



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA
SALUD
ESCUELA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS
EVALUACIÓN DEL EFECTO CICATRIZANTE DE UNA CREMA
DÉRMICA CON EL ACEITE ESENCIAL DE *Thymus vulgaris*
“TOMILLO”.**

**PRESENTADO POR
RUBÉN DAVID ACOSTA JARA**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

**HUACHO - PERÚ
2014**

DEDICATORIA

A Dios por haberme iluminado dándome fortaleza, conocimiento y sabiduría para seguir adelante y lograr este triunfo a través de sus bendiciones.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerle a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la Universidad Alas Peruanas por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mi Asesor de tesis de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Dr. Mario Carhuapoma Yance por su esfuerzo y dedicación, y a la Q.F. Magna Torres Armas de la Universidad Alas Peruanas – Filial Huacho, quienes con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

También me gustaría agradecer a mis profesores durante toda mi carrera profesional porque todos han aportado con un granito de arena a mi formación.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

INDICE

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTO	3
INDICE	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCION	7
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO METODOLOGICO	9
1.1. Descripción de la Realidad Problemática	9
1.2. Delimitación de la Investigación	11
1.3. Problemas	12
1.4. Objetivos	12
1.5. Hipótesis y Variables de la Investigación	13
1.6. Metodología de la Investigación	13
1.7. Justificación, importancia y limitaciones	20
CAPITULO II: MARCO TEORICO	23
2.1. Antecedentes de la Investigación	23
2.2. Bases teóricas	29
2.3. Definiciones básicas	69
CAPITULO III: ANALISIS E INTERPRETACIONES DE RESULTADOS	73
CONCLUSIONES	90
RECOMENDACIONES	91
BIBLIOGRAFIA	92
ANEXOS	98
MATRIZ DE CONSISTENCIA	108

RESUMEN

La cicatrización es un proceso natural del cuerpo para regenerar los tejidos de la dermis y epidermis en caso de una herida. Debido a ello hay una serie de formas farmacéuticas y fitoterápicos como el uso de plantas medicinales y aceites esenciales que han demostrado tener efecto cicatrizante, antiséptico y antiinflamatoria. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto cicatrizante de una crema formulado a base del aceite esencial de *Thymus vulgaris* en heridas empleando el modelo del lomo de ratones albinos hembras. A través del modelo de *screening* fitoquímico se logró determinar los principales componentes del extracto hidroalcohólico de *Thymus vulgaris*, siendo los componentes fenólicos como los flavonoides y taninos los más abundantes. Por el método de destilación por arrastre de vapor se obtuvo el aceite esencial, presenta un rendimiento de 1,00%v/p en muestra fresca, siendo un parámetro de calidad a tomar en cuenta para posteriores trabajos de investigación. Al 5%,10% y 15% en forma de crema, fue evaluado de acuerdo al método tensiométrico. Se observó que los niveles de resistencia de la herida cicatrizada con la crema al 5% fue de 78,60%el más alto porcentaje mostrado, sometida a una tensión, constituyéndose por ello en la dosis efectiva, habiendo sido corroborado con su respectivo corte histológico. En la formulación de la crema y el uso del aceite esencial como preservante resulta compatible desde el punto de vista reológico y con una aplicación organoléptica aceptable, teniendo una ventaja frente a los preservantes sintéticos. Podemos concluir que el aceite esencial de *Thymus vulgaris* tiene efecto cicatrizante y conservante en función a las concentraciones usadas, siendo una alternativa de uso dentro de la crema cosmética.

PALABRAS CLAVE: *Thymus vulgaris*, aceites esenciales, cicatrizante, crema cosmética.

ABSTRACT

The cicatrization is a natural process of the body to regenerate the fabrics of the dermis and epidermis in case of a wound. Due to it there is a series of pharmaceutical forms and fitoterápicos as the use of medicinal plants and essential oils that they have demonstrated to have healing, antiseptic effect and antinflamatoria. The aim of the present work was to determine the healing effect of a cream formulated based on the essential oil of *Thymus vulgaris* in wounds using the model of the loin of albino mice females. Across the model of screening fitoquímico it was achieved to determine the principal components of the extract hidroalcohólico of *Thymus vulgaris*, being the phenolic components like the flavonoides and the most abundant tannins. For the method of distillation by steam dragging the essential oil was obtained, he presents a performance of 1,00%v/p in fresh sample, being a qualit parameter to bearing in mind for later works of investigation. To 5 %, 10 % and 15 % in the shape of cream, were evaluated in agreement to the method tensiométrico. Was observed that the levels of resistance of the wound healed with the cream to 5 % it was 78,60 % the highest percentage showed, submitted to a tension, being constituted by it in the effective dose, having being corroborated by his respective histological cut. In the formulation of the cream and the use of the essential oil since preservante turns out to be compatible from the rheological point of view and with an application organoléptica acceptable, having an advantage opposite to the synthetic preservantes. We can conclude that the essential oil of *Thymus vulgaris* has healing and preserving effect in function to the secondhand concentrations, being an alternative of use inside the cosmetic cream.

KEY WORDS: *Thymus vulgaris*, healing, essential oils, cosmetic cream.

INTRODUCCIÓN

Una crema cicatrizante es una emulsión muy utilizada en la dermatocósmética, para embellecer y tratar algunas dermatopatías de heridas. Los componentes de una crema son distintos dependiendo para qué uso se formula, y la preservación de la misma es importante a tener en cuenta para su tiempo de uso o vida útil.

Existe una gran variedad de materias primas para la elaboración de cremas, así mismo las fórmulas adecuadas y estables que se producen con estos componentes son muy numerosas, además existen en el mercado cada día nuevas tecnologías y sustancias que se aplican para la fabricación de cremas.

El arte del científico cosmético no es seguir fórmulas con dependencia total, sino estudiarlas y adaptarlas a sus propias necesidades e incluso, incorporar, las mejores características de varias fórmulas aplicadas a su propia experimentación y creación.

Al científico cosmético le interesan las características físico-químicas, tales como relación volumen fase oleosa respecto a la fase acuosa, la naturaleza de la fase continua, pH de la emulsión, tipo de emoliente utilizado, temperatura del proceso, etc.

Químicamente las cremas están constituidas por una base que contiene cuerpos grasos, agua, sustancias emulsionantes, sustancias humectantes y medios espesantes que en su conjunto dan lugar a formas cosméticas diferenciadas que constituyen las cremas fundamentales a las cuales se les pueden agregar sustancias activas capaces de desarrollar en el órgano cutáneo efectos particulares y se obtienen las cremas especiales.

Las cremas cosméticas constituyen un ambiente favorable para el desarrollo y multiplicación de microorganismos que se encuentran en la atmósfera generalmente representados por hongos y más raramente por bacterias. Los hongos en las cremas generan alteración del olor que se vuelve desagradable, ácido o pútrido, y en la superficie se manifiestan

colonias en forma de manchas. Las más susceptibles al ataque de hongos son las de tipo aceite en agua. Por lo que es conveniente proteger las cremas mediante un doble sistema de un preservante y antioxidante, contra los hongos se utilizan los ésteres del ácido paraminobenzoico y el clorobutanol en concentraciones del 0,1% para retardar y prevenir la rancidez que se desarrolla en las grasas animales y vegetales conviene adicionar sustancias antioxidantes como el propilgalato y el hidroxianisolato butilado (BHT) e hidroxitoluenobutilado (BHA) en concentraciones de 0,15%. Además de ello se usa el metilparabeno y propilparabeno.

Frente a todo esto podemos plantear que la crema con el aceite esencial de ***Thymus vulgaris***, tiene una eficacia demostrada como cicatrizante y es un buen antimicrobiano en cremas dermocosméticas.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO METODOLOGICO

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA:

Hace tiempo que la humanidad viene aprovechando el uso de diferentes plantas para protegerse de las enfermedades o para curarlas.

Cada civilización tiene sus propias plantas curativas o medicinales. El efecto curativo de la medicina tradicional normalmente se basa en la aplicación de diferentes hierbas medicinales y otros productos de la naturaleza (tierra, agua, productos de origen animal, etc.) con frecuencia en un rito especial que solamente conoce el curandero o médico tradicional. Durante la evolución de la humanidad se desarrolló un conocimiento profundo del efecto curativo de las plantas dentro de cada civilización. Conocemos por ejemplo la medicina tradicional China, la medicina Ayurveda de la India y el curanderismo de Latinoamérica. La eficacia de la medicina tradicional normalmente no es transferible, sino está ligada a la civilización donde se desarrolló. Si tratamos las plantas medicinales como recursos genéticos, podemos afirmar que existe una riqueza botánica enorme, especialmente en los países andinos. Hasta hoy día, el campesino o la «hierbera» recolecta las plantas medicinales del campo. Pero conforme pasa el tiempo muchas especies ya son escasas, principalmente aquellas de las cuales se utilizan las raíces. Existe la necesidad impostergable de atender los diferentes problemas de salud en nuestra población, principalmente en las zonas rurales y urbanas

-marginales; demanda no atendida que se debe a varios factores, entre ellos la cobertura insuficiente que brinda el Sector Salud, el permanente déficit económico de la población más pobre que le impide destinar recursos para la atención de salud y por último la poca o ninguna importancia que se da a la Medicina Tradicional Andina. El uso de plantas medicinales en el Perú es tan antiguo como nuestra cultura andina, muchos conocimientos se encuentran arraigados en el saber popular, sin embargo, la excesiva “modernización” de la Medicina Occidental ha hecho que estos conocimientos sean relegados, y en ciertos aspectos, hasta olvidados.

Las especies vegetales curativas por naturaleza son recursos naturales renovables, esto significa que tienen la capacidad de reproducirse tanto sexualmente como vegetativamente y de esta manera mantener el stock natural de manera constante a través del tiempo. Dentro de este contexto, el uso de las plantas medicinales ha sido y seguirá siendo una alternativa preventiva y curativa para la salud, pero como todo recurso natural está sujeto a la extracción indiscriminada por simple recolección y su consumo no estará garantizado mientras no existan normas que aseguren su sanidad y calidad.

La cicatrización es un proceso natural del cuerpo para regenerar los tejidos de la dermis y epidermis que tiene una herida. Cuando una persona sufre una herida en el proceso de recuperación se llevan a cabo una serie de complejas reacciones bioquímicas que suceden para reparar el daño. Estos fenómenos ocurren con cierto solapamiento temporal y pueden ser divididos para su estudio en las siguientes fases: inflamatoria, proliferativa, y de remodelación. Algunas cicatrizaciones son rápidas y en algunos casos son lentas, generalmente se utilizan cremas con principios activos que ayuden a cicatrizar y generar un campo antiséptico.

Thymus vulgaris (El tomillo) son fundamentalmente los ácidos que contienen esta planta los que le proporcionan propiedades antivirales. El tomillo es un fuerte antibacteriano. Usado externamente es un potente desinfectante y ayuda a cicatrizar las heridas. En el Perú tenemos muchas plantas medicinales y aromáticas con efectos cicatrizantes, como el ***Thymus vulgaris***.

1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. DELIMITACIÓN TEMPORAL

Octubre 2013 a mayo del 2014

1.2.2. DELIMITACIÓN GEOGRÁFICA:

La recolección de la muestra será en Canta - Lima (850 msnm); los ensayos del efecto cicatrizante serán en los laboratorios de la UAP y UNMSM.

1.2.3. DELIMITACIÓN SOCIAL:

Se realizará dentro de la comunidad académica de la Universidad Alas Peruanas Filial – Huacho con el apoyo de un asesor de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, utilizando sus laboratorios y materiales.

1.2.4. DELIMITACIÓN CONCEPTUAL:

La planta medicinal (*Thymus vulgaris* “Tomillo”), crece en la provincia de Canta - Lima (850 msnm), se recolectó el aceite esencial de las hojas frescas para su uso como principio activo en la elaboración de las cremas a diferentes concentraciones, para luego ser aplicados en las heridas insicionales en piel de ratones albinos, en grupos tratamiento y grupos control (crema cicatriquiere), para evaluar el efecto cicatrizante de la forma farmacéutica, utilizando el dinamómetro (equipo de tensión con arena para generar la fuerza de tensión sobre la herida).

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3.1. PROBLEMA PRINCIPAL

¿Tendrá efecto cicatrizante en heridas la crema dérmica formulada con el aceite esencial de *Thymus vulgaris*?

1.3.2. PROBLEMAS SECUNDARIOS

- a) ¿Cuál es el efecto cicatrizante de la crema formulado con el aceite esencial de *Thymus vulgaris*?
- b) ¿Cuál es la sensibilidad dérmica de la crema formulada con el aceite esencial de *Thymus vulgaris*?
- c) ¿Será mayor la actividad cicatrizante de la crema formulada con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* comparado con crema cicatricure?

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto cicatrizante en heridas de la una crema formulado a base del aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar el efecto cicatrizante la crema formulada con aceite esencial de *Thymus vulgaris*.
- b) Determinar la sensibilidad dérmica de la crema formulada con el aceite esencial de *Thymus vulgaris*.
- c) Evaluar la actividad cicatrizante de la crema formulada con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* comparado con crema cicatricure.

1.5. HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

1.5.1. HIPÓTESIS GENERAL

La crema formulada con el aceite esencial de las hojas de *Thymus vulgaris* posee efecto cicatrizante.

1.5.2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS

- a) La crema formulada con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* posee efecto cicatrizante.
- b) La crema formulada con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* tiene sensibilidad dérmica.
- c) La actividad cicatrizante de la crema formulada con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* es mayor comparado con crema cicatricure.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
Variable independiente	Concentración de metabolitos bioactivos del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> .	Screening fitoquímico Cromatogramas del aceite esencial
Variable dependiente	Actividad cicatrizante de la crema con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> .	Test de cicatrización Heridas con grado de cicatrización

1.6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

1.6.1. TIPO DE LA INVESTIGACIÓN

- Experimental
- Aplicada
- Transversal
- Prospectivo

1.6.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Basados en una investigación relacional.

1.6.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

A) POBLACIÓN

Plantas de *Thymus vulgaris* que crecen en la provincia de Canta - Lima (850 msnm).

B) MUESTRA

1g de las hojas de *Thymus vulgaris*

1.6.4. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS

1.6.4.1. TÉCNICAS

- a) **Colecta de la materia vegetal:** Las hojas de *Thymus vulgaris* se colectarán de aquellas plantas que crecen en zonas de cultivo distrito de Canta 850 msnm, departamento de Lima. ^[1-10]

- b) **Procesamiento de la muestra:** Las flores se desecarán bajo sombra a las condiciones climáticas de la sierra, por 07 días, hasta obtener una muestra seca que fácilmente se triture al frotar con la mano, luego serán guardadas en bolsa de papel o frasco de boca ancha de color ámbar, hasta su utilización. ^[1-10]

- c) **obtención del aceite esencial de tomillo:** Aproximadamente de 10 Kg de flores secas de la

muestra serán sometidos a destilación por arrastre con vapor de agua, separación por pera de bromo, se guardará en frasco de vidrio de color ámbar bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C. [1-10]

d) Caracterización química los componentes químicos: Se realizará por el método de la marcha fitoquímica utilizando diferentes reactivos específicos y solventes respectivos. [1-10]

e) Marcha de solubilidad y fitoquímica

La marcha de solubilidad se hizo con los siguientes solventes: Agua, Metanol, Etanol 70%, Acetona, Acetato de Etilo, Éter Etílico, Cloroformo, Benceno, Hexano.

La marcha fotoquímica se hizo con los siguientes reactivos: Benedict, Ninhidrina, Cloruro Férrico, Shinoda, Borntrager, Gelatina-Sal, Acetato de Cobre, Dragendorff y Mayer, Espuma, Hidroxamato Férrico.

f) Test de cicatrización

Se formulará una crema con el aceite esencial de ***T. vulgaris*** a tres concentraciones, al 5%, al 10% y 15% utilizando la crema base como vehículo. Se utilizará ratones albino de acuerdo al método de Vaisberg y Col. (2). Por 48 horas deben observarse y antes de seis horas al tratamiento deben estar ***ad libium*** con agua, luego se les depilará un área de 5 cm² del lomo de los ratones. Después de 24 horas

en la que se observa que no debe haber irritación en la piel, se le realizará incisiones de 1cm de longitud en el tercio inferior del lomo, paralelo a la columna lumbar.

Posteriormente se administra los tratamientos cada 12 horas por 72 horas, reservando al grupo control que no recibió tratamiento. Se mantendrá la misma alimentación, ventilación y temperatura en todos los grupos (6 grupos; piel intacta; control lesión sin tratamiento; con crema cicatricure; crema al 5%; crema al 10%; crema al 15%). Después de las 72 horas se sacrifican con una sobredosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal, luego se realizará la medición de los gramos del peso de la arena necesarios para abrir la herida cicatrizada con un **dinamómetro** utilizándose arena en el dinamómetro, para generar la fuerza de tensión sobre la herida).^[17]

1.6.5. ESTUDIO FARMACOLÓGICO

1.6.5.1. TEST DE CICATRIZACIÓN

Fundamento:

El método de la Fuerza de Tensión mide la fuerza (medida en gramos), del peso de la arena necesaria para abrir una herida incisa de 1 cm de largo, realizada en el tercio anterior del lomo y perpendicular al eje longitudinal de un ratón.

