra alteraciones lipídicas.

En Perú, 2001, Albado, Sáez y Gabriel determinaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare*, el aceite lo obtuvieron a partir de las hojas y flores desecadas del orégano, por medio de destilación por arrastre de vapor de agua. Además, determinaron la gravedad específica y el índice de refracción. Para la determinación química de los componentes utilizaron la cromatografía de gases.

Por otra parte, la actividad antimicrobiana se determinó por medio de un método semicuantitativo de incorporación y de disco difusión en agar. Como resultado obtuvieron carvacrol, terpineol y p-cimeno dentro de los extractos y bacterias como *Salmonella cholerae* y *Escherichia coli* mostraron diferentes grados de sensibilización por el orégano. Se concluyó que el orégano efectivamente tiene actividad antimicrobiana.

En un estudio por Arcila, C. Loarca, G. Lecona, S. y González, E., llamado “Orégano: propiedades, composición y actividades biológica de sus componentes” se habla sobre las propiedades antimicrobianas de aceites aromáticos de plantas medicinales, así desde la antigüedad. El aceite de orégano, que se utiliza como condimento de los alimentos, posee un amplio espectro de actividades antimicrobianas *in vitro* atribuidas a su alto contenido en derivados fenólicos como el carvacrol y el timol. En el estudio se examinan las propiedades antifúngicas del aceite de orégano. Los resultados de este estudio impulsan la investigación de la eficacia del aceite de orégano en otras formas de infecciones fúngicas, sistémicas y superficiales.

Staphylococcus aureus fue descubierto en 1880, por el doctor Alexander Ogston y lo derivó del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración este tipo del grupo se considera la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel hasta tejidos blandos; el principal problema asociado con este patógeno es la resistencia a los antibióticos. Esta bacteria es considerada un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones, inflamaciones y en los animales (Cervantes, García y Salazar, 2014, pp. 28-30).

El artículo “Interacción sinérgica de propóleo (*Propolis*) y orégano (*Lippia graveolens Kunth*) contra *Staphylococcus aureus* (2013) de los autores Lozano, Guzmán, Bocanegra investiga

Comentado [AAW9]: En qué año

que el *Staphylococcus aureus* es un microorganismo de gran importancia médica. Desde hace muchos años se le ha reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano, ya que forma parte de la familia *Micrococcaceae*, del género *Staphylococcus*, el cual contiene más de 30 especies diferentes y muchas de estas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del ser humano. Este es un patógeno versátil que en seres humanos puede causar diversas afectaciones, entre las cuales se incluyen lesiones tales como abscesos de piel, infecciones de herida e infecciones sistémicas como la intoxicación alimentaria.

Nacionales

En la Universidad de Iberoamérica, Acosta y Céspedes (2004) estudiaron la actividad antibacteriana de los aceites esenciales derivados del tomillo y el orégano. Los aceites fueron extraídos por medio de destilación por arrastre de vapor. Realizaron análisis cromatográficos e infrarrojos, donde se identificaron principalmente los compuestos fenólicos timol y carvacrol. Estos aceites esenciales fueron sometidos a pruebas microbiológicas frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Streptococcus pneumoniae*, y se concluye que efectivamente estas bacterias analizadas presentan sensibilidad frente a los aceites esenciales del orégano y tomillo.

De igual manera, en la Universidad Internacional de las Américas, Leiva (2016) investigó sobre la actividad antifúngica de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y del Tomillo (*Thymus vulgaris L*) utilizando el espectro inflar rojo de los dos extractos y sus resultados de grupos característicos tanto como el fenol, carvacrol y timol en los dos extractos. De igual manera, la sensibilidad antifúngica se demostró *in vitro* ante la *C. albicans* y se determinó que la capacidad mínima inhibitoria del orégano debe ser de un 25% y la del tomillo 50%.

En el trabajo de graduación denominado “Efecto de la aplicación de los aceites esenciales extraídos a partir de las hojas de pimientos de jamaica (*Pimenta dioica*), hojas de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) en la preservación de carne de res” de Lizano (2013), se valoró cada aceite esencial por aparte y su efecto sobre la preservación de los alimentos (carne) debido a su efecto antimicrobiano. Se obtuvo como un resultado que el aceite esencial de las hojas de orégano presentó el mayor rendimiento para preservar la carne de los aceites analizados, por lo tanto, este otro antecedente revalida la acción antibacteriana de esta planta de estudio.

Proyecciones

Se pretende con esta investigación dar un aporte a la fitoterapia, mediante el estudio de la actividad biológica de las partes aéreas de la planta de *O. vulgare* a modo de evidenciar el efecto antibacteriano del orégano frente al *Staphylococcus aureus*, aportando información a un avance en la medicina natural y que de igual manera sirva de apoyo a las futuras investigaciones.

Se quiere llegar a obtener dos formulaciones de uso tópico que puedan ser elaboradas en la industria farmacéutica como posibles nuevos tratamientos de tipo no invasivo en el tratamiento de *Staphylococcus aureus*.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

Generalidades de la Piel

Anatomía de la Piel

La piel es el órgano más extenso del cuerpo, recubre y reproduce todas sus eminencias y depresiones, el sentido del tacto está presente en ella. Algunas de sus funciones más destacadas son la inmunológica y la función barrera, que impiden la entrada de sustancias y organismos del exterior, la pérdida desde el interior, otra función no menos importantes sería ser filtro de la radiación ultravioleta, función reparadora de heridas, úlceras y daño celular, funciones vasculares nutritivas y reguladoras de temperatura, y la de extracción de residuos orgánicos, aparte de las funciones sensitivas o de comunicación. Su grosor es variable, siendo más fina en párpados, pene, cara flexora de las articulaciones, y en el fondo de los grandes pliegues cutáneos, y más gruesa en la cara extensora de las articulaciones, regiones plantares y palmares expuestos a un mayor roce (Baldassare *et al.*, 2004).



Comentado [AAW10]: Asegúrese que el título y la figura se encuentren en la misma página.

Se percibe que está empleando el formato APA, entonces el título de las figuras se ubica en la parte superior.

Correponde a nivel 1, en mayúscula la primera letra de cada palabra a excepción de artículos y preposiciones; en negrita, centrado y sin punto final

Figura 1. Epitelio anatomía

Fuente: Whittle & Baldassare (2004).

Epidermis.

La epidermis está constituida por un epitelio pavimentoso estratificado, en ella hay cuatro tipos de células: queratinocitos, melanocitos, células de Merkel y células de Langerhans, las células epiteliales más abundantes, los queratinocitos, forman varias capas diferentes, en la piel gruesa, presente en la palma de las manos y la planta de los pies, pueden distinguirse cinco capas. En la piel fina que cubre el resto del cuerpo sólo se aprecian cuatro (Martini, 2009).

La epidermis es un estrato celular compacto que mide 120-200 micras, con diferencias regionales según función por desarrollar. Se trata de un sistema celular binario compuesto por queratinocitos y melanocitos, aunque también se encuentran los otros dos tipos celulares, las células de Langerhans, que son células dendríticas inmunocompetentes, y las células de Merkel, que son células neurosecretoras (Camacho, 2018, p. 6).

Los queratinocitos que se encuentran en la capa basal forman una sola hilera celular y son de forma cuboidea, con un gran núcleo oval, donde destaca una gran cantidad de cromatina y uno o dos nucléolos esféricos, lejanos de la membrana celular, y un gran citoplasma con mitocondrias, complejos de Golgi, ribosomas, tonofibrillas y abundante retículo endoplásmico liso y rugoso. Rodeando toda la célula, una membrana lipoproteica (Camacho, 2018, p.6).

Estos queratinocitos se encuentran unidos por desmosomas, que también se observan en las células de las capas superiores, donde se insertan los tonofilamentos de queratina, mientras que en su base, que reposa sobre la membrana basal, solo se observan hemidesmosomas, que sirven de elementos de unión epidermodérmicos. Se multiplican por mitosis siguiendo un «ritmo circadiano», aumentando por la noche. Conforme ascienden, las células cambian de morfología, en la capa basal son elongadas, con diámetro mayor perpendicular a la superficie cutánea, mientras que al ascender, se van haciendo poligonales y paulatinamente se aplanan hasta constituir un

mosaico. Debido al aspecto que toma, en mosaico, con las uniones con desmosomas (Camacho, 2018, p.7).

Estos corpúsculos de estructura laminar contienen grandes cantidades de lípidos (fosfolípidos, glucolípidos y esteroides libres) y enzimas hidrolíticas, que van a intervenir en la función barrera de la capa córnea y van a destruir los desmosomas, para que las células cornificadas puedan descamarse con facilidad. Al seguir ascendiendo, las células se hacen cada vez más aplanadas, pierden su núcleo y muestran numerosos gránulos de queratohialina, partículas amorfas no recubiertas de membrana, que constituyen la matriz que engloba las tonofibrillas en el proceso de queratinización (Camacho, 2018, p.7).

Solo en palmas y plantas puede observarse con nitidez la capa lúcida, cuyas células, aplanadas y desprovistas de núcleo, forman, junto a la granulosa, el estrato precórneo o de transición. Por último, la capa córnea está constituida por 15 a 25 hileras de células queratinizadas (en las palmas y plantas puede llegar a más de cien), carentes de núcleo y con escasos desmosomas, que llegan a desaparecer en las últimas capas permitiendo su descamación espontánea (Camacho, 2018, p.7).

Esta capa córnea presenta una acentuada hidrofilia, especialmente por su envoltura lipídica externa compuesta de ceramidas, esteroides libres y ácidos grasos libres. El tiempo total desde que una célula germinativa de la capa basal comienza a multiplicarse y ascender hasta eliminarse en la capa córnea es de 52 a 75 días, pudiendo esta tasa de epidermopoyesis variar según las regiones corporales (Camacho, 2018, p.7).

Dermis.

La dermis está constituida por tejido conjuntivo de sostén de vasos sanguíneos, nervios y anexos de piel, la cual posee estructuras que intervienen en distintas funciones relacionadas como metabolismo, temperatura, defensa y cicatrización. Está formada por tres clases de fibras, una sustancia fundamental y células. Las fibras más abundantes son las colágenas formadas por una escleroproteína compleja en cuya formación interviene fundamentalmente la hidroxiprolina y la hidrolisina. El colágeno no es una entidad homogénea, está formado por diferentes subtipos genéticos del I al VII de acuerdo con su morfología, composición y propiedades físicas. En la dermis predomina el tipo I (Amado, 2015).

Las fibras elásticas son de una a tres micras de diámetro, más delgadas en la dermis superficial, y en la dermis papilar forman el plexo de fibras elastina-oxitalán. En conjunto, las fibras y la sustancia fundamental dan resistencia, cohesión y elasticidad a la piel.

Las células que se encuentran en la dermis en escaso número por lo general son de varios tipos: fibroblastos, con núcleo fusiforme y son las que producen en sus ribosomas las fibras colágenas, reticulares y tal vez las elásticas y la sustancia intersticial; asimismo se conoce que tienen funciones de proliferación y migración en respuesta a estímulos quimotácticos, mitogénicos y citocinas y tienen interacciones paracrinas y autocrinas. Los mastocitos o células cebadas son muy basófilas, tienen granulaciones en su interior y son productoras de histamina, heparina y otros mediadores de la inflamación y células derivadas de la corriente sanguínea, siempre en escaso número en condiciones normales: polimorfonucleares, eosinófilos, plasmocitos, linfocitos (Amado, 2015).

La dermis está compuesta por múltiples estructuras de gran importancia vascularizado que está bajo la epidermis, la superficie de la dermis contiene apilas invadas dentro de la dermis donde se encuentran los nervios, vasos linfáticos, glándulas sudoríparas, folículos pilosos y las glándulas sebáceas (Hierro y Archundía, 2013).

1. Colágeno dérmico: se produce por los fibroblastos que se encuentran entre los haces de colágeno y los otros elementos del tejido. Esta proteína da propiedades de elasticidad y fuerza a la piel, así como soporte a las estructuras de la dermis. Forma un 70% del contenido de la piel, el envejecimiento y la exposición continua a la luz UV alteran las propiedades del colágeno.
2. Folículos pilosos: son invaginaciones tubulares de esta capa de la piel en las que se origina el pelo y en las que las glándulas sebáceas drenan. Estos folículos están cubiertos en su interior por la doble capa derivada de la dermis.
3. Glándulas sebáceas: son pequeños órganos en forma de saco que se encuentran en la dermis. Cada glándula tiene un único conducto que proviene de un grupo de alvéolos ovales, cada uno de ellos está compuesto por una membrana basal transparente que encierra las células epiteliales. Estas glándulas secretan sebo, siendo esto una función muy importante ya que brinda textura, flexibilidad y barrera contra agentes externos dañinos.
4. Glándulas apocrinas: son un tipo de glándulas sudoríparas grandes, ramificadas especializadas que desembocan en la parte superior de un folículo piloso y no directamente sobre la piel.

5. Glándulas ecrinas: son un tipo de glándulas sudoríparas simples que segregan sudor directamente sobre la piel.

Hipodermis.

Capa más interna de la piel está constituida por adipocitos, células que está compuesta por el 95% de lípidos, conforman los tejidos grasos de nuestro cuerpo, la hipodermis es prácticamente todo grasa, también hay abundantes vasos sanguíneos, así como unas fibras de colágeno especiales que, aunque sean distintas a las de la dermis, mantienen unidos los adipocitos entre sí, la hipodermis su principal función es especialmente a nivel estructural, como lo es amortiguar golpes, servir como almacén de energía o aislar el cuerpo (Yousef, 2017).

Nervios.

Según Hierro y Archundia (2013), al ser tan sensitiva la piel, cuenta con varias y numerosas terminaciones aferentes ubicándose principalmente en la cara y de igual manera en la región distal de las extremidades. Las terminaciones libres de mielina son de lenta conducción y son las responsables de conducir estímulos térmicos, de dolor y prurito.

Los nervios sensitivos, se pueden clasificar en corpúsculos de Meisser, de Paccini, Krause y Ruffini.

1. Corpúsculos Ruffini: controlan la temperatura corporal cuando se está enfrentando a temperaturas muy elevadas.
2. Corpúsculos de Paccini: se relacionan con los estímulos de presión y vibración, los cuales son los más abundantes en el dorso de los dedos, palmas, plantas y genitales.
3. Corpúsculos de Meissner: hacen posible la recepción de sensaciones táctiles, se encuentran en los dedos y la cara anterior de los antebrazos.
4. Bulbos de Krause: para mantener el calor en la piel cuando hay temperaturas bajas.

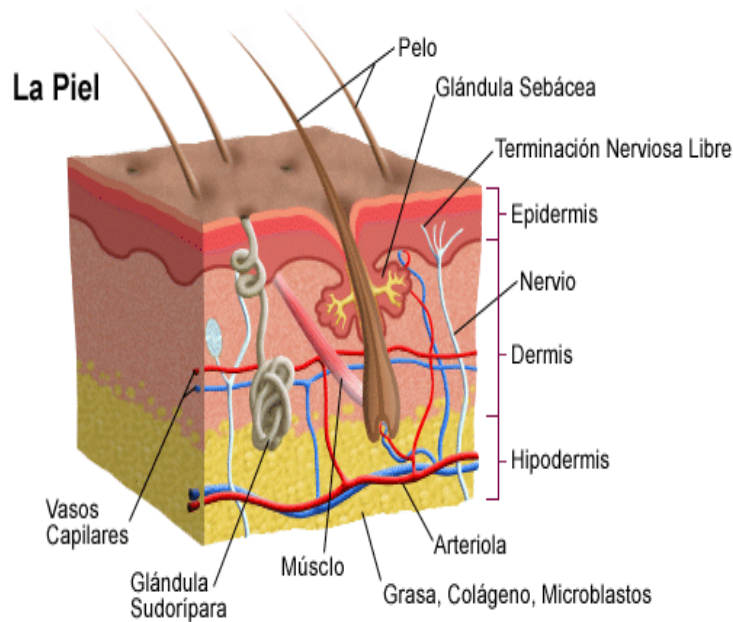


Figura 12. Componentes de la piel.

Fuente: Hierro y Archundia (2013).

Comentado [AAW11]: Formato

Anexos de la piel.

Entre las partes más que forman los anexos de la piel, según Arenas, R. (2015) se encuentran:

1. Complejo pilosebáceo

- **Folículo piloso:** forma un saco fibroso, constituido por una membrana llamada vítrea equivalente a la membrana basal de la unión de la dermis y la epidermis.

- **Pelo:** presenta una raíz, que va desde su base hasta la desembocadura de la glándula sebácea, y de este punto a la periferia se llama tallo piloso; en la raíz hay una capa llamada vaina epitelial interna que se adosa a la externa del folículo y en su parte inferior, después de la vaina epitelial interna sigue la corteza y la médula del propio pelo.

- **Músculo erector del pelo:** conjunto de fibras lisas situadas de forma oblicua desde la papila dérmica hasta la pared del folículo, formando con él un ángulo agudo abierto hacia arriba donde se aloja la glándula sebácea.

- **Glándula sebácea:** la secreción de esta glándula está formada no solo por el producto de las células, sino por las mismas células que se renuevan continuamente. Las glándulas son limitadas por una membrana basal, cuya cara interna está tapizada de células cúbicas, basófilas, ricas en glucógeno, las cuales se hacen cada vez más claras, se van llenando de grasa y terminan por caer junto con el sebo que producen.

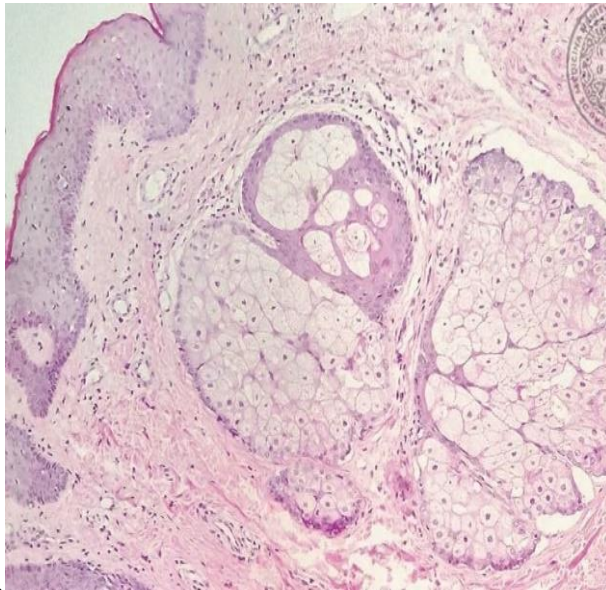


Figura 23. Glándula sebácea.

Comentado [AAW12]: Formato

Fuente: Departamento de Histología y Embriología Facultad de Medicina - Universidad de la República, 2021.

1. **Glándulas sudoríparas:** hay de dos tipos, las ecrinas y apocrinas. Las ecrinas son abundantes cerca de tres millones en una persona adulta, son cilíndricas y situadas sobre una capa

de células mioepiteliales que sirven de sostén. Las apocrinas solo existen en algunas áreas del cuerpo, como ingle, axila, pliegue del glúteo, región perianal y anogenital.

2. **Uñas:** esta es una modificación del estrato corneo en la punta de los dedos son laminillas de células muertas, llenas de queratina dura. (Amado, 2015, p.41)

Fisiología de la piel.

La piel tiene muchas funciones que se relacionan con otros aparatos y sistemas, de esta manera si se llegan a alterar pueden producirse importantes cambios en el organismo que pueden ocasionar la muerte. Dentro de las funciones se pueden nombrar (Amado, 2015):

1. **Órgano de estética:** la piel es la fachada de las personas, siendo esto lo primero que se presenta a los demás.
2. **Protección:** la piel es una barrera que protege al individuo de los agentes externos que pueden producir agresiones. El manto ácido que la cubre impide el desarrollo de hongos y bacterias (esterilización espontánea de la piel) y su flora normal impide el desarrollo de bacterias patógenas. Además de ser impermeables producto de la disposición de los lípidos en forma de mosaico, impidiendo la pérdida de agua y permitiendo la hidratación.
3. **Sensorial:** al ser un órgano tan innervado es receptor de sensibilidades de todo tipo, tales como tacto, dolor, temperatura, presión, así como los reflejos.
4. **Termorregulación:** la capa córnea, el sebo y el tejido celular subcutáneo son malos conductores del calor y muy buenos aislantes, lo que impide pérdidas de temperaturas. Otro mecanismo de termorregulación es a través de la sudoración, la piel responde al aumento de la temperatura ambiental con aumento de la sudoración y vasodilatación. La sangre circula como en un gran refrigerador por la piel y el sudor al evaporarse hace bajar la temperatura de la piel y de esa manera la sangre se enfría.
5. **Metabolismo:** dentro de los procesos metabólicos se pueden mencionar el de almacenar agua e intervenir en su regulación, además, regula los electrolitos y desecha grandes cantidades de sodio cuando hay pérdidas de agua. Otro aspecto importante es que por medio del sudor se elimina urea y creatinina.
6. **Queratogena:** la queratina brinda extensibilidad y flexibilidad a la piel, además de ser insoluble y resistente a la acción de enzimas y ácidos.

7. Función sebácea: el sebo, producto de las glándulas sebáceas, interviene en la lubricación de la piel y formación del manto ácido, ya que está formado por ácidos grasos libres y combinados y colesterol, con propiedades fungicidas y germicidas.
8. Sudorípara: esta función se relaciona con la termorregulación y también con el metabolismo hidrosalino.
9. Melanógena: la melanina se encarga de dar protección a la piel y tejidos subyacentes contra las radiaciones ultravioleta.
10. Inmunológica: en la piel se valora una buena parte de la inmunidad mediante las pruebas intradérmicas y pruebas de parche, además de medirse la inmunidad mediante la sensibilización al dinitroclorobenceno.

Staphylococcus aureus

Fue descubierto por el médico Alexander Ogston en 1880, *Staphylococcus aureus* se considera un patógeno con gran potencial para causar infecciones en el ser humano, es considerado virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida. El impacto del *Staphylococcus aureus* sobre la salud es la resistencia que puede presentar a múltiples antibióticos, sobre todo a la meticilina (Olaechea, 2010).

El *Staphylococcus aureus* bacteria Gram positiva, aislado en infecciones sanguíneas, es el microorganismo causante de numerosas patologías, como lo son principalmente infecciones nosocomiales: afecciones en la piel, bacteriemias, infecciones de sistema genitourinario, endocarditis de igual forma infecciones del Sistema Nervioso Central. Este patógeno ha desarrollado resistencia a los antibióticos convencionales de una manera muy eficiente (Camacho, Perazzi, Bombicino, Vay, & Famiglietti, 2010).

La tasa de mortalidad ha aumentado a pesar del gran número de antibióticos disponibles, el *Staphylococcus aureus* forma parte de la flora normal del humano, entre 25 y 50% de la población sana está colonizada por esta bacteria, constituyendo un riesgo por su diseminación, este puede ser adquirido a través del contacto con otras personas o por exposición al ambiente. En los últimos años han aumentado de forma notable las infecciones por este microorganismo, en especial por cepas de *Staphylococcus Aureus* resistentes a la meticilina (Ponce de León 2002).

Sin embargo, en los últimos años se ha observado un incremento progresivo de infecciones producidas por cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina, con una sensibilidad a

los antibióticos diferente que afecta a la población sana sin haber tenido contacto previo. Estas infecciones provocadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina adquiridas en la comunidad pueden desarrollar diferentes enfermedades, siendo las más comunes en la piel y tejidos blandos (Lowy, F. D., 2003).

Características microbiológicas.

Las células de *Staphylococcus aureus* miden 1 µm aproximadamente de diámetro, se agrupan en racimos, poseen respiración aeróbica y anaeróbica, aunque la mayoría de las cepas se reproducen en manitol de manera anaeróbica estas producen catalasa, la cual es una enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre, algunas células producen cápsulas. Estas bacterias son oportunistas y adaptables con la capacidad de infectar, invadir y replicarse en cualquier tejido humano incluyendo la piel, los huesos, órganos internos o tejido vascular, se le considera dentro de los principales patógenos en humanos y animales, capaz de causar un sinnúmero de infecciones de distintos niveles de gravedad (García, 2006).

Tabla 1

Taxonomía *Staphylococcus aureus*

Dominio	Bacteria
Filo	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilli</i>
Orden	<i>Bacillales</i>
Familia	<i>Staphylococcaceae</i>
Genero	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>Staphylococcus aureus</i>

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW13]: Formato

Tabla 1. Taxonomía de *Staphylococcus aureus*

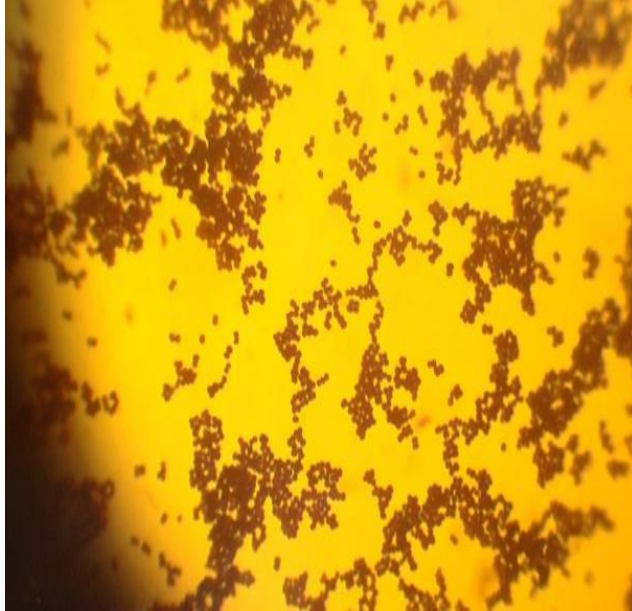


Figura 34. *Staphylococcus aureus*.

Fuente: Fotografía tomada por la autora M.Sc. Marielsa Gil

Comentado [AAW14]: Formato

Staphylococcus aureus no es móvil, no forma esporas, algunas cepas poseen una cápsula polisacárida. Desde el punto de vista de laboratorio son fácilmente identificables, son anaerobios facultativos, crecen bien a 37 °C en 24 horas de incubación en medios simples, sus colonias son cremosas, generalmente de color amarillo dorado, de allí su nombre *aureus*, aunque algunas cepas no producen pigmento y se observan de color blanco.

