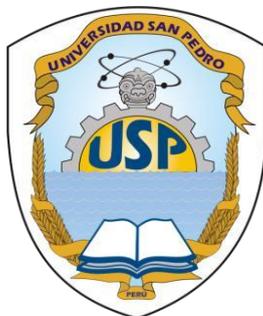


UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Origanum vulgare* L. "Orégano" en ratas albinas

Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autor:

Bach. Peralta Jiménez, Yovany Jesús

Asesor:

Q.F. Ortiz Coloma, Felipe

Sullana – Perú

2018

**Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto
etanólico de *Origanum vulgare* L. "Orégano" en ratas
albinas.**

Autor:

Bach. Peralta Jiménez, Yovany Jesús

TESIS

Presidente

Secretario

Vocal

**Sullana-Perú
2018**

Palabras claves

Tema:	<i>Origanum vulgare</i> L. " Orégano " Inflamación extracto etanólico
Especialidad	Toxicología

Theme	<i>Origanum vulgare</i> L. "Oregano" Inflammation Ethanolic extract
Specialty	Toxicology

Línea de Investigación: Toxicología

INDICE GENERAL

TEMAS	Pag.
PALABRAS CLAVE	i
INDICE GENERAL	ii
ÍNDICE TABLAS	iii
TITULO	iv RESUMEN
v ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCION	8
II. ANTECEDENTES Y FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA	9
III. MARCO TEORICO	10
IV. METODOLGIA Y MATERIALES	23
V. RESULTADOS	32
VI. ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS	38
VII. CONCLUSIONES	43
VIII. RECOMENDACIONES	44
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45
X. ANEXOS	51

INDICE TABLAS

TEMAS	Pag.
CONCENTRACIONES ADMINISTRADAS	21
CONCENTRACIONES ADMINISTRADAS	22
MARCHA FITOQUÍMICA.	24
DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO	25
DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE SÓLIDOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS	26
VALORES PROMEDIO DE LA VARIACIÓN DE VOLUMEN	26
VALORES PROMEDIO DEL PORCENTAJE DE INFLAMACIÓN DE CADA TRATAMIENTO EN EL TIEMPO.	27
PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA INFLAMACIÓN PARA CADA TRATAMIENTO EN EL TIEMPO	28

RESUMEN

Esta investigación tiene como objetivo evaluar de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Origanum vulgare* L. "Orégano" en ratas albinas, puesto que cada día crece más el estudio de las plantas medicinales de forma que la etnobotánica, la fitoterapia y la fitoquímica son más importantes, tanto para la medicina complementaria como para el ámbito académico.

Es una investigación es de tipo descriptivo, experimental y prospectiva. La metodología es la siguiente: Se realiza la extracción de extracto etanólico de *Origanum vulgare* L. "Orégano", a partir de 02 kg del vegetal seco. Posteriormente se realizó determinación de sólidos totales y estudio fotoquímico del mismo. Como especímenes de experimentación se utilizó 32 ejemplares de ratas albinas, distribuidas en cinco grupos al azar. La inducción del proceso inflamatorio se realizó en todos los ejemplares de experimentación mediante punción subplantar con carreganina al 1%. Aplicando posteriormente diferentes tratamientos. A todos los ejemplares de experimentación se les inoculó el tratamiento vía intragástrica.

El Grupo 1 (G1), control negativo, se le inoculó SSF estéril; y el Grupo 5 (G5), control positivo, se le aplicó diclofenaco al 0.25% a los Grupos 2, 3 y 4 se les inoculó extracto etanólico de orégano en diferentes concentraciones 0.5%, 1% y 2% para determinar su efecto.

Los resultados determinan que a mayor concentración del extracto etanólico de orégano, es mayor el efecto antiinflamatorio, demostrándose al comparar los especímenes de los grupos 2, 3 y 4 con los especímenes del control negativo y control positivo.

Se recomienda seguir realizando más trabajos relacionados para determinar las dosis adecuadas y efectos farmacológicos del extracto etanólico de orégano.