Grupos de estudios:

Es un estudio experimental que se realizó en ratones. Cada grupo está compuesto de 07 ratones según protocolos de la OECD. ^[21]

Metodología empleada:

- 1. Ambientación o acondicionamiento:** Los 42 ratones albinos hembras, cepas Balb/C 53 provenientes del Bioterio del Centro Nacional de Producción de Biológicos (INS), con un peso promedio 25 gramos. con tamaño de 15 a 20cm. incluyendo su cola, fueron distribuidos al azar en 6 grupos de 7 ratones cada grupo y colocados en jaulas individuales. Se mantuvieron en observación por un periodo de una semana (7 días), verificándose la condición óptima de los ratones para el estudio. A dichos animales se les mantuvo en un ambiente ventilado apropiadamente, en jaulas individuales, con alimento balanceado (INS) y agua, por un periodo de 7 días previos al inicio de la experiencia.
- 2. Depilación:** Después de una semana de ambientarlos en el lugar de trabajo, se procedió a depilarlos con crema depilatoria. Depilando en el primer tercio dorsal anterior en un área, aproximada, de 2 cm², se les aplicó anestesia con pentobarbital sódico por vía subcutánea a una concentración de 50 mg/kg de peso. La depilación se realizó previa humectación (con agua tibia) de la zona a depilar, luego se agregó la crema depilatoria Depile permaneciendo 3 minutos para ejercer su efecto. Finalmente, con la ayuda de gasas húmedas se

retiró la crema. Posterior a la depilación, los ratones se colocaron en sus respectivas jaulas individuales teniendo estos libre acceso a bebida y comida. La depilación se realiza 24 horas antes del procedimiento quirúrgico a fin de descartar cualquier reacción alérgica a la crema depilatoria.

3. Incisiones y sutura: Después de 24 horas de la depilación, se procedió a anestésiar a los ratones administrándoles una dosis de 50 mg/Kg de pentobarbital sódico vía subcutánea. Se colocó al ratón sobre la mesa de trabajo, desinfectando el área depilada y marcando 2 puntos equidistantes en 1cm y perpendicular al eje longitudinal del ratón (zona de corte). Se realizó el corte sobre la zona indicada, se unen los bordes con un punto de sutura con hilo de seda negra 3/0 TC 15 en la parte central del corte. Esta etapa se realizó cumpliendo condiciones de asepsia.

4. Aplicación de las cremas: Obtenido el punto de sutura, se administró en forma tópica la primera dosis del tratamiento sobre la incisión con la ayuda de un hisopo, para obtener una distribución homogénea sobre la incisión.

Se aplicó tanto las formulaciones a base de extracto de las hojas a los controles, y cicatricure, mientras que el grupo blanco no recibió tratamiento. Se repitió el tratamiento cada 12 horas en un lapso de 7 días.

Determinación de la fuerza de tensión:

Luego de 7 días de tratamiento, se procedió a realizar la medición de la fuerza de tensión. Para ello, los ratones fueron previamente sacrificados con una sobre dosis de pentobarbital sódico (60mg/kg) vía intra peritoneal. Luego se colocaron en la mesa de trabajo y se procedió a marcar los puntos donde se engancharan las agujas del equipo de tensión a 0,5 cm de ambos extremos del punto de sutura. Se retira con mucho cuidado el punto de sutura y se coloca al animal en posición decúbito ventral sobre el aparato de tensión, luego se insertan las agujas, y posteriormente se deja caer la arena al vaso hasta que se genere una fuerza de tensión capaz de abrir la herida en toda su longitud. Finalmente, se anota la cantidad de arena requerida.

1.6.6. ESTUDIO HISTOLÓGICO

Histología de los tejidos (preparación tisular)

Las muestras de tejido con cicatrices experimentales fueron obtenidas inmediatamente al sacrificio de los ratones, seccionando un área de 2 cm ancho x 2,5 cm largo. Estos tejidos fueron sujetados cuidadosamente en planchas de poliestireno (teknopor), para evitar el enrollamiento natural del tejido separado, y depositados en una solución de Buffer 10% para lograr la fijación que conserva una imagen del tejido, como si estuviera vivo. Luego se realizó la deshidratación con soluciones de concentraciones crecientes de etanol y el aclaramiento del tejido (se vuelve transparente) con xilol. Para poder hacer los cortes se realizó la infiltración o inclusión en parafina, formándose un bloque sólido. La etapa siguiente fue el corte en micrótomos, y el montaje en una lámina portaobjetos cubierta con un material adherente (albúmina de huevo). Finalmente se hizo la tinción con

hematoxilina-eosina, y la rehidratación con soluciones de concentraciones decrecientes de etanol, de modo que pueda fijarse con un medio de montaje como el bálsamo de Canadá, que tiene un índice de refracción similar al del vidrio. Se cubrió con cubreobjetos y selló con esmalte transparente.

1.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS:

El análisis de datos se realizó por el programa SPSS versión 20.0 aplicando pruebas de estadística descriptiva y estadística inferencial paramétrica ANNOVA one way (un factor) y estudios post hoc (prueba de Tukey), la cual usó como variable numérica a la fuerza y como clasificador categórico de grupos a los tratamientos administrados ^[1-18].

1.8. JUSTIFICACIÓN, IMPORTANCIA Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

1.8.1. JUSTIFICACIÓN

La aparición de bacterias multirresistentes a antibióticos, reacciones secundarias que éstos provocan, así como la necesidad de contar con nuevos medicamentos accesibles y efectivos, han motivado el estudio de las plantas como una alternativa terapéutica. En muchos productos sintetizados, se ha demostrado una sensibilidad *in vitro* de carácter antimicrobiano, con concentraciones mínimas inhibitorias altas, en comparación con los antimicrobianos utilizados convencionalmente.

Me ha conllevado a la búsqueda e innovación de alternativas de cremas cicatrizantes con principios activos naturales y orgánicos, como parte de la dermocosmética sostenible. En el presente trabajo utilice el aceite esencial de *Thymus vulgaris* en una crema base.

1.8.2. IMPORTANCIA

Es de común conocimiento que la naturaleza ofrece al ser humano una variedad extensa de hierbas y plantas que tienen poderes curativos, efectos muy buenos en personas que padecen alguna afección o enfermedad. Por un instante, intenta imaginar cómo es que hacían los hombres de muchos siglos hacia atrás cuando no existía la descomunal industria farmacéutica y la medicina no contaba con avances en tecnología e investigación como los que tenemos en la actualidad.

Las plantas medicinales han existido desde siempre y el hombre, poco a poco, fue descubriendo sus aplicaciones, sus poderes y de qué manera podía utilizarlas en su favor. A pesar de los avances tecnológicos y las exhaustivas investigaciones en el área de la medicina, mucho del proceso de síntesis de los componentes de elementos naturales, la medicina actual se lo debe a los ancestrales procesos que realizaban los hombres para utilizar a las plantas como curación para sus enfermedades y afecciones varias.

Aún hoy, el uso de plantas medicinales por fuera del circuito de la industria farmacéutica, está visto como una medicina alternativa, muchas veces nombrada bajo la etiqueta de *homeopatía* y es una vía (precisamente) alternativa a la medicina “formal”, a lo que está estudiado, investigado y comprobado por la ciencia, aun cuando no se encuentra la cura para una afección dentro de ese circuito “formal” pero muchas veces sí se lo encuentra en lo “alternativo”. Claro que el uso de esta medicina alternativa, que se vale de plantas medicinales y de procesos caseros y artesanales para la preparación de ungüentos, remedios, jarabes y otros, muchas veces puede traer contraindicaciones o se puede caer en manos de alguien que se dice médico alternativo pero no lo es. Esta es

una de las grandes desventajas de la medicina alternativa a base de plantas medicinales.

Sin embargo, muchos laboratorios farmacéuticos, han comenzado a incluir en sus catálogos de productos opciones “naturales” a base de plantas medicinales para diferentes cuestiones como por ejemplo la centella asiática o el ginkgo biloba como buenos aliados contra la celulitis, la menta y el eucalipto como remedio para las congestiones nasales o afecciones en el sistema respiratorio, o el aloe vera que tiene una multiplicidad de usos incalculable, poderosos como pocos vegetales en cuanto a curaciones.

1.8.3. LIMITACIONES

Durante el desarrollo de la investigación existió cierta dificultad como el transporte hasta el lugar de recolección de la muestra ya que como es sabido la sierra en nuestro país es una zona accidentada, el transporte de la droga vegetal hasta las instalaciones de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, la falta de cepas en la Universidad Alas Peruanas, etc. Pero se realizó todo el esfuerzo posible para culminar con satisfacción la presente investigación y así aportar con el conocimiento científico.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Las plantas aromáticas son aquellas especies vegetales que contienen en diversos tejidos secretores aceites esenciales, que mayormente son sustancias terpénicas (monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos).^[11, 12].

Santoro y Col. (2007) ensaya la actividad antimicrobiana y tripanocida de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*, mostrando una alta bioactividad en los estadios de epimastigote y tripomastigotes. Los marcadores moleculares del aceite esencial de estas plantas vienen a ser el carvacrol y timol, respectivamente; se consideran como las moléculas de potente acción biocida y antimicrobianos.^[13, 14]

Asimismo **Holetzet y Col. (2003)** demuestran el efecto tripanocida del aceite esencial de *Ocimum gratissimum*, mostrando una excelente actividad a una concentración de 100µg/mL.^[15]

Fournet y Col. (1996) destaca el empleo de la muña para tratar problemas de la enfermedad de Chagas, correlacionando que dicho efecto se debe a los aceites esenciales de esta planta. También presente efecto biocida en los vectores de la *Trypanosoma cruzi*.^[16]

El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* y *Lippia citriodora* a una concentración de 0,1% (v/v) inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori* a 0,01% entre un pH 4,0 – 5,0. [24]

Ramezani et al. (2004), determinaron la actividad anti-*Helicobacter pylori* del aceite esencial de *Pistacia vera* en 12 tipos de cepas clínicas, resultando la concentración mínima inhibitoria (MIC) a 1.55 mg/mL. Los principales componentes químicos del aceite esencial son α -pineno, β -pineno y α -tuyona. [25]

Bergonzelli et al. (2003), realizó estudios del aceite esencial de 60 especies aromáticas y su actividad anti-*Helicobacter pylori*. De los cuales 30 especies mostraron un rango de inhibición del crecimiento entre 0.7 a 6.3 cm de diámetro, además determinaron que los constituyentes puros de las diferentes especies que mostraron mayor poder anti-*Helicobacter pylori* son carvacrol, isoeugenol, nerol, citral y sabineno. [26]

Mahaboob et al. (2005), aislaron el eugenol (compuesto fenólico) y cinamaldehído de los aceites esenciales de *Eugenia caryophyllis* y *Cinnamomum verum*, respectivamente. Enfrentaron estos 2 compuestos a 30 cepas clínicas de *Helicobacter pylori*. Los resultados muestran la actividad antibacteriana a 2 μ g/mL luego de 9 a 12 horas. [27]

Silva et al. (2001), determinaron el efecto antibacteriano frente a *Helicobacter pylori* del aceite esencial de *Dittrichia viscosa subs. viscosa*. A 44.40 μ g/mL muestra efecto antibacteriano y entre 88.80-133.20 μ g/mL inhibe completamente el crecimiento. [28]

Tzakou et al. (2003), encontró en el aceite esencial de *Satureja parnassica subs. Parnassica cariofileno*, carvacrol, óxido de cariofileno,

espatulenol, p-cimeno y linalol. Concluyendo que estos compuestos, principalmente el carvacrol, son los responsables de la actividad anti-*Helicobacter pylori*.^[29]

Güllüce y Col. (2003), correlacionan la actividad antibacteriana y antioxidante de la *Satureja hortensis* con las estructuras de timol y carvacrol, además del γ -terpineno y p-cimeno. El IC₅₀ es de 23.76 \pm 0.80 μ g/mL de la actividad antioxidante, determinado por el método de DPPH.^[30]

Lagouri y Col. (2005), correlacionan la actividad antioxidante del aceite esencial de *Satureja thymbra* a sus constituyentes de grupo fenol, como el carvacrol y timol.^[31]

Bezic y Col. (1999), afirman que el timol y carvacrol son los marcadores químicos del aceite esencial del género *Satureja*, además de la pulegona, ratificando su presencia en *Satureja cuneifolia*. Afirmando que estos compuestos químicos son los responsables de la actividad antibacteriana y antioxidante.^[32]

Los aceites esenciales también poseen actividades antioxidante y anticancerígeno. Los terpenos fenólicos, ácido carnosólico, carnosol, rosmarindifenol y rosmarinquinona componentes del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* y *Salvia officinalis* muestran actividad antioxidante.^[33, 34]

La antracnosis del tomate de árbol, ocasionada por el hongo *Colletotrichum acutatum*, es la enfermedad más importante de este cultivo en Colombia por su amplia distribución y las pérdidas que ocasiona. **Alzate y Col. (2009)** evaluaron la actividad antifúngica contra la especie

C. acutatum de los aceites esenciales (AE) de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios, timol y citral. Los resultados demostraron que el timol a 125 mg/L y el citral a 300 mg/L inhiben el crecimiento micelial completamente durante once días de incubación. La germinación de las esporas se evita en un 100% con el AE de limoncillo a 350 y 400 mg/L, timol a 100 y 125 mg/L, y citral a 250 y 300 mg/L, después de un período de doce horas. Adicionalmente, el timol a 125 mg/L y el citral a 300 mg/L inhiben completamente la esporulación y el AE de tomillo a 350 mg/L la permite en baja extensión. Las evaluaciones de fitotoxicidad revelan que la aplicación de gotas localizadas sobre la superficie foliar de *Solanum betacea*, a concentraciones entre 150 y 5000 mg/L, no ocasionan ningún daño aparente. Asimismo, la aspersion foliar completa y sistemática cada 2 días, durante 2 meses continuos con concentraciones de 1500 mg/L de los materiales, no produce ningún síntoma de marchitamiento, deterioro del crecimiento o alteración del desarrollo general de las plantas. [37]

Ardila y col. (2009) evaluó la actividad antibacteriana frente a *Clostridium perfringens* (cepa ATCC: 13124) por el método de Kirby Bauer en agar SPS de los aceites esenciales o extractos vegetales obtenidos con solventes orgánicos de diferente polaridad a partir de *Allium sativum* (ajo), *Coriandrum sativum* (cilantro), *Eugenia Caryophyllata* (clavo de olor), *Origanum vulgare* (orégano), *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Thymus vulgaris* (tomillo), utilizando la vancomicina como control. Los extractos obtenidos por el método de lixiviación de *O. vulgare* y *T. vulgaris* no presentaron inhibición para este microorganismo; los demás extractos vegetales sí la presentaron, obteniéndose concentraciones bacteriostáticas mínimas que oscilaron entre 16 y 63 µl/ml. El extracto etanólico y el aceite esencial de *E. caryophyllata* fueron los que presentaron una menor concentración inhibitoria mínima (250 µl/ml). Se observaron variaciones importantes en la capacidad de inhibición de dichos extractos con respecto a estudios realizados por otros grupos de

investigación en el mundo, pocos de ellos utilizaron a *Clostridium perfringens*).^[38]

Araujo y Col. (2008), trabajó con el aceite esencial de *Schinus molle* "molle" demostrando que ejerce un efecto inhibitorio del crecimiento tanto para *P. gingivalis* ATCC 33277 (MIC de 4 mg/ml) y como de *E. faecalis* ATCC 29212 (MIC de 2 mg/ml).^[39]

Estrada y col. (2010) evaluó la actividad antibacteriana "in vitro" de los extractos de Romero y Tomillo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Se realizó en los laboratorios de Fitoquímica y Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Politécnica Superior de Chimborazo-Ecuador. Para el efecto se obtuvo los extractos por maceración de las hojas y tallos en un balón aforado con hexano y alcohol – agua luego se realizó el control de calidad y se evaporó el solvente a baño maría. Posteriormente se usó tres concentraciones diferentes y la mezcla de los extractos blandos frente a las distintas bacterias y se comprobó sus propiedades antimicrobianas utilizando el método de Mitscher el cual consiste en la determinación del crecimiento de los microorganismos en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano en este caso los extractos, que se encuentran diluidos en el medio de cultivo. Luego de 24 y 48 horas de incubación; se observó que los extractos de ambas plantas presentan actividad antibacteriana destacándose la mezcla de los extractos hexánicos a concentraciones de 10000 y 1000 ug /ml frente a *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Pseudomonas aeruginosa* debido a los componentes fenólicos como el timol, carvacrol y cineol presentes en el aceite esencial por lo que se recomienda la utilización de la mezcla de los extractos de Romero y Tomillo en infecciones causadas por bacterias y hongos.^[40]

Fuselli y col. (2006) evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de una mezcla de dos aceites esenciales y timol frente a *Paenibacillus larvae*, agente causal de la enfermedad Loque americana, que afecta a las abejas. Los aceites esenciales utilizados fueron canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y tomillo (*Thymus vulgaris*), con el agregado de timol, componente mayoritario del tomillo presente en un 39,9%. Los parámetros medidos fueron la concentración inhibitoria mínima (CIM) en caldo Muller-Hinton, mediante dilución seriada, y la concentración bactericida mínima (CBM) en agar MYPGP. El aceite esencial de tomillo registró valores de CIM entre 150 y 250 mg/ml, y de CBM entre 200 y 300 mg/ml, mientras que para el aceite esencial de canela los valores de CIM y de CBM obtenidos fueron 50 a 100 mg/ml y 100 a 125 mg/ml, respectivamente. El timol presentó valores de CIM y de CBM similares, de 100 a 150 mg/ml. No se detectaron diferencias significativas entre las cepas bacterianas estudiadas, pero sí entre la actividad de los aceites esenciales y la del timol ($P < 0,01$). Un efecto inhibitorio sinérgico frente a Loque americana, evidenciado en la reducción de la CIM y de la CBM, fue obtenido mediante el uso de una mezcla de 62,5% de aceite esencial de tomillo, 12,5% de aceite esencial de canela y 25% de timol. ^[41]

El Instituto de Odontología de Ecuador (2008) determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *O. vulgare* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con un CMI de 3 mg/ml y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 con CMI de 5 mg/ml. ^[42]

Villareal y Col. (2008), trabajó determinando el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Croton lechleri* "sangre de grado" encontrando que la concentración mínima bactericida (CMB) fue de 4 mg/ml para *E. faecalis* ATCC 29212 y de 7 mg/ml para *P. gingivalis*. ^[43]

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. FORMAS FARMACÉUTICAS SEMISÓLIDAS ^[35]

Son preparaciones de consistencia semisólida destinadas a ser aplicadas sobre la piel o sobre ciertas mucosas con el fin de ejercer una acción local o dar lugar a la penetración percutánea de principios activos; o por su propia acción emoliente o protectora. Tienen un aspecto homogéneo.