Identificación.

Para identificar el *Staphylococcus aureus* se utiliza tinción de Gram, pruebas bioquímicas como la catalasa, fermentación de glucosa, estas permiten diferenciar al género *Staphylococcus* del género *micrococcus*, que también es considerado como catalasa positiva, pero este no fermenta la glucosa, motivo por el cual la prueba de la glucosa es la más utilizada. De igual manera se puede identificar *Staphylococcus aureus* mediante técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Cervantes, Garcia & Salazar, 2014).

Componentes de la pared celular.

Ácidos teicoicos: son polímeros de fosfato específicos de especie, pueden estar unidos covalentemente al peptidoglicano de la membrana celular. Su función es mediar en la unión de los estafilococos a las superficies mucosas mediante uniones específicas a la fibronectina. Tienen la capacidad de inducir la producción de anticuerpos.

Peptidoglicano: es el componente básico de la pared de *Staphylococcus aureus*, la cual confiere resistencia y tolerancia osmótica, posee propiedades biológicas: presenta actividad endotóxica, desencadena la producción de interleucina-1 por los monocitos.

Patogenia.

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* se produce al combinarse los factores de virulencia bacteriana con una disminución de las defensas en el huésped su acción patógena interviene, los componentes de la pared celular y la producción de enzimas y toxinas favorecedoras de la invasión tisular, además de su capacidad para diseminarse y multiplicarse en los tejidos del huésped.

Principales enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*.

Cervantes *et al.* (2014) mencionan las siguientes enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*:

1. Lesiones cutáneas: impétigo, mastitis, hidrosadenitis supurada, celulitis fascitis, paroniquia.
2. Infecciones del sistema nervioso central: meningitis piógena estafilocócica, abscesos cerebrales, epidemia subdural y absceso epidural medular o intracraneal.
3. Infecciones del tracto respiratorio: neumonía.
4. Infecciones del tracto urinario: síndrome de piel escaldada.

Staphylococcus aureus es una bacteria patógena con abundante distribución en la naturaleza, es capaz de elaborar un gran número de toxinas extracelulares y factores de virulencia que contribuyen a la patogenicidad, esta bacteria, además de generar infecciones localizadas en la piel y mucosas, puede invadir tejidos y órganos diversos originando procesos graves, siendo especialmente importante aquellas las colonias que son altamente resistentes a los fármacos (Fonegra, 2021).

Infecciones en la Piel

Las infecciones de la piel provocadas por estafilococos son:

- **Forúnculos.** El tipo más frecuente de infección por estafilococos es el forúnculo, una acumulación de pus que se forma en un folículo piloso o una glándula sebácea. La piel que se encuentra por encima de la zona infectada suele enrojecerse e hincharse.

Si un forúnculo se revienta, probablemente el pus se drenará. Los forúnculos aparecen, con mayor frecuencia, debajo de los brazos o alrededor de la ingle o de los glúteos.

- **Impétigo.** Esta erupción cutánea contagiosa, a menudo dolorosa, puede ser causada por estafilococos. El impétigo suele caracterizarse por ampollas grandes que pueden secretar líquido y formar una costra de color miel.

- **Celulitis.** La celulitis (una infección de las capas profundas de la piel) causa enrojecimiento de la piel e hinchazón en su superficie. También se pueden desarrollar llagas o áreas de supuración de secreciones.

- **Dermatitis exfoliativa neonatal o estafilocócica.** Las toxinas que se producen como resultado de una infección por estafilococos pueden provocar dermatitis exfoliativa neonatal o estafilocócica. Esta afección, que afecta principalmente a bebés y niños, se caracteriza por fiebre, sarpullido y a veces ampollas. Cuando la ampolla se revienta, la capa superior de piel se desprende y queda una superficie roja y rugosa que parece una quemadura.



Figura 45. Impétigo causado por *Staphylococcus aureus*.

Fuente: Centro para el control y la prevalencia de enfermedades, 2021.

Comentado [AAW15]: Formato

Resistencia a Penicilina

La penicilina a principios de los años 40 se utilizó como tratamiento en las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*, sin embargo, un año después de su utilización, ya se tenían cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina. En el año 1946, en Inglaterra se observó que aproximadamente un 60% de los aislamientos de estafilococos fueron resistentes a penicilina y para mediados de 1950, los aislamientos de *Staphylococcus aureus* mostraron niveles más elevados de resistencia. Actualmente se reporta una resistencia a penicilina del 80%-93% o más, en cepas de *Staphylococcus aureus*. (J. Clin 2003)

La resistencia a penicilina se debe a la producción de penicilinasas (β -lactamasas) y es conferida por una penicilinasas plasmídica, inducible, que inactiva la penicilina G, carboxipenicilinas y ureidopenicilinas. El mecanismo de inducción consiste en que la penicilina y sus análogos favorecen la producción de una proteína antirrepresora que, al inhibir el gen represor de la betalactamasa, aumenta la síntesis de penicilinasas. Esta penicilinasas es inactivada por los inhibidores de β -lactamasas (ácido clavulánico, sulbactam). (Velázquez Meza, 2004, p80)

Resistencia a Meticilina

Debido a la resistencia a la penicilina las cepas de *Staphylococcus aureus*, se introdujeron cefalosporinas estables a penicilinasas y penicilinas semisintéticas. Entre estas estuvo la meticilina, como antibiótico de elección en el tratamiento de *Staphylococcus aureus*, la meticilina es un derivado semisintético de la penicilina. La resistencia a meticilina se determina utilizando el antibiótico oxacilina.

En la actualidad, SAMR es el patógeno gram positivo resistente a los antibióticos más comúnmente identificado en los hospitales. A pesar de que 25% de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de pacientes externos son resistentes a meticilina, la mayoría de las cepas son recuperadas de individuos que muy probablemente adquieren la infección en el hospital.

La resistencia a meticilina fue denominada intrínseca debido a que no se produce destrucción del antibiótico por acción de enzimas β -lactamasas.

Resistencia de los antibióticos β -lactámico.

Comentado [AAW16]: lactámicos

Todos los β -lactámicos implican que para la lisis y muerte del microorganismo se requieren concentraciones de antibiótico mucho más elevadas que para la inhibición de su crecimiento. Significa una disminución de la actividad autolítica por exceso de inhibidor de autolisinas, lo que conlleva a un efecto bactericida más lento. Se desconoce su base genética. Teniendo como base investigaciones realizadas en otras especies bacterianas, se presume actualmente que los antibióticos β -lactámicos fallan en la activación de las enzimas autolíticas en cepas tolerantes de *S. aureus*. Se ha asociado con una respuesta clínica insuficiente a los β -lactámicos en pacientes con septicemia y endocarditis (Golman, 2009).

Control Microbiológico

Presencia y análisis de microorganismos en productos farmacéuticos y cosméticos.

La contaminación microbiana de los productos farmacéuticos y cosméticos ha sido extensamente estudiada. Las preparaciones farmacéuticas y los cosméticos pueden contaminarse con hongos filamentosos, levaduras y bacterias. Las materias primas naturales, el equipo, el agua, el aire y el material de empaque pueden ser fuentes de contaminación de dichos productos, donde la presencia de microorganismos puede alterar la calidad, eficacia y seguridad del producto. Por esta razón, el producto debe llegar al consumidor con un contenido bajo o nulo de microorganismos. Por consiguiente, se deben realizar tres procedimientos: control microbiológico de las materias primas, donde hay que prestarle atención al agua, buena higiene en la fabricación y envasado, y utilización de conservantes (Elsevier, 2008).

Hay que destacar que los conservantes antimicrobianos son sustancias añadidas a los productos farmacéuticos y cosméticos, para evitar el desarrollo microbiano o de microorganismos que se introducen sin ser advertidos durante el proceso de fabricación o después de este, ya que dichos productos son una fuente excelente de nutrientes para bacterias, hongos y levaduras. Por lo tanto, es difícil, encontrar el tipo de conservante, que satisfaga todo criterio de conservación y seguridad toxicológica. Es importante considerar que los conservantes antimicrobianos no deben emplearse en lugar de las buenas prácticas de manufactura o simplemente para disminuir la población microbiana. (USP-36, Pruebas microbiológicas. Prueba de eficacia antimicrobiana, 2013)

Microorganismo de Prueba

Tabla 2

Características de los microorganismos de prueba. Prueba de eficacia antimicrobiana USP- 36.

Microorganismo	Características
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bacilo gram positivo Anaerobio facultativo

Fuente: Elaboración propia, tomado de USP 31 (2013).

Comentado [AAW17]: Formato

Tabla con formato

Prueba de eficacia antimicrobiana.

El principio fundamental del análisis de los conservantes consiste en inocular envases separados del producto con concentraciones conocida (1×10^5 y 1×10^6 ufc/mL de producto) de los microorganismos de prueba, luego, tomar muestras de cada envase en intervalos de tiempo determinados de acuerdo con la categoría del producto y determinar la proporción del inóculo que sobrevive, mediante el recuento en placa.

Empleando las concentraciones calculadas de ufc/mL presentes al inicio de la prueba, se calcula el cambio en valores en \log_{10} de la concentración de ufc/mL en los intervalos de prueba correspondientes y se expresan los cambios en términos de reducción logarítmica, los cuales son comparados con los criterios para microorganismos evaluados (USP-36, Pruebas microbiológicas. Prueba de eficacia antimicrobiana, 2013).

Tabla 3

Categoría de productos farmacopeicos.

Categoría	Producto farmacéutico
1	Inyectables, parenterales incluyendo emulsiones, productos óticos, productos nasales estériles y productos oftálmicos.
2	Productos empleados de manera tópica preparados con bases o vehículos acuosos, productos nasales no estériles y emulsiones, incluyendo aquellos que se

Comentado [AAW18]: Formato

	aplican a membranas mucosas.
3	Productos orales a excepción de antiácidos, preparados con bases o vehículos acuosos.
4	Antiácidos preparados con una base acuosa

Fuente: Elaboración propia, tomado de USP- 36, Pruebas Microbiológicas <51>, 2021.

Tabla 4

Crterios para microorganismos evaluados. Pruebas de eficacia antimicrobiana

Comentado [AAW19]: Formato

En producto de la categoría 1	
Bacterias:	A los 7 días una reducción logarítmica de no menos de 1,0 desde el recuento calculado en el inicio; a los 14 días, una reducción logarítmica de no menos de 3,0 del recuento inicial; y a los 28 días ningún incremento del recuento de los 14 días.
Levaduras y Hongos filamentosos:	Ningún incremento a los 7,14 y 28 días respecto al recuento inicial.
En producto de la categoría 2	
Bacterias:	A los 14 días, una reducción logarítmica de no menos de 2,0 desde el recuento calculado en el inicio; y a los 28 días ningún incremento del recuento de los 14 días.
Levaduras y Hongos filamentosos:	Ningún incremento a los 7,14 y 28 días respecto al recuento inicial.
En producto de la categoría 3	

Bacterias:	A los 14 días, una reducción logarítmica de no menos de 1,0 desde el recuento calculado en el inicio; y a los 28 días ningún incremento del recuento de los 14 días
Levaduras y Hongos filamentosos:	Ningún incremento a los 14 y 28 días respecto del recuento inicial

En producto de la categoría 4

Levaduras y Hongos filamentosos:	Ningún incremento a los 14 y 28 días respecto del recuento inicial
---	--

Fuente: Elaboración propia, tomado de UPS-36. Pruebas microbiológicas <51>prueba de eficacia antimicrobiana 2013).

Plantas Medicinales

Su principal definición “Es cualquier vegetal que contenga dentro de sus órganos, alguna sustancia con actividad farmacológica que pueda utilizar con fines terapéuticos o implementarse como prototipo para obtener nuevos fármacos por síntesis o hemisíntesis farmacéutico” (Kukilinski, 2000, p. 4).

Una de las bondades de la naturaleza son las hierbas y plantas que, desde tiempos inmemorables se han utilizado con fines curativos, el legado de los antepasados, como la medicina natural o tradicional, se ha aliado a la medicina moderna, se ha realizado una importante cantidad de experimentos y estudios clínicos para comprobar la efectividad de algunas plantas medicinales, se han demostrado mediante diferentes pruebas los poderes curativos de una gran variedad de plantas (Mendoza, 2008).

Según, Mendoza (2008), las plantas medicinales disponen de principios activos o metabolitos que pueden utilizarse en el tratamiento de enfermedades, es de bien saber que el hombre desde la antigüedad ha experimentado con distintos tipos de hierbas para el desarrollo y tratamientos de algunas patologías, uno de sus principales objetivos es: buscar sintetizar compuestos de estructuras conocidas para producir entidades que sean patentables con mayor

eficacia y menos toxicidad, emplearlas como herramientas farmacológicas, o bien, el uso de la planta o partes de ella, como un fitofármaco.

Para la OMS (2018) la medicina tradicional es un conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales, como es la “medicina complementaria” y “medicina alternativa”, utilizadas indistintamente junto con “medicina tradicional” en algunos países, hacen referencia a un conjunto amplio de prácticas de atención de salud que no forman parte de la propia tradición del país y no están integradas en el sistema sanitario principal.

Tratamientos Alternativos basados en Medicina Natural

Origen de la medicina natural.

La medicina natural, es un método curativo en el cual se utilizan distintos medios naturales por los cuales se permite que el individuo adquiera un nivel de salud. Al pasar de los años ha llegado a formar parte del acervo cultural de la humanidad, y según diversos países a nivel mundial cuentan con características propias en cuanto a su preparación y los recursos de disponibilidad en cada uno de ellos (Castellanos, 2014).

En el año 1992, se llevó a cabo el Primer Congreso Latinoamericano de Medicina Natural, en el que la Sociedad Latinoamericana de Medicina Natural logró un reconocimiento continental con el que diversos países han reconocido de manera progresiva la profesión naturópata. Al respecto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha logrado destacar que al menos un aproximado de 119 fármacos, se encuentran derivados de plantas naturales, donde aproximadamente un 74% de estos se utilizan actualmente en la medicina moderna, de tal forma que se correlacionan directamente con los usos tradicionales que las culturas nativas le daban en el pasado como hierbas medicinales (Castellanos, 2014).

La implementación de las plantas en la alimentación del hombre y en la curación de diversas enfermedades o padecimientos se remonta a los primeros orígenes de creación del mundo, fue transmitiéndose de generación en generación, al punto de que, en la actualidad, es decir en pleno siglo XXI, se denominan plantas de uso tradicional, lo cual continuará hasta el fin de los tiempos (Castellanos, 2014).

Según lo anterior, el origen de la medicina natural se remonta a través de los tiempos, y es interpretado por una parte con el empirismo y la superstición. Por ende, la intención de mantener la salud es tan antigua como la misma vida y tan inherente a los seres vivos, que tanto los animales como las plantas por sí mismas cuentan con sus propios mecanismos para defenderse ante ciertos factores de nuestro entorno (Castellanos, 2014)

Ventajas y desventajas de la medicina natural.

La Organización Mundial de la Salud define la medicina tradicional como: todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales. (Zhang, 2013)

Es una terapia alternativa a la medicina convencional, en la que se busca un equilibrio dentro del cuerpo y el bienestar general, incluyendo el aspecto mental, espiritual, emocional, y social, en vez de tratar una enfermedad por sí sola, de esta manera, muchas veces, este tipo de medicación sirve como un excelente complemento a las terapias médicas tradicionales, cuenta con la ventaja de ser más buscada por la población, ya que su parte económica la posiciona como más accesible, si se compara con los medicamentos convencionales (González & Cardentey, 2016).

A la validación científica, en el aspecto de la investigación médica, se le pone bastante énfasis ya que por medio de las entidades de salud, como FDA (Administración de Medicamentos y Alimentos), la OMS (Organización Mundial de la Salud) y otras entidades, se confirma que la manera adecuada, en cuanto al tema de medicamento, es que deben ser primeramente validado científicamente, de forma que aquel medicamento que no cumpla con la validez de eficacia y seguridad, no debe ser aceptado (González & Cardentey, 2016).

La actividad farmacológica de las plantas medicinales podría interactuar con fármacos convencionales. Los mecanismos por los que se producen son complejos y, a menudo, hay más de uno implicado. Pueden dividirse en farmacocinéticos o farmacodinámicos, si afectan a procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción, o si afectan al sitio de acción o su acción farmacológica. (González & Cardentey, 2016).

Las interacciones entre medicamentos naturales y fármacos lo que afecta la absorción es que se reducen los niveles del fármaco, por alteración del pH digestivo, afectando la motilidad. El desplazamiento de fármacos unidos a proteínas incrementa los valores de fármaco libre, afectando a la distribución en tejidos, siendo de particular importancia en grupos farmacológicos como antiepilépticos, aunque no se han notificado casos clínicos. (González & Cardentey, 2016).

Fitofármaco.

Los fitofármacos corresponden a los medicamentos cuyos ingredientes activos contienen exclusivamente plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien, preparaciones obtenidas a partir de ellas. Los fitofármacos son medicamentos que están elaborados con partes de plantas. La preparación puede ser a partir de partes vegetales cortadas, jugos de partes de plantas, maceración en diferentes aceites destilados y extractos de partes de plantas, obtenidas mediante varios procedimientos (Salazar, 2012).

El descubrimiento de los fármacos sintéticos como las sulfas, la penicilina y otros antibióticos, hizo declinar la popularidad de la medicina herbolaria en la farmacoterapia. Sin embargo, ahora el péndulo está girando en dirección contraria y, sobre todo en las dos últimas décadas, ha resurgido el interés en el estudio y el uso de las plantas medicinales (Hernández, A., Pérez, K., 2014, p.15)

La Organización Mundial de la Salud (2017) define a los fitofármacos como: productos obtenidos por procesos tecnológicamente adecuados, empleando exclusivamente materias primas vegetales, con finalidad profiláctica, curativa, paliativa o para fines de diagnóstico. Se caracteriza por el conocimiento de su eficacia y de los riesgos de su uso, así como para la reproducibilidad y la constancia de su calidad. (Belmonte, 2012)

El crecimiento de la industria farmacéutica y desarrollo de nuevos, eficaces productos medicinales sintéticos y biológicos no ha disminuido la gran importancia que tiene la implementación de uso de diferentes tipos de plantas en la creación de nuevos fármacos. En la actualidad, el uso de medicinas tradicionales, complementarias o alternativas, sigue siendo una gran preocupación para las entidades sanitarias debido a su bajo control reglamentario.

La Organización Mundial de la Salud se ha encargado de publicar una serie de directrices destinadas a las autoridades sanitarias nacionales, con la finalidad de preparar información fiable y adaptable a contextos específicos sobre el uso de medicinas alternativas, ya que es necesario que

los consumidores a nivel mundial dispongan de una debida información e instrumentos que les permitan acceder a tratamientos adecuados, seguros y eficaces (Organización Mundial de la Salud, 2012).

Hernández (2014) indica en su Guía de Estudio sobre Farmacología General que los fitofármacos son medicamentos cuya sustancia activa contiene el extracto de una determinada planta, a diferencia de un fármaco químico, que proviene de una molécula sintetizada. Una definición más amplia indica que los fitofármacos son productos medicinales acabados y etiquetados cuyos ingredientes activos estandarizados están formados por partes aéreas o subterráneas de plantas, o combinaciones de estos.

En la actualidad se estima que alrededor de 80% de la población utiliza medicina alternativa herbolaria (fitoterapia) como tratamiento paralelo a la medicina tradicional; su uso ha estado siempre muy arraigado a la tradición, por lo que las plantas medicinales revisten gran importancia en el tratamiento de una parte significativa de la población. La farmacología intenta comprender el valor de las propiedades biológicas de las plantas medicinales (Hernández, A., Pérez, K., 2014).

La Organización Mundial de la Salud apoya el uso de medicinas tradicionales y alternativas, siempre y cuando estas demuestren su utilidad en el paciente y representen un riesgo mínimo. Por lo tanto, es válido indicar que los fitofármacos constituyen una terapia que cuando es realizada bajo evidencia científica y diversas técnicas, permite que estos se conviertan en una alternativa necesaria en nuestro país y a nivel mundial (Jong, 2012).

En nuestro país, se toma cada vez más importancia, y entre los más vendidos en el país se encuentra la echinacea (*Echinacea purpurea*), el milk thistle-cardo mariano (*Silybum marianum*), la hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*) y el Ginkgo biloba (*Ginkgoaceae*). Estos y otros tipos de plantas a los que se les ha dado uso no solo en nuestro país, sino a nivel mundial, son fundamentales que ya existen diversos fitofármacos que cuentan con respaldos científicos y experiencia clínica originada principalmente en Europa y Asia (Quesada & Murillo, 2019).

Entre los principales usos que se le dan a estos fitofármacos están: memoria, alteraciones vasculares, sistema inmune, aporte energético, tratamiento de estreñimiento, depresión moderada, úlceras, enfermedad hepática, antioxidante, disfunción endotelial, antitusivo, entre otros. En un estudio realizado, al indagar sobre las enfermedades en que más se utilizan los fitofármacos, alcanzan el mayor porcentaje en enfermedades respiratorias, hipertensión, trastornos nerviosos y diarreas (Quesada & Murillo, 2019).

El fitofármaco como alternativa terapéutica, la mayoría de la población los utiliza con prescripción médica o sin ella, debido a que las plantas medicinales son una fuente inagotable de nuevas alternativas terapéuticas, por lo que se debe evidenciar los aspectos que las harán cada vez más seguras y eficaces, de ahí que es importante el conocimiento por parte del personal de salud encargado, tomando en cuenta su indicación de manera responsable (Quesada & Murillo, 2019).

En asuntos regulatorios, existe una gran cantidad de plantas medicinales, que actualmente se comercializan en diferentes presentaciones, como lo son cápsulas, pastillas, jarabes, gránulos, cremas, entre otros. Este tipo de productos han tenido gran aceptación por la sociedad, debido a sus disminuidos efectos secundarios si se comparan con los medicamentos sintéticos. En el mercado, a este tipo de productos se le conoce como nutracéuticos o fitofármacos, y han tenido un crecimiento anual desde el 2000 de un 5% (Quesada & Murillo, 2019).

En Costa Rica, los productos naturales están regulados por el RTCA 10.03.64:11 “Productos Farmacéuticos Naturales Medicinales para Uso Humano, Requisitos de Registro Sanitario”, por lo que para la identificación de un producto se debe presentar una fórmula cualitativa y cuantitativa del producto, pero no se especifican claramente aspectos de los principios activos que deben contener los productos naturales. Este tipo de medicamento, requiere de rigurosos controles de calidad en los que se requieren métodos de cromatografía líquida (HPLC), acoplados a espectrometría de masas para poder identificar los distintos componentes que proporcionan la acción terapéutica del producto, además de cuantificarse. (Quesada & Murillo, 2019).

Características de la preformulación.

Preformulación es la caracterización de las propiedades físico-químicas y químicas y biofarmacéuticas del fármaco y el estudio de la influencia que tienen sobre ellas los excipientes y el proceso tecnológico, con el objetivo de generar información útil para la formulación en el desarrollo de una forma de dosificación estable y biodisponible (Andario, 2013).

Dentro de los aspectos previos por tener en cuenta en la etapa de preformulación están las propiedades farmacodinámicas, las características de la patología, características biofarmacéuticas, físico-químicas, químicas y farmacotécnicas. Todos estos aspectos deben ser considerados dentro del estudio para una correcta formulación (Andario, 2013)

Según Andario (2013), el diseño de una preformulación farmacéutica describe los procesos por los que se caracteriza física y químicamente al principio activo antes de formularlo, y de esa manera anticipar posibles errores que se puedan presentar durante una formulación medicamentosa para lograr un producto fiable, seguro y eficaz, por estas razones, las preformulaciones se rigen bajo parámetros como:

Principio activo.

El principio activo se califica como una sustancia dotada de un efecto farmacológico específico o que, sin poseer actividad, al ser administrado en el organismo la adquiere luego que sufren cambios en su estructura química, cuando cambia de forma física el principio activo, la cual facilita la dosificación del o de los principios activos para que puedan ejercer su acción en el lugar y tiempo (RTCA, 2017).

Compatibilidad principio activo- excipiente.

Una formulación farmacéutica sólida, estable y eficaz siempre va a depender de que se utilice o seleccione los excipientes correctos para esta forma facilitar la administración, conseguir una liberación y una biodisponibilidad mantenidas, así como proteger el fármaco de panoramas que causen degradación. Del mismo modo, en análisis de compatibilidad se puede recurrir a análisis térmico para investigar y predecir las interacciones fisicoquímicas entre los componentes de un preparado, y de esta forma seleccionar los excipientes adecuados y compatibles químicamente para evitar todo tipo de interacción (Vargas, 2013).

Excipiente según Handbook.

El Manual de Excipientes Farmacéuticos y la farmacopea de los Estados Unidos de América (USP) definen los “excipientes” como cualquier componente que se agrega a la formulación de una forma farmacéutica, el cual es diferente del principio activo. La comisión internacional de los excipientes los define como sustancias aparte del principio activo, que se encuentran en una forma de dosificación, las cuales ya han sido evaluadas de manera apropiada en su seguridad y que son incluidas en un sistema de suministro de fármacos para ayudar en su procesamiento o manufactura,

con la finalidad de proteger, apoyar y mejorar la estabilidad, biodisponibilidad o aceptabilidad por el paciente (Villafuerte, 2011).

Orégano

Características del orégano.

El nombre “orégano” comprende más de dos docenas de diferentes especies de plantas, con flores y hojas que presentan un olor característico a “especioso”. Las hojas secas del *Origanum vulgare*, nativo de Europa y del *Lippia graveolens*, planta nativa de México, son de uso culinario común. El género *Origanum* pertenece a la familia *Lamiaceae*, mientras que el *Lippia graveolens*, a la familia *Verbenaceae* (Arcila *et al.*, 2004, p.1).