Palabras Claves: *Origanum vulgare* L. "**Orégano**", Inflamación, extracto etanólico.

ABSTRACT

The objective of this research is to evaluate the anti-inflammatory activity of the ethanolic extract of *Origanum vulgare* L. "Oregano" in albino rats, since every day the study of medicinal plants grows in such a way that ethnobotany, phytotherapy and phytochemistry are more important, both for complementary medicine and for the academic field.

This research is descriptive, experimental and prospective. The methodology is as follows: The extraction of ethanolic extract of *Origanum vulgare* L. "Oregano", from 02 kg of the dried vegetable. Subsequently, determination of total solids and photochemical study was carried out. As experimental specimens, 32 specimens of albino rats were used, distributed in five groups at random. The induction of the inflammatory process was carried out in all experimental specimens by subplantar puncture with 1% carrageenan. Later applying different treatments. All the experimental specimens were inoculated intragastric treatment.

Group 1 (G1), negative control, was inoculated with sterile SSF; and Group 5 (G5), positive control, diclofenac was applied at 0.25% to Groups 2, 3 and 4 were inoculated ethanolic extract of oregano in different concentrations 05%, 1% and 2% to determine its effect.

The results determine that the higher concentration of the ethanolic extract of oregano, the greater the anti-inflammatory effect, being demonstrated when comparing the specimens of groups 2, 3 and 4 with the specimens of the negative control and positive control.

It is recommended to continue performing more works done to determine the adequate doses and pharmacological effects of the ethanolic extract of oregano.

Keywords: *Origanum vulgare* L. "Oregano", Inflammation, Ethanolic extract.

I. INTRODUCCION

Los seres humanos vivimos en un mundo potencialmente hostil, con un elevado número de agentes infecciosos, de formas, tamaños, composición y agresividades diversas que, sin duda, nos utilizarían como refugios para la propagación de sus especies sino hubiéramos desarrollado a su vez un conjunto de mecanismos de defensa. (Delves, Martin, Burton, & Roitt, 2011).

De acuerdo con Lorenzana (2011), el proceso inflamatorio es un síndrome común a numerosas situaciones patológicas de los mamíferos. Consiste en la respuesta local o sistémica del organismo frente a diversos estímulos. La inflamación puede ser originada por factores endógenos (necrosis tisular o fractura ósea) o factores exógenos como lesiones por agentes mecánicos (cortes), físicos (quemaduras), químicos (corrosivos), biológicos (microorganismos) e inmunológicos (reacciones de hipersensibilidad). Tiene como propósito la eliminación del agente causal así como la reparación del tejido dañado y el mantenimiento de la homeostasis.

Además debemos dejar en claro que la inflamación es un proceso fisiológico común que deteriora la salud de las personas. Está relacionada a un sinnúmero de enfermedades que afectan a la población en general (niños, adultos y ancianos) y que se evidencia en nuestra vida cotidiana al acudir a cualquier establecimiento de salud. (Camacho & Honorio, 2017).

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) se encuentran entre los medicamentos más prescritos en todo el mundo. Esta clase heterogénea de fármacos incluye la aspirina y varios otros agentes inhibidores de la ciclo-oxigenasa (COX), selectivos o no. Los AINEs no selectivos son los más antiguos, y designados como tradicionales o convencionales. Los AINEs selectivos para la COX-2 se designan COXIBs. En los últimos años, ha sido cuestionada la seguridad del uso de los AINEs en la práctica clínica, particularmente de los inhibidores selectivos de la COX-2. (Batlouni, 2010).

Por tal motivo, es de mucha importancia buscar nuevas sustancias que sean útiles para solucionar o por lo menos mitigar el proceso inflamatorio presente en muchas

enfermedades; y que no tengan o por lo menos que tengan menos efectos secundarios que los AINES tradicionales. Sin lugar a dudas, el conocimiento tradicional que va de generación en generación no solo en nuestro país, sino de las poblaciones de todo el mundo, es el primer eslabón que aporta a la industria farmacéutica, información para encaminar proyectos de investigación donde se estudie a profundidad y con rigor científico alguna actividad terapéutica que posea algún recurso de origen natural promisor, en lo particular para el tratamiento del dolor y la inflamación. (Camacho & Honorio, 2017).