Las preparaciones semisólidas tópicas están constituidas por una base, simple o compuesta, en la cual habitualmente se disuelven o se dispersan uno o más principios activos.

La composición de esta base puede tener influencia sobre los efectos de la preparación y sobre la cesión del principio o principios activos.

Las bases utilizadas pueden ser sustancias de origen natural o sintético y estar constituidas por un sistema de una o varias fases.

De acuerdo con la naturaleza de la base, la preparación puede tener propiedades hidrofílicas o hidrofóbicas.

- **Hidrofílica:** molécula que tiene afinidad por el agua. En una disolución o coloide, las partículas hidrófilas tienden a acercarse y mantener contacto con el agua.
- **Hidrofóbica:** que en el caso d los medicamentos semisólidos son los aceites y grasas naturales; estas hoy en día han sido sustituidas por las grasas sintéticas.

2.2.2. EMULSIONES ^[35]

Las emulsiones son sistemas formados por agua y aceite, para poderse unir necesita de sustancias emulgentes como son los tensioactivos.

Elaborar emulsiones (cremas o lociones emulsificadas) es un proceso complejo por los múltiples factores que se deben tener en cuenta al momento de la elaboración para garantizar un producto homogéneo, entre estos son críticos los siguientes:

A) ORDEN DE ADICION DE LAS FASES

Existen tres métodos que pueden ser utilizados para elaborar una emulsión, las cuales tienen sus ventajas y desventajas:

- **ADICION DE FASE INTERNA SOBRE LA EXTERNA**

Es considerado uno de los métodos más óptimos para formar emulsiones porque siempre va a existir un exceso de fase externa que promueve el tipo de emulsión que se desea. Las sustancias hidrosolubles se disuelven en el agua y las liposolubles se funden al baño maría y se mezclan bien con los aceites hasta lograr una fase homogénea líquida a temperatura uniforme.

La fase acuosa debe calentarse a 3 – 5°C por encima de la temperatura de la fase oleosa, esto se hace con la finalidad de que al momento de la mezcla ambas fases tengan aproximadamente la misma temperatura.

La mezcla se realizara a chorro fino constante y con agitación continua y enérgica hasta que se forme la emulsión.

- **ADICION DE FASE EXTERNA SOBRE LA INTERNA**

Este método se aplica cuando se usan agentes hidrófilos como acacia, tragacanto, metilcelulosa, etc. los cuales primero se mezclan con el aceite, formándose la emulsión al adicionarse la fase acuosa.

Es un método rápido y se recomienda cuando se preparan pequeñas cantidades de emulsión.

- **ADICION ALTERNADA DE FASES SOBRE EL EMULSIFICANTE**

Si se prepara una emulsión de aceite en agua usando un emulsificante liposoluble se agrega una porción de aceite al emulsificante mezclando y se añade una cantidad igual de agua que contiene agente emulsificante hidrosoluble agitando hasta formar la emulsión. Luego se agrega alternadamente porciones de aceite y agua hasta formar la emulsión final.

La gran concentración de emulsificante en la emulsificación inicial hace que la emulsión final sea más estable.

2.2.3. CREMAS Y CICATRIZANTES ^[35]

Crema significa una emulsión sólida o semisólida aunque se aplica a productos no acuosos como máscaras de cera-disolvente, sombras de ojos líquidas y ungüentos.

Existe una gran variedad de materias primas para la elaboración de cremas, así mismo las fórmulas adecuadas y estables que se producen con estos componentes son muy numerosas, además

existen en el mercado cada día nuevas tecnologías y sustancias que se aplican para la fabricación de cremas, así que cualquier catálogo será obsoleto en poco tiempo, incluso antes de su difusión.

El arte del científico dermocosmético no es seguir fórmulas con dependencia total, sino estudiarlas y adaptarlas a sus propias necesidades e incluso, incorporar, las mejores características de varias fórmulas aplicadas a su propia experimentación y creación.

Al científico cosmético le interesan las características físico-químicas, tales como relación volumen fase oleosa respecto a la fase acuosa, la naturaleza de la fase continua, pH de la emulsión, tipo de emoliente utilizado, temperatura del proceso, etc.



Figura 2. Diseño y formulación de cremas para el cutis.

Químicamente las cremas están constituidas por una base que contiene cuerpos grasos, agua, sustancias emulsionantes, sustancias humectantes y medios espesantes que en su conjunto dan lugar a formas cosméticas diferenciadas que constituyen las cremas fundamentales a las cuales se les pueden agregar

sustancias activas capaces de desarrollar en el órgano cutáneo efectos particulares y se obtienen las cremas especiales.

A) CARACTERÍSTICAS

- Efectos emolientes, refrescantes y humectantes
- La viscosidad y flujo varía de acuerdo al grado en que los sistemas son homogenizados o por la fuerza aplicada
- La rigidez se puede incrementar por la inclusión de cantidades elevadas de emulsificantes
- La viscosidad se aumenta: aumentado la viscosidad de la fase continua, aumentando el contenido de emulsificante.

B) CLASIFICACIÓN

a) CREMAS HIDRÓFILAS

- La fase externa es acuosa debido a emulgentes tipo O/W (jabones sódicos, trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados)
- Desaparecen con facilidad
- Se mezcla con secreciones serosas
- Es lavable
- Cosméticamente aceptable
- Vehículo para sustancias hidrosolubles

b) CREMAS HIDRÓFOBAS

- Fase externa oleosa: W/O
- Actúan como los aceites (contribuyen a la hidratación de la piel)
- No es lavable
- Pueden aplicarse sobre aéreas pilosas
- Son vehículos de sustancias liposolubles.

C) PREPARACIÓN

- La fase oleosa se calienta a la temperatura de fusión de sus componentes (70 – 72°C)
- La fase acuosa se calienta a la misma temperatura a fin de que la mezcla íntima de las fases se consiga con mayor facilidad
- El mezclado de las fases se realiza mediante:
 - ✓ Incorporación simultánea de las fases en el mezclador
 - ✓ Adición de la fase interna sobre la externa
 - ✓ Adición de la fase externa sobre la interna

D) EQUIPOS

- Agitadores mecánicos de hélice, de ancla
- Homogenizadores
- Molino coloidal, para disminuir el tamaño de glóbulos de fabricación de la emulsión

E) FACTORES CRÍTICOS EN LA FABRICACIÓN DE EMULSIONES

- Velocidad de agitación durante la emulsión
- Velocidad de agitación durante el enfriamiento
- Temperatura de la elaboración
- Velocidad de adición de las fases
- Orden de adición de las fases
- Proveedor de los emulgentes

2.2.4. CONTROL DE CALIDAD ^[35]

El control de calidad de los productos es el proceso por el cual se establecen y se cumplen unas normas que aseguran el cumplimiento de las especificaciones del producto.

El proceso de control sigue siete etapas, que son las siguientes:

- Establecer el objeto del control. Elegir una unidad de medida.
- Establecer el valor normal o estándar de la especificación a controlar.
- Establecer un instrumento de medida.
- Realizar la medición de la magnitud en la unidad elegida.
- Interpretar las diferencias entre el valor real y el valor normal o estándar.
- Actuar sobre las diferencias encontradas.

El control de calidad no se aplica únicamente al producto final, sino que se realiza a lo largo de todo el proceso de producción. Es decir: en la recepción de materias primas, en el proceso de fabricación, en los productos semielaborados y en el propio producto final.

Para realizar el control de calidad, se realiza la inspección y el ensayo de determinadas características de los productos a controlar.

**ENSAYOS GENERALES PARA FORMAS FARMACÉUTICAS
SEMISÓLIDAS**

ENSAYOS GENERALES	GEL, CREMA Y UNGÜENTO TÓPICO	
2.2.5. CEI	Aspecto	Si
TE	Viscosidad	Si
S	Extensibilidad	Si
ES	Valoración	Si
EN	pH	Si
CI	Material Particulado	N.A
AL	Esterilidad (inicial y final)	N.A
ES [7] [8]	Límite microbiano(inicio y final)	Si
[10]	A) D	

DEFINICION

Los aceites esenciales son compuestos vegetales que debido a su consistencia son muy volátiles y de olor intenso. Se incluyen dentro de este grupo solamente aquellas especies de plantas medicinales que las contienen en concentraciones elevadas, entre 0,1 y 10 %.

Los aceites esenciales son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, semillas y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris). Se trata de productos químicos intensamente aromáticos, no grasos (por lo que no se enrancian), volátiles (se evaporan

rápidamente) y livianos (poco densos). Son insolubles en agua, levemente solubles en vinagre, y solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales. Se oxidan por exposición al aire. El término aceite esencial se aplica también a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla, y a las sustancias semisintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales.

Los aceites esenciales son llamados así por ser constituyentes odoríferos o aceites de una planta, la palabra esencial deriva del latín “quinta essentia”, que significa quinto elemento, propuesto por Paracelso, quien pensaba que esta era el elemento efectivo en una preparación médica.

Son ligeramente volátiles y la mayoría de ellos tienen un olor característico, a veces aromático. Son apenas solubles en el agua, pero se volatilizan fácilmente con vapor de agua. Proporcionan efectos estimulantes en la piel y mucosas, son expectorantes y laxantes, así pues todas las plantas que contienen aceites esenciales suelen utilizarse en las enfermedades de boca y garganta, aunque también sirven de tónicos digestivos y estimulantes del apetito, y se emplea también como condimento.

B) CONCEPTO MODERNO DE ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son los aditivos naturales que más interés han generado en los últimos años en la industria de los alimentos ya que ofrecen una alternativa antimicrobiana y antioxidante que puede garantizar la seguridad e inocuidad de los alimentos en donde se adicionen sin riesgo de contaminar el entorno. Los estudios *in vitro* e *in situ* reportados en frutas, hortalizas, productos cárnicos y lácticos indican que se

requieren muy bajas concentraciones para lograr un efecto bioconservador.

Los aceites esenciales son mezclas de lípidos o grasas de bajo peso molecular muy hidrofóbicas, con excepción de los nitrogenados y azufrados; generalmente son menos densas que el agua, y confieren las notas características de sabor y aroma de la fuente vegetal o cultivo celular de donde provienen. Normalmente se extraen de diversas partes de las plantas (flores, frutas, yemas, hojas, raíces, bulbos, semillas, cortezas, hierbas y madera), son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica. En condiciones ambientales, son líquidos menos densos que el agua, pero más viscosos que ella, no solidifican a -20°C . Son poco solubles en etanol; son muy solubles en cloroformo y en aceites fijos o no volátiles como el aceite de oliva, e insolubles en agua, se pueden clasificar químicamente en cuatro grupos: los terpenos o hidratos de carbono de fórmula general $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$ como el limoneno (I); derivados oxigenados de los terpenos como el citral (II); compuestos aromáticos que contienen una estructura benzoica como el eugenol (III) y compuestos que contienen azufre y/o nitrógeno como los isotiocianatos y sólo azufre como el dialil disulfuro (IV).

En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados; alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, sustancias azufradas y nitrogenadas. Los compuestos más frecuentes derivan biológicamente del ácido mevalónico; se les catalogan como monoterpenoides y sesquiterpenoides. Las propiedades fisico-químicas de los aceites esenciales o esencias son muy diversas, puesto que el grupo engloba muchas sustancias

muy heterogéneas, de las que en la esencia de una planta, prácticamente puede encontrarse sólo una o más de 30 compuestos.

Debido a su aspecto oleoso y a la capacidad de evaporarse cuando se exponen al aire a temperatura ambiente, se denominan también aceites volátiles. Por lo general, reciben el nombre de la especie de la que proceden, como aceite esencial de tomillo, aceite esencial de salvia, aceite esencial de muña, aceite esencial de orégano, aceite esencial de eucalipto, etc.

Pese a las diferencias de composición entre los distintos aceites esenciales se pueden afirmar que presentan una serie de propiedades físicas comunes: son líquidas a temperatura ambiente, volátiles y arrastrables en corrientes de vapor de agua y prácticamente inmiscibles con la misma. Los aceites esenciales son lipofílicos y solubles en disolvente orgánicos apolares (hexano, éter etílico, etc). Presentan índices de refracción elevados y muchos de ellos son óptimamente activos. Los valores del poder rotatorio pueden ser considerados como elementos de alto valor diagnóstico.

Se oxidan con facilidad y polimerizan dando productos resinosos. La densidad de los aceites esenciales suele ser inferior a la del agua, constituyendo una excepción los obtenidos a partir de la "canela", el "clavo de olor" y el "sasafrás", cuya densidad es superior a la unidad.

Todos ellos poseen olor característico, raramente son coloreados, salvo algunas excepciones, como el aceite esencial de "manzanilla", de intenso color azul, debido a su contenido en camazuelo.

C) PROPIEDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES

Color: Casi todos los aceites esenciales son incoloros en estado puro y frescos; ante la exposición al aire adquieren diversos colores.

Olor: El olor de los aceites volátiles es muy variable es su propiedad más característica. El olor de un aceite es muy sensible ante la exposición al aire.

Sabor: Son tan variables como sus olores. Algunos tan dulces, otros tienen sabores suaves, picantes, ácidos, cáusticos o ardientes.

Densidad: La densidad de los aceites esenciales varía (entre 0.842 y 1.172 g/ml); casi todos son más livianos que el agua.

Deterioro: La exposición a la luz y al aire deteriora la calidad y destruyen la fragancia de los aceites esenciales. Se deben conservar en botellas de color ámbar bien llenas, tapadas y colocadas en lugar fresco.

Solubilidad: Son solubles a solventes orgánicos como alcohol, el éter, el cloroformo, el benceno y muchos otros.

D) LOCALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN

El aceite esencial se encuentra almacenado en glándulas aceitosas, venas, sacos de aceite, o cabellos glandulares de diferentes partes en la plantas.

Tras su producción, los aceites se almacenan en distintos órganos de la planta. Así, en la raíz y rizomas encontramos el aceite de cúrcuma y jengibre: del fruto se obtiene el aceite de anís, hinojo y enebro y de la semilla la mostaza. Los aceites esenciales se caracterizan por ser una mezcla compleja de varios compuestos de aromas volátiles pertenecientes a diferentes clases de la química orgánica: hidrocarburos (compuestos terpenicos), alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres y fenoles. Obteniéndose de la canela (cinamaldehído), clavo (eugenol), orégano (carvacrol), eucalipto (cineol) y tomillo (timol) entre otros.

Aunque todos los órganos de una misma especie vegetal, pueden contener aceite esencial, la cantidad de éste puede variar según su localización, se encuentran en las flores, en hojas y en menor proporción en raíces, rizoma, leños, cortezas, frutos o semillas.

Los aceites esenciales suelen encontrarse en estructuras secretoras especializadas tales como pelos glandulosos (Lamináceas), canales secretores (Asteráceas), canales isígenos o esquizogénicos (Rutáceas), células modificadas del parénquima (piperáceas) que en términos generales se localizan en la superficie del vegetal o cerca de la misma.

La fisiología vegetal, por el contrario, los considera metabolitos secundarios, no imprescindibles para el desarrollo de las funciones vitales de la planta. Químicamente consisten en mezclas de pequeñas moléculas orgánicas de ahí su volatilidad del grupo de los terpenoides, cuya molécula unitaria con cinco átomos de carbono es el isopropeno. Sólo se unen dos, tres, o raramente más, pero al estar modificadas en sus funciones químicas las combinaciones son numerosas.

Un aceite esencial suele poseer de diez a quince componentes principales y otros tantos muy escasos o trazas. El número y tipo de componentes, así como sus proporciones, pueden experimentar importantes cambios dentro de una misma especie botánica, sea por razones ecológicas (luz, temperatura, altitud), agronómicas (época de siega, abonado) o puramente genéticas.

E) FUNCION EN EL VEGETAL

Su función en la planta sigue en estudio pero se le atribuyen algunos de los siguientes beneficios: para regular su temperatura, liberándolos como vapores; como atractivo para los insectos colaboradores de la polinización; o como repelente para los insectos dañinos.

F) COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los constituyentes de los aceites esenciales principalmente son terpenoides. Los compuestos terpénicos proceden de la condensación del isopropeno y pueden o no tener oxígeno. Los que carecen de oxígeno son hidrocarburos: monoterpenos y sesquiterpenos. Que pueden ser aromáticos y alifáticos. Está estimado que hay más de 1000 estructuras de monoterpenos y 3000 sesquiterpenos. Compuestos oxigenados derivados de estos hidrocarburos son terpenos funcionalizados con función alcohol, fenol, aldehído, cetona, éter o peróxido. Otros componentes pocos frecuentes en los aceites esenciales: compuestos alifáticos y aromáticos no terpenoides, como fenil propanoides, compuestos nitrogenados y azufrados.

La volatilidad y el marcado olor de los aceites esenciales, constituyen los elementos de la comunicación química en la polinización y en la dispersión de las diásporas. A menudo, constituyen un medio de defensa frente a depredadores (microorganismos, hongos, insectos, herbívoros); estas acciones se facilitan por la localización periférica de los efectos secretores.

Los monoterpenos y sesquiterpenos de 10 y 15 átomos de carbonos derivados de geranilpirofosfato (GPP) y farnesilpirofosfato (FPP) respectivamente. De acuerdo con su estructura se les clasifica según el número de ciclos como acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, etc.

a) Monoterpenos

Los terpenos de función aldehídos se hallan distribuidos ampliamente en las plantas especialmente valiosas por sus propiedades aromáticas y considerándose un índice de calidad en el valor de los aceites esenciales, muchos de los monoterpenos experimentan cierre de anillo produciendo ácidos cíclicos insaturados. Los principales monoterpenos responsables del aroma son alcoholes y aldehídos.

b) Sesquiterpenos

Los sesquiterpenos tienen propiedades débiles y son menos volátiles, tienen una densidad aproximada de 0.9 g/ml, su viscosidad es mayor que la de los monoterpenos.

c) Serie aromática

c.1) Fenilpropanos

Los fenilpropanos son sustancias naturales ampliamente distribuidas en los vegetales caracterizados por un anillo aromático unido a una cadena de 3 carbonos y derivados biosintéticamente del ácido shikimico.

G) EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

g.1.) Expresión del pericarpio: Una bandeja con pinchos, en cuya parte inferior hay un canal para recoger el aceite esencial. Se emplea para cítricos sobre todo.

g.2) Disolución en grasa (*enfleurage*): Los aceites son solubles en grasas y alcoholes de alto %. Sobre una capa de vidrio se coloca una fina película de grasa y sobre ella los pétalos de flores extendidas. La esencia pasa a la grasa, así hasta saturación de la grasa. Posteriormente con alcohol de 70°, se extrae el aceite esencial. Se emplea para flores con bajo contenido en esencias pero muy preciadas (azahar, rosa, violeta, jazmín).

g.3) Extracción con disolventes orgánicos: Que penetran en la materia vegetal y disuelven las sustancias, que son evaporadas y concentradas a baja temperatura. Después, se elimina el disolvente, obteniendo la fracción deseada. La selección del disolvente pretende que sea capaz de disolver rápidamente todos los principios y la menor cantidad de materia inerte, que tenga un punto de ebullición bajo y uniforme que

permita eliminarlo rápidamente, pero evitando pérdidas por evaporación, químicamente inerte, para no reaccionar con los componentes de los aceites, no inflamable y barato. Este disolvente ideal no existe, y los más empleados son el éter de petróleo, con punto de ebullición de 30 a 70 °C, que se evapora fácilmente y es inflamable, benceno, que disuelve también ceras y pigmentos, y alcohol, que es soluble en agua. Se emplea cuando hay componentes de peso molecular elevado que no son lo suficientemente volátiles.

g.4) Extracción con gases en condiciones supercríticas:

Se emplean gases, principalmente CO₂, a presión y temperatura superiores a su punto crítico. En esas condiciones se obtienen buenos rendimientos y se evitan alteraciones de los componentes de la esencia. La infraestructura necesaria es cara, pero tiene sus ventajas, como la fácil y rápida eliminación del gas extractor por descompresión, la ausencia de residuos de disolventes y que los gases no resultan caros.

H) DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR

Las plantas se colocan sobre un fondo perforado o criba ubicado a cierta distancia del fondo de un tanque llamado alambique. La parte más baja de esta contiene agua hasta una altura algo menor que el nivel de la criba.

El calentamiento se produce con vapor saturado que se provee de una fuente de calor que compone el equipo, fluye mojado y a presión baja, penetrando a través del material vegetal. Los componentes se volatilizan, y condensan en un refrigerante, siendo recogidos en un vaso florentino, donde se separa el agua del aceite por diferencia de densidad.

I) USOS DE LOS ACEITES ESENCIALES

La diversidad de componentes terpenoides dotados de actividad antimicrobiana que forma parte de los aceites esenciales contribuye a que se muestren activos frente a bacterias patógenas variadas e incluso frente a distintos hongos responsables de la aparición de micosis, presentando en conjunto un amplio espectro de actuación. Se ha sugerido la posibilidad de que los aceites esenciales inhiban con más facilidad a los microorganismos Gram positivos que a los Gram negativos.

Los aceites esenciales destacan debido a sus propiedades antimicrobianas, que determinan su empleo al exterior en el tratamiento de llagas, ulceraciones, abscesos, infecciones, etc. Entre los aceites esenciales más utilizados con esta finalidad se encuentran el "tomillo", "laurel", "lavanda", "romero". Especialmente merece mencionar la esencia de clavo de olor, y del orégano. Los aceites esenciales también son ampliamente usados, en el tratamiento de procesos infecciosos respiratorios y urinarios. Ello se debe a que un número elevado de aceites esenciales, cualquiera sea su vía de administración (oral, rectal, cutánea) es eliminado por vía pulmonar, así como renal.

Los aceites esenciales se utilizan por vía interna con fines terapéuticos: actúan sobre afecciones virales, destruyen los microbios, los hongos, las toxinas infecciosas; y, por vía externa para un tratamiento de belleza integral (cara, cuerpo, cabello). Pasan muy fácilmente a través de la piel, atraviesan las diferentes capas para reunir el flujo sanguíneo, en unos veinte minutos aproximadamente, y actúan en profundidad en

el organismo. Penetran también por la vía respiratoria: inhalar su perfume proporciona un bienestar profundo.

Su potencia es tal que no se utilizan puros sobre la piel; algunos pueden provocar quemaduras. Ricos en vitaminas y en ácidos grasos insaturados, hidratan y nutren la piel en profundidad, y permiten la penetración de los activos benéficos de los aceites esenciales en la epidermis y la dermis.

Industria alimentaria: Se emplean para condimentar carnes preparadas, embutidos, etc. También son utilizados en la preparación de alcohólicas y no alcohólicas especialmente refrescos.

Desodorantes industriales: Para disminuir el olor desagradable de algunos productos industriales como el caucho, los plásticos y las pinturas. En papelería para impregnar fragancias a cuadernos, tarjetas, papel higiénicos, toallas faciales.

Industria de cosméticos: En la producción de cosméticos, colonias, jabones, perfumes y maquillaje.

Industria Tabacalera: Demanda mentol para los cigarrillos mentolados.

Industria Farmacéutica: Se usan en cremas dentales, inhalantes para descongestionar las vías respiratorias. Son utilizados en neutralizantes de sabor desagradable de muchos medicamentos.

2.2.6. ESTUDIO FARMACOLÓGICO

A) LA PIEL ^{[21] [22] [23]}

La piel es el órgano más grande del cuerpo sin la cual la vida es imposible, combinado con sus estructuras accesorias como pelos, glándulas, etc., ocupa el 20% del peso del cuerpo. Su principal función es la protección del ambiente ya que constituye una barrera protectora contra microorganismos, rayos UV, pérdida de fluidos y al mismo tiempo sirve como principal órgano sensitivo o de comunicación hacia el exterior, ya que recoge información a través de una extensa red de neuronas y terminales nerviosas que aportan información sobre presión, vibración, dolor y temperatura; con ello los peligros externos se detectan y pueden emprenderse acciones para evitarlos y minimizarlos.

La piel está formada por tres capas principales: la capa superficial o epidermis, la capa profunda o dermis y el tejido subcutáneo o hipodermis (Figura 3)

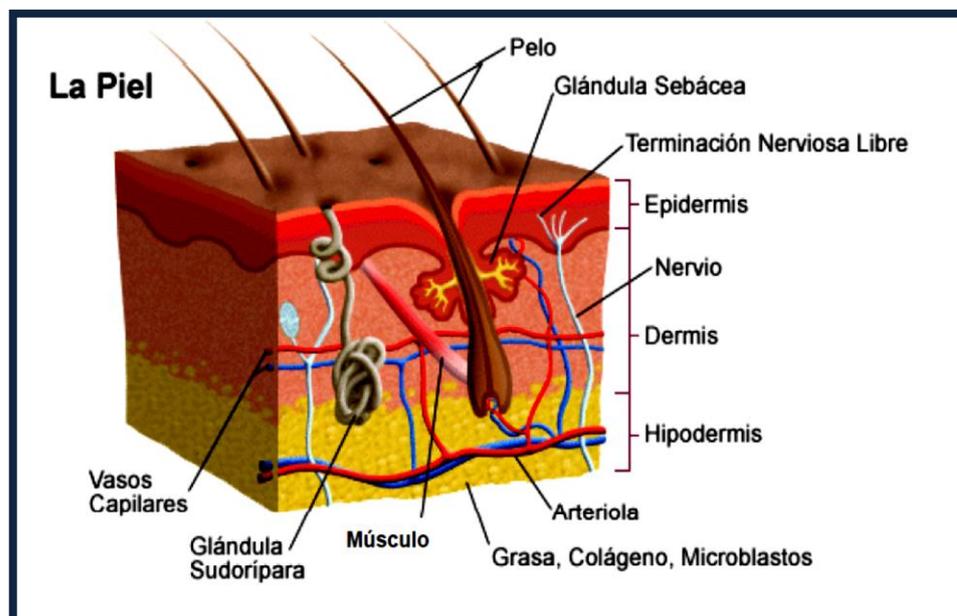


Figura 3. Estructuras de la piel (Extraído de www.rush.edu)

a) Epidermis

La epidermis es una capa celular, sin nervios, sentada en una membrana basal y muestra estratificación vertical. Es un epitelio versátil cuyas células se multiplican, diferencian y renuevan cada 28 días.

b) Dermis

La dermis es un tejido eminentemente fibroso, donde se encuentran los anexos cutáneos como los folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas. Así mismo es el segundo andamio para la migración celular, de nutrientes y de requerimientos para la reparación de heridas.

c) Hipodermis o tejido subcutáneo

Bajo la dermis se encuentra el tejido hipodérmico, es una capa de sostén o tejido graso subcutáneo que conecta todo lo que está sobre y bajo la dermis con el músculo.

2.2.7. HERIDA ^{[24] [25] [26] [29] [30] [31]}

Las heridas son lesiones que generan la pérdida de continuidad en la integridad de los tejidos blandos. Por tejidos blandos entendemos piel, músculo, tejido subcutáneo, órganos blandos, tendones, nervios, entre otros.

Pueden producirse por agentes externos (cuchillos, vidrios, latas, etcétera) o agentes internos (hueso fracturado). A su vez encontramos tipos de heridas abiertas y cerradas, simples y complicadas.

Las heridas acarrear dos riesgos que es necesario evitar para que no pasen a mayores: la hemorragia (conlleva al estado de choque) y la infección.

Las heridas son muy frecuentes en todas las personas, quine no ha sufrido alguna, y es necesario saber cómo mínimo cómo reaccionar ante ellas y como realizar las curaciones. Como hemos dicho las hay de todo tipo, desde un raspón sin mayores cuidados hasta graves amputaciones que pueden poner la vida en serio peligro.

Cuando estemos ante alguna de las siguientes señales es que existe herida: dolor – hemorragia – destrucción – daño de tejidos blandos.

A) TIPOS DE HERIDAS

A continuación describimos los tipos de heridas que pueden afectar nuestro cuerpo:

a.1) Abiertas

- Separación de los tejidos blandos.
- Mayor posibilidad de infección.

a.2) Cerradas

- No se observa separación de los tejidos blandos.
- Generan hematoma (hemorragia debajo de la piel) o hemorragias en viseras o cavidades.
- Producidas por golpes generalmente.
- Requieren atención rápida porque pueden comprometer la función de un órgano o la circulación sanguínea.

a.3) Simples

- Afectan únicamente la piel, no alcanzan a comprometer órganos.
- Raspones, arañazos, cortes, etc.

a.4) Complicadas

- Extensas y profundas con abundante hemorragia.
- Lesiones en músculos, nervios, tendones, órganos internos, vasos sanguíneos y puede o no existir perforación visceral.

B) CLASIFICACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE HERIDAS

A continuación puedes aprender la clasificación de los diferentes tipos de heridas. Existen diversas clasificaciones de acuerdo a sus características, en primer lugar te presentamos la clasificación de acuerdo a la causa que las produjo:

b.1) Punzantes

- Causadas por objetos puntiagudos (clavos, agujas, anzuelos, etc.).
- Dolor, hemorragia escasa, orificio de entrada no muy notorio, profundidad, puede presentar perforación de vísceras y hemorragia interna, peligro inminente de infección. Se considera la más peligrosa de todas.

b.2) Cortantes

- Por objetos afilados (vidrios, cuchillos, latas, etc.). Presenta una herida con bordes limpios y lineales, de hemorragia escasa, moderada o abundante.
- Puede afectar músculos, tendones y nervios.

b.3) Punzocortantes

- Por objetos puntiagudos y filosos (puñales, tijeras, cuchillos, hueso fracturado, etc.). Combina los dos *tipos de heridas* anteriores.

b.4) Abrasiones

- Raspones, causadas por fricción o rozamiento de la piel con superficies duras. La capa más superficial de la piel (epidermis) es la que se ve afectada. Frecuentemente se infectan, pero se curan rápidamente.

b.5) Laceraciones

- Lesiones producidas por objetos de bordes dentados, generan desgarros del tejido y los bordes de las heridas se presentan irregulares.

b.6) Avulsivas

- Lesión con desgarrar, separa y destruye el tejido, suele presentar una hemorragia abundante.

b.7) Amputación

- Pérdida de un fragmento o una extremidad.

b.8) Contusas

- Son producidas por la resistencia que ejerce el hueso ante un golpe (de puño, piedras, palos, etc.), produciéndose la lesión de los tejidos blandos. Hematoma y dolor son las causas más comunes de estos tipos de heridas.

b.9) Magulladuras

- Heridas cerradas generadas por golpes. Se divisan como una mancha de color morado.

b.10) Aplastamiento

- Pueden generar fracturas, hemorragias externas e internas abundantes, y lesión de órganos.

C) FASES DE LA REPARACIÓN O CICATRIZACIÓN

Para restablecer la integridad del área lesionada se cuentan con diversos procesos de acción simultánea conocidos como fases de la reparación cutánea. Estas fases son: inflamatoria (hemostasis e inflamación); proliferativa (proliferación, migración, epitelización y angiogénesis), y la de remodelación tisular (síntesis de colágeno, matriz, contracción y remodelación) (Figura 4)



Figura 4. Fases de la reparación de heridas^[27] (modificado de Benavides.2008)

a) FASE INFLAMATORIA

La primera fase en el evento de cicatrización es la inflamatoria. Esta se inicia inmediatamente después de que se generó la lesión y tiene una duración entre 24 a 48 h. (Figura 5)



Figura 5. Fase inflamatoria^[27] (modificado de Benavides .2008)

b) FASE PROLIFERATIVA

Los procesos involucrados en esta fase son: la proliferación de fibroblastos, reepitelización, angiogénesis y la fibroplasia, que ocurren dos a cuatro días después de generada la lesión. (Figura 6)

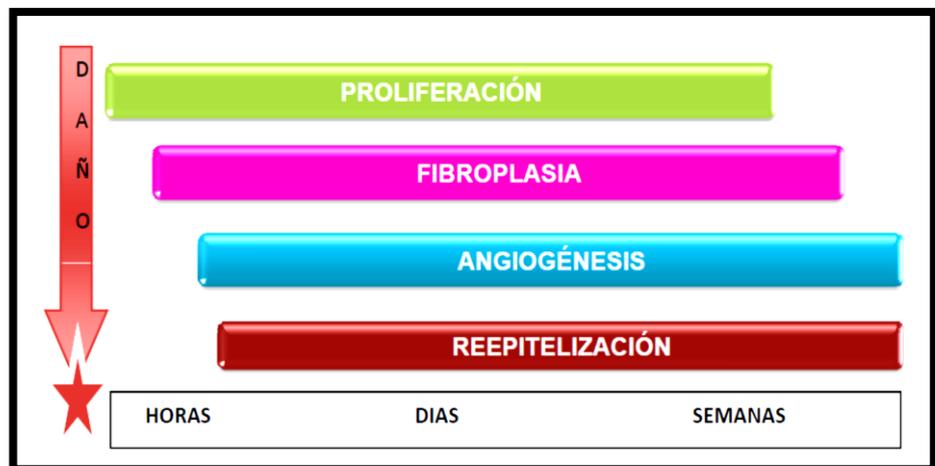


Figura 6. Fase proliferativa^[27] (modificado de Benavides .2008)

c) FASE DE REMODELACIÓN TISULAR

La remodelación tisular consiste en el depósito de matriz permanente y los subsecuentes cambios con el tiempo. Ocurre durante todo el proceso de reparación. (Figura 7).

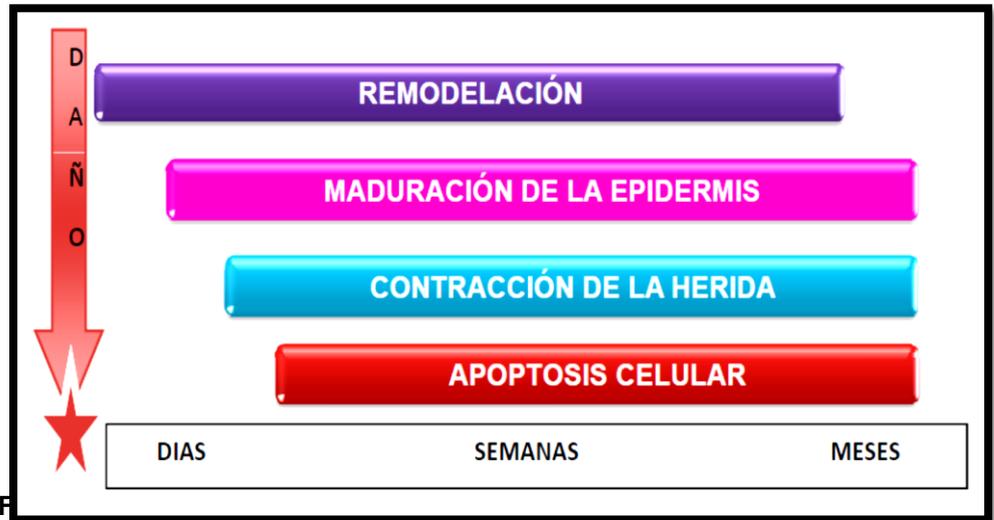


Figura 7. Fase de remodelación^[27] (modificado de Benavides.2008)

D) REPARACIÓN POR PRIMERA INTENCIÓN

En este caso la herida o incisión solo causa la alteración local de la continuidad de la membrana basal epitelial y muerte de relativamente pocas células epiteliales y de tejido conectivo, el espacio de la herida es pequeño.