Es una planta cuya raíz es leñosa, fina y con múltiples ramificaciones; sus tallos son erguidos, redondos y pilosos, ascendentes, de altura mide aproximadamente 30 a 80 cm, es veloso, rojizo, así como ramificado en la cúspide. Sus hojas son anchas, pilosas, opuestas y ovaladas, sus extremos pueden encontrarse de forma redonda o puntiaguda. Sus flores están sujetadas por cortos pedúnculos, su inflorescencia muestra una forma oval presentando flores rojas o blancas bilabiadas, rosadas o purpuras; sus frutos son aquenios. (Gimeno, 2013, p. 23)

Además, el orégano presenta una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos patógenos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, entre otros. Existen además algunos informes sobre el efecto antimutagénico y anticarcinogénico del orégano, sugiriendo que representan una alternativa potencial para el tratamiento y/o prevención de trastornos crónicos como el cáncer (Arcilla *et al.*, 2004, p.3).

De esta manera el orégano presenta actividades muy importantes que pueden ser de gran utilidad en el campo de la salud, siendo esta de gran interés ya que se pueden prevenir o tratar adecuadamente las enfermedades provocadas por bacterias pudiendo contemplarse como una posible opción de producto farmacéutico innovador para tratarlas.

Descripción taxonómica de *Origanum vulgare*.

Mayorga, Gutiérrez & Rueda (2007) describen la ubicación taxonómica del *Origanum Vulgare L.* como la especie que abunda en Nicaragua, de la siguiente manera:

Tabla 5

Descripción Taxonómica *Origanum vulgare*

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Asteriadae</i>
Orden	<i>Lamiales</i>
Familia	<i>Lamiaceae</i>
Tribu	<i>Ocimeae</i>
Genero	<i>Plectranthus</i>
Especie	<i>Origanum Vulgare</i>

Fuente: Mayorga, Gutiérrez & Rueda, 2007.

Partes por utilizar del *Origanum vulgare*.

Del *Origanum vulgare* se utilizan principalmente las hojas y los ápices florales, los cuales son recolectados en el verano en plena floración. Las hojas tanto como los ápices florales pueden ser secados en lugares oscuros y ventilados, pero se recomienda efectuarlo muy rápidamente después de la recolección porque los aceites esenciales son muy volátiles, por lo tanto, podría perder parte de sus propiedades (Petrocchi, 2018).

Propiedades del *Origanum vulgare*

Entre las propiedades que posee el *Origanum vulgare* se encuentran las siguientes:

Tabla 6

Propiedades del *Origanum vulgare*.

Analgésico	Cicatrizante
Antiinflamatorio	Antibiótico
Diurético	Antiséptico

Bactericida	Expectorante
Colaborador de los jugos gástricos	Carminativo

Fuente: Elaboración propia, 2021.

1. Combate la gastritis: Los principios activos del *Origanum vulgare* ayudan a combatir los síntomas de la gastritis y reparar los posibles daños sufridos en el tracto digestivo, como puede ser el tejido mucoso.

2. Propiedades digestivas: Posee efectos activos como el ácido cafeico, el borneol, el carvacrol o el timol, los cuales ayudan a mejorar y regular todo el sistema digestivo y combatir problemas como los espasmos intestinales.

3. Enfermedades respiratorias: El *Origanum vulgare* es uno de los mejores antihistamínicos que existen, pues además posee propiedades antiinflamatorias y efectos antibióticos que ayudan a los tratamientos que combaten diferentes enfermedades, así como también afecciones respiratorias como la gripe, mucosidad y resfriado.

4. Propiedades antiinflamatorias: En casos de inflamación muscular, es recomendable tomar *Origanum vulgare* por sus beneficios ya que es un buen antiinflamatorio natural.

5. Propiedades carminativas: Los principios activos del *Origanum vulgare*, como el timol y el carvacrol, poseen propiedades contra flatulencias y otras molestias, siendo un buen antiespasmódico y carminativo.

Mecanismo de acción.

La composición química que presenta el aceite esencial de orégano pertenece al quimiotipo timol, el cual es un efectivo agente antimicrobiano. Teniendo en cuenta que el mecanismo de acción del timol es semejante al del carvacrol, ya que su estructura química es similar, el timol es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, permitiendo la salida de lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática (Healender *et al.*, 1998).

Juven *et al.* (1994) estudiaron el mecanismo de acción del timol contra *S. thiphymurium* y *S. aureus*, concluyendo que este agente antimicrobiano une las proteínas hidrofóbicas de la membrana mediante puentes de hidrógeno, cambiando las características de permeabilidad, señalaron que el timol cambia la permeabilidad de la membrana de la célula microbiana, dejando

que se filtren los constituyentes químicos esenciales para el metabolismo tales como iones, ATP, ácidos nucleicos y aminoácidos, estos efectos provocan una disminución en la carga celular total.

Composición Química

Sobre la composición química del orégano, y sus aceites esenciales se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano (Arcila-Lozano et al., 2004), también se han encontrado ácidos coumérico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vainillínico (D'Antuono et al., 2000). En el aceite de orégano que crece en forma silvestre se ha observado que un incremento en los porcentajes de timol provoca una disminución en el contenido de carvacrol (Albado et al., 2001).

El aceite esencial de orégano y su uso como fitofármaco.

El *Origanum vulgare*, planta aromática con diferentes propiedades medicinales, puede ser procesada por diferentes tipos de extracción para obtener metabolitos ya sea de aceite esencial, extracto hidroalcohólico o extracto acuoso, esta planta es utilizada como alternativas de solución frente a enfermedades causadas por bacterias, considerando que hoy en día por diversos agentes externos las bacterias han ido evolucionando y con ello su resistencia frente a ciertos antibióticos, dejando así a la población a un inherente estado crítico sobre su salud (Bandoni, 2014).

Una de las vías de administración de los aceites esenciales es la vía tópica, por lo que se recomienda como vehículo en un gel o crema hidrosoluble, de esa manera se evitará alguna reacción alérgica. La piel es un órgano permeable a sustancias liposolubles y poco permeable a sustancias solubles en agua; además, puede absorber moléculas pequeñas de los aceites esenciales mediante la ruta de permeación transcelular mediante el estrato córneo, también la absorción transdérmica es rápida, más aún si la piel está alterada, por lo que se debe tener en cuenta para evitar algún tipo de alergias (Requeo, 2020).

El *Origanum vulgare* es una de las especies que brinda una mayor cantidad de aceite esencial por la técnica arrastre por vapor de agua; sin embargo, un compuesto activo llamado fenol es muy utilizado en tratamiento antimicótico y antibacteriano también contiene fenoles en su composición química, es abundante en timol, ácidos fenolcarboxílicos, 2 flavonoides, taninos, triterpenos, entre otros. El desarrollo de la farmacéutica se inicia con la identificación de principios activos de las plantas, bajo análisis biológicos, la formulación de la dosis, seguida por estudios

clínicos para establecer la seguridad, eficacia y perfil farmacológico de las nuevas drogas (Bandoni, 2014).

Determinación de la CMI de las preformulaciones a diferentes concentraciones.

Por otro lado, respecto a la acción antimicótica de las sustancias, existen diferentes métodos para determinarla, como la concentración mínima inhibitoria (CMI), que se define como la concentración más baja de una sustancia antimicrobiana que impide el desarrollo y crecimiento visible de un microorganismo. La concentración se determina incubando cierta cantidad de microorganismos con diluciones establecidas del agente antimicrobiano (ISO 20776, 2006).

Según Oussalah (2007), el aceite de orégano en concentraciones de 0.1% no promovió la inhibición del crecimiento bacteriano, por la baja concentración de este, y que en concentraciones de 0.5%, 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% y 50% presentaron formación de halos de sensibilidad, pero no presentaron una significativa variación en la formación del halo obteniendo valores de 6 mm, 8 mm, 8 mm, 9 mm, 9 mm, 9 mm, 9 mm, 9 mm respectivamente, la constancia entre los resultados observados probablemente se dan debido a la influencia del etanol.

Un estudio realizado en el año 2018 encontró que no hay diferencia en la susceptibilidad al AEO, de cepas de *S. aureus*, observándose que el AEO tiene actividad antimicrobiana. En este estudio se determinó valores de 6.62% para timol y 72.25% para carvacrol. Ellos concluyen que el alto porcentaje de carvacrol altera la pared bacteriana y otras estructuras celulares produciendo la muerte de la bacteria y que el orégano puede ser una alternativa al uso de antibióticos en infecciones bacterianas susceptibles a antibióticos (Lu Dai, 2018).

En el año 2017 en México determinó que el timol y carvacrol alteran la pared celular y la membrana citoplasmática; además de alterar la síntesis de ARN, la actividad ATPasa. El AEO causa desequilibrio en la presión osmótica intracelular debido a la fuga de contenido citoplasmático producto de la lesión a nivel de la pared celular y la membrana citoplasmática, la formación de vacuolas citoplasmáticas puede llegar a producir la necrosis celular (Tapia, 2017).

Componentes del aceite esencial de orégano.

En el aceite del orégano se ha encontrado la presencia dominante de carvacrol y timol, los aceites esenciales de especies de *Lippia* contienen limoneno, cariofileno, r-cimeno, canfor, linalol, a-pineno y timol, los cuales pueden variar de acuerdo con el quimiotipo. En extractos metanólicos

de hojas de *L. graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina, dimetilsecologanosido, ácido logánico, Composición química del Orégano 44 flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina (Arcila y Loarca *et al.*, 2004, p.3)

De acuerdo con Valverde (2017): “El aceite esencial se produce en el protoplasma de las células secretoras denominadas glándulas exógenas o endógenas, encontradas en forma de gotas en túbulos glandulares u órganos secretores internos de la planta”.

La composición química del *Origanum vulgare*, usando extractos acuosos y sus aceites esenciales, han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano. En los componentes químicos del *Origanum vulgare* se ha destacado la presencia de Timol 67,51% como mayoritario, seguido por p-Cimeno 11,66%, γ -Terpineno 5,51%, cariofileno 5,38%, óxido de cariofileno 2,22%, trans- α Bergamoteno con 1,65%, Eugeno 11,49% y α -Bergamoteno 1,32%, que representan más del 80% del total de componentes químicos presentes en el aceite esencial de la planta de *O. vulgare*, según estudio de Valverde (2017, p. 20).

Componente	% TR(min)	
1 α -Tujeno	0,77	13,08
2 α -Pino	0,52	13,38
3 Sabineno	4,44	14,64
4 β -Pino	0,23	14,87
5 β -Mirceño	1,44	15,01
6 α -Felandreno	0,32	15,72
7 α -Terpineno	5,57	16,06
8 o-Cimeno	2,73	16,30
9 1-metil-5-(1-metileténil)- Ciclohexeno	1,98	16,47
11 β -cis-Ocimeno	0,16	16,85
12 γ -Terpineno	11,8	17,37
14 1-metil-4-(1-metiletíden)- Ciclohexeno	1,57	18,25
15 β -Linalool	0,81	18,57
16 Cis- β -Terpineol	20,68	18,82
17 Trans-1-metil-4-(1-metiletíl)-2- Ciclohexen-1-ol	1,39	19,53
20 L-4-terpineol	10,09	21,30
21 α -Terpineol	2,5	21,69
27 Timol	11,90	24,24
28 Carvacrol	1,7	24,51
29 β -Cariofileno	3,31	28,21

Nota: TR = Tiempo de retención

Figura 56. Composición química de *Origanum vulgare* por CG-MS.

Fuente: Altoandín, 2020, Vol 22 Nro 1.

Comentado [AAW20]: Formato de título

Esto se visualiza más como una tabla que una figura. Además debe indicar el significado de las abreviaturas en los inicios de columna

Beneficios de los componentes del aceite esencial

El aceite esencial de orégano posee actividades antioxidantes, antimicrobianas, antiparasitarias, estrogénicas, antigenotóxicas e insecticidas (Arcila y Loarca *et al.*, 2004, p.3)

Tabla 7

Actividad metabólica que presentan los tipos de orégano.

Actividad	Género
Antioxidante	<i>Origanum</i>
	<i>Lippia</i>
Antimicrobiana	<i>Origanum</i>
	<i>Lippia</i>
Antiparasitaria	<i>Origanum</i>
	<i>Lippia</i>
Antiestrogénica	<i>Origanum</i>
	<i>Lippia</i>
Insecticida	<i>Origanum</i>

Fuente: Elaboración propia con base en Arcila *et al.* (2004).

Comentado [AAW21]: Formato de título

Esto parece ser mejor describirlo que tabularlo ya que prácticamente todo se relaciona al mismo parámetro o característica, en este caso el género

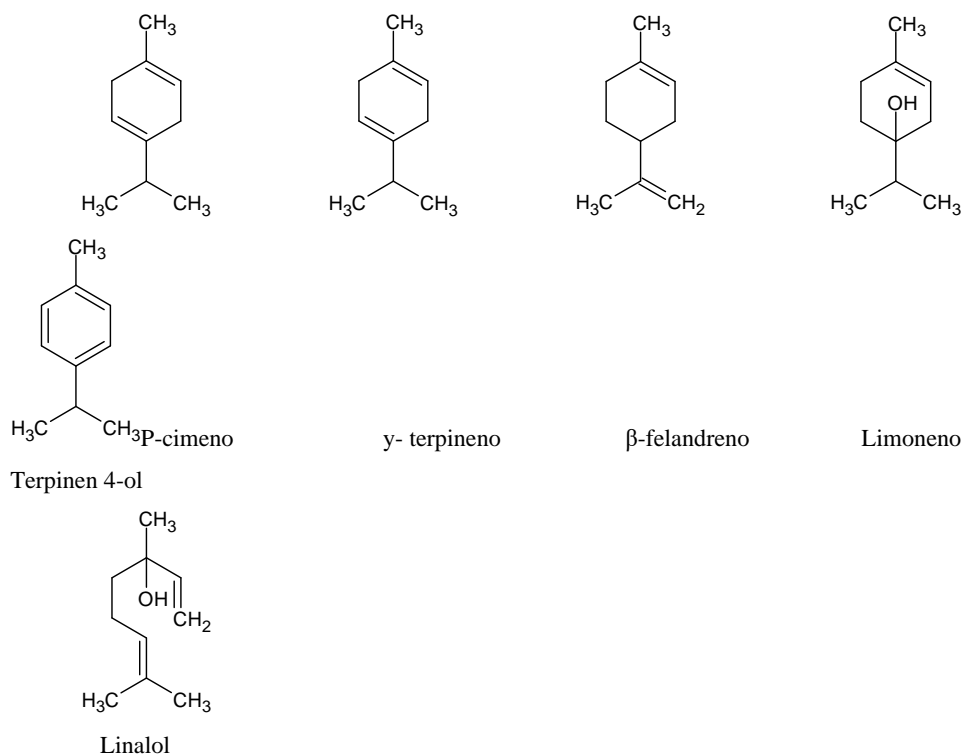


Figura 67. Estructuras compuestos AEO.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Timol

El timol (2-isopropil-5-metilfenol) es una sustancia cristalina incolora, con un olor característico, que está presente en la naturaleza en los aceites esenciales del tomillo o del orégano. El timol pertenece al grupo de los terpenos, un isómero del timol es el carvacrol, el timol se caracteriza por su poder desinfectante y fungicida. Por su sabor agradable, está presente en la formulación de diversos enjuagues bucales, pastas de dientes, entre otros. Una disolución del 5% de timol en etanol se utiliza para la desinfección contra hongos. En veterinaria, se aplica igualmente contra infecciones dermales y para estimular la digestión. En apicultura se usa para combatir un ácaro parasitario de la abeja llamado varroa (Loarca, 2004).

Comentado [AAW22]: Formato

Es necesario organizar mejor las estructuras e indicar el nombre de cada una.

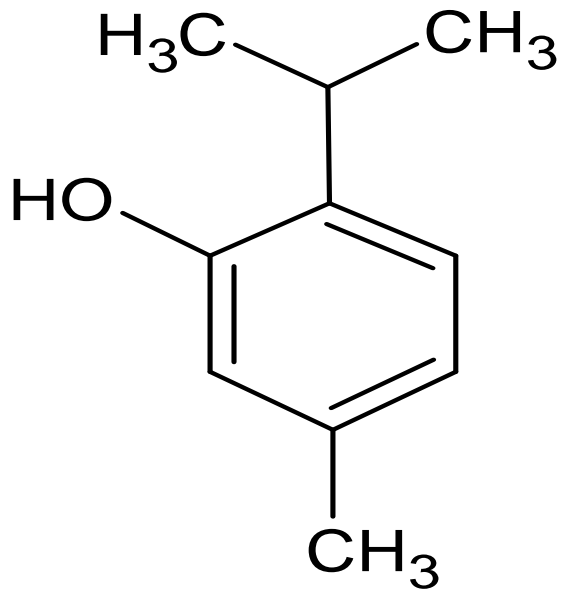


Figura 78. Estructura química timol.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW23]: Formato

Sugiero reducir el tamaño de la figura a la mitad

Tabla 8

Datos fisicoquímicos del timol

Fórmula	C₁₀H₁₄O
Masa molecular	150.22 g/mol
Punto de fusión	49 - 51 °C
Punto de ebullición	232 °C
Punto de inflamación	107 °C

Comentado [AAW24]:

Comentado [AAW25]: Emplee los subíndices respectivos

Presión de vapor	2.5 Pa a 25 °C
Densidad de líquido	0.97 g/cm ³ (20 °C) 0.93 g/cm ³ (70 °C)
Solubilidad	0.98 g/L en agua a 25 °C 1000 g/L en etanol 1428 g/L en cloroformo
LD50	980 mg/kg

Fuente: Elaboración propia, 2020.

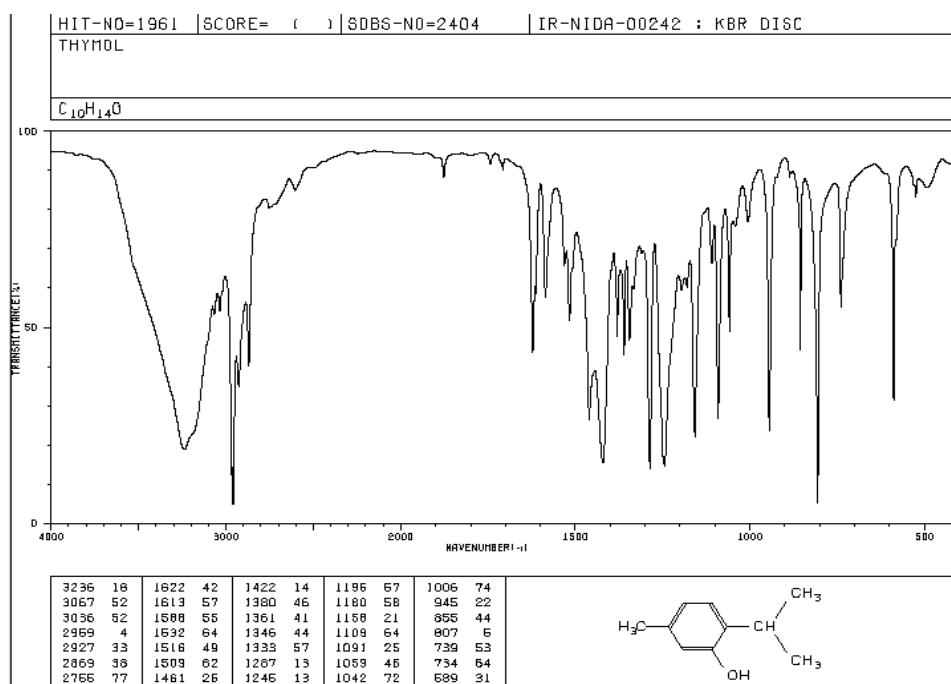
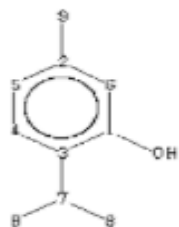
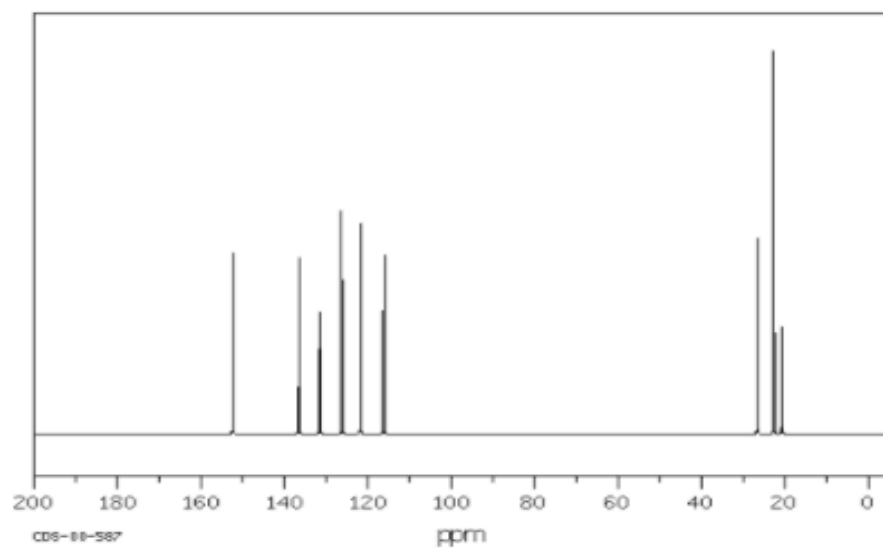


Figura 89. Espectro IR del timol.

Fuente: Spectral Database for Organic Compounds (1999).



ppm	Int.	Assign.
152.49	471	1
136.57	459	2
131.61	318	3
126.28	588	4
121.82	548	5
116.24	465	6
26.74	518	7
22.78	1808	8
28.79	288	9

Figura 240. NMR timol.

Fuente: Spectral Database for Organic Compounds, 1999.

Carvacrol

El carvacrol (3-isopropil-6-metilfenol) es un fenol de monoterpenoide. Esto tiene un olor característico a acre, provoca una sensación como a caliente, tiene un olor parecido al orégano y un sabor parecido a una pizza (Loarca, G., 2004).

Comentado [AAW26]: Revisar este nombre, parece que este no es el correcto

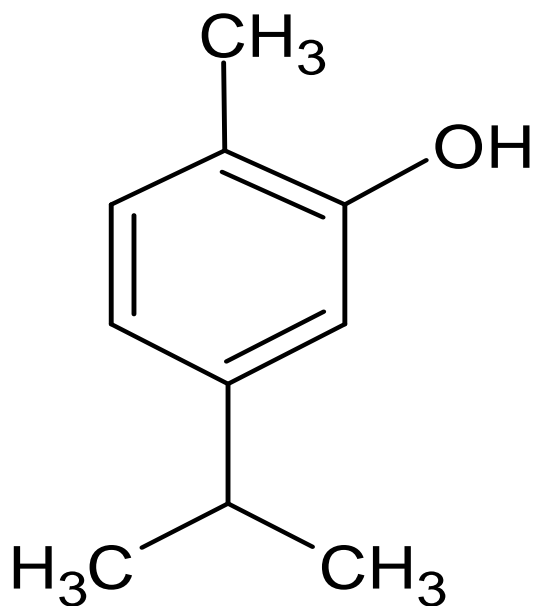


Figura 1044. Estructura química carvacrol.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

El carvacrol está presente en el aceite esencial de *Origanum vulgare*, en el aceite de tomillo y en el aceite bergamota salvaje. El aceite esencial de subespecies de tomillo contiene entre el 5% y el 75% de carvacrol, mientras la subespecie Satureja (sabrosa) tiene un contenido entre el 1% y el 45%. La especie *Origanum majorana* y *Dittany de Creta* es rica en carvacrol. (Loarca, 2004).

Tabla 9

Datos fisicoquímicos del carvacrol

Comentado [AAW27]:

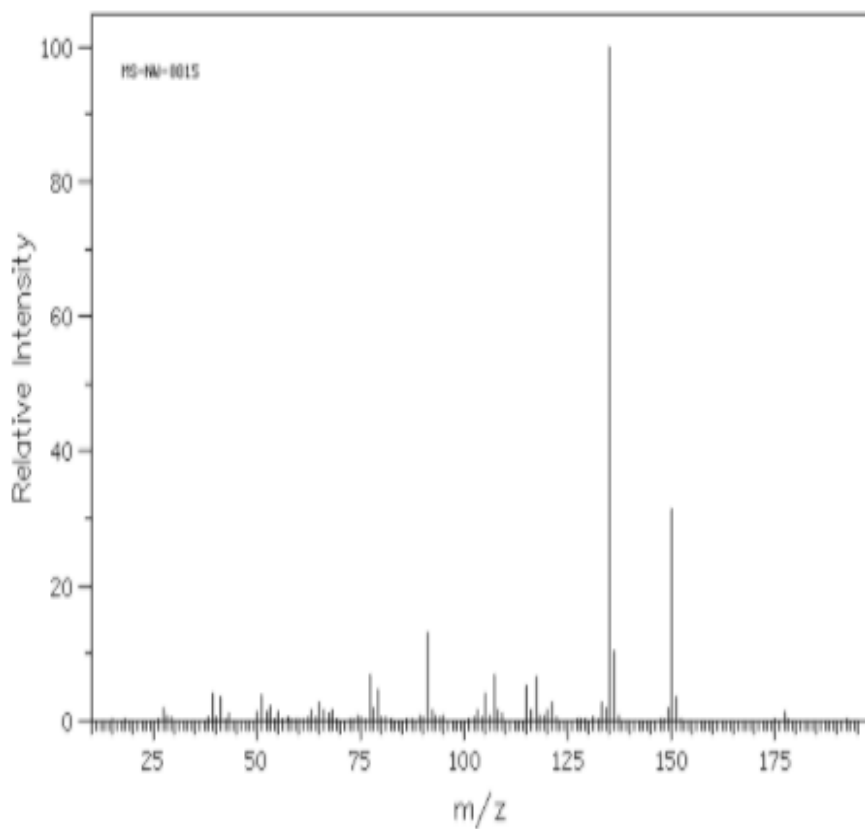
Fórmula	C₁₀H₁₄O
Masa molecular	150.22 g/mol
Punto de fusión	1 °C
Punto de ebullición	273.7 °C
Solubilidad en agua	Ligeramente soluble
Densidad de líquido	0.977 g/cm ³ (20 °C)
Solubilidad	0.98 g/L en agua a 25 °C etanol

Fuente: Elaboración propia, 2021.

SDBS-Mass

MS-NW-0815
carvacrol
C₁₀H₁₄O

SDBS NO. 2948
(Mass of molecular ion: 158)



Source Temperature: 228 °C
Sample Temperature: 158 °C
Reservoir, 75 eV

Figura 1172. Masa molecular carvacrol.