II. ANTECEDENTES Y FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA

2.1 Antecedentes

El término especia suele aplicarse a las partes duras, como semillas y cortezas, de las plantas aromáticas nativas de las regiones tropicales de Asia y de las Molucas, en Indonesia. También se llama especias a numerosas hierbas, que son en realidad las hojas obrosas de muchas plantas herbáceas, en su mayoría nativas de regiones templadas. Las especias, además de usarse como medio para conservar y mejorar el sabor de los alimentos, han sido importantes insumos de la medicina tradicional. Antes de la generalización de los medicamentos elaborados de forma industrial, solían prescribirse remedios compuestos por hierbas, muchos de ellos eficaces, que han sido redescubiertos y utilizados en nuestros días. (Especias, hierbas medicinales y plantas).

Las aplicaciones medicinales de las especias son numerosas y muy variadas. Encontramos que principalmente se refiere su uso en el tratamiento de anemia, anorexia, trastornos del aparato digestivo, infecciones bacterianas, antiemético, antiespasmódico, aerofagia, agruras, antihelmíntico, antiinflamatorio, aperitivo, astringente, colerético, colagogo, constipación, diarrea, indigestión, disentería, dispepsia, cólico estomacal, enterosis, estreñimiento, estomacica, eupéptico, halitosis, hipo, laxante, náuseas, parásitos intestinales, sialagogo, úlceras gástricas, úlceras pépticas, vómito de sangre. (Waizel-Bucay, & Waizel-Haiat, 2016).

El orégano (*Origanum vulgare*) es una hierba aromática que pertenece a la familia Lamiaceae y comúnmente se encuentra en toda Asia, Europa y el norte de África. En la medicina popular, *O. vulgare* se usa para tratar trastornos respiratorios, dispepsia, menstruación dolorosa, artritis reumatoide, escrofulosis y trastornos del tracto urinario. (Chemical composition *origanum vulgare*). Además, se ha demostrado que los aceites esenciales de orégano poseen actividades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, diafóricas, carminativas, antiespasmódicas y analgésicas y, entre estos, el potencial antimicrobiano es de especial interés. En los últimos años, un gran número de investigaciones han reportado la eficacia de aceites esenciales de varias especies de *Origanum* contra un panel de cepas bacterianas, y se identificó al carvacrol como el principal responsable de esta actividad biológica. (Torres, Díaz, Escalante, & Estrada, 2008).

La referencia sobre el uso de *origanum vulgare* en el tratamiento de artritis reumatoide se compagina, según Enrique García-Pérez, con algunos reportes que indican que algunas sustancias químicas o fitoquímicos solubles han sido recientemente reevaluados en su efecto antiinflamatorio. Se ha reportado que el extracto soluble en agua de orégano inhibe la secreción de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), mostrando una actividad antiinflamatoria en células humanas de carcinoma epitelial. Asimismo, un extracto etanólico de orégano exhibió la actividad antiinflamatoria en un modelo de ratón con gastritis inducida por estrés e hipersensibilidad por contacto. Los principales fitoquímicos responsables de la actividad antiinflamatoria son el ácido rosmarínico, el ácido ursólico y el ácido oleanólico. (García, E., Castro, F., Gutiérrez, J., & García, S. (2012).

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Descripción de *Origanum vulgare*

3.1.1 Clasificación taxonómica

División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae
Subfamilia:	Nepetoideae
Género:	<i>Origanum</i>
Especie:	<i>Origanum vulgare</i> L.



Figura 1. Inflorescencia de *Origanum vulgare* L.