Día 1. - Se observan neutrófilos en el borde de la incisión que se desplazan hacia el coagulo de fibrina generado en la cicatriz. Las células basales de los bordes cortados, aumentan su actividad mitótica. En 24 a 48 horas, las células epiteliales de ambos bordes se desplazan y proliferan a lo largo de la dermis, y debajo de la costra producen una capa epitelial delgada pero continua.

Días 2 – 3. - Los macrófagos sustituyen a los neutrófilos, el tejido de granulación va llenando el espacio de la incisión, hay fibras de colágeno pero en vertical, se forma una capa epidérmica gruesa que cubre la herida.

Días 4 – 5. - La neovascularización es máxima las fibrillas de colágeno son abundantes y empiezan a unir los bordes de la incisión, la epidermis va normalizándose y las células de su superficie se queratinizan.

Segunda Semana.- Proliferan los fibroblastos hay depósito creciente de colágeno se inicia el blanqueamiento de la cicatriz y la regresión de los conductos vasculares.

Primer Mes.- La cicatriz incluye tejido conectivo celular cubierto por una epidermis normal.

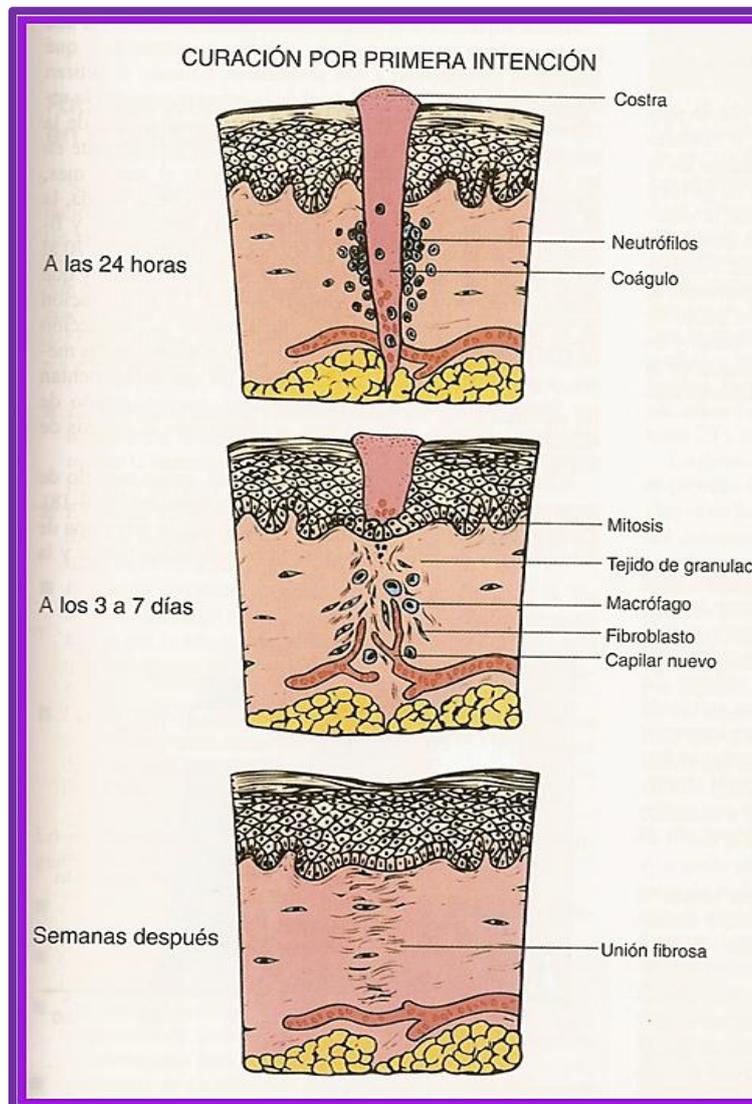


Figura 8. Curación por primera intención^[28]

E) TRATAMIENTO

El tratamiento de las heridas es mucho más eficaz cuando se conoce cómo actuar correctamente para acelerar su cicatrización, pues mientras más rápido lo hacen, disminuyen las complicaciones y molestias. El correcto entendimiento de las fases de reparación de heridas, permite comprender el impacto benéfico de algunos medicamentos y los aspectos negativos de otros. Los medicamentos que resultan beneficiosos deben ser utilizados en el tiempo apropiado.

Las citocinas y factores de crecimiento que son ahora utilizados como agentes tópicos de forma exitosa, son necesarios para inducir la promoción de la cicatrización. Los agentes antiinflamatorios como los corticoesteroides, la colchicina, la dapsona y los antimaláricos participan en la formación de microtúbulos, integrinas de las células polimorfo nucleares e interfieren con el procesamiento de los receptores de membrana. Los retinoides tienen efectos sobre la cicatrización, ya que intervienen en la angiogénesis y en el proceso de epitelialización, como es la vitamina A necesaria para mantener una epidermis normal, promoviendo la descamación a través de una producción disminuida de queratina, gránulos de queratohialina y desmosomas; esto se da a nivel de receptores nucleares específicos que facilitan su acción terapéutica y su expresión varía según el tejido.

Algunos de los tratamientos convencionales, como el uso de corticoesteroides y la sulfadiazina de plata principales medicamentos para el tratamiento de las heridas, han sido muy eficaces; no obstante, también han causado diversos

efectos secundarios, entre los que podemos encontrar, supresión adrenal, reacciones alérgicas, metahemoglobinemias, hemólisis, etc., por lo cual ha sido necesario recurrir a otro tipo de terapias.

Además de existir tratamientos convencionales, en la actualidad las personas recurren a terapias o tratamientos alternativos con la finalidad de que se lleve adecuadamente la reparación de las heridas en personas que lo requieren. Entre los tratamientos alternativos se encuentran: la electro estimulación, la hidroterapia, la bioingeniería de piel, el rayo láser, el oxígeno hiperbárico, los diodos de emisión de luz, la terapia de presión negativa, y la medicina tradicional a través del uso de plantas medicinales, entre otros.

Estos tratamientos actúan en diferentes puntos de la cicatrización como por ejemplo, la electro estimulación se cree que acelera el proceso de cicatrización por imitación de las corrientes eléctricas naturales que ocurren en la piel cuando es dañada; ya que cuando es aplicada la corriente eléctrica en heridas incrementa la migración de células vitales en la cicatrización como los neutrofilos, macrófagos y fibroblastos, así como la producción de colágeno, la fuerza ténsil y restaura el flujo sanguíneo.

2.2.8. PLANTAS MEDICINALES

Las plantas son otra alternativa que ha sido ampliamente utilizada por la medicina tradicional a lo largo de la historia para el tratamiento de diversas enfermedades.

Mucho del conocimiento científico que se tiene de plantas cicatrizantes es a nivel etnobotánico y pocos son los estudios

científicos que avalan dicho uso en la gran mayoría de estas, por lo que es de gran importancia investigar su efecto y con ello encontrar nuevas plantas como recurso de nuevos principios activos que sean identificados y formulados para el tratamiento de heridas.

2.2.9. *THYMUS VULGARIS L. (TOMILLO)* ^{[2] [4] [5] [6] [44]}

A) HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Es originario del Mediterráneo. Crece desde el norte de África a Asia menor, zona meridional de Europa. Es muy abundante en España. Es uno de los condimentos de la cocina europea y del Medio Oriente. Crece tanto en zonas frías como áridas. Existen cientos de variedades.

El tomillo se multiplica a partir de las semillas sembradas a comienzos de abril; estas semillas tardan 2 a 4 semanas en germinar. Se encuentra en laderas expuestas al sol, en suelos calcáreos cubiertos de matorral, en tierras arcillosas, terrenos pedregosos, etc. Vive desde el nivel del mar hasta los 2000 m.s.n.m.

El tomillo crece en la península ibérica, colonizan el sur centro y este. Los tomillares aparecen formando grandes matorrales en la parte occidental de Cataluña y bajo Aragón. Por sus propiedades medicinales en el Siglo XVI su cultivo se extendió por Alemania.

Además de las zonas colonizadas espontáneamente por este género, se han introducido poblaciones, que ahora crecen en estado silvestre, en Estados Unidos, Canadá, Chile, Australia o Nueva Zelanda, lo que amplía su área de distribución.

B) DESCRIPCIÓN GENERAL

El género *Thymus* pertenece a la familia de las labiadas, es de clima templado y originario de los países de la cuenca mediterránea occidental. Crece sobre suelos secos y soleados y resiste bien las heladas y sequías.

Presenta una gran diversificación en subespecies y la Península Ibérica es una de las zonas más ricas en cuanto al número y de mayor endemidad.

Se trata de una planta aromática (su nombre genérico proviene del verbo griego *Thym*, en alusión a su intenso y agradable aroma), vivaz, leñosa, de 10-40 cm de altura y muy ramificada. Las hojas, de 3-8 mm, son lineares, oblongas, sentadas o brevemente pediculadas, opuestas, tomentosas, sin cilios, con el pecíolo o sus márgenes revueltos hacia abajo y blanquecinas por su envés. Las flores son axilares y están agrupadas en la extremidad de las ramas, formando una especie de capítulo terminal, a veces con inflorescencia interrumpida. Las brácteas son verde-grisáceas, el cáliz, algo giboso, con pelos duros, con tres dientes en el labio superior, cortos, casi iguales y dos en el inferior, muy agudos, más largos, con pelos en sus bordes y de color rojizo. La corola, un poco más larga que el cáliz, con el labio superior erguido y el inferior trilobulado y de color blanquecino o rosado. Los 4 estambres sobresalen de la corola y el fruto es un tetraqueno, lampiño, de color marrón.

Es una especie muy variable, tanto en su fenología como en la composición química de su aceite esencial, en el que ya se han detectado 7 quimiotipos. Esto ha dado lugar a confusiones taxonómicas en este género, ya que se han

considerado como especies distintas a sus variedades o ecotipos.

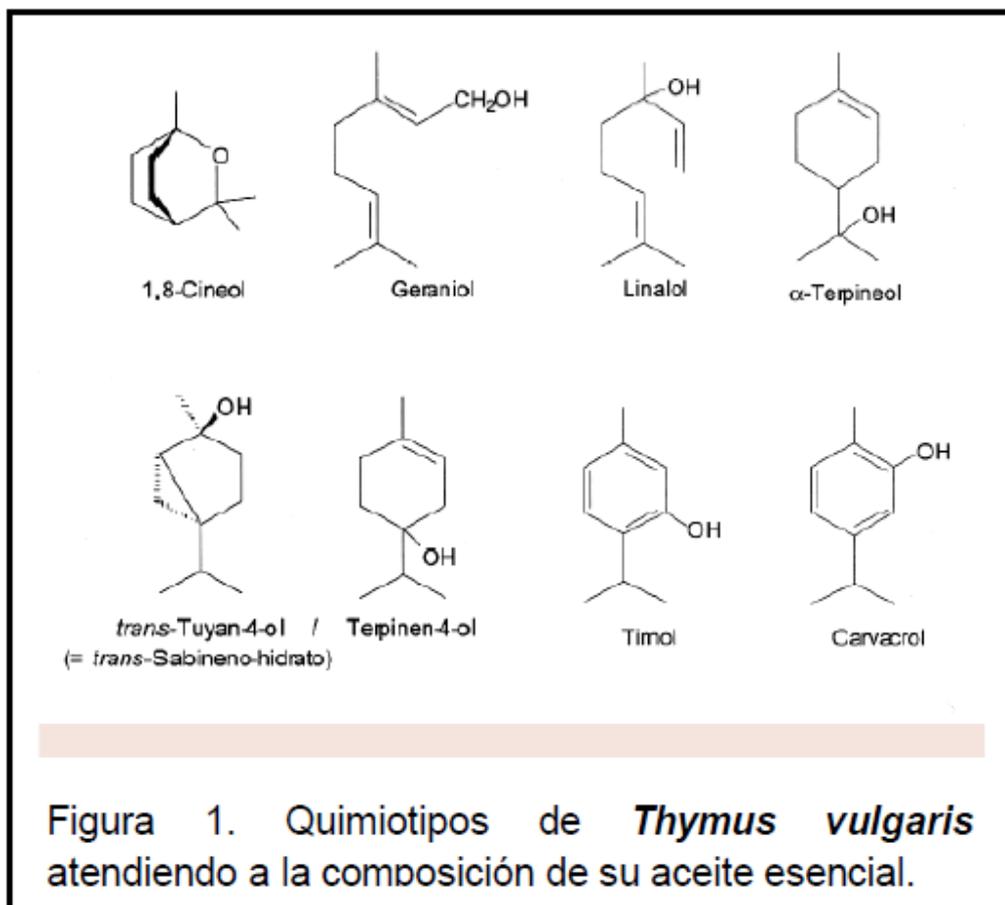
C) TAXONOMÍA DE *THYMUS VULGARIS*

Según el sistema de clasificación de J. Mostacero (1993), la especie de *Thymus Vulgaris* “Tomillo”, se ubica en la siguiente categoría taxonómica.

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Orden : Lamiales
Familia : Lamiaceae
Género : *Thymus*
Especie : *Thymus vulgaris*.
Nombre vulgar: “tomillo”

D) COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *THYMUS VULGARIS L.*

Estudios fotoquímicos investigaron la composición del aceite esencial del tomillo (Figura 01) (ECHEVERRIGARAY et al., 2001; HUDAIB et al., 2002). El timol es el compuesto mayoritario en la composición química del aceite esencial del tomillo, seguido por el carvacrol, según lo descrito por varios autores (OZCAN & CHALCHAT, 2004; PORTE & GODOY, 2008; HAJIMEHDIPOOR et al., 2010; LISI et al., 2011).



Por su relación con la actividad de la droga, destacan el aceite esencial y los polifenoles, particularmente los flavonoides. El aceite esencial (1,0-2,5%) está constituido principalmente por fenoles monoterpénicos, como timol (hasta un 70%), carvacrol (hasta un 65%), p-cimeno, gammaterpineno, limoneno, borneol y linalol. No obstante, se ha de tener en cuenta que la composición del aceite esencial es variable según la época y lugar de la cosecha, además de la bien conocida existencia de diferentes quimiотipos, de *T. vulgaris*.

Determinación Cuantitativa de metabolitos secundarios (%) Cromatografía gaseosa con detección de masas, método de cuantificación, por normalización interna (área)	(+) -4-Carene (2,88 %)
	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)- (24,87 %)
	1,4 -Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (25,96 %)
	Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (1,69 %)
	Linalool, methyl ether (2,87 %)
	Thymol (36,50 %)
	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-Karvacrol (1,55 %)
	Caryophyllene (3,69 %)
<p>Fuente: Informe de ensayo N° ANA12J12.000614B-Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, Universidad Católica de Santa María.</p>	

La droga contiene también heterósidos monoterpénicos, ya que una pequeña parte del timol y carvacrol se halla en forma de glucósidos o galactósidos. Por este motivo, la Farmacopea Francesa exige que la esencia tenga un mínimo del 30% de fenoles totales. Entre ellos, los principales son el timol y el carvacrol.

El fármaco también contiene flavonoides, como luteolina, apigenina, naringenina, eriodictol, cirsilineol, salvigenina, cirsimaritina, timonina y timusina, entre otros.

Otros componentes también destacables son los ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico (ácidos cafeico y rosmarínico), triterpenos (ácidos ursólico y oleanólico), saponinas, taninos y un principio amargo (serpilina).

Espasmolítico (timol y carvacrol del aceite esencial), que inhiben la disponibilidad del calcio; Antitusígeno; Antiséptico; Antibacteriano, antifúngico, antivírico; antihelmíntico, especialmente activo frente al *Ancilostoma* duodenal; carminativo y eupéptico (aceite esencial, principio amargo); colagogo (aceite esencial); Antirradicales (flavonoides, ácidos fenólicos); Digestivo, estimulante del apetito, cicatrizante, expectorante, mucolítico, astringente suave, diaforético, tonificante, vulnerario, alivia laringitis, gastritis, diarrea, urinarios, hepáticos. Contra ataques de tos, trastornos de garganta e infecciones bucales (antiséptico); regulariza y alivia trastornos menstruales, se lo emplea contra la sarna y los piojos, es repelente de insectos.

E) PROPIEDADES MEDICINALES

Actividad antiespasmódica y expectorante

El tomillo presenta actividad espasmolítica en las vías respiratorias y ejerce un efecto relajante del músculo liso bronquial que justifica su uso como antitusivo. La acción antiespasmódica se debe al timol y al carvacrol del aceite esencial, que se cree tienen la capacidad de inhibir la disponibilidad del calcio, con lo que podrían bloquear la conducción nerviosa. Por otro lado, se ha comprobado que la acción de los flavonoides derivados del luteolol potencia la acción espasmolítica de los fenoles, actuando sobre todo en

la tráquea, gracias a una inhibición de la fosfodiesterasa, seguida de un incremento del nivel intracelular del AMPc. De hecho, estos flavonoides serían los principales causantes de la actividad de los extractos fluidos de tomillo, cuyo contenido en timol y carvacrol suele ser muy bajo.

El tomillo presenta además una actividad expectorante, gracias a que su aceite esencial aumenta la actividad de los cilios bronquiales, a la vez que por un efecto irritante aumenta la producción de secreción bronquioalveolar. Esto causa una fluidificación de las secreciones bronquiales y favorece su eliminación.

Figura 2. Planta de *Thymus vulgaris* L. “tomillo”



Actividad antiséptica

La esencia de tomillo tiene un efecto antiséptico superior al del fenol y al del agua oxigenada. De hecho, en el siglo XIX y primera mitad del XX, cuando todavía no se conocían los antibióticos, el tomillo era considerado como un eficaz desinfectante. Actualmente, está comprobado que sus componentes fenólicos, timol y carvacrol, tienen actividad antibacteriana frente a gérmenes grampositivos y gramnegativos. Este efecto se debe a su acción sobre la membrana bacteriana. Además, también tienen acción antifúngica (eficaz contra *Candida albicans*) y antivírica. Al eliminarse por vía respiratoria y renal, el tomillo produce efecto antiséptico en el árbol respiratorio y en las vías urinarias. Por su actividad antiséptica, el tomillo también tiene interés como antiséptico de la cavidad bucofaringea, así como para el lavado de heridas.