Fuente: Spectral Database for Organic Compounds, 1999.

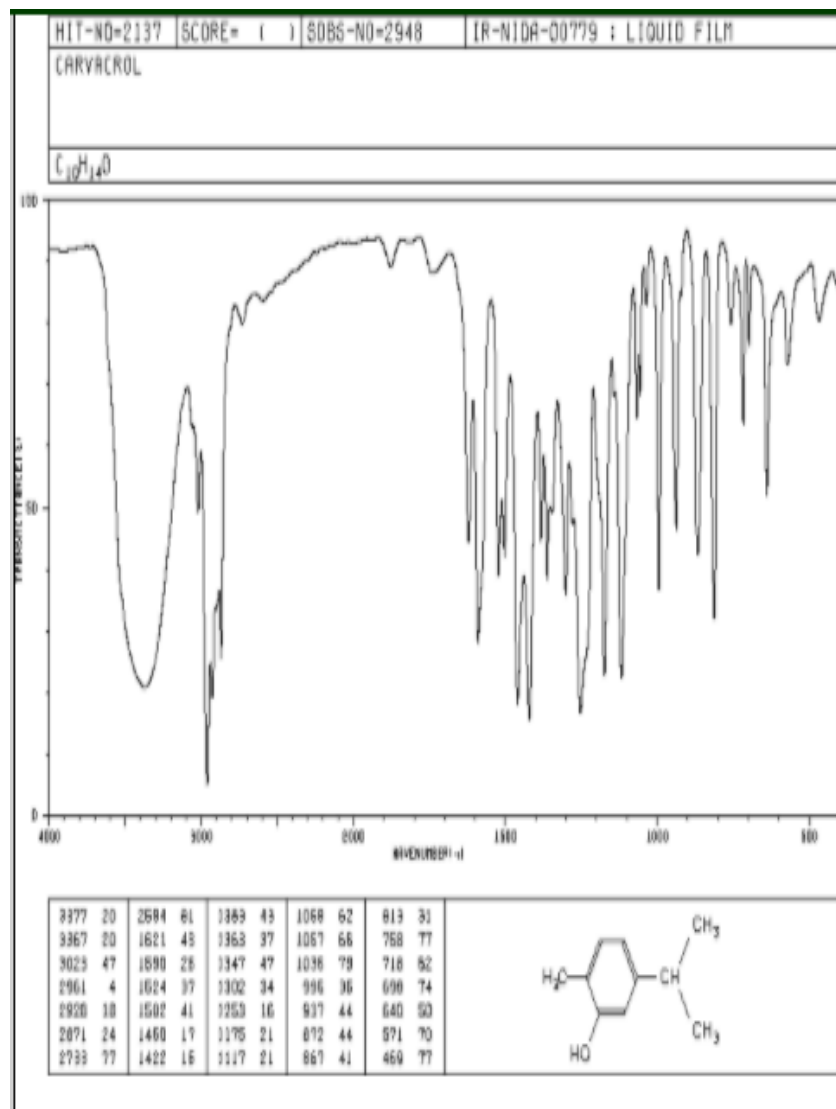
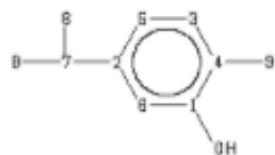
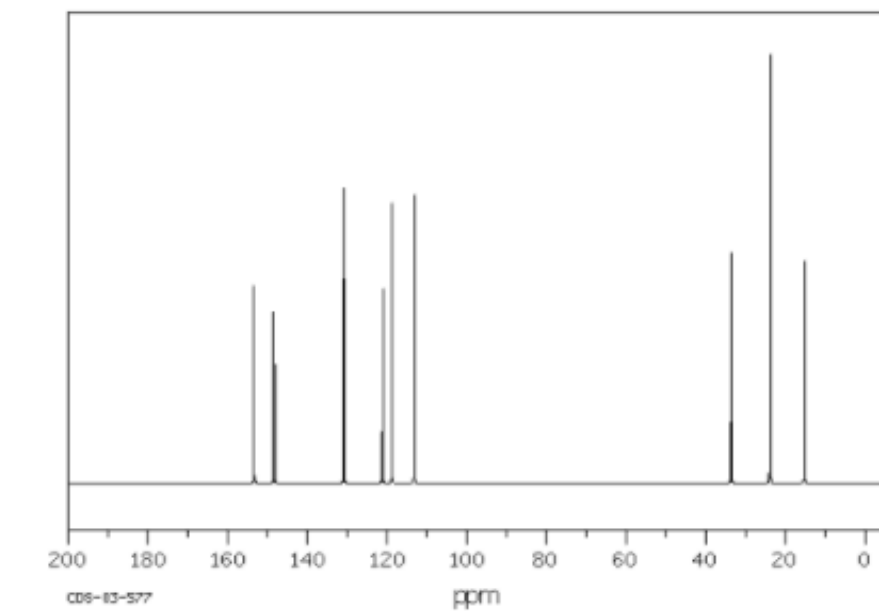


Figura 1243. IR carvacrol.

Fuente: Spectral Database for Organic Compounds, 1999.



ppm	Int.	Assign.
153.52	458	1
148.42	398	2
130.92	687	3
121.21	453	4
118.90	652	5
113.23	672	6
33.68	537	7
23.95	1000	8
15.35	517	9

Figura 1344. NMR carvacrol.

Fuente: Spectral Database for Organic Compounds, 1999.

Actividades de los componentes del aceite esencial de orégano.

El aceite esencial de orégano posee actividades antioxidantes, antimicrobianas, antiparasítica, estrogénica, antígenotóxica e insecticida, donde el mecanismo de acción antimicrobiano se debe al efecto sobre los fosfolípidos de la capa externa de la membrana celular bacteriana, provocando cambios en la composición de los ácidos grasos (Arcila y Loarca *et al*, 2004, p.3).

Método de extracción del aceite esencial.

Los métodos convencionales utilizados para la extracción de aceites esenciales son la destilación con arrastre de vapor y el uso de solventes orgánicos, por consiguiente, para este trabajo de investigación se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor.

Este proceso lleva a cabo la “vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla sólida previamente macerada o triturada para favorecer el contacto entre fases”, para ello, se hace pasar o inyectar vapor de agua directamente en la mezcla sólida. Esto facilita que el paso del vapor por la mezcla arrastre el componente volátil y posteriormente, mediante un sistema de enfriamiento se pasa a fase líquida en el cual se tendrá una mezcla inmiscible agua aceite esencial.

Este método se caracteriza por su bajo costo, sencillo, sin embargo, tiene el inconveniente que requiere de tiempo prolongado y bajos rendimientos por evaporización de los aceites esenciales, a la vez, que hay una alta posibilidad de descomposición por las altas temperaturas del vapor de agua (más de 90 °C). Es importante que el componente volátil no sea soluble en agua para evitar la miscibilidad y de esta forma poder separar los compuestos (Martínez, 2016, p.10).

Propiedades de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales son de aspecto oleoso, altamente volátiles, solubles en aceites, alcoholes, éteres de petróleo, tetracloruros de carbonos y demás solventes orgánicos; aunque le transmiten su perfume; son inflamables, responsables del aroma de las plantas, colores y sabores, a veces dulces o amargos, con densidad generalmente inferior a la del agua. Están compuestos en su mayor parte por hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que se encuentran con otros compuestos, casi siempre oxigenados (Caballero & Rodríguez, 2014).

Caballero & Rodríguez (2014) afirman que los aceites esenciales tienen numerosas aplicaciones en diferentes áreas de las industrias, tales como:

1. Industria cosmética y farmacéutica: se usa en los perfumes, conservantes, principios activos.
2. Industria de alimentos y derivados: tienen aplicación como potenciadores de sabor para todo tipo de bebidas, helados, galletas, golosinas productos lácteos.
3. Medicina: Algunos aceites esenciales se implementan en el tratamiento de heridas y quemaduras.
4. Aromaterapia

Composición química de un aceite esencial. Según Sánchez, M. F. (2006), el manual práctico de aceites esenciales está constituido por una gran variedad de sustancias compuestas mayoritariamente por la familia de hidrocarburos terpénicos y los minoritarios que son responsables del aroma característico de los aceites esenciales que están englobados en distintas familias. Los aceites esenciales se encuentran constituidos por:

1. Hidrocarburos terpénicos: terpenos y terpenoides
2. Aldehídos: aldehídos benzoicos, aldehído cinámico, butanal, propanal
3. Ácidos: acéticos, palmítico
4. Alcoholes: linalol, geraniol, mentol
5. Fenoles: anetol, eugenol
6. Esteres: acetato de linalilo, acetato de geranilo

“El aceite esencial se produce en el protoplasma de las células secretoras denominadas glándulas exógenas o endógenas, encontradas en forma de gotas en túbulos glandulares secretores internos de la planta”. El principal efecto del aceite esencial del orégano es antimicrobiano por, la presencia de metabolitos secundarios: carvacrol y timol, en menor grado, γ -terpineno y p-cimeno. Estos compuestos dañan la integridad de la membrana celular de las bacterias, afectando la homeostasis y el equilibrio de los iones inorgánicos. (Valverde, 2017, pág.20)

Método para la extracción de aceites esenciales.

El método de arrastre de vapor es uno de los métodos más descritos por la farmacopea, donde clasifica tres tipos de extracción, entre ellos la técnica de inyección de vapor de agua, la hidrodestilación y la destilación mixta, por ello es uno de las técnicas más empleadas por las industrias para la extracción de principios activos, en especial de aceite esenciales, este método consiste en colocar la muestra en un balón que según el cual puede estar en contacto con el solvente, que mediante un proceso será expuesta a una corriente de vapor de agua determinada por la temperatura y presión; pues la muestra es calentada por dentro, por lo que hace que el aceite esencial de la muestra sea arrastrada, condensado, recolectado y aislado de la fase acuosa, y dicho vapor va siendo procesado por un refrigerante o también llamado hidrodestilador el cual regula todo el proceso separando los componentes (Kukilinski, 2000).

Destilación por arrastre de vapor.

La destilación es una técnica de separación del material volátil y no volátil mediante el vapor de agua, el material volátil es arrastrado con el vapor de agua formando una mezcla, pasando luego a un condensador donde se separan en dos fases distintas por condensación, las principales características de los aceites esenciales en la destilación con vapor de agua es que estas sustancias son insolubles o poco solubles en agua y que dos líquidos volátiles los cuales no son mutuamente solubles, evaporan juntamente a una temperatura menor que el punto de ebullición de uno u otro; de este modo cada sustancia volátil en un aceite esencial es elevado por el vapor y la mezcla tiene un punto de ebullición ligeramente menor a 100° C (Kukilinski, C, 2003).

Los aceites esenciales son más livianos que el agua de igual manera es insoluble en ella por esta razón se pueden separar por decantación. El vapor tiende a recalentarse por la resistencia opuesta a su paso por el material y esto debe evitarse en lo posible, debido a que seca las membranas celulares e impide la salida del aceite. En este tipo de destilación los factores como el tamaño de partícula del material vegetal y el tiempo de extracción influyen en la composición y rendimiento de los aceites que se obtienen. Estudiando el efecto del tamaño de partícula y el tiempo de extracción en el rendimiento del aceite esencial, se ha observado un mayor rendimiento cuando se trabaja con menores tamaños de partícula y tiempos de extracción prolongados (Arango, Hurtado, Castillo & Santacruz, 2009).

Estabilidad del principio activo en sólido.

Los productos cuentan con un periodo establecido de caducidad de 3 años, su potencia no debe bajar del 95% en las condiciones de conservación recomendadas, el producto debe representar el mismo aspecto, actuar igual que el día de fabricación, un fármaco puede degradarse por condiciones de hidrólisis, oxidación, solvólisis, fotólisis, por lo que el principio activo debe someterse a condiciones de tensión las cuales son utilizadas para valorar la estabilidad en la fase de la preformulación (Vargas, 2013).

Formas farmacéuticas semisólidas de aplicación tópica.

Grupo de preparados farmacéuticos muy heterogéneo, que se caracterizan por ser más viscosos que el agua y tener una consistencia semisólida. Están destinados a ser aplicados sobre la piel o ciertas mucosas para ejercer una acción local que penetren los medicamentos que contienen, están formados por una base simple o compuesta, también llamada excipiente, en la que se disuelven con uno o varios principios activos. Esta base puede ser terapéutica y modificar la cesión del principio activo (López *et al.*, 2015)

Además, suelen contener otros excipientes como antioxidantes, antimicrobianos, estabilizantes y emulgentes. La diferencia básica entre las diferentes formas semisólidas es el contenido de agua, de forma que un ungüento no contiene nada de agua, mientras que una pomada contiene más cantidad de agua que un ungüento, pero menos que una crema (López, B. *et al.*, 2015).

Permeabilidad o barrera de la piel.

Los lípidos segregados por el epitelio se disponen en forma de mosaico que impide la pérdida de agua a través del epitelio y permite la hidratación de los queratinocitos. La integridad del estrato córneo va a determinar el porcentaje de la pérdida transepidérmica de agua, que se conoce con el acrónimo inglés de TEWL. Esta TEWL muestra variaciones entre los distintos individuos y las diferentes partes del cuerpo (Camacho, 2018, p.22).

Otra función de la piel es impedir la entrada de agentes ambientales; no obstante, una sustancia logrará penetrar el epitelio dependiendo de la integridad de la capa córnea y del peso molecular. En cualquier caso, la permeabilidad de la piel dependerá de cuatro factores: 1) contenido

de lípidos en el estrato córneo, 2) grado de hidratación de las capas cutáneas, 3) tamaño de los corneocitos, 4) grosor del estrato córneo. De ellos, el más importante en la «función barrera» son los lípidos (Camacho, 2018, p.22).

La piel también posee una acción bacteriostática. Para dicha acción es necesaria la presencia de todo el manto ácido-lipídico ya que los lípidos sebáceos tienen propiedades antibacterianas y los gluco fosfolípidos y los ácidos grasos libres del estrato córneo tienen efectos bacteriostáticos. Sin duda, también influye el pH ácido y, de su acción conjunta, se logra eliminar de la superficie cutánea a *Streptococcus pyogenes* en un día y a *Staphylococcus aureus* en tres (Camacho, 2018, p.22).

Calidad por diseño.

El concepto de calidad por diseño ha sido un enfoque clave para la industria farmacéutica y es el estándar en el moderno desarrollo de procesos farmacéuticos, las nuevas implementaciones de los principios basados en calidad (QbD), proporcionan nuevos medicamentos de alta calidad sin sobrecostos. Entidades regulatorias como la agencia Europea de Medicamentos (EMA), la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), consideran que el QbD, forma parte de un elemento esencial en el proceso de desarrollo y optimización para obtener un nuevo medicamento (Cardoso, 2016).

La implementación de un sistema basado en QbD surge de un mejor diseño del producto, reducción de problemas en la producción, comprensión y mitigación del riesgo, además permite la implementación de nuevas tecnologías de producción, proporcionar un mejor conocimiento de los procesos y un mejor modelo de negocio, entre otros beneficios deseables (Cardoso, 2016).

Empleo de Qbd en la fabricación de fármacos de uso tópico.

Se efectuó estudios en las plantas de *Origanum vulgare* con el fin de aportar información de utilidad para el desarrollo adecuado de una forma farmacéutica, con el objetivo de extraer sus aceites esenciales para la formulación de una crema dermatológica con propiedades antibacterianas que cumpla con todos los controles requeridos según el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.56:09), para ello se empleó el método de extracción por arrastre de vapor y se valoró su compatibilidad, así como propiedades físico-químicas del compuesto.

El fármaco de uso tópico es una formulación semisólida de uso externo y local que se suministra, que se aplica en el área corporal afectada, puede ser un gel, loción o ungüento, existen otras formas que también puede ser denominadas para uso tópico, como los polvos, aerosoles y soluciones. Desde la perspectiva de la calidad por diseño QbD, la aplicación de este tipo de formas farmacéuticas se basa en el entendimiento del proceso e identificación de posibles parámetros de afectación en la calidad del producto (Pharmaceutical Technology, 2017).

La fase del desarrollo en productos de uso tópico debe establecer la calidad deseada del perfil del producto (QTPP), que se establezca las características que se desean obtener en el producto una vez terminado, las características deben incluir el estado de la enfermedad por tratar, la forma farmacéutica, aspecto, cualidades estéticas, color, viscosidad, el tipo de envase, cierre, concentración del fármaco, pH y consideraciones microbiológicas (Pharmaceutical Technology, 2017).

Debe tener seguridad de que la producción de medicamentos se lleve a cabo bajo instrumentos de laboratorio que cuenten con certificados de calibración como instrumentos de medición de temperatura como termómetro, cromatógrafos, balanzas analíticas para dar certidumbre a los procesos productivos y así incrementar notablemente la calidad de los medicamentos por obtener (Pharmaceutical Technology, 2017).

Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA)

Comités Técnicos de Normalización por los cuales los entes de normalización de los países centroamericanos son los organismos encargados de realizar el estudio de las normas. Este se encargan de definir la calidad, las características organolépticas, especificaciones, estabilidad durante el tiempo de uso, forma farmacéutica, medicamento, y muestra de retención. También se encargan de realizar una evaluación técnica mediante el etiquetado y pruebas específicas.

Este trabajo de investigación se realizó conforme al reglamento del RTCA sobre las soluciones farmacéuticas.

Tabla 10

Pruebas cremas, ungüentos, pastas y geles según la RTCA

Comentado [AAW28]:

Cremas, ungüentos, pastas y geles	Características organolépticas Llenado mínimo pH Densidad Identificación de los principios activos Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Valoración, potencia o concentración de los principios activos Recuento microbiano
-----------------------------------	--

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano, 2013.

En el capítulo 3 de la USP se describen las pruebas de calidad, criterios y procedimientos para evaluar un producto elaborado para formas farmacéuticas de uso tópico, se clasifican en:

Tabla 11

Pruebas de calidad para productos de uso tópico

Comentado [AAW29]:

Descripción del producto	Uniformidad de dosificación de unidades
Identificación	Contenido de agua
Ensayo (concentración)	pH
Impurezas presentes	Contenido de conservantes antimicrobianos
Propiedades fisicoquímicas	Contenido de antioxidantes

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano, 2013.

Principio activo.

Sustancia con efecto farmacológico específico, que al ser administrado en el organismo adquiere una actividad o función específica luego de que sufre cambios en su estructura química, la forma farmacéutica es la forma física que se le da a un medicamento, la cual facilita la

dosificación de los principios activos para que puedan ejercer su acción en el lugar destinado y tiempo establecido (RTCA, 2017).

Medicamento de uso tópico.

Los medicamentos de aplicación tópica se dividen en dos categorías: medicamentos que se aplican para generar una acción localizada y los que se aplican para conseguir efectos sistémicos después de su absorción a través de la piel en el torrente sanguíneo. La acción localizada puede presentarse en la superficie del sitio de aplicación como el estrato córneo, epidermis o dermis y en tejidos subcutáneos como lo son músculo o articulación. Los medicamentos de aplicación tópica incluyen, entre otros, cremas, geles, ungüentos, pastas, suspensiones, lociones, espumas, atomizadores, aerosoles, soluciones y sistemas transdérmicos de liberación de fármacos (Convention, Medicamentos tópicos y transdérmicos - Pruebas de calidad del producto, 2017).

Cremas

Estas son formas farmacéuticas en emulsión semisólida, las cremas contienen más de 20% de agua y sustancias volátiles y por lo general contienen menos de 50% de hidrocarburos, ceras o polioles como vehículos tienen una consistencia relativamente suave y untable, y se pueden formular como una emulsión de agua en aceite como lo son crema fría o crema grasa tal como se cita en la Farmacopea Europea o como una emulsión de aceite en agua entre ella la crema de valerato de betametasona (Convention, Cremas, 2017, p. 1694).

Para la formulación se debe cumplir con las pruebas de calidad para valorar el producto final:

Tabla ~~12+8~~

Pruebas de calidad para valorar productos.

Pruebas Universales
Descripción
Color
Pruebas de identificación
Pruebas Específicas
pH

Comentado [AAW30]: No parece ser información para una tabla, sino para una serie de viñetas. La tabla requiere al menos de dos parámetros

Pruebas *in vitro*

Fuente: Elaboración propia, 2021

Ventajas y desventajas de las cremas

Coronel (2017, pp. 6-7) cita que las cremas suelen presentar ventajas y desventajas entre ellas cita las siguientes:

Tabla ~~1342~~

Ventajas y desventajas de las cremas

Ventajas	Desventajas
Ideales para lesiones	Incompatibilidad con numerosos principios
Fácil aplicación	activos
Son bien toleradas	Tendencia a desecación
Fácilmente toleradas	Se desperdicia producto al aplicar de más
	Si existen una lesión aumenta el riesgo de toxicidad

Fuente: Elaboración propia, con base en Coronel, 2017.

Clasificación de las cremas.

Existen dos tipos de cremas, las cuales son clasificadas en función de su excipiente principal, estas son:

Crema lipofílicas o emulsiones de agua dispersa en grasa

W/O (por su sigla en inglés), es decir agua en aceite, ideales para formular fármacos liposolubles. Cuando se aplican sobre la piel, y por el efecto del cambio de temperatura, se evapora el agua incorporada, provocando una sensación refrescante y la parte grasa se absorbe. No se mezclan con exudados de la piel y sudor, pero sí los absorben parcialmente. Se recomiendan en casos de piel seca o dermatosis crónica. Debido a su mayor proporción de grasa, no se quita con agua (García, B., *et al.*, 2015).

Cremas hidrofílicas o emulsiones de grasa en agua:

O/W (por su sigla en inglés), o aceite en agua. Son las más adecuadas para formular fármacos hidrosolubles. Tienen efecto evanescente, después de su aplicación, pierden el agua rápidamente sin dejar ningún residuo apreciable. Por la pequeña cantidad de grasa, tienen poco efecto oclusivo, y esta grasa se absorbe rápidamente en la piel. Se mezcla bien con exudados cutáneos. Son ideales para proteger la piel de la suciedad, pues se mezclan muy bien con las secreciones de la superficie cutánea. Debido a su pequeña proporción de grasa, no manchan y se lavan rápidamente con agua (García, B., *et al.*, 2015)

Características de las cremas.

1. Buena tolerancia (no irritación o sensibilización).
2. Inercia frente al principio activo, así como frente al material de acondicionamiento.
3. Estabilidad frente a factores ambientales para garantizar su conservación.
4. Consistencia apta a la extensión con la piel y puedan dispersarse en tubos.
5. Características organolépticas agradables.
6. Capacidad para reincorporar sustancias solubles en agua y aceite.
7. Capacidad para actuar en piel grasa o seca.
8. Facilidad para transferir rápidamente a la piel sustancias activas.
9. No deshidratar ni desengrasar la piel. (Torres, 2015, p. 8)

Caracterización química.

Al obtener los aceites esenciales, por medio de la técnica de destilación por arrastre de vapor, se debe realizar una serie de pruebas de identificación, como, por ejemplo: Cromatografía capa fina, Cromatografía de gases acoplada a masas, Espectroscopia del infrarrojo (IR), para las cuales se realizó una revisión de los conceptos fundamentales, utilizando como principal referencia artículos científicos y el libro *Análisis y control de medicamentos* (2005).

La cromatografía corresponde a un método experimental físico, el cual se encarga de separar, aislar e identificar los componentes de una mezcla conformada por una mezcla de dos o más sustancias químicas, así como también puede darse utilización y criterio para analizar

parámetros de pureza en la muestra con la que se trabaje. La separación de sus componentes, se distribuyen entre dos fases, una estacionaria (sólida o líquida) que cuenta con una gran área superficial y una móvil, encargada de pasar a través de la primera (Lamarque, Zygadlo, Labuckas, López, Torres & Maestris, 2008).

La cromatografía se basa en las solubilidades diferentes de las distintas sustancias con las que se trabaje, en relación con las dos fases, por esta razón durante este proceso se recalcan dos fenómenos bastante relevantes, los cuales son rectores de los procesos de separación: adsorción y partición. Por lo tanto, la separación de los componentes de la muestra en análisis se basa en una distribución selectiva de los solutos entre las fases. (Lamarque, *et al.*, 2008).

Cromatografía de capa fina

Según Salazar (2005), la cromatografía de capa fina es una de las técnicas más antiguas, que se desarrolla a partir de la columna de sílica gel, que luego se traslada a la cromatografía sobre papel. El papel es celuloso, con una funcionalidad limitada, y siempre húmedo de agua, con lo que las separaciones quedan limitadas a compuestos polares de baja masa molecular; el empleo de una de una capa de gel de sílice sobre un soporte rígido como el vidrio, y más tarde con la adición de sulfato cálcico, conduce al incremento del empleo de la técnica, para que se puedan ya separar compuestos de mayor complejidad molecular, y la técnica se populariza.

Se sigue hablando de una fase estacionaria hidrófila, sobre la que se desplaza una fase móvil rica en disolventes orgánicos, tamponados con sustancias inorgánicas u orgánicas. La utilización de esta técnica en el control de medicamentos ha quedado principalmente como técnica de identificación y semicuantitativa, salvo en el estudio de productos naturales, en su mayoría plantas y sus extractos.

La utilización de adsorbentes y eluyentes, en la fase estacionaria, los dos adsorbentes más utilizados corresponden al gel de sílice y la alúmina, ambos tienen un comportamiento polar. La alúmina anhidra es el componente más activo, debido a que retiene con mayor fuerza a los compuestos, razón por la cual es utilizada para separar compuestos relativamente apolares como (hidrocarburos, haluros de alquilo, éteres, aldehídos y cetonas). (Shoog, West, & Holler, 2020, p. 731).

El gel sílice, es utilizado para lograr la separación de sustancias más apolares, como lo son alcoholes, aminas o ácidos carboxílicos. El proceso de adsorción es producto de diversas

interacciones intermoleculares de tipo dipolo – dipolo o enlaces de hidrógeno que surgen entre el soluto y el adsorbente, por lo que el adsorbente debe ser de carácter inerte con las sustancias que se van a analizar y no actuar como catalizador en reacciones de descomposición (Shoog, West, & Holler, 2020, p. 731).

Tabla 1413

Eluyentes más comunes para cromatografía en capa fina.