Tomado del Digital Herbarium and Drog Atlas

3.2 DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

Planta herbácea o sufruticosa, perenne, rizomatosa. Los tallos son erectos, de unos 90 cm o más, generalmente ramificados en la parte superior, pubescentes, hirsutos o vellosos, raramente glabros. Las hojas, de 10-40(-50) x 4- 25 mm, son ovaladas, enteras o ligeramente crenacio-serradas, glabras o pilosas, punteado

glandulosas y pecioladas. Flores dispuestas en espiga de verticilastros de 5-30 mm, ovoide, oblonga o prismática, formando en conjunto, una inflorescencia corimbosa densa. Bracteas florales de 4-5 mm, diferentes a las hojas, casi dos veces más largas que el cáliz, ovaladas u oblongas, no apiculadas, pilosas o glabras, sin glándulas o ligeramente punteado-glandulosas, herbáceas, generalmente de color púrpuravioáceo o grisáceo. El cáliz, punteado de glándulas amarillas, con 5 dientes iguales, es piloso o glabro. La corola de 4-7 mm, es bilabiada, con el labio superior entero o escotado y el inferior trilobulado, blanco o rojo-púrpura. Androceo formado por 4 estambres fértiles, con los filamentos divergentes, didínamos. (Muñoz, 2002)

3.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS.

El cáliz tubuloso es de color violáceo, con 13 nervios longitudinales y punteado de glándulas amarillas, terminado en 5 dientes casi iguales; presenta numerosos tricomas tectores pluricelulares uniseriados, largos y rígidos en la garganta.

La corola es bilabiada de color rosa o púrpura, con el tubo más largo que el cáliz, el labio superior es escotado y el inferior trilobulado; presenta abundantes tricomas tectores y glándulas en su superficie externa.

Las brácteas son alargadas, ovaladas, herbáceas, glabras o glabrescentes, de color rojo-violáceo en la superficie externa y más claras en la interna, con los nervios prominentes en la superficie externa y algunos tricomas tectores en la interna; presentan glándulas.

Las hojas, de color verde, más claro en el envés, son ovaladas, enteras o subenteras, aunque pueden presentar algunos dientes marginales; los nervios, prominentes por el envés, son de color verde pardo; el haz es glabro o con algunos tricomas tectores esparcidos; presenta tricomas tectores pluricelulares uniseriados y curvados en los bordes, en el envés y principalmente sobre los nervios; están punteadas de glándulas, más abundantes por el envés.

El tallo es cuadrangular, de color verdeamarillento, con áreas rojizas pilosas; presenta tricomas tectores pluricelulares, uniseriados, retrorsos. (Muñoz, 2002).

3.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA:

Existen diversos estudios sobre la composición química del orégano, usando extractos acuosos y sus aceites esenciales. Se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano. En *O. vulgare* se han encontrado ácidos coumérico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vainillínico. Además de felandreno, trans-sabineno, Linalol, Cis sabineno, Terpeneol, Linalyl acetate, Carvacrol, trans-cariofileno, espatuleno, cariofileno, ácido palmítico, ácido octadecadienoico, ciclohexanol, en el aceite esencial. (Albado, Saez, & Grabiell, 2001).

3.5 USOS TRADICIONALES EN EL PERÚ

En el caso del *Origanum vulgare* L. “Orégano”, es usado por la población rural, con la creencia de que posee grandes propiedades medicinales para aliviar diferentes afecciones, siendo utilizada como calmante, antiinflamatorio, contra el dolor de estómago y afecciones cutáneas en general. (Garay, 2015).

3.6 UBICACIÓN GEOGRÁFICA EN EL PERÚ

En el Perú la superficie cultivada y distribución geográfica del orégano se distribuye en los departamentos de Tacna, Arequipa, Moquegua, Junín, Apurímac, Ayacucho, Puno y La Libertad. Presente principalmente, desde el punto de vista comercial, con una producción en el año 2014 de 15701, 10898 y 3232 toneladas de orégano en las Regiones de Tacna, Arequipa y Moquegua respectivamente. (Salas, 2016).