La acción antibacteriana del tomillo se ve potenciada por la capacidad que tiene de producir una estimulación de la leucopoyesis y una elevación de los valores de trombocitos en la sangre, por lo que también se considera que puede ser interesante su uso como potenciador de la acción de otros inmunoestimulantes.

Actividad Béquica

El tomillo actúa como un eficaz y seguro antitusígeno, limpia las vías respiratorias, inhibe el crecimiento bacteriano y ejerce un efecto antiespasmódico sobre éstas, debido a la suma de sus acciones expectorante, espasmolítica y antiséptica.

Antihelmíntico

Es especialmente activo frente a *Ankylostoma duodenale*.

Actividad Antiinflamatoria

En aplicación tópica, el aceite esencial es rubefaciente.

Además, especialmente el carvacrol tiene una acción inhibidora de la biosíntesis de prostaglandinas. Ello justifica la inclusión de la esencia de tomillo en linimentos y otros preparados para el tratamiento de dolores musculares y osteoarticulares.

El ácido rosmarínico, presente en el fármaco, también tiene acción antiinflamatoria, debido a su capacidad de inhibir la activación del complemento.

Actividad Eupéptica

Popularmente, al igual que otros fármacos con aceite esencial, el tomillo se emplea como aperitivo, digestivo y carminativo, ya que abre el apetito, favorece la digestión e impide la formación de gases.

Actividad Antioxidante

Tiene acción antirradicales, en la que se consideran implicados el timol y el carvacrol de la esencia, así como los flavonoides y otros polifenoles.

Actividad Estrogénica

Tiene un efecto débilmente estrogénico, ya que compite con el estradiol en los receptores intracelulares.

Por esta acción algunos autores sugieren su posible interés en la prevención de enfermedades producidas por un exceso de xenoestrógenos, como es el caso del cáncer de mama.

Anti Envejecimiento

Estudios realizados en Escocia en 1990 sugieren que el tomillo y su aceite volátil tienen un marcado efecto tónico que apoya el normal funcionamiento del organismo y contrarresta los efectos del envejecimiento.

F) OTROS USOS

Uso culinario

El tomillo se utiliza habitualmente como condimento de uso culinario y en la elaboración de encurtidos. Favorece la conservación de los alimentos que se aliñan con él, gracias a las propiedades antimicrobianas y a las antioxidantes, en las que intervendrían timol, carvacrol, los flavonoides y los polifenoles del fármaco. En licorería se utiliza para la elaboración del licor *Chartreuse* y un aguardiente italiano llamado grapa, entre otros.

También sirve para la activación de la circulación y el sistema nervioso, es tónico y energizante en el nivel físico, mental y emocional. Mejora la memoria, la astenia nerviosa, despierta las funciones digestivas y evita los espasmos gástricos e

intestinales. Estimula la circulación capilar, alivia el dolor de cabeza de origen nervioso y jaquecas, coadyuva a la mejoría de las afecciones del aparato respiratorio como resfriados, catarros y bronquitis, por favorecer la expectoración y moderar los espasmos de la tos. Se ha empleado contra la tos ferina, excelente mucolítico en procesos catarrales, buen aliado contra el asma, combate las infecciones respiratorias y digestivas, alivia la sinusitis con inhalaciones. En infusiones y baños de asiento para la cistitis, uretritis, vaginitis y prostatitis, halitosis. Aplicado en gargarismos es muy eficaz en casos de laringitis, faringitis y amigdalitis; calmando el dolor de garganta, la ronquera y la tos irritativa. Es de uso externo y no debe ingerirse.

Se usa también en infecciones de la boca, aftas, cuidado de los dientes y encías (Uso externo); indicado en el tratamiento de la diarrea infantil y la enuresis, regulador de ciclos menstruales irregulares, acaba con las lombrices intestinales y en forma de lavativa expulsa los oxiuros o lombrices diminutas que sufren los niños.

La infusión del Tomillo se puede utilizar como loción sobre heridas infectadas, infecciones de piel causadas por hongos y dermatosis, en tratamiento de forúnculos y herpes. En algunas del Mediterráneo se utiliza como repelente de los mosquitos y para tratar picaduras de insectos. Hay constancia de que los antiguos egipcios utilizaron ya el tomillo en la conservación de sus momias debido a sus propiedades bactericidas.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

A) Aceite Esencial:

Es una mezcla de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris).

B) Cicatrización:

Es un proceso biológico mediante el cual los tejidos vivos reparan sus heridas dejando -para el caso de las heridas cutáneas- una cicatriz que puede ser estética o inestética.

C) Control de calidad:

Son todos los mecanismos, acciones, herramientas realizadas para detectar la presencia de errores. La función del control de calidad existe primordialmente como una organización de servicio, para conocer las especificaciones establecidas por la ingeniería del producto y proporcionar asistencia al departamento de fabricación, para que la producción alcance estas especificaciones. Como tal, la función consiste en la recolección y análisis de grandes cantidades de datos que después se presentan a diferentes departamentos para iniciar una acción correctiva adecuada.

D) Crema:

Es un preparado semisólido para el tratamiento tópico. Tiene una base de agua (a diferencia de un ungüento o pomada). Las cremas contienen de un 60 a 80% de agua, para poder formar un líquido espeso y homogéneo. Estos preparados (que, como se ha dicho,

deben ser administrados por uso tópico) suelen ser multifase: siempre contienen una fase lipófila y otra fase hidrófila.

E) Dinamómetro:

Es un instrumento utilizado para medir fuerzas o para pesar objetos. El dinamómetro tradicional, inventado por Isaac Newton, basa su funcionamiento en el estiramiento de un resorte que sigue la ley de elasticidad de Hooke en el rango de medición. Al igual que una báscula con muelle elástico, es una balanza de resorte, pero no debe confundirse con una balanza de platillos (instrumento utilizado para comparar masas).

F) Emulsión:

Es un instrumento utilizado para medir fuerzas o para pesar objetos. El dinamómetro tradicional, inventado por Isaac Newton, basa su funcionamiento en el estiramiento de un resorte que sigue la ley de elasticidad de Hooke en el rango de medición. Al igual que una báscula con muelle elástico, es una balanza de resorte, pero no debe confundirse con una balanza de platillos (instrumento utilizado para comparar masas).

G) Herida:

Es una lesión que se produce en el cuerpo. Puede ser producida por múltiples razones, aunque generalmente es debido a golpes o desgarros en la piel. Dependiendo de su gravedad, es necesaria asistencia médica.

H) Metabolito Secundario:

Son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o

reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente.

I) Tensioactivos:

Son sustancias que influyen por medio de la tensión superficial en la superficie de contacto entre dos fases (p.ej., dos líquidos insolubles uno en otro).

J) pH:

Es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidronio $[H_3O]^+$ presentes en determinadas disoluciones.

CAPÍTULO III: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. ANÁLISIS DE TABLAS Y GRÁFICOS

1.1. MARCHA DE SOLUBILIDAD Y FITOQUIMICA

SOLUBILIDAD

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua	+++
Metanol	+++
Etanol 70%	+++
Acetona	++
Acetato de Etilo	++
Éter Etilico	++
Cloroformo	++
Benceno	++
Hexano	+

+: poco soluble, ++: soluble, +++: muy soluble

.METABOLITOS SECUNDARIOS

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVOS	PRESENCIA
Glicósidos	Benedict	+ + +
Aminoácido	Ninhidrina	+ +
Compuestos Fenólicos	Cloruro Férrico	+ + +
Flavonoides	Shinoda	+ + +
Quinonas	Borntrager	+ +
Taninos	Gelatina-Sal	+ + +
Resinas	Acetato de Cobre	+
Alcaloides	Dragendorff y Mayer	---
Saponinas	Espuma	+
Lactonas	Hidroxamato Férrico	+ +

-: ausencia,+ : escasa cantidad,++ : moderada cantidad,+++ : abundante cantidad.

1.2. ESTUDIO FARMACOLÓGICO

RESULTADOS DEL TEST DE CICATRIZACIÓN

Tabla 01. Peso de la arena en gramos necesarios para abrir la herida en ratones tratados con la crema de *Thymus vulgaris*.

Grupos de Estudios N° de ratones albinos	GRUPO PIEL INTACTA (g) (+)	GRUPO CONTROL LESIÓN (g) sin tratamiento (-)	GRUPO CREMA CICATRICURE (g)	GRUPO CREMA 5% (g)	GRUPO CREMA 10% (g)	GRUPO CREMA 15% (g)
1	183.7	48.7	175.1	235.6	168.1	238.6
2	204.6	70.4	124.1	161.9	111.7	139.9
3	206.5	56.4	126.1	150	180.1	153
4	217.9	60.1	128.7	149.5	185.4	135
5	220.5	65.7	136.1	168.4	128.8	117
6	226.8	63.7	124.5	211.2	157.5	154.9
7	253.7	58	167.1	113.2	150	105
ξ Promedio de la Media	216.2	60.4	140.2	170.0	154.5	149.1

Nota: En esta tabla podemos observar que la resistencia a la tensión en la piel, se expresa en gramos donde se da distintos pesos según sea la crema de *Thymus vulgaris*. A distintas concentraciones en comparación con la crema cicatricure y la piel intacta.

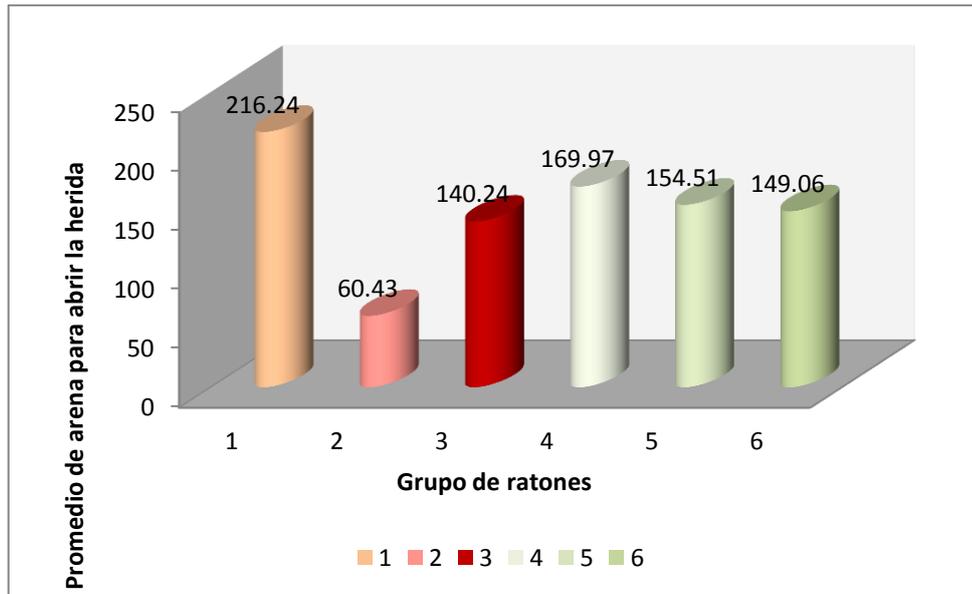


Figura 9. Peso de la arena en gramos necesarios para abrir la herida en ratones tratados con la crema de *Thymus vulgaris*.

Leyenda:

- 1.- Piel Intacta
- 2.- Control Lesión
- 3.- Crema Cicatricure
- 4.- Crema 5%
- 5.- Crema 10%
- 6.- Crema 15%

Tabla 02. Eficacia de la cicatrización en los grupos de estudio expresada en porcentaje y con la crema de *Thymus vulgaris*.

Grupos de Estudios N° de ratones albinos	PIEL INTACTA %	CONTROL LESION % sin tratamiento	CREMA CICATRICURE %	CREMA 5% %	CREMA 10% %	CREMA 15% %
1	84.95	22.52	80.97	108.95	77.74	110.34
2	94.62	32.56	57.39	74.87	51.65	64.70
3	95.49	26.08	58.31	69.37	83.29	70.75
4	100.77	27.79	59.52	69.14	85.74	62.43
5	101.97	30.38	62.94	77.88	59.56	54.11
6	104.88	29.46	57.57	97.67	72.83	71.63
7	117.32	26.82	77.27	52.35	69.37	48.56
ξ Promedio de la Media	100.00	27.94	64.85	78.60	71.45	68.93

Nota: En esta tabla observamos en porcentajes la efectividad de cicatrización expresado en distintas concentraciones de la crema a base de *Thymus vulgaris*.

$$\% \text{ eficacia de cicatrización} = \frac{\text{gramos de arena necesarios para abrir la cicatriz tratada}}{\text{gramos de arena necesarios para abrir la piel intacta}} \times 100$$

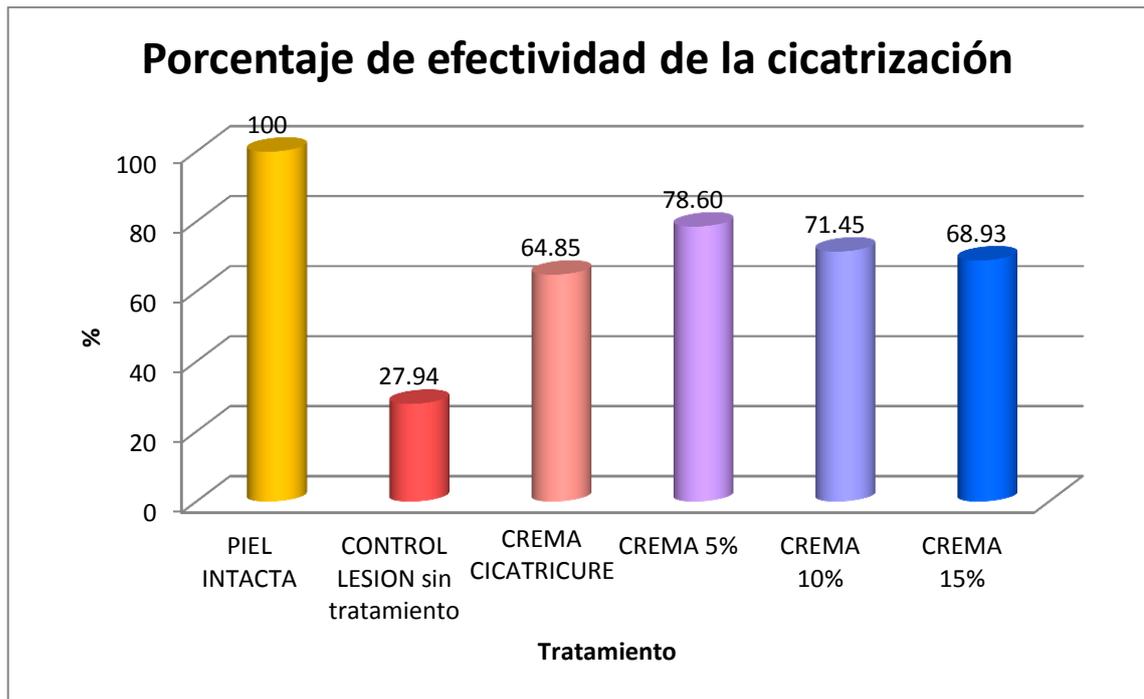


Figura 10. Eficacia de la cicatrización en los grupos de estudio expresada en porcentaje y con la crema de *Thymus vulgaris*.

Tabla 03: ESTADISTICA DESCRIPTIVA PARA LOS TIPOS DE TRATAMIENTOS APLICADOS

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1	7	140,24286	21,583856	8,157931	120,28112	160,20459	124,100	175,100
2	7	60,42857	7,044079	2,662412	53,91389	66,94326	48,700	70,400
3	7	169,97143	41,059823	15,519154	131,99743	207,94543	113,200	235,600
4	7	154,51429	26,822592	10,137987	129,70753	179,32105	111,700	185,400
5	7	149,05714	43,431473	16,415554	108,88973	189,22456	105,000	238,600
Total	35	134,84286	48,679784	8,228385	118,12077	151,56495	48,700	238,600

DONDE:

- 1= Control positivo (Cicatricure)
- 2= Control negativo (Sin tratamiento)
- 3= Crema al 5%
- 4= Crema al 10%
- 5= Crema al 15%

En el cuadro adjunto podemos observar la aplicación de la estadísticas descriptivas a los datos obtenidos, todas las medias se encuentran dentro de los límites establecidos a un intervalo de confianza del 95% y un error relativo del 5% por ello ningún dato se excluye y por ende se aplicará estadística inferencial para determinar si existen diferencias significativas de las medias de cada tratamiento aplicado.

Tabla 04: PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,876	4	30	,140

DONDE:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$).

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $0.140 > 0.05$, por lo tanto se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas. Es importante el resultado ya que esto nos permite elegir la prueba estadística inferencial correspondiente que en este caso será la prueba ANNOVA one way o de un factor.

Tabla 05: PRUEBA DE ANNOVA ONE WAY PARA LOS TRATAMIENTOS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	51727,714	4	12931,929	13,451	,000
Intra-grupos	28842,811	30	961,427		
Total	80570,526	34			

APLICADOS

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA One Way nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Si deseamos determinar que medias son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicará la prueba de TUKEY ya que es la más usada por los estadistas.