Comentado [AAW31]: Formato

Éter de petróleo	Cloruro de metilo
n-hexano	Acetato de etilo
Ciclohexano	Acetona
Tolueno	iso-propanolol
Dietil-éter	Etanol
t-butil-éter	Metanol
Cloroformo	Ácido acético

Fuente: Shoog, West, & Holler, 2020.

IR infrarrojo.

Constituye una de las mejores herramientas para identificar compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos, siempre es una de las opciones a considerar ya que es un método mediante el cual es estudiada la absorción o emisión radiante originada por la interacción entre la radiación electromagnética y el material en estudio. Para la realización de espectroscopía infrarroja se requieren equipos relativamente comunes que pueden ser encontrados tanto en laboratorios universitarios como a nivel de la industria (Piqué & Viquez, 2012).

La espectroscopia de infrarrojo puede usarse para la identificación de sustancias puras o para identificación de impurezas, para localizar una impureza en una sustancia, se hace una

comparación en el espectro de las sustancias que se estudian y una muestra de la sustancia pura, las impurezas causan bandas de absorción adicionales, que aparecen en el espectro (Piqué & Viquez, 2012).

El método por IR se basa en que las moléculas cuentan con la posibilidad de rotar y vibrar a distintas frecuencias, es decir, la molécula tiene la capacidad de absorber la energía de fotones en el rango energético de IR en el caso de existir una diferencia en el momento dipolar de la molécula, mientras ocurre un movimiento vibracional rotacional y cuando la frecuencia asociada a la radiación resuena con el movimiento vibracional (Piqué & Viquez, 2012).

Una parte del espectro electromagnético, que se extiende desde 0.8 a 1000 μm , que corresponde al número de onda comprendidos entre los 12800 y los 10 cm^{-1} , se considera como la región del infrarrojo, la cual se divide en IR (cercano), IR (Medio) e IR (Lejos) (Shoog, 2011, p. 361).

Cromatografía de gases-Espectrometría de masas.

Herramienta analítica, la cual es eficiente para el estudio de la composición de los aceites esenciales, y muy adecuada para la identificación de cada uno de sus componentes. La muestra puede hacerse directamente al cromatógrafo, debido a que los componentes de los aceites esenciales son regularmente de bajo peso molecular y relativamente volátiles; este es un aspecto importante ya que se eliminan en gran medida las posibles modificaciones en la composición la estructura de los constituyentes. En el cromatógrafo, los componentes de la muestra se separan y pasan al espectrómetro de masas, donde se registra el espectro de cada una de los compuestos presentes en el aceite esencial. De esta forma los constituyentes de la muestra se pueden identificar mediante los patrones de fragmentación (Bauer *et al.*, 2001).

Con formato: Sangría: Primera línea: 0 cm

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

Enfoque de la Investigación

La presente investigación tiene un enfoque [descriptivo y exploratorio], Hernández, Fernández y Baptista (2003) definen estos enfoques como: “Estudios Descriptivos son aquellos que describen los hechos como son observados y los Estudios Exploratorios, también conocidos como estudio piloto, son aquellos que investigan por primera vez o son estudios muy pocos investigados. También se emplean para identificar una problemática”.

Comentado [AAW32]: Esto es el diseño?, el enfoque es cualitativo, cuantitativo o mixto

La investigación tiene un carácter [mixto] ya que, según Galeano (2007), una investigación mixta es un proceso que recolecta, analiza y vincula datos cuantitativos y cualitativos en un mismo estudio, o una serie de investigaciones para responder a un planteamiento del problema. Asimismo, el enfoque mixto puede utilizar los dos enfoques para responder distintas preguntas de investigación de un planteamiento de un problema.

Comentado [AAW33]: No se ve con claridad que este sea el enfoque; adicionalmente, más abajo muestra tabla de variables que pare ser exclusivamente cuantitativo

Se menciona que este estudio es secuencial y cada etapa antecede a la siguiente; se intenta probar una hipótesis con base en el análisis de resultados obtenidos, donde se establece una serie de conclusiones respecto a la hipótesis planteada desde un inicio, con esto se pretende incubar la bacteria *S. aureus* en cajas de Petri, en un medio favorecedor, donde la variable de la respuesta corresponderá al tamaño de los halos de inhibición producidos, preformulación del fitomedicamento.

Diseño de la Investigación

Investigación experimental.

Esta investigación será experimental pura, la cual se refiere a un estudio en el que se manipulan intencionalmente una o más variables independientes, para analizar las consecuencias que la manipulación tiene sobre una o más variables dependientes, dentro de una situación de control para el investigador. De esta manera la presente investigación tiene como fin poder demostrar, mediante los resultados obtenidos en el laboratorio, de manera experimental, el efecto que posee el aceite esencial de orégano frente a cepas del *Staphylococcus aureus*. (Sampieri, Fernández y Baptista, p.129).

Tabla 1544

VARIABLES DEL MÉTODO EXPERIMENTAL.

Objetivo Específico	Variable	Definición Contextual	Indicador	Instrumento
Extraer el aceite esencial de las hojas secas del <i>Origanum vulgare</i> (orégano) y hojas frescas del <i>Origanum vulgare</i> (orégano) de las partes aéreas de esta planta, utilizando agua como disolvente mediante la técnica de arrastre con vapor.	-Aceite esencial. -Técnica de arrastre con vapor.	Son sistemas naturales, complejos y multicomponentes compuestos principalmente de terpenos, además de algunos otros componentes no terpénicos (Edris, 2007, p.1).	Porcentaje de rendimiento del aceite esencial. R= rendimiento P2= Peso final P1= Peso inicial	Equipo de destilación por arrastre con vapor y equipo de rotavapor.
-Identificar las concentraciones y compuestos químicos del aceite esencial del orégano, mediante,	-Compuestos químicos del aceite esencial del orégano. -Técnica de cromatografía de gases	Un compuesto químico es una sustancia formada por la combinación química de dos o más elementos de la tabla periódica. Los compuestos son representados y	Porcentaje de compuesto: Timol 4.41 – 4.88 %, Carvacol 82.04-80.79%, Pcimeno 4.71- 5.24%.	Técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas.

<p>cromatografía de gases acoplado a masas (GCMS) y espectroscopía infrarroja</p>	de espectrometría de masas.	de por una fórmula química (Salas, 2018).			
<p>Diseñar formulaciones de fitomedicamento de uso tópico a diferente concentración para determinar cuál es la mejor para el tratamiento del <i>S. aureus</i> bajo la filosofía de calidad por diseño, a partir de los extractos obtenidos.</p>	Excipientes y variables de calidad	<p>Calidad por diseño: Filosofía de fabricación que basa la calidad del producto no tanto en la comprobación de sus especificaciones como un conocimiento profundo y un control exhaustivo del proceso de fabricación, apoyados en el análisis de riesgos (Pharmaceutical Technology, 2017).</p>	Desarrollo de producto y proceso a través de QbD. Análisis de riesgo para la formulación (QTPP).	Procedimiento de preparación de cremas, ungüentos y geles.	de
<p>Analizar la calidad antibacteriana del fármaco con aceite esencial de <i>Origanum</i></p>	Análisis de calidad	<p>Análisis de calidad: controlado que establece si un medicamento cumple con los requisitos legales declarados por</p>	Sistema <i>in vitro</i>	Pruebas de calidad del producto terminado	del

vulgare (orégano) en diferentes concentraciones en el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus*, por medio del método de medición de los halos de inhibición.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Preparación de las muestras.

El equipo utilizado para el secado del material vegetal orégano consistió en un horno de cocina, se eligieron las hojas de tamaño uniforme para que todas se sequen al mismo tiempo, las hojas se colocan, en una sola capa a través de una bandeja para hornear, no se superponen las hojas ya que lo que se quiere es que circule el aire entre ellas, se coloca la temperatura más baja, 200 °C, seguidamente se apaga el horno y se deja que las hojas se sequen adentro del horno mientras el calor se disipa lentamente.

Se secan dentro de 10 o 15 minutos, pero se dejan en el horno hasta que la temperatura esté completamente fría antes de retirar la bandeja. Cuando el orégano esté lo suficientemente frío se coloca en un recipiente hermético, se utilizaron equipos por arrastre de vapor, rotavapor, envases de color ámbar para el envasado de las muestras extraídas y tubos de ensayo para las pruebas de identificación.

Comentado [AAW34]: No queda claro, por cuanto tiempo se mantiene a esta temperatura.

Esa temperatura corresponde a la más baja?

Revisar esta redacción

Comentado [AAW35]: Mejorar la redacción para brindar mayor claridad de lo realizado



Figura 1415. Horno utilizado para el secado de hojas de orégano.

Fuente: Elaboración propia, 2021.



Figura 1546. Hojas frescas de orégano.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW36]:



Figura 1647. Hojas secas de orégano.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW37]:

Procedimiento para la Obtención de los Extractos de las Drogas Vegetales por Utilizar

Las muestras de orégano fueron adquiridas en forma fresca en San Carlos de Alajuela:



Figura [1718](#). Hojas frescas de orégano.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW38]:

1. Recolectar 500 g de las muestras botánicas del material vegetal por utilizar, en este caso orégano.
2. Cortar con el cuchillo las hojas en trozos pequeños.
3. Extraer y separar las hojas para utilizarlas posteriormente en el proceso de extracción.



Figura 1849. Hojas secas orégano.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW39]:

1. Recolectar 500 g de las muestras botánicas del material vegetal por utilizar, en este caso orégano.
2. Proceder a secar las hojas en un horno.
3. Vigilar el material vegetal durante 15- 20 min a una temperatura de 200 °C y dejar enfriar ~~para~~ luego retirar el material del horno.
4. Moler las hojas en una licuadora hasta que quede un polvo.

Procedimiento de extracción del principio activo:

1. Una vez que las muestras hayan sido desecadas, se pesó en balanza analítica el material vegetal.
2. En un balón de tres bocas, limpio, seco y previamente pesado, se pesaron 100 g de la planta fresca y seca en balanza granataria.
3. Las hojas se molieron por medio de una licuadora y se colocó en el balón de tres bocas.
4. Una vez dispuesta la planta dentro del balón se le adicionó 250 mL de agua destilada medidos en probeta de 100 mL.
5. Al balón de una boca se le agregó 500 mL de agua destilada con la ayuda de una probeta.
6. Ambos balones se adaptaron a un sistema para destilación por arrastre de vapor, encendiendo el calentador, a una temperatura de 70 °C y el agitador a \geq 200 rpm manteniendo la temperatura y la agitación constante para generar vapor de agua, manteniendo la temperatura por debajo del punto de ebullición del agua en la muestra vegetal.
7. El tiempo de destilación lo dio la cantidad de producto condensado, esto según la capacidad del Erlenmeyer colector, aproximadamente entre 3-4 horas de esta manera se obtuvo un volumen de aproximadamente 200 mL de extracto.
8. El procedimiento mencionado se realizó con dos equipos simultáneamente.

Comentado [AAW40]: Acá se refiere a que solo está obteniendo el principio activo o que está por realizar el extracto?, el principio activo es una sustancia y por lo general en las extracciones de este tipo se obtiene una mezcla,

Comentado [AAW41]: ¿qué significado brinda acá este símbolo de mayor que?

Comentado [AAW42]: destilado



Figura 1920. Peso de muestra orégano hojas secas.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW43]:



Figura 2021. Peso muestra orégano fresco.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW44]:



Figura 2122. Método arrastre por vapor.

Fuente: Elaboracion propia, 2021.

Comentado [AAW45]: Formato

Disminuya la altura de la figura para que no se visualice tan distorsionado

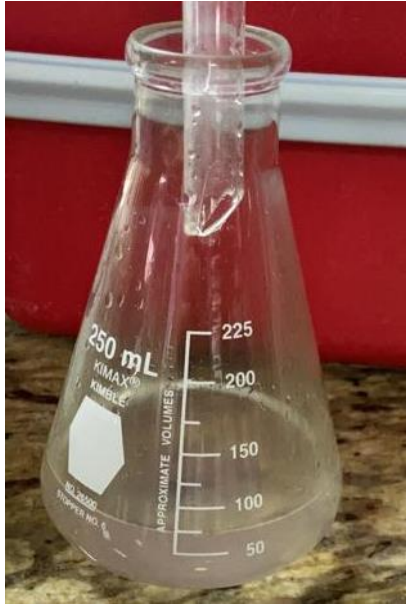


Figura 2223. Hidrolato obtenido.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW46]:



Figura 2327. Filtración con Sulfato Sodio Anhidro

(Elaboración propia, 2021)

Comentado [AAW47]:



Figura 24. Rotavapor.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW48]: Formato
Disminuya la latura de la figura

Obtenidos los extractos, se utilizó el equipo rotavapor, mostrado en la figura 28, el cual permitió eliminar la cantidad de solvente presente en los dos extractos, se utilizó un rango de 34°C basados en el punto de ebullición del éter etílico, y un aproximado de 60rpm, las revoluciones altas para que el extracto no **ebulla**. (Chévez, Coronado, & Espinoza, 2014).

Comentado [AAW49]: hierva

Con el rotavapor, se llevan a cabo destilaciones de una etapa de forma rápida, eficaz y sin afectar al compuesto orgánico. La base de este método es la evaporación y la condensación de disolventes utilizando un matraz evaporador rotativo bajo vacío, el destilar productos bajo vacío incrementa el rendimiento del producto, la presión disminuye el punto de ebullición del medio dentro del Rotavapor. (Fonnegra, 2012).

Procedimiento para la caracterización química

Cromatografía de gases acoplado a masas (GCMS).

1. Inyección de muestra: Con una jeringa micrométrica, se inyecta 0.5 µL del extracto en el puerto de inyección.
2. Técnica de detección utilizada: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, confrontando los espectros de masa con las librerías de NIST21 y WILEY139.

Condiciones instrumentales (GCMS).

1. Equipo utilizado: GCMS-QP 5000 Marca SHIMADZU
2. Columna: MDN-5S 30 m, 0,25 mm ID Marca Supelco
3. Ámbito de masa: 10-600 mz
4. Impacto electrónico: 70 eV
5. Tiempo de corrida: 70 min

Espectrofotometría infrarroja (IR).

1. Utilizar el equipo de espectroscopía infrarroja de la marca Agilent Cary 360
2. Preparar el sistema
3. Ingresar al *software*
4. Limpiar el equipo con acetona antes de colocar la muestra
5. Para el análisis colocar una gota de la muestra de forma directa en el equipo,

6. Limpiar el equipo una vez que se obtenga el IR y colocar otra muestra para analizar
7. Procesar resultados obtenidos

Procedimientos para elaboración de fitomedicamentos de uso tópico:

Equipos y materiales:

- Embudo separador
- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Calentador con agitador
- Pastillas de agitación
- *Beakers*
- Excipientes
- Soporte universal y sus prensas.

Comentado [AAW50]: Por qué se encuentra en cursiva?

Procedimiento

1. Tener material necesario completo y listo.
2. En un *beaker* fundir las grasas a una temperatura de 70 °C con una agitación constante.
3. Mezclar por 40 minutos.
4. Pasar el almidón por una malla fina.
5. Agregar la fase fundida lentamente al almidón.
6. Agitar el ungüento hasta que esté homogéneo y frío.

Tabla 1645

Formulación para 80 g de ungüento con aceite de orégano seco y fresco al 10%, 20 y 60%.

Aceite Mineral	15.00 g	Emoliente
Vaselina Blanca	50.00 g	Lubricante
Lanolina	5.00 g	Emulsificante
Almidón	10.00 g	Espesante
Extracto de Orégano Seco	0.06 g	Principio Activo

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW51]: No queda claro acá si es una formulación o tres formulaciones, ya que se visualiza solo una cantidad de aceite esencial

Mejor así

Tabla 15. Formulación para 80 g de Ungüento con Aceite de Orégano Seco y Fresco al 10%, 20% y 60%.

Componente

Procedimiento.

1. Tener listo el material necesario
2. Pesar las cantidades exactas en una balanza analítica
3. Derrita los componentes grasos en orden descendiente de sus puntos de fusión en baño María dentro de un *beaker*
4. Adicionar un ingrediente a la vez y dejar homogenizar antes de agregar el siguiente
5. Mezcle hasta que la fase sea homogénea, alrededor de 30 minutos
6. En otro *baker* mezcle el borato de sodio con el agua y añade a la mezcla caliente, agitando hasta que se enfríe
7. Añadir ambas mezclas a igual temperatura (70 °C) la mezcla acuosa a la oleosa, agitando hasta que se enfríe
8. **Envase** y rotule el producto

Comentado [AAW52]: En que recipiente contenedor

Tabla 17+6

Formulación para 100 g de crema con aceite de orégano fresco y seco como principio activo al 10% ,20%, 60%

Comentado [AAW53]:

Excipientes	Pre-formulación
	10%, 20%, 60%
Alcohol Cetílico	3.00 g
Borato de sodio	0.80 g
Vaselina solida	21.00 g
Aceite Mineral	15.00
Emulgade	10.00 g
Lanolina Anhidra	19.0 g
Agua csp	
Aceite esencial csp	
Colorante csp	

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Análisis Microbiológico

Se procede a obtener las formulaciones requeridas para realizar las distintas pruebas de sensibilidad microbiológica en agares de manitol sal ante la bacteria de *Staphylococcus aureus*.
~~Estas la cual~~ se llevan a cabo en el laboratorio Microlabs, en San José, donde se ~~nos~~ suministran cinco placas para realizar ~~estas~~ pruebas microbiológicas a las distintas preformulaciones para determinar cuál es la ideal y cuál es la CMI, de igual manera se realizará un recuento microbiano tanto a la crema como al ungüento.

Materiales, equipo y reactivos utilizados en la prueba microbiológica

- Medio de cultivo de la cepa de *Streptococcus aureus*
- Placas Mueller Hinton
- Hisopos
- Preformulaciones
- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Regla

Comentado [AAW54]: Esta es la bacteria?

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la investigación tomaron en cuenta los objetivos específicos mencionados inicialmente, primero se buscó el material vegetal para poder realizar la extracción del aceite, de la misma forma fueron consultadas fuentes bibliográficas que aseguraran el mejor y óptimo método de extracción, el método arrastre de vapor para la obtención del aceite esencial del orégano con el solvente adecuado para obtener buen rendimiento durante la extracción y de este modo poder realizar la formulación las formulaciones de uso tópico -ungüento y cremas- a diferentes concentraciones.

Para la extracción del aceite esencial es fundamental tener presente las condiciones en las que se adquiere la muestra para posteriormente ser seleccionada acorde a las variables establecidas, donde la parte por utilizar de la planta serían sus hojas, ~~solo se utilizan las hojas de la muestra se~~

encuentra presente en este proceso, lo cual facilita que el material vegetal manifieste características idóneas para iniciar su proceso de extracción.

Además, se realizaron las pruebas para identificación del principio activo y concentraciones de los compuestos del aceite esencial mediante las técnicas de cromatografía de gases acoplada a masas (GCMS) en el Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA) en la Universidad de Costa Rica, espectroscopía infrarroja, determinación del pH, pruebas microbiológicas para medir los halos de inhibición, recuento microbiano de las formulaciones en el laboratorio MICROLABS, los cuales serán discutidos más adelante.

Tabla 16

Masas Iniciales del material vegetal.

<i>Orégano Seco</i>	400.00g
<i>Orégano Fresco</i>	400.00g

Fuente: (Elaboración Propia, 2021)

Comentado [AAW55]: Revisar esta redacción, no se visualiza con claridad lo que desea expresar, parece entre cortado

Comentado [AAW56]: Es el principio activo o extracto, o se refiere a evidenciar la presencia de los grupos funcionales que están presentes en el compuesto de interés

Comentado [AAW57]:

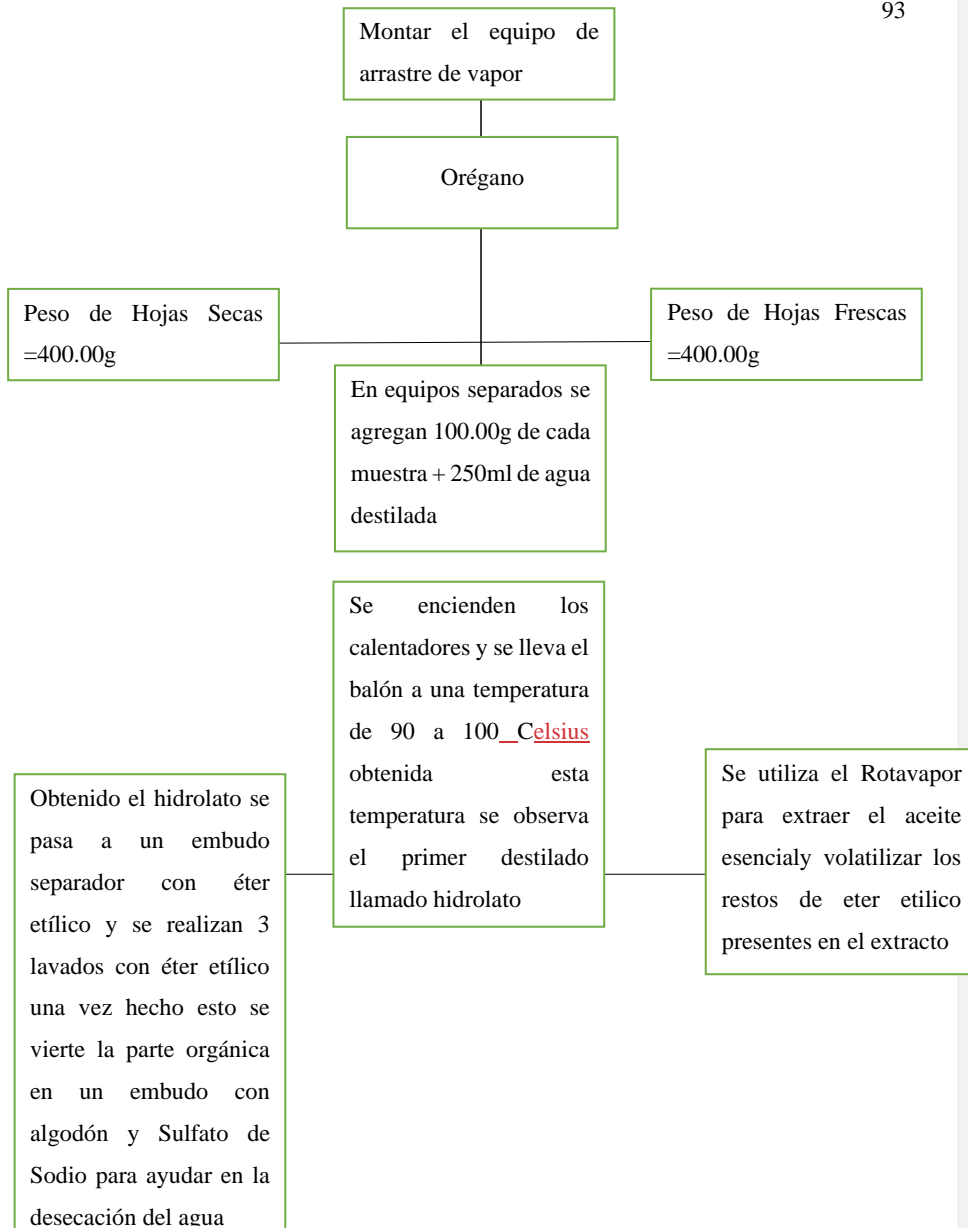


Figura [2527](#). Esquema proceso arrastre de Vapor

(Elaboración propia, 2021)

Este método de extracción se lleva a cabo con vapor sobrecalentado que penetra el material vegetal a presión, el cual rompe las células de la planta y arrastra los compuestos volátiles que se condensan al atravesar del condensador. Lo cual se logra por la inyección de vapor de agua directamente en la mezcla, su función no es la de solo arrastra el compuesto volátil sino que se condensa y forma una fase inmiscible llamada hidrolato. En este método se tiene la presencia de dos fases inmiscibles a lo largo del condensador una acuosa y otra orgánica. La condición más importante para que este proceso se lleve a cabo es que el componente volátil sea insoluble en agua ya que el producto destilado forme dos fases al condensarse (Stashenko, 2009).

Una vez finalizado el proceso de extracción del aceite esencial de orégano, mediante la técnica de arrastre de vapor, se obtiene el resultado mostrado en la tabla 19

Tabla ~~18~~19

Cálculo de porcentaje materia prima vegetal (%).

	Materia prima (g)	Volumen (mL)	Concentración de material vegetal (g/mL)	Porcentaje rendimiento %
Orégano fresco	400.00 g	4.00 MI	100.0	1%
Orégano seco	400.00 g	2.00 mL	200.0	0.5%

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Fórmula utilizada para calcular la concentración:

$$\text{Concentracion} = (v / m) * 100$$

~~Por lo tanto~~ Donde:

m = Peso de la muestra en gramos

v = Volumen final en mL

El contenido de humedad del material vegetal al momento de la extracción es un factor importante en el rendimiento de los aceites esenciales; el rendimiento fue mayor cuando el material era fresco. El contenido de humedad del material vegetal al momento de la extracción no sólo afecta el rendimiento, sino que puede generar variabilidad en la composición química de los aceites esenciales. Barbosa et al. (2006) encontraron que temperaturas de secado hasta 80 °C redujeron

Comentado [AAW58]: No es necesario ya que en la cabeza de columna indica las unidades del parámetro

Comentado [AAW59]: Revise esta fórmula, además emplee el editor de ecuaciones de Word para escribirla

entre el 12 y 17% en el contenido de aceite esencial de la planta seca en comparación con los contenidos de los mismos aceites en plantas frescas debido a que se pierden componentes volátiles en el proceso de secado.

El secado de hojas al momento de la extracción se asoció inicialmente con una reducción del rendimiento de aceites esenciales por pérdida de compuestos volátiles (Mejía et al., 2007), lo que es importante para evitar deterioro en el material vegetal durante el transporte y almacenamiento previo a la extracción si se desea almacenar o transportar la materia prima.

Según Muñoz Gómez (1999), en su investigación sobre "Extracción y caracterización del aceite esencial de orégano a escala laboratorio", indica el rango de el pH cuyos valores varían entre (5,79 y- 6,95). Con nuestro el extracto, no se puede establecer ninguna conclusión concreta ya que en el presente trabajo investigativo la cantidad de volumen de aceite esencial fue limitado y por lo cual el valor obtenido es un valor empírico que carece de exactitud.