4. INFLAMACIÓN

4.1 DEFINICIÓN

La inflamación es la reacción de los tejidos vascularizados a la lesión. Se caracteriza por mediadores inflamatorios, como el complemento, el factor de necrosis tumoral α , el factor vascular de crecimiento endotelial (VEGF, por sus siglas en inglés), por neutrófilos y el amiloide sérico, así como el desplazamiento de fluidos. La inflamación es una respuesta que busca eliminar la causa inicial de la lesión celular, eliminar el tejido dañado y generar tejido nuevo. Lo logra mediante la destrucción, la digestión enzimática, la formación de paredes o la neutralización por otros medios de los agentes lesivos, como toxinas, agentes extraños u organismos infectantes. Estos procesos definen el escenario para los acontecimientos que, con el tiempo, permiten que el tejido dañado sane. Así, la inflamación se encuentra entretejida de forma íntima con el proceso de reparación que reemplaza el tejido dañado o rellena los defectos residuales con tejido cicatricial fibroso. (Grossman, & Porth, 2014).

4.2 MANIFESTACIONES SISTÉMICAS DE LA INFLAMACIÓN

La inflamación describe una respuesta local a la lesión tisular y puede presentarse como una condición aguda o crónica. Los signos clásicos de una respuesta inflamatoria aguda son eritema, tumefacción, calor local, dolor y pérdida de la función. La por las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos, los leucocitos fagocíticos (en particular neutrófilos y monocitos) que circulan en la sangre y las células tisulares (macrófagos, células cebadas) que dirigen las respuestas tisulares. La inflamación aguda incluye una fase hemodinámica, en la que el flujo sanguíneo y la permeabilidad capilar aumentan, y una fase celular, durante la cual los leucocitos fagocíticos se desplazan hacia el área para endocitar y degradar al agente incitante. La respuesta inflamatoria se organiza por la presencia de mediadores químicos, como citosinas y quimiocinas, histamina, prostaglandinas, FAP, fragmentos del complemento y moléculas reactivas liberadas por los leucocitos. La inflamación aguda puede implicar la producción de exudados que contienen fluido seroso (exudado seroso), eritrocitos (exudado hemorrágico), fibrinógeno (exudado fibrinoide) o detritos tisulares y productos de la degradación leucocitaria (exudado purulento). En contraste con la inflamación aguda, que es autolimitada, la inflamación crónica es prolongada y suele derivar de irritantes que persisten, la mayoría de los cuales son insolubles y resisten la fagocitosis y otros

mecanismos inflamatorios. La inflamación crónica se caracteriza por la presencia de células mononucleares (linfocitos y macrófagos) más que de granulocitos. Las manifestaciones incluyen los efectos sistémicos de la respuesta de fase aguda, como fiebre y letargo, la elevación de la VSG y de las concentraciones de PCRsa y otras proteínas de fase aguda, la leucocitosis o, en algunos casos, la leucopenia, y el aumento del tamaño de los ganglios linfáticos que drenan el área afectada. (Grossman, & Porth, 2014).

4.3 FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN

La defensa natural del organismo se basa en tres elementos: barrera externa, sistemas inespecíficos, y respuestas antígeno-específicas. La inflamación es la respuesta inicial e inespecífica del organismo ante estímulos mecánicos, químicos o microbianos. Es una respuesta rápida y ampliada, controlada humoral y celularmente (complemento, cininas, coagulación y cascada fibrinolítica) y desencadenada por la activación conjunta de fagocitos y células endoteliales. Es una respuesta beneficiosa si el proceso inflamatorio mantiene un equilibrio entre células y mediadores. Aparece vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, activación/ adhesión celular e hipercoagulabilidad. La vasodilatación y el incremento de la permeabilidad microvascular en el lugar de la inflamación aumentan la disponibilidad local de nutrientes y de oxígeno, produciendo calor, hinchazón y edema tisular. Los cambios hemodinámicos producen los cuatro síntomas clásicos asociados a la inflamación local: rubor (eritema), tumor (edema), calor y dolor. En ocasiones, la intensidad o la repetición de la agresión provocan la pérdida del control local o la activación de unos mecanismos de respuesta que están habitualmente quiescentes y que sobrepasan los sistemas de control, con una reacción sistémica exagerada que se denomina SIRS. Puede desencadenarse por una infección (virus, bacterias, protozoos y hongos) o por una causa no infecciosa (traumatismo, reacciones autoinmunes, cirrosis o pancreatitis). Se describen tres fases en el desarrollo del SIRS (fig. 1). En la fase I, como respuesta a la agresión, se liberan localmente citocinas que inducen la respuesta inflamatoria, reparan los tejidos y reclutan células del sistema retículoendotelial. En la fase II, se liberan pequeñas cantidades de citocinas a la circulación para aumentar la respuesta local. Se reclutan macrófagos y plaquetas y se generan factores de