**Tabla 06: COMPARACIONES MÚLTIPLES
VARIABLE DEPENDIENTE: FUERZA
HSD DE TUKEY**

(I) CATEGORI A	(J) CATEGORIA	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	79,814286*	16,573878	,000	31,73996	127,88861
	3	-29,728571	16,573878	,396	-77,80289	18,34575
	4	-14,271429	16,573878	,909	-62,34575	33,80289
	5	-8,814286	16,573878	,983	-56,88861	39,26004
2	1	-79,814286*	16,573878	,000	-127,88861	-31,73996
	3	- 109,542857*	16,573878	,000	-157,61718	-61,46853
	4	-94,085714*	16,573878	,000	-142,16004	-46,01139
	5	-88,628571*	16,573878	,000	-136,70289	-40,55425
3	1	29,728571	16,573878	,396	-18,34575	77,80289
	2	109,542857*	16,573878	,000	61,46853	157,61718
	4	15,457143	16,573878	,882	-32,61718	63,53147
	5	20,914286	16,573878	,716	-27,16004	68,98861
4	1	14,271429	16,573878	,909	-33,80289	62,34575
	2	94,085714*	16,573878	,000	46,01139	142,16004
	3	-15,457143	16,573878	,882	-63,53147	32,61718
	5	5,457143	16,573878	,997	-42,61718	53,53147
5	1	8,814286	16,573878	,983	-39,26004	56,88861
	2	88,628571*	16,573878	,000	40,55425	136,70289
	3	-20,914286	16,573878	,716	-68,98861	27,16004
	4	-5,457143	16,573878	,997	-53,53147	42,61718

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

DONDE:

1= Control positivo (Cicatricure)

2= Control negativo (Sin tratamiento)

3= Crema al 5%

4= Crema al 10%

5= Crema al 15%

La prueba de TUKEY es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos 1, 3, 4, 5 con el tratamiento 2. Por ello podemos concluir estadísticamente que las cremas al 5%, 10% y al 15% presenta efectos similares que el Cicatricure.

Tabla 07: SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS
HSD de Tukey

CATEGORIA	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
2	7	60,42857	
1	7		140,24286
5	7		149,05714
4	7		154,51429
3	7		169,97143
Sig.		1,000	,396

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.000.

La prueba de TUKEY permite también determinar los tratamientos que son estadísticamente homogéneos. En el cuadro adjunto se observa que los tratamientos 1, 3, 4, 5 presentan medias homogéneas a diferencia del tratamiento 2, por ello se confirma que los tratamientos 1, 3, 4 y 5 presenta efectos similares.

1.3. CORTES HISTOLÓGICOS

CORTE HISTOLÓGICO DE PIEL INTACTA

Observando de fuera hacia dentro, se encuentra a la epidermis donde la capa más externa es el capa cornea conformado por células queratinizadas. Seguidamente viene la dermis, compuesta por la capa papilar y la capa reticular. Después de la dermis se encuentra una capa de tejido adiposo llamada hipodermis este tejido tiene vasos sanguíneos, aquí también se observa el origen de los folículos pilosos y glándulas sebáceas.

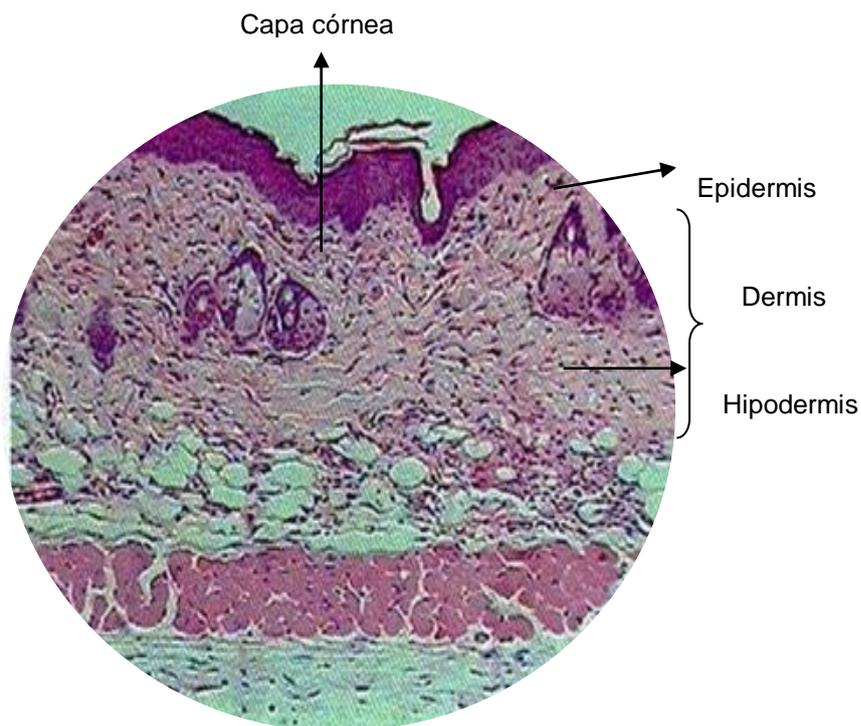


Figura 11. Corte histológico de piel intacta. HE 20X.

Corte histológico de cicatrización sin tratamiento:

Se observa incipiente epitelización, debajo de la epidermis se producía reparación mediante tejido de granulación y separación.

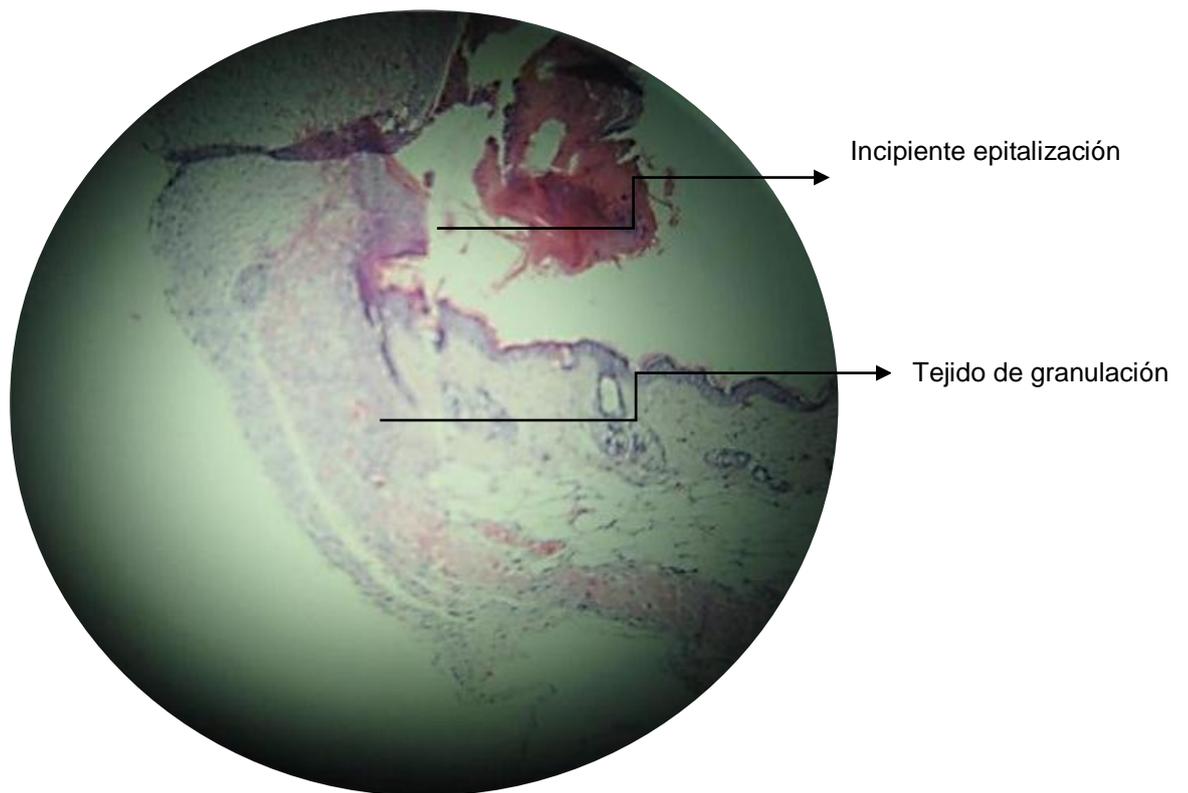


Figura 12. Corte histológico de piel sin tratamiento. Presencia de incipiente epitelización y migración celular. HE 10X.

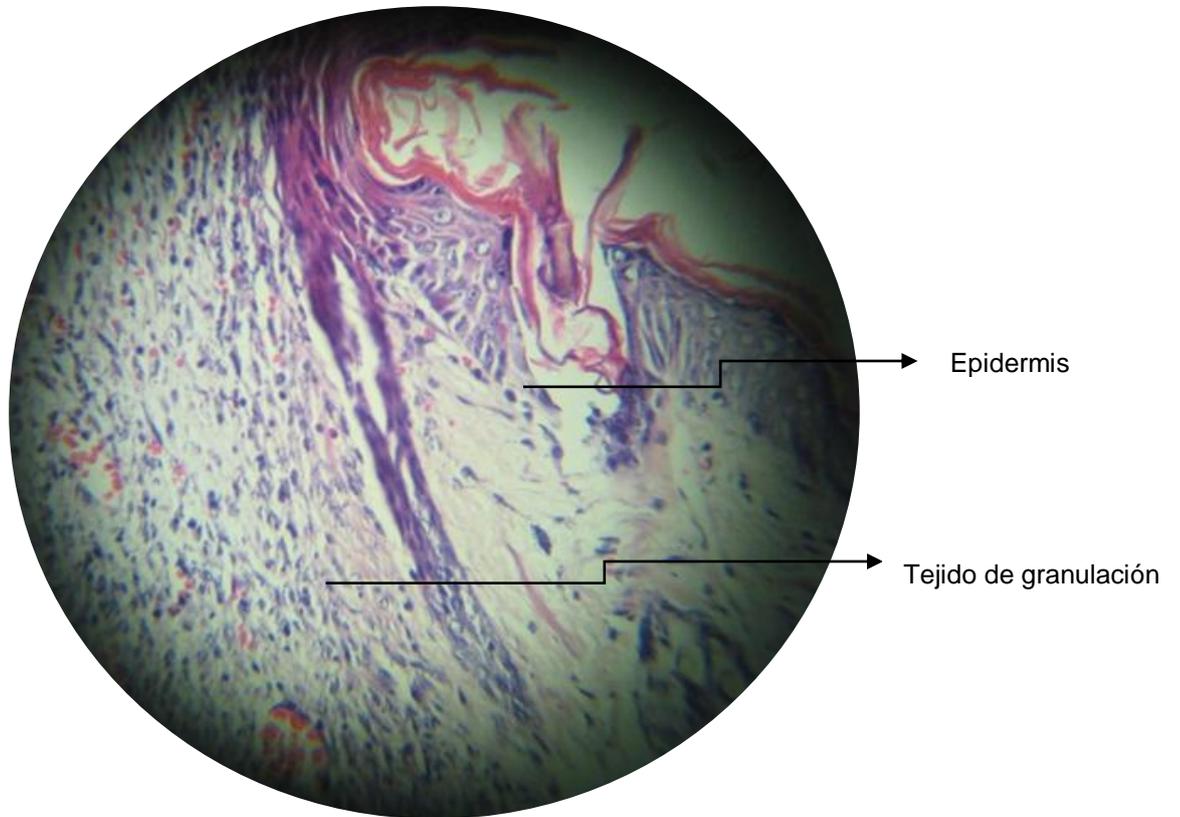


Figura 13. Corte histológico de piel con tratamiento del aceite esencial *Thymus vulgaris*. Reparación mediante tejido de granulación. HE 40X.

DISCUSIÓN

La marcha de solubilidad y fitoquímica nos indica la naturaleza de sus metabolitos siendo las más abundantes compuestos fenólicos glicosidos flavonoides y taninos.

El aceite esencial de *Thymus vulgaris* presenta parámetros de calidad muy buenos para trabajarlos en productos dermocosméticos, por ello no fue difícil formular la crema.

De los ensayos para evaluar actividad cicatrizante se observó que todas las cremas formuladas a base del aceite esencial de *Thymus vulgaris*, presentan actividad terapéutica como cicatrizantes externos, esto se refleja en una mayor velocidad de reparación en los primeros días de curación de la herida, posteriormente las heridas continúan con sus etapas normales de acumulación y remodelación del colágeno.

En orden de mayor a menor actividad se encuentran: crema al 5%, crema al 10% y por último la crema al 15%.

La actividad cicatrizante de la crema con aceite esencial de *Thymus vulgaris*, al 5% fue expresada como resistencia a la tensión, demostrando una resistencia de 169,97g. La eficacia fue de 78,60% el más alto porcentaje mostrado, constituyéndose por ello en la dosis efectiva, habiendo sido corroborado con su respectivo corte histológico.

La crema con el aceite esencial de *Thymus vulgaris*, al 10% y 15% presentan una resistencia a la tensión de 154,51g y 149,06g respectivamente, valores muy similares, mientras que el fármaco patrón, crema de cicatricure, alcanzó un valor inferior de 140,24g y el grupo control sin tratamiento 60,43g.

La actividad cicatrizante podría deberse a la presencia de terpenos, como monoterpenos y sesquiterpenos y los fenil propanos reaccionarían con las células de la piel lesionada interviniendo así en el proceso de la cicatrización, ya que son excelentes antimicrobianos e inductores de la cicatrización^[40].

Los aceites esenciales intervienen en la cicatrización porque evitan la liberación de microorganismos de la infección, asimismo de las prostaglandinas, histaminas, así como también la migración de elementos formes (neutrófilos y otros). Además, estabilizan la membrana celular capturando a los radicales libres presentes, evitando así el daño celular y activando el complejo sistema bioquímico para la regeneración del tejido lesionado^[3].

Los datos estadísticos se corroboraron con el estudio histológico, donde se observó que la crema con aceite esencial de *Thymus vulgaris*, al 5% producían mayor cantidad de tejido de granulación, neovasos, fibroblastos y presencia de tejido colágeno, al compararla con la crema de cicatricure y el grupo control sin tratamiento. Por lo tanto la aplicación de las cremas elaboradas con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* condiciona favorablemente sobre el cierre de las heridas, favoreciendo la cicatrización.

CONCLUSIONES

1. La crema con aceite esencial de *Thymus vulgaris*, si presenta actividad terapéutica como cicatrizante externo en la forma farmacéutica de crema.
2. El tratamiento con mayor eficacia fue la crema al 5% con un 78,60%, seguido por la crema al 10% con 71,45% y por la crema al 15% con 68,93%. Tomando como valor referencial de 100% a la resistencia a la tensión de la piel intacta.
3. Los cortes histológicos corroboran los resultados del test de cicatrización, al observarse una mayor reacción cicatrizante en las heridas experimentales tratadas con las crema de aceite esencial de *Thymus vulgaris*, en comparación con la crema cicatricure.

RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones farmacológicas de los recursos naturales de nuestro país, con la finalidad de encontrar plantas medicinales con principios activos y comprobar su efecto terapéutico en diferentes formas farmacéuticas, para así obtener medicamentos eficaces y/o puedan complementar el tratamiento de diversas enfermedades.

Realizar el estudio de estabilidad de las cremas dérmicas elaborados a base del aceite esencial de *Thymus vulgaris* "Tomillo", mediante métodos analíticos para obtener datos del tiempo de vida útil, con el fin de asegurar la estabilidad del producto terminado.

Realizar el control de calidad de los productos terminados tanto las determinaciones fisico-químicas como microbiológicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA.** Tercera edición. 2005.
2. **BRUNETON J.** Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. Ed. Acribia. Barcelona, 2001.
3. **WWW.VC.EHU.ES** (Universidad del País Vasco. Facultad de Farmacia. España).
4. **BLUMENTHAL M, GOLDBERG A, BRINCKMANN J.** Herbal medicine. Expanded Commission E Monograph. American Botanical Council. Integrative Medicine Communications, 2000.
5. **MOSTACERO LJ, MEJIA CF, GAMARRA TO.** Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Edit. CONCYTEC. Trujillo; 2002.
6. **CARHUAPOMA YM.** Taxonomía de las Plantas Medicinales Aromáticas Nativas de la Provincia de Huamanga y sus Perspectivas Económicas. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, UNSCH. Ayacucho; 2003.
7. **SAKOVIC MD, VUKOJEVIC J, MARÍN PD, BRKIC DD, VAJS V, GRIENSVEN LJL.** Chemical composition of essential oil of Thymus and Mentha species anther antifungal activities. Molecules 2009, 14, 238-249.
8. **AGUAY SMP.** Evaluación de la actividad antiinflamatoria de la mezcla de extractos fluidos de jengibre (Zigiberofficinales), tomillo (Thymusvulgaris L.), romero (Rosmarinusoficinalis) mediante el test de edema inducido en rata (Rattusnovergicus. Tesis de Grado. Riobamba; 2012.
9. **MIRZAEI-AGHSAGHALI A, SYADATI AS, FATHI H. SOME OF THYME (THYMUS VULGARIS) properties in ruminant's nutrition.** Annals of Biological Research, 2012, 3 (2): 1191-1195.

- 10. GRIGORE A, PARASCHIV I, COLCERU-MIHUL S, BUBUEANU C, DRAGHICI E, ICHIM M.** Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. *Romanian Biotechnological Letters*, 2010, 15 (4): 5436-5443.
- 11. CARHUAPOMA YM.** Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán". Tesis de Maestría. UNMSM. Lima; 2006.
- 12. BANDONI A.** Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Bs. As.; 2000.
- 13. SANTORO GF, CARDOSO MG, GUIMARAES LG, MENDOGA LZ, SOARES MJ.** Trypanosomacruzi. activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. On epimastigotes and trypomastigotes. *Exp Parasitol.* 2007; 116(6):283-90.
- 14. SANTORO GF, CARDOSO MG, GUIMARAES LG, SALGADO AP, MENNA-BARRETO RF, SOARES MJ.** Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on Trypanosomacruzi (Protozoa. Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitology research* 2007; 100(4):783-790.
- 15. HOLETZ FB, UEDA-NAKAMURA T, FILHO BP, CORTEZ DA, MORGADO-DÍAZ JA, NAKAMURA CV.** Effect of essential oil of *Ocimum gratissimum* on the Trypanosomatid *Herpetomonas muelleri*. *Acta Protozool* 2003; 42: 269-276.
- 16. FOURNET A, ROJAS DE ARIAS A, CHARLES B, BRUNETON J.** Chemical constituents of essential oils of Muña, Bolivian plants traditionally used as pesticides, and their insecticidal properties against Chagas disease vectors. *Journal of ethnopharmacology* 1996; 52(3): 145-150.