Al obtener el volumen deseado de los extractos se traslada a un frasco ámbar con una pipeta para así medir el volumen obtenido obteniendo que correspondió a 4mL de aceite esencial de hojas frescas y 2 mL de aceite esencial de orégano seco. Estos frascos se almacenaron son debidamente rotulados en frascos ámbar para evitar alteraciones de sustancias fotosensibles y se rotularon debidamente. Los extractos eson guardarondos en refrigeración hasta el momento de su uso para la formulación.

Comentado [AAW60]: A qué se refiere con que no puede establecerse una conclusión?, una conclusión en cuantos a...?

Comentado [AAW61]: Deseado?



Figura 2629. Aceites esenciales.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW62]:



Figura 2739. pH Aceite de orégano fresco.

Fuente: Elaboración propia, 2021-

Comentado [AAW63]:

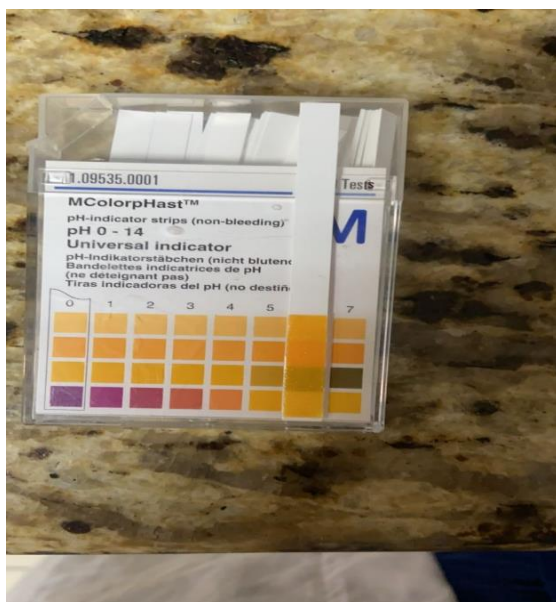


Figura 2831. pH Aceite orégano seco.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Análisis de la composición del Aceite Esencial *Origanum Vulgare*

Cromatografía de gases acoplada a masas (GCMS)

Los análisis de calidad para los aceites esenciales se realizan comúnmente por cromatografía de gases. Aún cuando este método es considerado el más adecuado para analizar estos compuestos, el equipo y reactivos necesarios tienen un alto costo, y no siempre se cuenta con el equipo ni con el presupuesto necesarios para implementarlo; sin embargo, se tuvo la oportunidad de realizar esta prueba en el CIPRONA, de la Universidad de Costa Rica, donde se realizó una cuantificación relativa de los compuestos detectados en el cromatograma de las dos muestras, no se pudo determinar una cuantificación absoluta de los compuestos debido a que no se tienen estándares por cada muestra, en este análisis se identifican los marcadores principales de ambas muestras del aceite.

El aceite obtenido se analizó mediante cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas, mediante esta técnica se determinaron sus respectivas concentraciones, en la Figura 32 se muestran los compuestos químicos mayoritarios a monoterpenos como el timol (5.0%) y carvacrol (80.0%).

Comentado [AAW64]: En qué parte de la figura 32 se visualiza esto?, o se refiere a la figura 33

fresco y seco

#	AE Orégano Fresco		AE Orégano Seco		Compuesto
	Área	% Área	Área	% Área	
1	223252	0.07	98604	0.05	Tunjeno
2	808482	0.24	340995	0.18	α -Pinoeno
3	460723	0.13	187431	0.10	Canfeno
4	246624	0.07	101875	0.05	β - Pinoeno
5	1898011	0.56	873147	0.47	β - Mirceno
6	292126	0.09	152286	0.08	α -Terpinene
7	17907089	5.24	8827637	4.71	p -Cimeno
8	1009893	0.30	523303	0.28	Limoneno
9	9833499	2.88	4918465	2.63	1,8-cineol
10	317533	0.09	294027	0.16	δ -terpineno
11	5568192	1.63	2863417	1.53	Linalol
12	2385970	0.70	1171331	0.63	Borneol
13	738263	0.22	429873	0.23	4-Terpineol
14	1015821	0.30	507210	0.27	α -Terpineol

Figura 2932. Identificados por GS-MS en muestras de aceite esencial seco y fresco de orégano.

Fuente: CIPRONA UCR 2021

Comentado [AAW65]: GC-MS?

Comentado [AAW66]: Formato

Esto corresponde a una tabla más que una figura

Título de la tabla
Caracterización porcentual de la muestra... mediante
Cromatografía de Masas...

La información que se muestra fue obtenida en el análisis de su muestra?, si es así debe indicarlo explícitamente ya que no se logra ver si es de su muestra o de alguna referencia.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

CIPRONA Centro de Investigaciones en
Productos Naturales

Página 2

15	614112	0.18	407391	0.22	
16	16655329	4.88	8263670	4.41	Timol
17	275954454	80.79	153657938	82.04	Carvacrol
18	61433	0.02	52951	0.03	
19	1890280	0.55	1329830	0.71	trans- Cariofileno
20	659623	0.19	304196	0.16	
21	1059419	0.31	761556	0.41	α - Cariofileno
22	1440692	0.42	915130	0.49	
23	543257	0.16	319556	0.17	Humuleno epoxido
	341584077	100	187301819	100	

% de área relativa = área de cada pico/área total del cromatograma *100

Figura 3033. Identificados por GS-MS en muestras de aceite esencial seco y fresco de orégano.

Fuente: CIPRONA UCR, 2021

Comentado [AAW67]: Título más específico

Miércoles, 27 de Octubre de 2021
02:58 p.m.

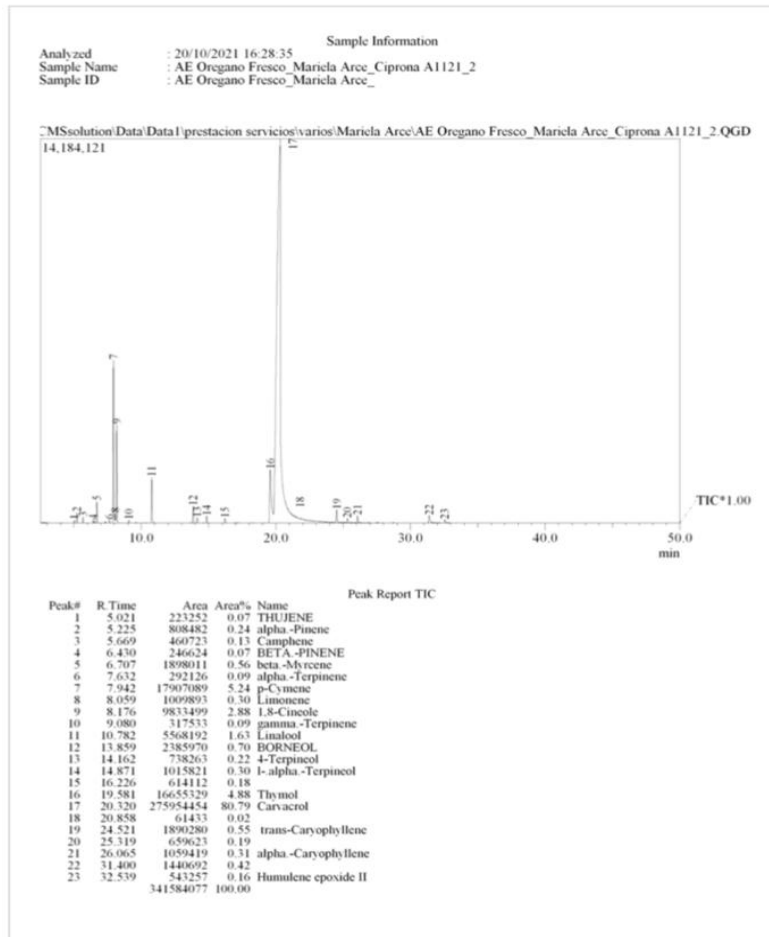


Figura 3134. GC/MS Aceite esencial de hojas frescas.

Fuente: CIPRONA UCR, 2021

Comentado [AAW68]: Formato

Figura 34. Cromatograma de Gases y Análisis de Masas del Aceite Esencial Obtenido de ...

Miércoles, 27 de Octubre de 2021
02:56 p.m.

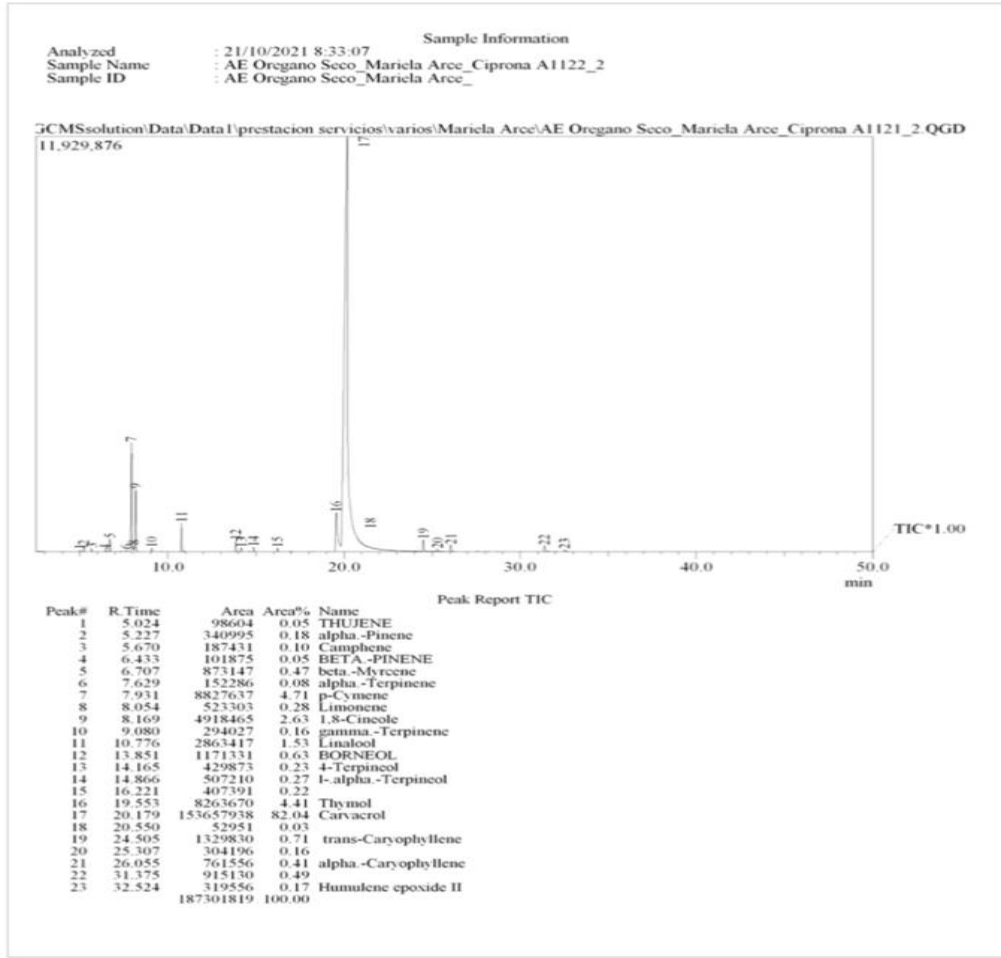


Figura 3235. GC/MS Aceite esencial de hojas secas.

Comentado [AAW69]: Idem nota anterior

Fuente: CIPRONA UCR, 2021.

La técnica utilizada fue inyección de muestra, con una jeringa micrométrica, se inyecta 0.5 μ L del extracto en el puerto de inyección, tiempo de corrida: 70 min. Según los resultados obtenidos las diferencias que se logran observar en los aceites, tanto en el seco como el fresco, son mínimas, lo que indica que se podría trabajar tanto con material seco o fresco, lo cual determina una gran ventaja para la industria si se fuera a trabajar con esta planta ya que se podría almacenar en una forma seca y no habría mayor afectación a la hora de obtener el aceite esencial.

Los aceites fueron analizados mediante espectrometría de masas GC (GC-MS). En total, se identificaron 23 componentes, Carvacrol fue el principal compuesto en las muestras del aceite esencial seco 82.04%, en el fresco 80.79% seguidos por el Thymol 4,41 en el extracto de hojas secas y 4.88% en el extracto de hojas frescas, en este caso, se evidencia mediante los picos la presencia de estas dos sustancias, el cual se encuentran en mayor proporción demostrando así lo indicado en la monografía de la OMS sobre el *Origanum Vulgare*.

La composición química del aceite de orégano representada en la Figura 32 depende de diversos factores como la genética, la temporada de cosecha y el lugar geográfico, el orégano utilizado en el estudio fue recolectado en la provincia Alajuela. Este orégano es vendido localmente y en la Ciudad de San Carlos, siendo utilizado para la preparación de alimentos. Sin embargo, la literatura indica que el tiempo ideal para la recolección es cuando las plantas comienzan a florear entre un 15 a 20%, y alcanzan entre 45 a 55 cm de altura. En este momento las hojas presentan un aroma intenso y se encuentran bien desarrolladas (Yilmaz & Jasinskas, 2016).

Comentado [AAW70]: Estos resultados son consistentes con lo indicado en la monografía de la OMS sobre...

En esta figura observamos los resultados obtenidos de una planta recolectada en Costa Rica, Alajuela, San Carlos en el mes de agosto, método de extracción arrastre de vapor

#	fresco y seco				Compuesto
	AE Orégano Fresco		AE Orégano Seco		
	Área	% Área	Área	% Área	
1	223252	0.07	98604	0.05	Tunjeno
2	808482	0.24	340995	0.18	α -Pineno
3	460723	0.13	187431	0.10	Canfeno
4	246624	0.07	101875	0.05	β -Pineno
5	1898011	0.56	873147	0.47	β -Miraceno
6	292126	0.09	152286	0.08	α -Terpinene
7	17907089	5.24	8827637	4.71	p-Cimeno
8	1009893	0.30	523303	0.28	Limoneno
9	9833499	2.88	4918465	2.63	1,8-cineol
10	317533	0.09	294027	0.16	δ -terpineno
11	5568192	1.63	2863417	1.53	Linalol
12	2385970	0.70	1171331	0.63	Borneol
13	738263	0.22	429873	0.23	4-Terpineol
14	1015821	0.30	507210	0.27	α -Terpineol

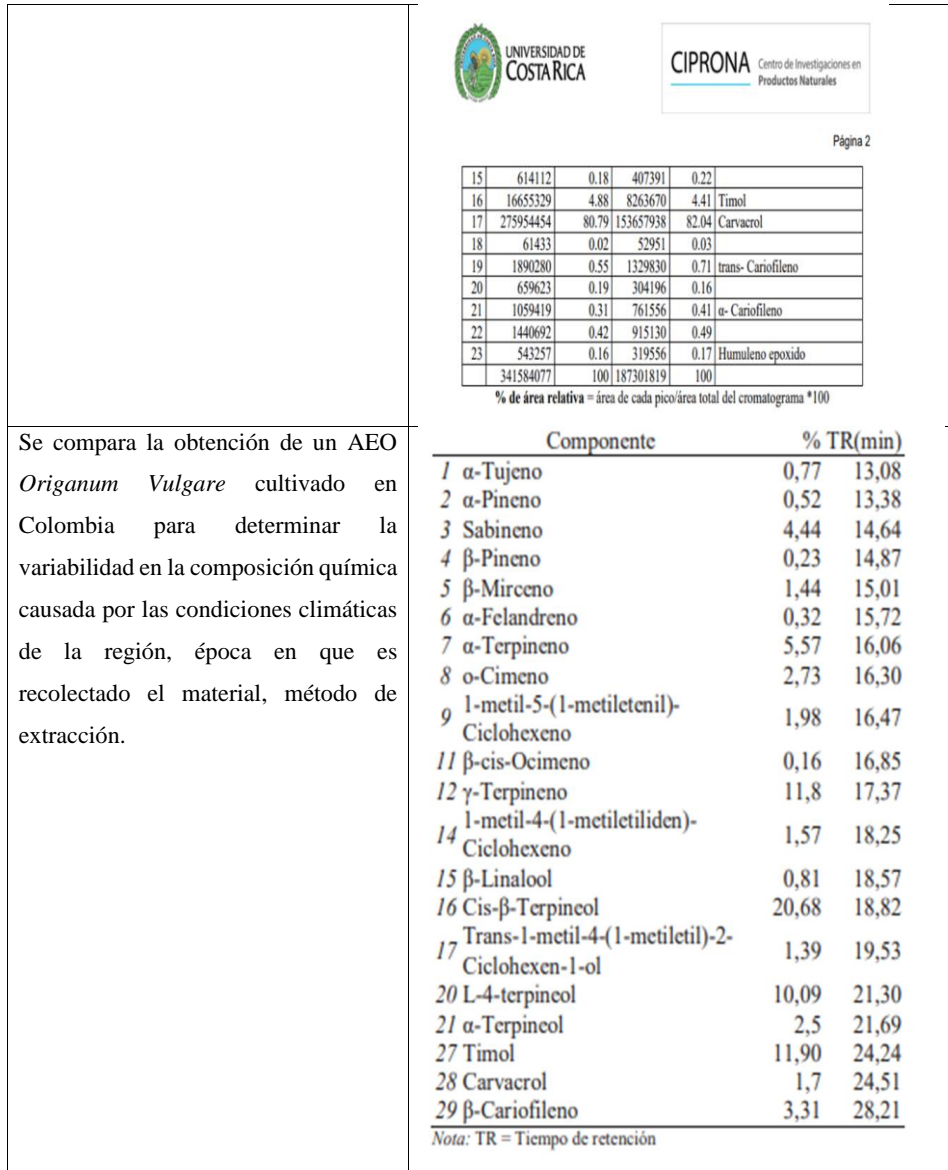


Figura 30 Comparacion de GC (GC-MS) obtenida con una especie de oregano Costa Rica vs una Colombiana

Comentado [AAW71]: Sugiero que realice la comparación sin emplear una tabla. La idea de las tablas es simplificar la visualización de características; sin embargo, de este modo no se logra este aspecto.

Análisis espectroscopía infrarroja.

Espectroscopía infrarroja del aceite esencial del orégano.

Fueron realizados a intervalos de 4000 a 900 cm^{-1} utilizando un espectrómetro de la marca Agilent Technologies, el cual cuenta con una resolución fija de 8 cm^{-1} , la radiación infrarroja se propaga a través del cristal del equipo y de la muestra en análisis hasta obtener el espectro correspondiente a la absorción infrarroja de la composición estructural y bioquímica de cada una, este análisis se realizó basado en el espectro IR de la literatura consultada ya que no se contaba con un patrón.

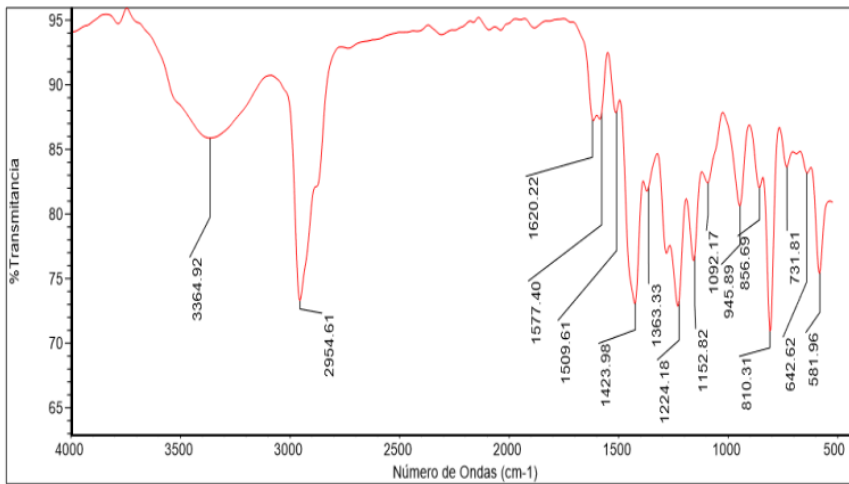


Figura 3336. IR Patrón aceite esencial de orégano.

Fuente: Revista Iberoamericana de Ciencias, 2021.

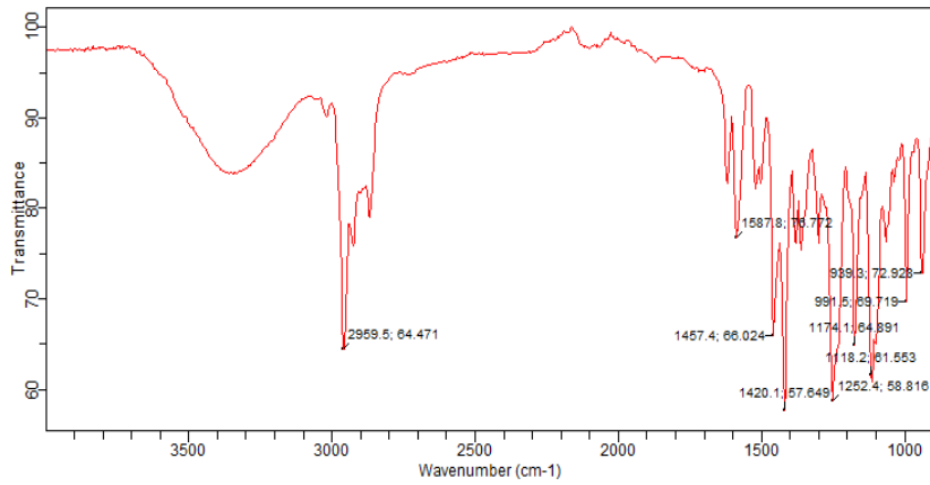


Figura 3437. IR Aceite esencial de orégano seco.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

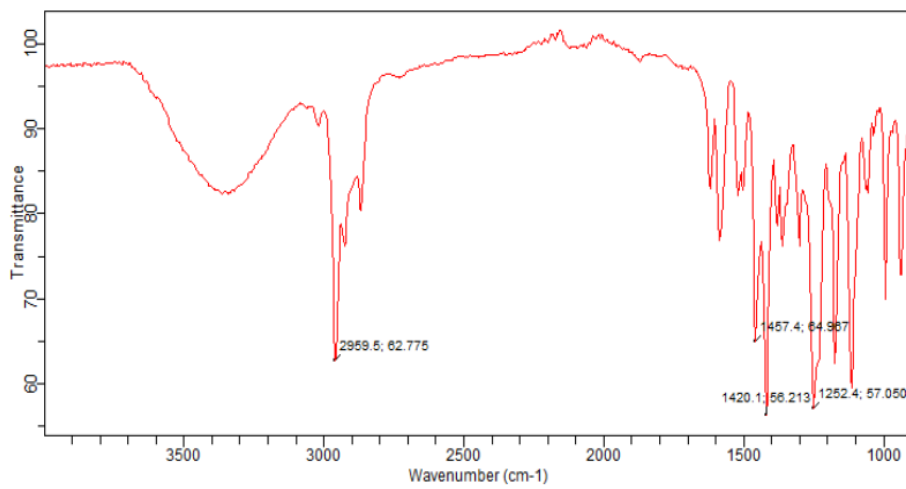


Figura 3538. Aceite esencial de orégano fresco.

Fuente: Elaboración propia 2021.

No se muestra una diferencia en espectro infrarrojo entre las hojas secas y las hojas frescas, la identidad del aceite esencial de orégano se verificó por espectroscopía infrarroja, encontrando grupos funcionales característicos, entre ellos fenoles con las bandas usuales entre 3200 y 3500 cm^{-1} del grupo $-\text{OH}$, además de las bandas aromáticas usuales entre 1500 y 1600 cm^{-1} .

Comentado [AAW72]: cm^{-1}

De las señales obtenidas en el espectro expuestas en las figuras, 36 y 37 se procede a enlistar las señales más representativas en el caso de la planta y el extracto del aceite esencial de orégano según el grupo funcional al que estos correspondan.

Tabla 1920

Grupos funcionales y regiones obtenidos en el espectro IR del aceite esencial de orégano.

	Señal detectada (cm^{-1})	Grupos Funcionales	Región de absorbanza (cm^{-1})
Patrón de aceite esencial	2959	Alcano C-H	2850-2960
	1577	Aromático	1450-1600
	1423	Aromático	1450-1600

Comentado [AAW73]: Qué significado presenta este cm^3

Con formato: Superíndice

Comentado [AAW74]: Debe especificar que tipo de vibración representa si es C-C, C-H,

Aceite esencial	Señal detectada cm^3	Grupos Funcionales	Región de absorbanza (cm^{-1})
	2959	Alcano C-H	2850-2960
	1587	Aromático	1450-1600
	1420	Aromático	1450-1600

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Según los resultados obtenidos, en el espectro de infrarrojo de la muestra de aceite esencial del orégano, se observa la primera señal de importancia en el caso del patrón de orégano en 3364 cm^{-1} y del extracto en 3362 cm^{-1} , la cual le corresponde a la vibración de tensión O-H hidroxilo, donde esto es característico del grupo fenol presente en las moléculas, ya sea de carvacrol o timol, encontrado en la planta. En cuanto a la región, comprende aproximadamente entre 3400-

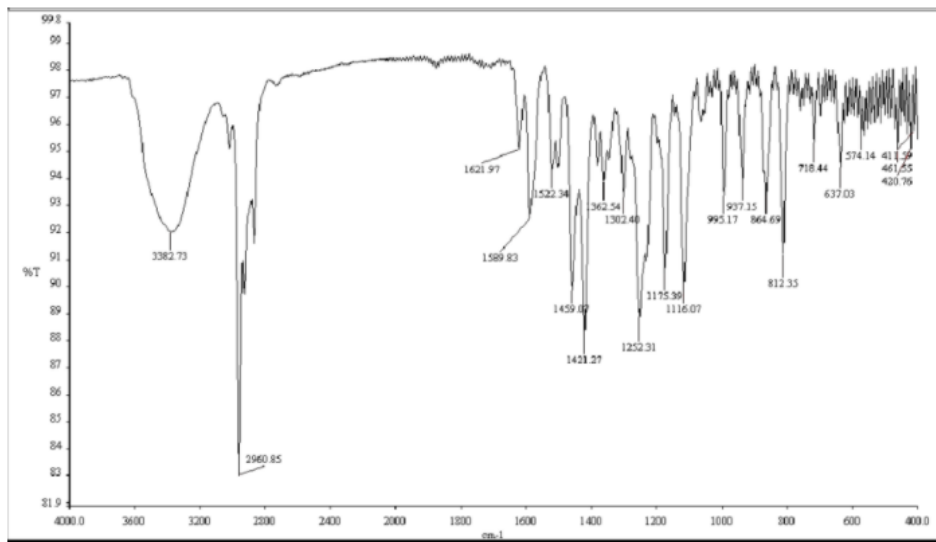
Comentado [AAW75]:

Comentado [AAW76]:

3650 cm^{-1} . En el rango de 2850- 2960 cm^{-1} se encuentra la señal que se puede establecer como un alcano C-H sp^3 , donde el patrón aceites revelan la señal 2954 y el aceite en 2959 cm^{-1}

Una de las señales más útiles que se obtuvieron fue la del grupo isopropilo presente en ambos aceites, donde mostraron una señal en 1420 cm^{-1} ; esto se debe a que la región característica para este grupo funcional es cerca de 1450-1600 cm^{-1} . Interpretar el espectro del infrarrojo posee cierto grado de dificultad a la hora de hacerlo, debido a que casi todas las moléculas orgánicas tienen distintos movimientos de vibración de enlace y movimientos de doblamiento, por lo tanto, múltiple cantidad de absorciones.