crecimiento. Se inicia una respuesta de fase aguda, con disminución de los mediadores proinflamatorios y liberación de los antagonistas endógenos. Estos mediadores modulan la respuesta inflamatoria inicial. Esta situación se mantiene hasta completar la cicatrización, resolver la infección y restablecer la homeostasis. Si la homeostasis no se restablece, aparece la fase III o reacción sistémica masiva. (García, López, & Sánchez, 2000). Las citocinas activan numerosas cascadas humorales de mediadores inflamatorios que perpetúan la activación del sistema retículo endotelial, con pérdida de la integridad microcirculatoria y lesión en órganos diversos y distantes. (García, 2017).

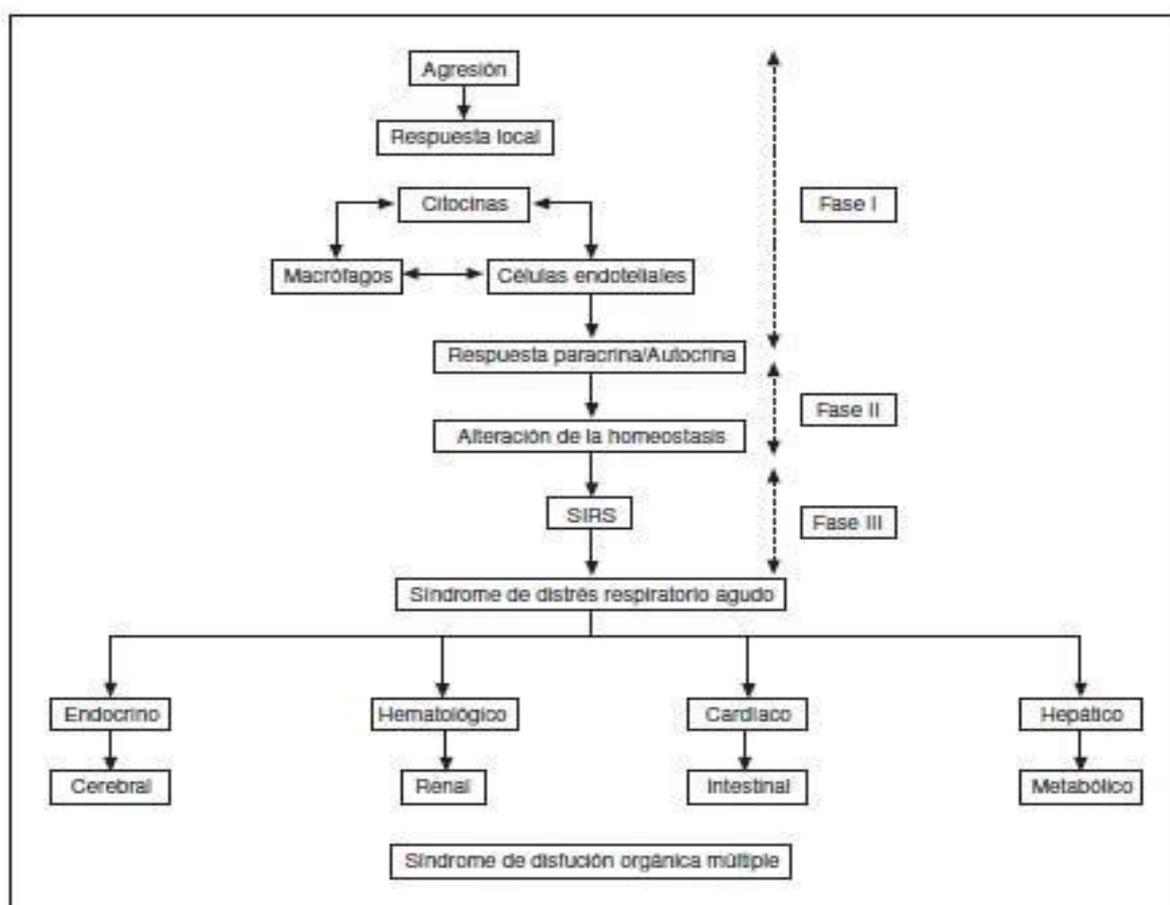


Fig. 1. Fases evolutivas de los procesos inflamatorios. En una primera fase se produce la activación de las células inflamatorias y la liberación de sus mediadores. Si el síndrome inflamatorio progresa, se inicia una segunda fase con activación de sistemas endocrino, autocrino y paracrino que conduce al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. La desfavorable evolución de este síndrome da lugar a una tercera fase de disfunción y fallo orgánico múltiple. La aparición de distrés respiratorio agudo suele marcar el inicio de esta cascada de fracasos orgánicos.

5 TRATAMIENTO DE LA INFLAMACIÓN

5.1 ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

LA CICLOOXIGENASA:

La cicloxigenasa (COX) es la enzima clave en la síntesis de las prostaglandinas, a través de la oxidación del ácido araquidónico. Las prostaglandinas realizan tanto funciones relacionadas con la homeostasis de diversos órganos como con el dolor, la inflamación y el desarrollo de neoplasias. En 1971, sir John Vane sugirió que el mecanismo más importante de acción de los medicamentos parecidos a la aspirina era la inhibición de la biosíntesis de las prostaglandinas. Hoy sabemos que la aspirina y otros antiinflamatorios no esteroides