- 17. GUILLERMO NRF.** Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomiascutellaefolia* R. et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. Tesis para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico. Lima; 2002.
- 18. WAYNE D.** Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 4ta. Edición. Edit. LimusaWiley. México. D.F.; 2002.
- 19. KLAAS CA, WAGNER G, LAUFER S, SOSA S, DELLA LOGGIA R, BOMME U, PAHL HL, MERFORT I.** Studies on the anti-inflammatory activity of phytopharmaceuticals
- 20. ULLOA J, SÜLSEN V, FRANK F, CAZORLA C, REDKO F, COUSSIO J, MALCHIODI E, MUSCHIETTI L, MARTINO V.** Actividad tripanocida de flavonoides aislados de plantas medicinales argentinas. *Produtos Naturais Bioativos e suasaplicagoes*. Estadual de Campinas; 2006.
- 21. OECD.** Guideline for testing of chemicals. Organization for economic cooperation and development. Guide No. 425, 2001. Up and down procedure. URL disponible en: <http://www.oecd.org> [fecha de acceso 10 diciembre 2006],
- 22. LAGARTO PA, TILLAN CJ, VEGA MR. CABRERA GY.** Toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales. *Rev. Cubana PlantMed* 1999; 1(4): 26-8.
- 23. CYTED.** Manual de técnicas de investigación. Sub programa X. Química fina farmacéutica. Panamá; 1995.
- 24. LEÓN B, RIINA R, BERRY P.** Euphorbiaceae endémicas del Perú. *Rev. Perú, biol.* 2006; 13 (2): 295s-301s.
- 25. RAMEZANI M, KHAJE-KARAMODDIN M, KARIMI-FARD V.** Chemical composition and anti-*Helicobacter pylori* activity of the essential oil of

Pistacia vera. *Pharmaceutical Biology* (Formerly *International Journal of Pharmacognosy*) 2004; 42 (7): 488-90.

- 26. BERGONZELLI GE, DONNICOLA D, PORTA N, CORTÉIS-THEULAZ IE.** Essential oils as components of a diet-based approach to management of *Helicobacter* infection. *J Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(10):3240-6.
- 27. MAHABOOB AS, KHAN AA, AHMED I, MUSADDIQ M, AHMED KS, POLASA H, et al.** Antimicrobial activities of eugenol and cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2005; 4: 20.
- 28. SILVA D, DENHAM E, FALEIRO L, MIGUEL G, CAVALEIRO C, SALGUEIRO L.** Antimicrobial activity of the essential oils of *Dittrichia viscosa* subs. *viscosa* on *Helicobacter pylori*. *Traditional Medicine and Nutraceuticals* 2001; 6: 680.
- 29. TZAKOU O, SKALTSA H.** Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Satureja parnassica* subsp. *parnassica*. *Planta Med.* 2003; 69(3):282-4.
- 30. GÜLLÜCE M, SÖKMEN M, DEFERERA D, AGAR G, ÖZKAN H, POLISSIOU M, ET AL.** In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis*. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51 (14): 3958-65.
- 31. LAGOURI V, BLEKAS G, TSIMIDOU M, KOKKINI S, BOSKOU D.** Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. *J. Food chemistry and Technology* 2005; 197 (1): 20-3.
- 32. BEZIC N, SKOCIBUSIC M, DUNKIC V.** Antimicrobial effect of *Satureja cuneifolia* Ten essential oil. *Acta Botanica Croatica* 1999; 58: 99-104.

- 33. GARCÍA BL. GARCÍA GL, ROJO DD, SÁNCHEZ GE.** Plantas con propiedades antioxidantes. Rev Cubana Invest Biomed 2001; 20(3): 231-5.
- 34. RUBERTO G, BARATTA MT.** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. J Food chemistry 2000; 69: 167-174.
- 35. COSMETOLOGÍA DE HARRY J. B. WILKINSON, R. J. MOORE.** Ediciones Díaz de Santos, 1990;57-82;747-782.
- 36. J. THOMPSON, J. CHALCHA, A. MICHET, Y. LINHART, B. EHLERS,** Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes., J Chem Ecol., 29(4):859-80, 2003.
- 37. ALZATE O., DIEGO A. Y COL.(2009).** Evaluación de La Fitotoxicidad y La Actividad Antifúngica Contra *Colletotrichum Acutatum* de Los Aceites Esenciales de Tomillo (*Thymus Vulgaris*), Limoncillo (*Cymbopogon Citratus*), y Sus Componentes Mayoritarios. Universidad de Antioquia. Colombia
- 38. ARDILA Q., MARTHA I. (2009).** Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* Y *Thymus vulgaris* FRENTE A *Clostridium perfringens*. Universidad de Caldas. Colombia
- 39. ARAUJO DIAZ, JORGE (2008).** Actividad antimicrobiana de plantas. Revista Científica de la Universidad Científica del Sur. N° 6 Volumen 10. Lima.
- 40. ESTRADA O., PAOLA S. (2010).** Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de Romero "*Rosmarinus officinalis*" y Tomillo "*Thymus vulgaris*". Escuela Politécnica Superior de Chimborazo. Ecuador.

- 41. FUSELLI S., R. Y COL. (2006).** Inhibición de *Paenibacillus larvae* empleando una mezcla de aceites esenciales y timol. Universidad Nacional de Mar del Plata. Argentina.
- 42. INSTITUTO DE ODONTOLOGÍA. BIOMEDICUM. (2008)** Actividades antibiopelícula de *Origanum vulgare* aceite esencial contra los patógenos periodontales.
- 43. VILLAREAL TREVIÑO, LICEO (2008).** Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Croton lechleri* "Sangre de grado" en microorganismos presentes con periodontitis de adulto. Tesis. Universidad de Nuevo León. México.
- 44. TYLER Y COL, (1979).** Farmacognosia. 2da Edición. Editorial el Ateneo. Argentina.

ANEXOS



CENTRO DE INVESTIGACION DE PLANTAS MEDICINALES AROMATICAS Y MEDICINA TRADICIONAL

- AGROINDUSTRIAS WARI ANDINO -
CIPLAMT

CERTIFICADO

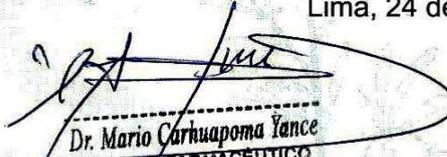
El Jefe Responsable del Laboratorio del CIPLAMT, CERTIFICA que los aceites esenciales de:

- 1.- *Thymus vulgaris* "Tomillo" cuyo marcador molecular timol y carvacrol.

En la especie fue analizada y extraída a su aceite esencial por el método de arrastre con vapor de agua a solicitud del Sr. **Rubén David Acosta Jara**.

Se extiende el presente documento a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Lima, 24 de noviembre del 2014.


Dr. Mario Carhuapoma Yance
QUIMICO FARMACEUTICO
COFP. 10215

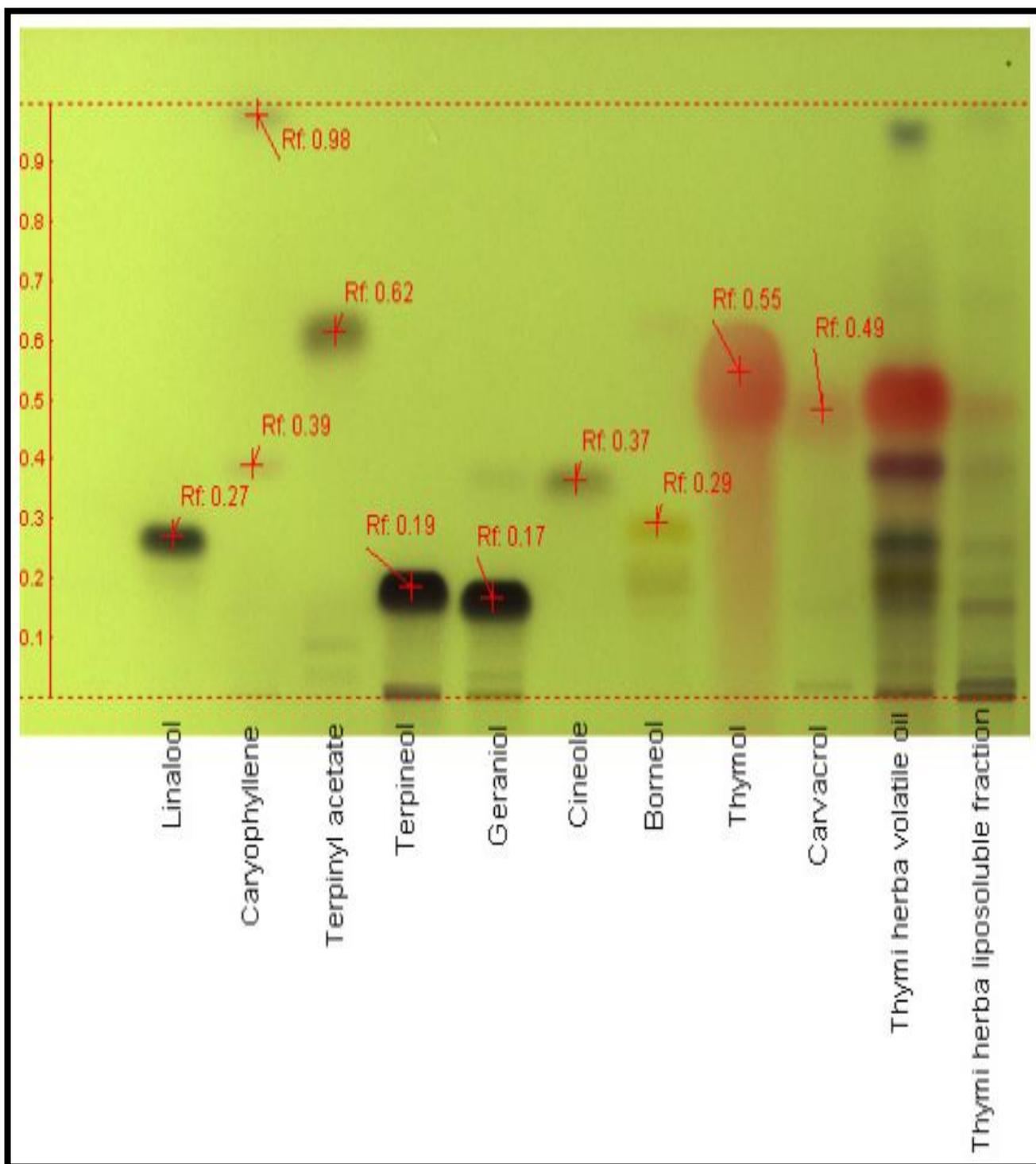


Figura 14. Huella digital HPTLC de muestra de *Thymus vulgaris*^[36]

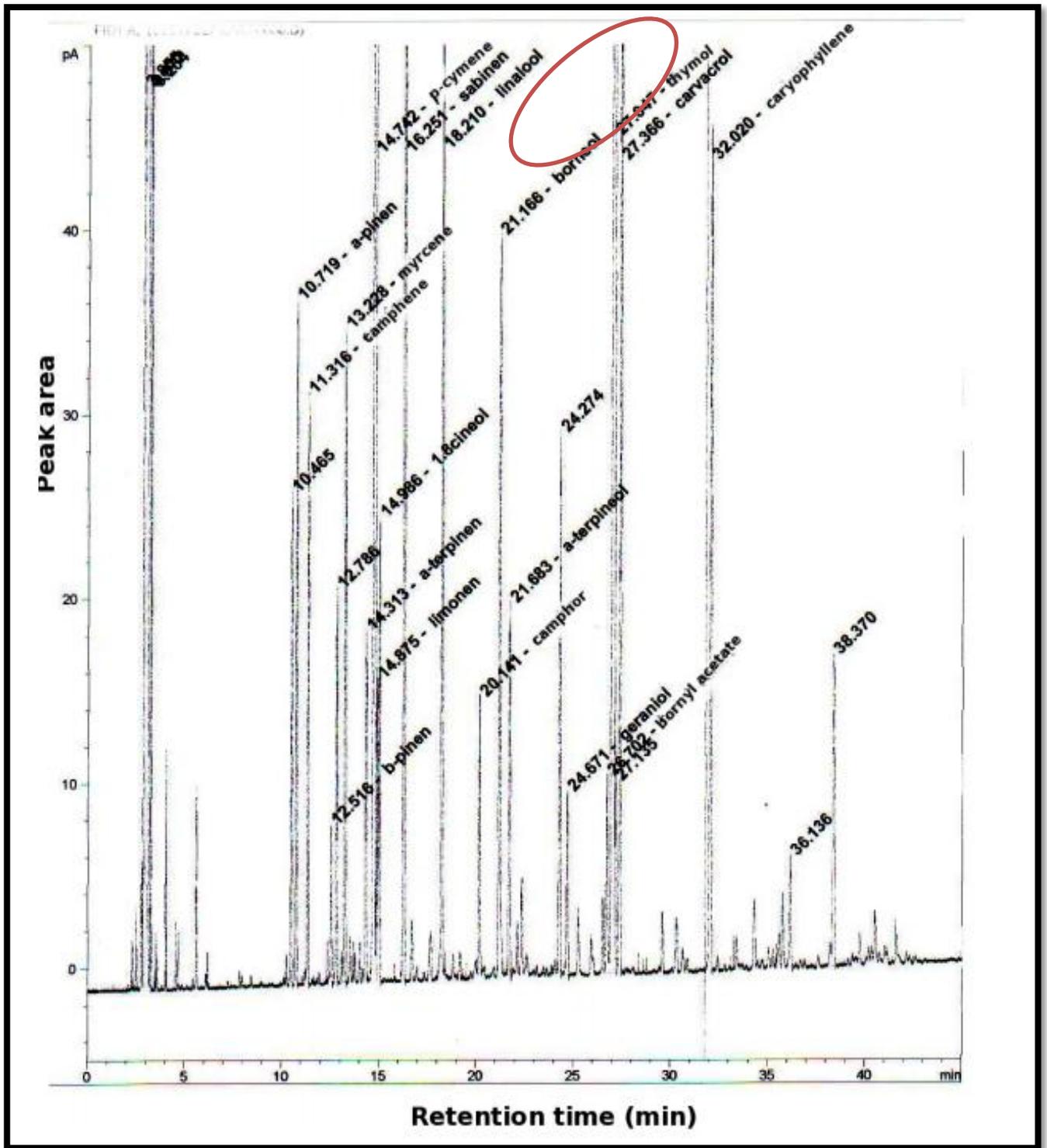


Figura 15. GC Cromatograma del aceite esencial de *Thymus vulgaris*^[36]



Figura 16. Hojas secas de *Thymus vulgaris*.



Figura 17. Selección de hojas secas de *Thymus vulgaris*.



Figura 18. Maquinaria de destilación de arrastre para obtener el aceite esencial de *Thymus vulgaris*.



Figura 19. Elaboración de crema base.



Figura 20. Crema base agregando el aceite esencial de *Thymus vulgaris*.



Figura 21. Embazado de la crema base de aceite esencial de *Thymus vulgaris*.



Figura 22. Producto embazado de crema base de aceite esencial de *Thymus vulgaris*.



Figura 23. Producto terminado de crema a base de aceite esencial de *Thymus vulgaris*.



Figura 24. Bioterio del instituto nacional de salud.



Figura 25. Preparación de los ratones para el ensayo el efecto cicatrizante de la crema con aceite esencial de *Thymus vulgaris*.



Figura 26. Corte en el lomo de los ratones albinos.



Figura 27. Efecto cicatrizante de la crema con aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Evaluación del efecto cicatrizante de una crema dérmica con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> "tomillo".	<p>Problema Principal ¿Tendrá efecto cicatrizante en heridas la crema dérmica formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>,?</p> <p>Problema Secundario a)¿Cuál es el efecto cicatrizante de la crema formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>? b)¿Cuál es la sensibilidad dérmica de la crema formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>? c)¿Será mayor la actividad cicatrizante de la crema formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> comparado cicatricure?</p>	<p>Objetivo General Determinar el efecto cicatrizante en heridas de la una crema formulado a base del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>.</p> <p>Objetivos Específicos a)Determinar el efecto cicatrizante la crema formulada con aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>. b)Determinar la sensibilidad dérmica de la crema formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>. c)Evaluar la actividad cicatrizante de la crema formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> comparado con cicatricure.</p>	<p>Hipótesis Principal o Central La crema formulada con el aceite esencial de las hojas de <i>Thymus vulgaris</i> posee efecto cicatrizante.</p> <p>Hipótesis Específicas a)La crema formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> posee efecto cicatrizante. b) la crema formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> tiene sensibilidad dérmica. c) la actividad cicatrizante de la crema formulada con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> es mayor comparado con el cicatricure.</p>	<p>Variables Independientes Concentración de metabolitos bioactivos del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>.</p> <p>Indicadores Screening fitoquímico Cromatogramas del aceite esencial</p> <p>Variables dependientes Actividad cicatrizante de la crema con el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>.</p> <p>Indicadores Test de cicatrización Heridas con grado de cicatrización</p>	<p>Aceites esenciales</p> <p>Crema cicatrizante</p> <p><i>Thymus vulgaris</i></p> <p>Plantas medicinales peruanas</p>	<p>Población: <i>Thymus vulgaris</i> de Canta - Lima.</p> <p>Muestra: Hojas de <i>Thymus vulgaris</i></p> <p>Método: Ratones albino con herida en el lomo</p> <p>Análisis estadístico Los resultados se reportan en cuadros y gráficos, prueba de leavene, annova one way y prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%.</p>