Para efectos de este análisis, no es necesario interpretar todas las señales mostradas en los espectros, ya que basta con identificar los grupos funcionales más representativos de la molécula para establecer la presencia de los compuestos de interés. En este caso, los componentes que se necesitaba identificar son el carvacrol y el timol, donde, según los resultados obtenidos en el espectro de infrarrojo, las estructuras concuerdan al existir compuestos aromáticos y alcoholes.



Espectro IR de Carvacrol.

Figura 3639. IR carvacrol patrón.

Fuente: Revista Iberoamericana de ciencias, 2021.

Comentado [AAW77]:

Comentado [AAW78]: cm^{-1}

Comentado [AAW79]:

Comentado [AAW80]:

Comentado [AAW81]:

Comentado [AAW82]: Cuál es la conclusión de esto?

La espectroscopía IR se emplea como herramienta para identificar grupos funcionales y no necesariamente se requiere una asignación de todas las señales para lograr esto

Comentado [AAW83]: Se evidencia la presencia de grupos funcionales que son parte de los principales componentes del aceite esencial y a los que se les atribuye la actividad...

Comentado [AAW84]:

Se determina que el compuesto ~~con mayor concentración~~ mayor proporción es el carvacrol demostrado en los tres espectros, tanto en el de aceite seco, fresco y el patrón de este aceite, ya que se comparan las ondas con el patrón del espectro del carvacrol su grupo funcional es de 2960 cm⁻¹, y en los espectros obtenidos se encuentra en ese rango 2959 cm⁻¹.

Comentado [AAW85]: Cuáles?

	Señal detectada cm ³
Aceite Seco	2959 cm ⁻¹ .
Aceite Fresco	2959 cm ⁻¹ .
Carvacrol Patrón	2960 cm ⁻¹ .

Figura 40. Comparación señales detectadas en Carvacrol vs patrón de IR Carvacrol.

Comentado [AAW86]: Esto es una tabla, y falta describir el contenido de la columna de la izquierda

Cuál es la relevancia de esta tabla?, no queda claro

Esta tabla mejor:

Sustancia

Diseño para el desarrollo de las formulaciones tópicas

Para el desarrollo de las formulaciones, se utiliza el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.47:07, para productos farmacéuticos, productos naturales medicinales para uso humano y verificación de la calidad, el cual tiene como objetivo el establecimiento de las pruebas analíticas que deben ser realizadas para verificar la calidad de los productos naturales medicinales de uso humano por parte de la autoridad reguladora. (Reglamento Técnico Centroamericano, 2016).

Este reglamento es de aplicación para todos los productos naturales medicinales de uso humano importados y fabricados en los países de la región centroamericana, donde las directrices establecidas deben ser aplicadas a todo producto de origen natural en el que la forma farmacéutica se administre por cualquier vía excepto la oftálmica y parenteral.

Para la realización de pruebas físicas, químicas y microbiológicas, el RTCA 11.04.41:06 establece que deben cumplirse para formas farmacéuticas como soluciones, suspensiones y emulsiones con las siguientes pruebas. (Reglamento Técnico Centroamericano, 2013).

Tabla 2024

Pruebas para cremas, ungüentos y geles RTCA.

	Características Organolépticas
	Llenado mínimo*
Cremas, ungüentos, pastas y geles (tópicos)	pH
	Identificación general
	Recuento microbiano

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano, 2013.

El RTCA 11.04.41:06, establece lo siguiente:

1. Estas pruebas se ejecutan cuando apliquen de acuerdo con las monografías oficiales, o en su defecto a las aportadas por el fabricante.
2. Las especificaciones de las pruebas físicas y químicas mencionadas en la tabla, serán tomadas de los libros oficiales o de la literatura técnica reconocida, o en su defecto las que establezca el fabricante.
3. Las pruebas identificadas con asterisco (*) serán realizadas a los productos naturales por vigilancia sanitaria o denuncia recibida

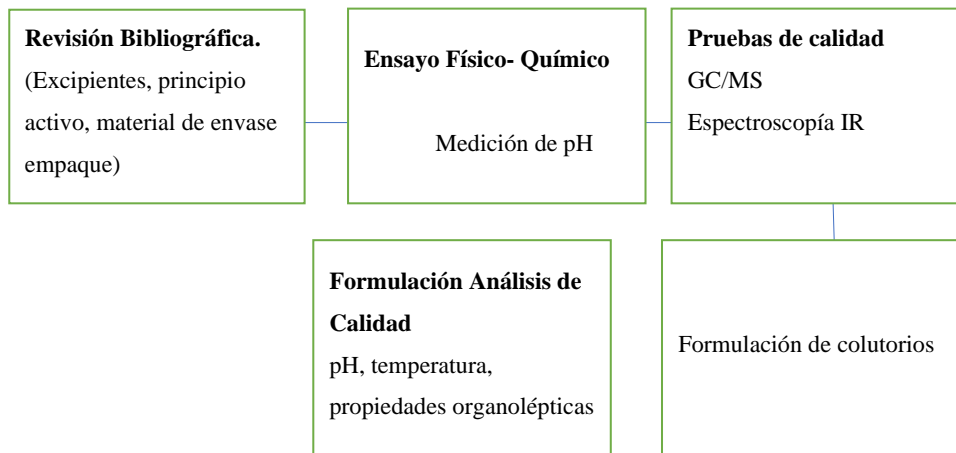


Figura 3740. Diagrama de flujo de las formulaciones.

Fuente: Elaboración propia, 2021

Comentado [AAW87]: Esto no da para tabulación, porque no se observan al menos dos series de variables.

Mejor a nivel de viñetas o un esquema que podrá nombrar como figura

Comentado [AAW88]:

Formulaciones

Elección de la forma farmacéutica y fórmula idónea

Se toma la elección de la formulación de crema y ungüento para la aplicación tópica, debido a varios análisis de artículos que favorecen el uso de este tratamiento en pacientes con lesiones traumáticas infectadas secundariamente, producidas por cepas sensibles de *Staphylococcus aureus* donde se indica que las concentraciones a partir del 20 % son efectivas respecto a la inhibición del crecimiento bacteriano de *Streptococcus Aureus*.

La elección de un fármaco en uso tópico se debe a la gran resistencia que hay ante los antibióticos orales en la actualidad las cepas de *S. aureus* poseen un amplio rango de resistencia a los antibióticos y se pueden encontrar cepas resistentes y multirresistentes. El surgimiento de cepas de *S. aureus* multirresistentes representa una respuesta secuencial a la presión selectiva impuesta por la terapia antimicrobiana. (Velázquez, 2005)

El seleccionar un fármaco de uso tópico, se basa también en el uso extenso que tienen este tipo de pacientes con AINES, de los cuales se asocia en ocasiones en altos riesgos de efectos gastrolesivo, por eso, se intenta buscar la reducción de la ingesta de este tipo de medicamentos ya que por vía tópica se reduciría de manera notable el riesgo de complicaciones gastrointestinales, teniendo en cuenta como ventaja farmacocinética la seguridad en los pacientes, consiguiendo concentraciones altas en el sitio específico, en dosis sistémicas bajas. (Flores, Castro, & Nacimiento, 2012).

La necesidad de tratamientos innovadores para infecciones causadas por bacterias multirresistentes ha llevado al estudio de extractos y aceites esenciales de distintas plantas con el objetivo de utilizar antimicrobianos naturales y no químicos. Dentro de las sustancias estudiadas tenemos al aceite esencial de orégano el cual contiene moléculas bioactivas como el timol y el carvacrol (Cid-Perez, Avila-Sosa, Ochoa-Velasco, Rivera-Chavira, & Nevarez-Moorillon, 2019).

La crema dermatológica se realizó por el método de fusión de la fase oleosa, formando así un preparado farmacéutico, la unión de dos fases oleosas y acuosas de los componentes empleados con el principio activo AEO, que después de su fusión logran un efecto farmacológico, esta debe cumplir con los criterios de aceptación establecidos como lo son las características organolépticas idóneas, un pH acorde a la zona de aplicación, extensibilidad y textura.

Comentado [AAW89]: Cursiva?

Análisis y elección de excipientes según *Handbook* para formulación de crema.

Se utilizó el *Handbook of Pharmaceutical Excipients* sexta edición (2009) como referencia primordial para conocer los excipientes y las proporciones adecuadas de estos para formular la crema y obtener un producto homogéneo. En este manual se indican los usos y las concentraciones de excipientes que se utilizan, además de incompatibilidades con otras sustancias, estabilidad del excipiente y sus especificaciones de acuerdo con las diferentes farmacopeas.

Se utilizó vaselina sólida como excipiente, que es una mezcla homogénea de hidrocarburos saturados de cadena larga. Al ser una mezcla presenta un punto de fusión no definido, observándose un reblandecimiento en las proximidades de los 36 °C y completándose al estado líquido sobre los 60 °C. El punto de ebullición está sobre los 350 °C. La vaselina es hidrófoba, es decir, prácticamente no se disuelve en agua, y es menos densa que esta (0,9 g/cm³).

El *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (p. 481) describe que la vaselina se utiliza principalmente en formulaciones farmacéuticas tópicas como una base emoliente-ungüento; es mal absorbida por la piel y se utiliza también en formulaciones transdérmicas. Es un material inherentemente estable debido a su naturaleza no reactiva, por esta misma razón posee pocas incompatibilidades.

El aceite mineral es obtenido a partir del petróleo, se utilizó como excipiente ya que su función es emoliente, lubricante ideal para formular emulsiones tópicas como cremas y ungüentos tópicos, el aceite mineral es un vehículo oleaginoso como crema presenta una proporción de 1.0-32.0% (*Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 2009, p.445)

Lanolina anhidra es una sustancia de consistencia cerosa con capacidad antioxidante, clasificada como emulsificante. Esta contiene no más del 0,25% p / p de agua y puede contener hasta 0,02% p / p de un antioxidante adecuado, su uso se da en formulaciones farmacéuticas tópicas y productos cosméticos, puede ser utilizada como vehículo hidrófobo en el preparado de cremas y ungüentos de agua en aceite. Al mezclarse, facilita la absorción de drogas. (*Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 2009, p. 379).

Se utilizó alcohol cetílico, este posee capacidad emoliente, absorbente de agua y propiedades emulsionantes, las propiedades emolientes se deben a la absorción y retención de alcohol cetílico en la epidermis donde actúa lubricando y suavizando la piel, la descripción de su uso como emoliente se evidencia con concentraciones de 2-5% y como agente emulsificante en un rango igual al mencionado anteriormente (*Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 2009, p.155).



Figura 384. Crema.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Las cremas se pueden formular con una variedad de aceites minerales, de alcoholes grasos, ácidos y ésteres grasos, los agentes emulsificantes incluyen agentes tenso activos no iónicos, detergentes y jabones. La preparación de las cremas implica la separación de los componentes de la fórmula en dos porciones: líquida y acuosa, la parte líquida contiene todos los componentes insolubles en agua, mientras que la porción acuosa contiene los componentes solubles en agua, estas fases se calientan a una temperatura por encima del punto de fusión de cada componente en orden decreciente seguidamente, las fases se mezclan hasta que la mezcla se solidifique y obtener la uniformidad; las cremas, por lo general, requieren la adición de conservantes, a menos que se preparen magistralmente inmediatamente antes de su uso y estén destinadas para su consumo en un periodo relativamente corto.

Conocer los puntos de fusión de cada compuesto es de suma importancia ya que se van agregando según su punto descendiente hasta lograr homogenizar para lograr cremas de una consistencia homogénea, tomando en cuenta este punto de suma importancia se logró la obtención de una crema estable, la primera formulación que se realizó, así también se logra apreciar que las proporciones de concentraciones utilizadas son acertadas y se encuentran entre los rangos para uso tópico según el *Handbook*.

Análisis y Elección de Excipientes según *Handbook* para Formulación de Ungüentos

De acuerdo con USP<630>, los ungüentos son preparaciones semisólidas destinadas para la aplicación externa sobre la piel y que emplean grasas como vehículo. Existen diversos tipos de bases para ungüentos, la elección de la base depende de muchos factores, como la acción deseada, la naturaleza del principio activo, su biodisponibilidad, la estabilidad y el período máximo de vida útil requerido para el producto terminado.

En la formulación del ungüento se utilizaron los excipientes, vaselina blanca, el aceite mineral cuya función se mencionó anteriormente, la diferencia es que para la preparación de formulaciones de uso tópico de tipo ungüento en una proporción de concentración de 0,1 a 95.0%, de igual manera se utiliza lanolina anhidra anteriormente mencionada para la formulación de ungüentos, esta se utiliza como vehículo en ungüentos (*Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 2009).



Figura 3942. Ungüento.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Se utilizaron los excipientes en sus rangos según lo establecido en el *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, debe tenerse cuidado en la temperatura de excipientes para que no haya alteraciones en físicas en las preformulaciones.

Resultados obtenidos de las pruebas de calidad

Se realizaron pruebas de calidad para las distintas formulaciones elaboradas clasificando las pruebas en universales y específicas:

Tabla ~~2122~~

Pruebas universales aplicadas a cremas.

Pruebas Universales	
Descripción	Crema antibiótica para tratar el <i>Staphylococcus aureus</i> en piel a base de aceite esencial de orégano preparación para 100 g
Color	Blanco 10%, Verde 20%, Verde 60%
pH	10%: 5.1 20%: 5.2 60%: 5.3
Concentración	Según la GC/MS el carvacrol es el compuesto más concentrado en el aceite 80.79% en el extracto fresco y en el seco 82.04%

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Tabla ~~2223~~

Pruebas universales aplicadas a ungüentos.

Pruebas Universales	
Descripción	Ungüento antibiótico para tratar el <i>Staphylococcus aureus</i> en piel a base de aceite esencial de orégano preparación para 100 g
Evitar	almacenar en lugares con temperaturas extremas

Comentado [AAW90]: Mejorar el formato de la tabla para un mayor ordenamiento, considere las indicaciones para la tabla 15

Comentado [AAW91]: Deje espacio entre las tablas

Color	10% verde, 20% amarillo, 60% incoloro
Pruebas Específicas	
pH	10%: 5.1 20%: 5.2 60%: 5.5
Concentración	Según la GC/MS el carvacrol es el compuesto más concentrado en el aceite 80.79% en el extracto fresco y en el seco 82.04%

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Tabla 2324

Características organolépticas de las preformulaciones.

Características organolépticas	Crema 10%	Crema 20%	Crema 60%	Ungüento 10%	Ungüent o 20%	Ungüento 60% Hojas frescas
Color	Blanco	Verde	Amarillo	Verde	Amarillo	Incoloro
Olor	Característico de la planta	Característico de la planta	Característico de la planta	Característico de la planta	Característico de la planta	Característico de la planta
Consistencia	Libre de grumo semisólida	Libre de grumos semisólida	Libre de grumos semisolida	Libre de grumos Pasta grasa	Libre de grumos Pasta grasa	Libre de grumos Pasta grasa

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW92]: En esta tabla es necesario colocar todos los límites visuales para mejorar la separación de cada una de las características que se mencionan en ella

Mejorar la visualización en cuanto a orden

Con base en los resultados obtenidos tras realizar los controles a las preformulaciones, de acuerdo con las características organolépticas declaradas por el RTCA (11.03.56:09), se obtuvo para las preformulaciones un color blanco y verde para las cremas, y un color transparente, amarillo y verde para los ungüentos, con un olor característico de la planta que se utilizó.

Tabla 2425

Resultado del pH realizado a las preformulaciones.

	Crema 10%	Crema 20%	Crema 30%	Ungüento 10%	Ungüento 20%	Ungüento 60%
pH	5.1	5.2	5.3	5.1	5.2	5.5%

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW93]: Formato

Título más específico

Mejor la tabla con el formato que se muestra abajo

Tabla 25. Nivel de pH de las Preformulaciones a Distintos
Contenidos Porcentuales del Aceite Esencial
Preformulación
(Porcentaje de aceite presente)

Con formato: Centrado

Análisis de preestabilidad.

Se analizan los parámetros de calidad de los productos elaborados debido a que la calidad de ellos cambia con el tiempo, lo cual depende de los factores ambientales que pueden causar afectaciones, como es el caso de la temperatura, humedad y la luz, estos pueden incidir en las distintas formulaciones de manera negativa.

Tabla 2526

Cambios organolépticos.

Exposición de muestras a luz solar	Cambios Organolépticos
Ungüento	No present ó e cambios en su consistencia, apariencia, ni en su olor, no hubo inconsistencia en ninguna de sus dos presentaciones.
Crema	No present ó e cambios en la apariencia su consistencia, tampoco hubo diferencia en su coloración, en ninguna de sus dos presentaciones

Comentado [AAW94]:

Fuente: Elaboración propia, 2021.

A pesar de que no se logró observar cambios específicos en las formulaciones, cabe resaltar la importancia de mantener estos productos lejos de la luz solar y del calor, ya que cuentan con extracto de *Origanum vulgare* este es sensible a la luz solar y al calor, por eso lo ideal sería mantener estos productos en un envase ámbar para así proteger el PA de la luz solar.

Calidad por diseño para el desarrollo farmacéutico.

Según el capítulo 3 de la USP, se representan las pruebas de calidad, criterios y procedimientos para evaluar un producto elaborado para formas farmacéuticas de uso tópico, se clasifican en:

Tabla 26+7

Pruebas de calidad para productos de uso tópico.

pH	Propiedades Físicoquímicas
Contenido de agua	Impurezas presentes
Contenido de antioxidantes	Concentración
Contenido de conservantes antimicrobianos	Identificación
Uniformidad de dosificación de unidades	Descripción del producto

Fuente: USP-[3](#), 2021.

Comentado [AAW95]: No queda claro el contenido de esta tabla, ya que no se visualiza la clasificación de las variables a tabular o la clasificación, para ser una lista de ser así la tabla no es lo más recomendable



Figura 4048. Preformulaciones.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Análisis de Riesgos en Preformulaciones

Tabla 27

Análisis de riesgos de cremas formuladas.

Elementos del QTPP		Objetivo	¿Es un CQA?	Justificación
Atributos físicos	Apariencia	Color verde en dos formulaciones, una en blanco presenta consistencia y forma agradable.	NO	No se relacionan directamente con la seguridad y eficacia del producto. Por lo tanto, no representan atributos críticos de calidad.

Olor	Presentan un fuerte olor a orégano.		El olor no se relaciona directamente con la seguridad y eficacia, pero este puede afectar la aceptabilidad en el paciente. En cuanto a la formulación, los excipientes utilizados no presentan mal olor, pero el extracto de <i>Origanum vulgare</i> sí; no obstante, este se encuentra lo suficiente diluido entre los diferentes excipientes utilizados.
Envasado	Envase vidrio	Sí	Las muestras piloto, al poseer aceite esencial de oregano y mantenerse en envase vidrio no ambar, el cual no protege al PA de sufrir desnaturalización por la luz solar, puede afectar la eficacia y seguridad del paciente, por lo cual se considera un CQA.
Identificación	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas:	Sí	Al representar evidencia de carvacrol se calificaría como un CQA debido a que representaría seguridad y eficacia terapéutica para el paciente.
	IR: El espectro de absorción coincide con	Sí	Al coincidir el espectro de absorción (extracto) con el

	los patrones obtenidos de la literatura consultada.		estándar obtenido del aceite y del carvacrol en la literatura se califica como un CQA debido a que podría representar seguridad y eficacia terapéutica en el paciente al contar con carvacrol.
Ensayos específicos	pH: 5.1 5.2 5.3	Sí	Presencia de pH elevado puede representar atributos críticos sobre el paciente.
		NA	NA
Límites microbianos			
Concentración del extracto utilizando		10%,20%, 60%	

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Tabla 28

Análisis de riesgos de ungüentos

Elementos del QTPP	Objetivo	¿Es un CQA?	Justificación
Atributos físicos Apariencia	Color Verde amarillo incoloro	No	No se relacionan directamente con la seguridad y eficacia del producto. Por lo tanto, no representan atributos críticos de calidad.

Olor	Presentan un fuerte olor a orégano.	No	El olor no se relaciona directamente con la seguridad y eficacia, pero este puede afectar la aceptabilidad en el paciente. En cuanto a la formulación, los excipientes utilizados no presentan mal olor, pero el extracto de <i>Origanum vulgare</i> sí; no obstante, este se encuentra lo suficiente diluido entre los diferentes excipientes utilizados.
Envasado	vidrio	Sí	Las muestras piloto, al poseer aceite esencial de oregano y mantenerse en envase vidrio, el cual no protege al PA de sufrir desnaturalización por la luz solar, puede afectar la eficacia y seguridad del paciente, por lo cual se considera un CQA
Identificación	Cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de masas:	Si	Al representar evidencia de carvacrol se calificaría como un CQA debido a que representaría seguridad y eficacia

terapéutica para el
paciente.

Fuente: Elaboración propia, 2021

Con este análisis podemos determinar que hay aspectos a mejorar como lo es el envasado de que lo recomendable es utilizar un frasco ambar o de plástico donde no tenga contacto el producto con la luz exterior y no tener las formulaciones en temperaturas altas.

Determinación de la actividad antimicrobiana de las preformulaciones con el aceite esencial como principio activo mediante pruebas de sensibilidad por discos

Obtención del material biológico.

Las cepas certificadas de *Staphylococcus aureus* ST 2341563 se adquirió en el laboratorio MICROLABS en San José.



Figura 4143. Cepa *Staphylococcus aureus*.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Activación de las cepas.

Este proceso consiste en incubar la cepa bacteriana a 37 °C durante 18 horas antes de realizar la prueba de discos de sensibilidad ya que se necesita llegar a una fase logarítmica, se utiliza agar manitol salado para *Staphylococcus*, por cada caja bacteriana se esterilizan dos tubos de ensayo con medio líquido TSB (*Tryptic Soy Broth*), con un asa estéril se tomó una parte del cultivo, seguidamente se agitó hasta que el inóculo esté sobre la base del tubo y se incubó durante 18 horas, para realizar este método las colonias no deben sobrepasar las 24 horas de incubación (Asensio, 2013).



Figura 4244. Cámara de flujo laminar.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Inoculación de la placa.

La inoculación de la placa se realizó dentro de los 15 minutos siguientes a la estandarización del inóculo, con la ayuda de un hisopo se inoculó la placa partiendo desde la superficie frotando de ida y vuelta, de un borde a otro, se rotó la placa 60° y se repitió el proceso de frotado, garantizando que el inóculo se distribuya homogéneamente (Cavalieri *et al.*, 2005).



Figura 4345. Inoculación de la placa con *S. aureus*.

Fuente: Elaboración propia, 2021.

Comentado [AAW96]:

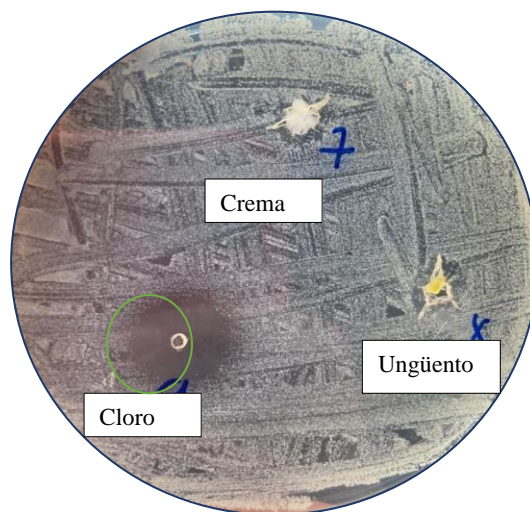
Determinación de la actividad antimicrobiana de las pre- formulaciones con el aceite esencial como principio activo mediante pruebas de sensibilidad por discos.

El efecto antibacteriano AEO fue puesto a prueba mediante formulaciones magistrales en crema y unguento al 10%, al 20%, 60% empleando como patrón negativo la crema base (sin aceite) según la formulación descrita en la metodología y como control positivo se utilizó una gota de cloro los mismos que fueron aplicados por el método de Kirby-Bauer sobre *Staphylococcus aureus*.

En estudios previos se ha determinado la eficacia del AEO, como menciona Ortega en su artículo, Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de Orégano, donde evaluaron la composición y actividad contra las bacterias del aceite de orégano, el cual fue extraído de plantas de dos localidades donde utilizaron el método de hidrodestilación de las hojas de orégano y cromatografía de gases acoplada con espectrometría, se determina la actividad antimicrobiana se elaboró por difusión en disco. La actividad antimicrobiana del aceite esencial varía según el origen de la planta sin embargo tiene una elevada actividad sobre *Escherichia coli* (Halo de Inhibición 15.2 +/- 6.11), *Staphylococcus aureus* (halo de inhibición 16.0 +/- 7.42mm) y el halo de inhibición control con Oxacilina fue 19.5 +/- 0.7mm por lo que sugieren utilizar en los alimentos

Preparación de discos de sensibilidad.

Se ubicaron 3 discos de sensibilidad para cada formulación con su respectiva concentración (10%, 20%, 60%) y un disco para colocar respectivos blancos, a cada disco se le colocaron las muestras, en cada orificio se agrega de 3- 10 microlitros, en el primer disco se colocó en el orificio número 7 blanco de crema, en el número 8 blanco de ungüento y en el orificio 9 se decidió colocar cloro para observar el tamaño de un halo real, cada sustancia fue colocada en el disco, con la ayuda de un gotero estéril se impregnó una muestra para cada disco de sensibilidad con las concentraciones respectivas de cada preformulación.



Comentado [jA97]: Esta desordenado. Primero tabla de masas de orégano. Ahí habla del material de inicio. Luego tabla con los volúmenes de extracto obtenido: fotos y demás. Tabla de relación masa volumen de hojas vrs aceite obtenido. Discute sobre esto. Luego los infrarrojos y GC-masas donde se habla de la composición del aceite y se discute la relación con las referencias, se parece o no, en que se diferencia, etc... Luego las elaboraciones de las cremas y demás... Luego lo de los halos, resultados y discusión de cual no funciono, cual funciono mejor, etc. Al final toda una amplia discusión que recopile todo lo obtenido, que se logro y demás.

Comentado [AAW98]: Estos son los porcentajes de aceite en la formulación

Figura 4446. Blancos negativos y blanco positivo.

Tabla

Halos inhibición blancos negativos y blancos positivos

Sustancias Utilizadas	Halos de inhiacion.
Crema Blanco	No presenta halo
Ungüento Blanco	No presenta halo
Cloro	13mm

En la figura 46 se logra observar que los blancos tanto de la crema como el ungüento, no poseen AEO por ende no generan un halo de inhibición los cuales sirven como controles negativos, en el orificio 9 donde colocamos un control positivo que fue el cloro este si logro formar un halo de inhibición

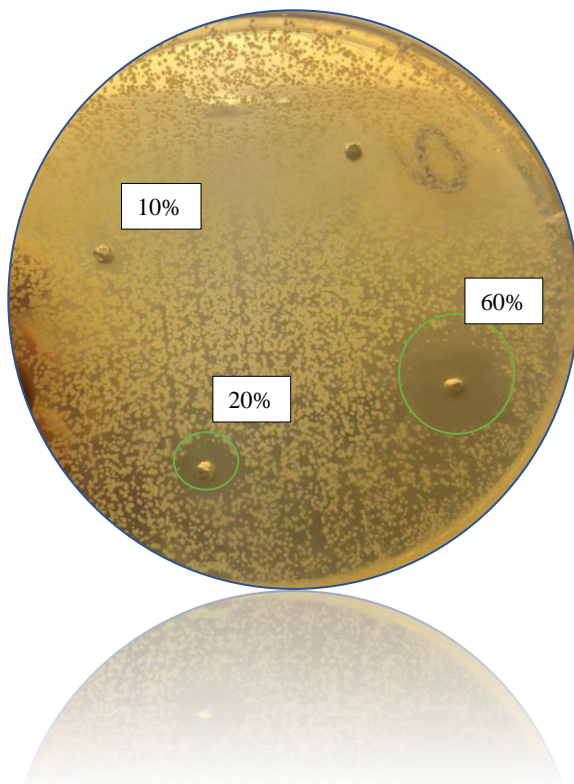


Figura 47. Halos inhibición Obtenidos con Ungüento 10%, 20%, 60%
 Fuente: Elaboración propia, 2021.

Tabla 28
 Halos Inhibición unguento

Porcentaje de unguento con el aceite esencial (%)	Halos de inhibición debido a las concentraciones (mm)
60%	15mm
20%	8mm
10%	5mm

Elaboración propia, 2021

Comentado [AAW99]: Esto se refiere al contenido de aceite en el unguento?, de ser así indicarlo de esa manea:
 Proporción del aceite en el unguen

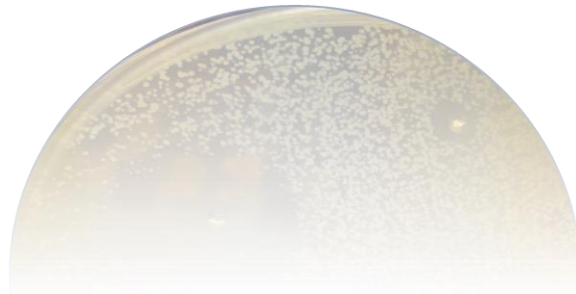
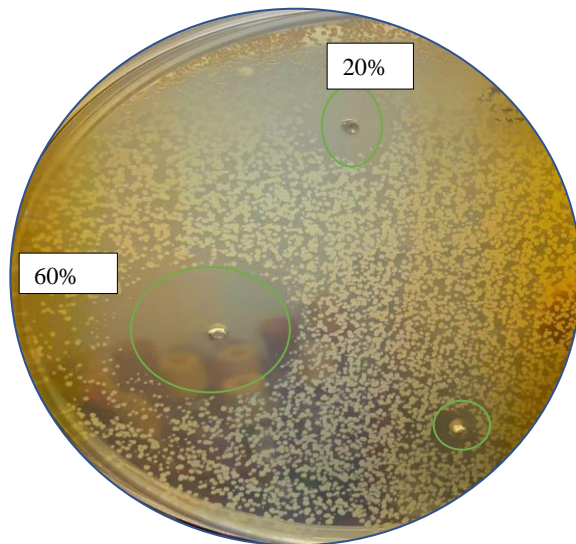
Con formato: Centrado

Con formato: Centrado

Con formato: Centrado

Con formato: Centrado

Con formato: Centrado



10%

Figura 48. Halos de inhibición de las Cremas 10%,20%,60%
Elaboración propia, 2021

Tabla 29

Halos Inhibición cremas

Porcentaje contenido de AEO en la crema (%)	Halo de inhibición (mm)
10%	5.00 mm
20%	10.00 mm
60%	20.00 mm

A partir de esta figura se logra demostrar la potente efectividad de la crema con el AEO frente al *Staphylococcus aureus* el tipo más frecuente de infección por estafilococos es el forúnculo, una acumulación de pus que se forma en un folículo piloso o una glándula sebácea. La piel que se encuentra por encima de la zona infectada suele enrojecerse e hincharse, se puede observar ~~la~~ y medir la formación de los halos de inhibición presentes en la placa de agar manitol sal.

Los resultados obtenidos en las tablas revelan que el *staphylococcus Aures* es sensible al AEO, el potencial antibacteriano de acuerdo con las diluciones realizadas de los aceites en las preformulaciones, donde los halos de inhibición con diámetros menores a 8mm, según la escala de Duraffourd, mencionado por el autor Quintanilla (2016), se interpreta como una cepa de levadura resistente; por esta razón se puede determinar que el valor aproximado de la concentración mínima inhibitoria del AEO es del 20%, ya que presentó un halo de inhibición igual a los 8mm.

~~Podeos~~ Se puede determinar con respecto a la medición de los halos obtenidos que la CMI se encuentra al 20% por ende la concentración mínima efectiva sería a partir del 20% lo que nos repalda con los estudios donde se demuestra de igual manera que la (CMI) demuestra un efecto

Comentado [AAW100]: Formato

Tabla con formato

Con formato: Centrado, Posición: Horizontal: Centro,
Con relación a: Margen

Con formato: Centrado, Posición: Horizontal: Centro,
Con relación a: Margen

Con formato: Centrado, Posición: Horizontal: Centro,
Con relación a: Margen

Con formato: Centrado, Posición: Horizontal: Centro,
Con relación a: Margen

Comentado [AAW101]: Nombre y formato

del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* desde el 20% siendo estos resultados similares a los obtenidos por De Souza et al. (2008) en el mismo tipo de cepa.

Colpa M. (2016), encontraron halos de inhibición de 14.7mm, 24.2mm, 39mm y 48.6mm para el aceite esencial de orégano al 25%, 50%, 75% y 100%, de acuerdo con estos resultados ~~podemos puede~~ decirse que los blancos utilizados en el presente estudio no interfiere con el efecto antimicrobiano sobre *Staphylococcus Aureus*. Estos resultados son congruentes con ~~nuestro el~~ presente estudio al comparar el tamaño de los halos de inhibición obtenidos.

Para finalizar, el efecto antimicrobiano se observa en la formulación de la crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en una concentración del 20% y 60% sobre *Staphylococcus Aurus* se respalda del estudio de Pradebon L., Da Silva T., Freitag R. y Guerra R., (2017), los cuales realizaron una Cromatografía de gases al aceite de *Origanum vulgare* y describieron que sus principales compuestos fenólicos responsables del efecto sobre *Staphylococcus Aures* son: timol y carvacrol, indicando su efecto a partir del 1%, 5% y 10%.

Según Hammer, Carson, & Riley (1999) utilizaron aceite comercial al 2,0% sobre *S. aureus*. García (2006) al realizar un estudio con extracto alcohólico determinó la CMI al 2.77 %, el autor manifiesta que la variación se debe a que los extractos alcohólicos necesitan de mayor concentración para inhibir el crecimiento bacteriano. La comparación de datos obtenidos en este estudio con respecto a artículos previamente publicados resulta compleja, Hammer et al. (1999)

Estudios señalan que las infusiones a partir del 20 % de concentración son efectivas respecto a la inhibición del crecimiento bacteriano de *Streptococcus Aureus*, el orégano posee actividad antimicrobiana sobre bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, y gram negativas como la *Escherichia coli*, *Salmonella tiphymurium* y *Vibrio cholerae*; siendo *Streptococcus mutans* una bacteria gram positiva y de gran importancia en el desarrollo inicial de la caries dental. (OMS, 2012)

Comentado [AAW102]: El inicio de este párrafo es reiterativo, modificar la redacción para evitar esto.

Adicionalmente no queda claro el razonamiento que la lleva a determinar la CMI

El estudio De Souza qué tipo de formulación implicó

Comentado [AAW103]: En qué tipo de formulación

Comentado [AAW104]: itálica

Comentado [AAW105]: revisar

Comentado [AAW106]: formato

Comentado [AAW107]: formato

Comentado [AAW108]: Qué ventaja provee su propuesta sobre las alternativas existentes. Que distingue su estudio de otros realizados con la misma fuente vegetal u otra sobre el microorganismo en estudio.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- El método de arrastre con vapor demostró eficacia para obtener el aceite esencial de *Origanum vulgare*. y se logró obtener buena concentración de los compuestos de AEO
- Las pruebas cualitativas, cuantitativas fueron contundentes para identificar los compuestos orgánicos.
- El análisis de infrarrojo demostró la presencia de grupos funcionales como anillos aromáticos, grupos hidroxilos (O-H) y alquenos, lo que concuerda con las moléculas de interés, que son el carvacrol y el timol.
- La GC/MS demostró cuantitativamente las concentraciones de los compuestos del aceite esencial de orégano donde demostró mayoritariamente la presencia de carvacrol en un 82% seguido por el timol y el p- cymeno.
- Se determina que el compuesto con mayor presencia en el AEO es el carvacrol en el aceite esencial seco 82.04%, en el fresco 80.79% seguidos por el timol 4.41% en el extracto de hojas secas y 4.88% en el extracto de hojas frescas.
- Se obtuvieron seis productos finales de cremas, ungüentos con consistencias uniformes, con olores característicos, de fácil aplicación y no se observó inconsistencia al exponer a la luz durante 72 horas
- Se determinó que, para la estabilidad de las muestras, es importante que su almacenamiento sea por medio de la utilización de envasado que proteja la muestra de la luz, ya que, compuestos como la lanolina, suelen ser inestables en presencia de la luz solar en tiempos prolongados y temperaturas elevadas igualmente el Principio activo
- En cuanto al pH de las formulaciones se logró mantenerlas en el rango esperado (5 a 6) esto para mantener el pH normal de la piel y también para que el microorganismo
- Se determina que la CMI de las cremas y ungüentos el cual fue al 20%
- Se determinó que la concentración de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), de mayor sensibilidad antimicrobiana fue la concentración al 60% sobre *Staphylococcus aureus* y la mejor respuesta a sensibilidad antimicrobiana fue la concentración al 60%.
- Según los Halos de inhibición se determinó que la crema es la mas eficaz sobre en *Staphylococcus Aureus* ya que sus halos fueron al 10%: 5mm, 20%: 10mm y 60%: 20mm, mayores al ungüento

Comentado [AAW109]: Cómo llega a esta conclusión?

Comentado [AAW110]: Esta no parece ser una conclusión fundamentada, debe explicar cómo llega a ella

Comentado [AAW111]:Cuál es la conclusión acá

Comentado [AAW112]: Inconclusa

Comentado [AAW113]: Esto es un resultado y no una conclusión

- Las seis formulaciones desarrolladas cumplieron con los estándares de calidad esperados, también cumplieron con las propiedades organolépticas esperadas y se manifestaron libres de microorganismos aerobios que son los que normalmente se encuentran en mayor proporción en las formulaciones farmacéuticas en general.

Recomendaciones

Universidad Internacional de las Américas

Es necesario, que se valore ampliar los laboratorios de química y con equipos de alta calidad especializados para el desarrollo de investigaciones experimentales más precisas, para las cuales se necesita el equipo de espectrómetro de masas, rotavapores, cámaras de incubación con temperaturas regulables, equipos de esterilización, equipos de análisis ultravioleta.

Estudiantes de Farmacia

Llevar a cabo investigaciones que planteen distintas alternativas para los pacientes cuyos tratamientos convencionales no logran controlar los síntomas de sus patologías.

Farmacéuticos

Utilizar el producto como tratamiento coadyuvante a un tratamiento antibiótico convencional, para disminuir la resistencia a los antibióticos orales

Futuros Investigadores

Ampliar el estudio y probar el efecto antibacteriano con bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Ampliar el estudio de sinergia de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a fármacos de interés terapéutico en el tratamiento de afecciones frente a *Staphylococcus aureus*, para verificar si se puede utilizar solo el tratamiento tópico que se diseñó.

Comparar la planta con especies de otras zonas del país para determinar si las propiedades y concentraciones de sus compuestos varían.

Tener un patrón de la planta por estudiar para comparar los resultados obtenidos.

REFERENCIAS

- Acosta, M. y Céspedes, Z. (2004). *Actividad antibacteriana de los aceites esenciales derivados del tomillo y el orégano*. (Tesis doctoral). Universidad Iberoamérica. Costa Rica.
- Albado, E., Sáez, G. y Gabriel, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Revista Médica Herediana*. 12 (1). pp. 16-19.
- Amado, S. y Martínez, G. (2015). *Lecciones de dermatología*. México. Edición 16. Disponible: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=99042695&bookid=1537&jumpsectionID=103415000&Resultclick=2#1119018939>
- Arango, O., Hurtado, A., Castillo, P., & Santacruz, M. (2009). Estudio de las condiciones de extracción por arrastre con vapor del aceite esencial de laurel de cera (*Morella pubescens*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(2), 40- 48.
- Arcila, C., Loarca, G., Lecona, S. y González, E. (2004). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(1), 100-111.
- Arenas, R. (2015). *Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento*. (6ª edición). México: Mc Graw Hill.
- Bahl, R., Sandhu, S., Singh, K., Sahai, N., Gupta, M. (2014). Odontogenic infections: Microbiology and management. *Contemp Clini Dent*. 2014 julio- setiembre; pp 1-8
- Baldassare, P. y Whittle, P. (2004). Ultrasonografía de piel y anexos. *Revista Chilena de Radiología*. Vol. 10. Par 1 Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-93082004000200007&script=sci_arttext

- Bauer, A. Kurt, G. Garbe, D. (2001). *Common Fragrance and Flavor Materials. Preparation, Properties and Uses*. (4^a ed). Alemania: Wiley-VCH. Weinheim (Germany)
- Belmonte, J. J. (2012). fasmasa schwabe. Recuperado el 13 de 06 de 2013, de (<http://www.schwabe.com.mx/fito/queson.html> 13/06/2013 2:30pm)
- Birder, L.A., Perl, E.R. (1994). Cutaneous sensory receptors. *J Clin Neurophysiol*. 1994;11(6):534-552. Disponible: https://www.sochiderm.org/web/revista/28_1/10.pdf
- Bustos, M., Hamdan, P., Gutiérrez, C. (2006). *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Rev Biomed*. 2006; 287-305. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=6582977&pid=S1870-0195201300040000900002&lng=es
- Camacho, F., Conejo, J., Moreno, J. (2018). *Manual de Dermatología*, 2^a edición, Vol. 1. Editorial Aula Médica. Capítulo 1, pp.4-22.
- Camacho, M., Perazzi, B., Bombicino, K., Vay, C., & Famiglietti, A. (2010). *Staphylococcus aureus*: nuevos y antiguos antimicrobianos. *Revista Argentina de Microbiología*, 42(3) 199-202. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/2130/213014867010.pdf>.
- Castellanos, I., González, E., Morales, I., Pascual, D., & Pérez, Y. (2014). *Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional*. MEDISAN, 1467-1475.
- Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos (2016). *Guía para la elaboración del protocolo de ensayo clínico. Procedimientos normalizados de trabajo*.
- Cervantes, E., García, R. y Salazar, M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*. pp. 28-30. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018-130X2001000100004&script=sci_arttext

- Chévez, H., Coronado, A., & Espinoza, L. (2014). *Determinación y comparación de propiedades fisicoquímicas de aceites de pino extraídos mediante la técnica de Soxhlet y Clevenger*. León: Facultad de Ciencias y Tecnología Departamento de Química - UNAN León.
- Escudero, J. P. (2013). *Comparación del efecto cicatrizante de una crema a base de Rosmarinus officinalis L (Rosmarinus officinalis), matico (Piperaduncum) y cola de caballo (Equisetum arvense) en heridas inducidas en ratones (Mus musculus)*. Tesis. Riobamba, Ecuador.
- Esteve, E. (Septiembre de 2006). El tratamiento de las heridas, Vol 25, n° 8. Obtenido de *Revista Elsevier*:<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-tratamiento-heridas13094127>
- Estrada, S. P. (2010). *Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de Rosmarinus officinalis L (rosmarinus officinalis) y tomillo (Thymusvulgaris)*. Tesis. Riobamba, Ecuador.
- Flòrez, J. (s.f). *Fármacos y Dolor*. Madrid: Ergon. C/ Arboleda.
- Fonnegra, G. R. & Jiménez, R. S. L. (2007). *Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia*. (2a ed.) Medellín: Editorial Universidad de Antioquia.
- García, B., *et al.* (2015). *Cremas*. AEPAP.
- García, K. P. (2014). *Elaboración de crema cicatrizante a base de Rosmarinus officinalis L (Rosmarinus officinalis) y llantén (Plantago major)*, Machala 2014. Machala, El Oro, Ecuador.
- Gimeno, N. L. (2013). *Origanum vulgare L. (Origanum Vulgare L)*. En *Plantas Medicinales* (p. 23). Madrid.

Goldman, P. L., Petersdorf, R. G. (2009). Significance of Methicillin Tolerance in Experimental Staphylococcal Endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* Jun 1; 15(6):802-6.

González, M., Medina, C., & Molina, C. (2012). Efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri*) en bacterias patógenas de camarón *Litopenaeus vannamei*. *Revista Hidrobiológica*. 22(3) 201-206. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v22n3/v22n3a2.pdf>.

González, R., & Cardentey, J. (2016). Conocimiento sobre medicina natural y tradicional por residentes de Medicina General Integral. *Revista médica electrónica*, 1684-1824.

Gutiérrez, G., Borke, P., Lonchampa, Barry-Ryan, C. 2009. Implant of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 195-202.

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., ... & von Wright, A. (1998). Characterization of the action of 35 selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(9), 3590- 3595

Hernández, A. (2014). *Farmacología general. Una guía de estudio*. México. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=96949390&bookid=1489&jumpsectionID=96949398&Resultclick=2#1115735913>

Hierro, S. y Archundía, A. (2013). *Cirugía 2*. México. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=94945701&bookid=1434&jumpsectionid=94945705&resultclick=2>

Jong, L. (2012). *Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales*. Chicago: Directrices Organización Mundial de la Salud.

- Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F., & Weisslowicz, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Microbiology*, 76(6), 626-631.
- Kayser F. Basic aspects of antibiotic resistance in the multiresistant *Staphylococcus*: an overview. *Chemotherapy*. 1996; pp 2–12.
- Kuklinski, C. (2003). *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural* (1a. ed., 1a. reimp.). Barcelona: Omega.
- Leiva, P. (2016) *Desarrollo de una formulación fitofarmacéutica oral no estéril (enjuague bucal), a partir de las partes aéreas de dos drogas vegetales tomillo (Thymus vulgaris L) y orégano (Origanum vulgare L) evaluando la actividad antifúngica frente a Candida albicans.*
- Lizano, I. (2013). *Efecto de la aplicación de los aceites esenciales extraídos a partir de las hojas de pimienta de Jamaica (Pimienta dioica), hojas de canela (Cinnamomum zeylanicum) y orégano (Origanum vulgare) en la preservación de carne de res.*
- Lowy, F. D. Antimicrobial resistance: The example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Infect*. 2003; 111: 1265-1273.
- Lozano, E., López, G., y Salazar, M., (2013). Interacción sinérgica de propóleo (*Propolis*) y orégano (*Lippia graveolens Kunth s.l.*) contra *Staphylococcus aureus*. *Rev. mex. cienc. farm* vol.44 no.4 México oct./dic. 2013. Disponible: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000400009
- Lu, M., Dai, T., Murray, C. K., & Wu, M. X. (2018). *Bactericidal Property of Oregano Oil against Multidrug-Resistant Clinical Isolates*. 9(2329). Doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.02329>

Lucarz, A., Brand, G. (2007). Current considerations about Merkel cells. *Eur J Cell Biol.* 2007; 86(5):243-251. Disponible: https://www.sochiderm.org/web/revista/28_1/10.pdf

Maguna, F., Romero, A., Garro, O. y Okulik, N. (2006) *Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides*. Comunicaciones científicas y tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste. p.57

Mavor, A., Thewes, S. y Hube, B. (2005) Systemic Fungal Infections Caused by Candida Species: Epidemiology, Infection Process and Virulence Attributes. *Revista Current Drug target.*

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Medina, D., Machado, M. y Machado, J. (2015). Resistencia antibióticos, una crisis global. *Revista Médica Risaralda*. Volumen 21. N°1. p.74.

Morales, M., & Morales, J. (2015). Plantas medicinales, fitofármacos y fitomedicina (Fitoterapia Moderna y Racional), basada en la evidencia científica. *Sociedad Chilena de Fitoterapia*, 1-14.

Muñoz Gómez, M. D. (Febrero de 1999). *Extracción y caracterización del aceite esencial de orégano a escala laboratorio*. Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/16494/1/25-1-14393.pdf>

Nami, T. S., Le Dell, K. H., Sabetti, K., Borchadt, S. M., Boxrud, D. J., Elianne, J. (2003) Comparison of community and health care associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection. *JAMA*; 290: 2976-2984.

Olaechea, P. M., Insausti, J., Blanco, A., Luque, P. (2010). Epidemiología e impacto de las infecciones nosocomiales. *Med Intensiva*. 2010; 34: 256-267.

Organización Mundial de la Salud. (2018). *Medicina tradicional*. Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/

Organización Mundial de la Salud. (29-01-2018). *Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo*. Disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>

Organización Mundial de la Salud. *Salud Bucodental*. Nota Informativa N ° 318. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2012. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>

Pharmaceutical Technology. (2017). *Calidad por diseño en la manufactura de APIs*. Benito Juárez, México: Revistas para Industria, S.A

Ponce de León-Rosales, S. P., Álvarez, L. C. H. (2002). *Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE)*. Cap. 5. En: JR de la Fuente, R. Tapia, MA. Lezana F, ed. *La información en Salud*. McGraw-Hill: 53-97.

Quesada, J., & Murillo, R. (2019). *Control de calidad de fitofármacos con la utilización de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y la aplicación del análisis de componentes principales (PCA)*. *Tecnología en Marcha*, 81-94

Rawat, M., Semalty, A., & Semalty, M. (2019). *Pharmaceutical Technology*. Chicago: PharmaMed.

Requejo A. *Aceites esenciales en sinergia* [Internet]. Google Libros. 2020 [citado 28 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=YNruDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT5&dq=aceites+esenciales&ots=WvRSbAxQI9&sig=px3F7gqEtbow90wOYKg37d6dKK8#v=onepage&q=aceites+esenciales&f=false>

Sáenz, G., Ataucusi, S. y Albado, G. (2001) Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Rev Med Hered* v.12 n.1 Lima ene./mar. 2001.

Salazar Adru. *Bioquímico Farmacéutico*. (Tesis). Riobamba - Ecuador: Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Bioquímica Y Farmacia; 2012.

Sampieri, R., Fernández, C. y Baptista, M. (2014). *Metodología de la investigación*. (6ª edición). México: Mc Graw Hill.

Schwabe, W. (2014). *Fitofármacos*. Retrieved from Schwabe Group, From Nature, From Health: <https://www.schwabe-group.com/es/schwabe-global/>

Código de campo cambiado

Stashenko, E., Ruíz, C., Arias, G., Durán, D., Salgar, W., Cala, M., Martínez, M. (2010). Lippia organoides chemotype differentiation based on essential oil GC-MS analysis and PCA. *Science*. 2010 (33), 93-103.

Tapia-Rodríguez, M. R., Hernández-Mendoza, A., González-Aguilar, G. A., Martínez-Tellez, M. A., Martins, C. M., & Ayala-Zavala, J. F. (2017). Carvacrol as potential quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* and biofilm production on stainless steel surfaces. *Food Control*, 75, 255-261. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.014>

Velázquez-Meza, M. E. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. *Salud Pública Méx* 2005; 47:381-7.

Yilmaz, D., & Jasinskas, A. (2016). Effect of harvest date and stalk section on selected strength characteristics of turkish oregano (*Origanum onites* L). *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 13(4), 191-198. doi: <http://dx.doi.org/10.21010/ajtcam.v13i4.25>

Código de campo cambiado

Yousef, H., Sharma, S. (2017). *Anatomy, Skin (Integument), Epidermis*. StatPearls Publishing.

Zhang, X. (2002-2005). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Ginebra.