interfieren con la acción de la COX. Los estudios iniciales demostraron que la actividad de la COX se puede incrementar en células activadas, y que esta actividad no es inhibida totalmente por los corticosteroides. Esta evidencia llevó al descubrimiento de la existencia de dos isoformas de la COX, denominadas COX-1 y COX-2. Aunque ambas cicloxigenasas tienen similar afinidad por el ácido araquidónico, y son homólogas en un 90%, presentan diferente afinidad por el sustrato y se encuentran en distintos lugares dentro de la célula. También hay diferencias en los genes que codifican las dos enzimas. (García, & Gómez, 2000).

FISIOPATOLOGÍA DE LA INFLAMACIÓN

La activación de la enzima fosfolipasa A₂, en respuesta a varios estímulos, hidroliza los fosfolípidos de la membrana, liberando ácido araquidónico en el citoplasma. Este, a su vez, sirve de sustrato para dos vías enzimáticas: ciclo-oxigenase y lipo-oxigenase. Por la vía de la COX se genera la prostaglandina (PG) H₂, que estimula la formación de variados prostanoides, incluidas diversas prostaglandinas - PGI₂, PGD₂, PGE₂, PGF₂ α-, y tromboxano A₂. Por la vía de la lipo-oxigenasa se forman leucotrienos, lipoxinas y otros productos. En 1991, se evidenció la existencia de dos isoformas de la enzima ciclo-oxigenase, designadas COX-1 y COX2, codificadas por diferentes genes, con estructuras químicas similares, el 60% de homología en la secuencia de aminoácidos y estándares singulares de expresión. La isoforma COX-1 se expresa de forma constitutiva (constante) en la mayor parte de los tejidos; mientras la COX-2 es inducida en las inflamaciones. La COX-1 es esencial para el mantenimiento del estado fisiológico normal de muchos tejidos, incluidos la protección de la mucosa gastrointestinal; control del flujo sanguíneo renal;

homeostasia; respuestas autoinmunes; funciones pulmonares y del sistema nervioso central; cardiovasculares y reproductivas. La COX-2, inducida en la inflamación por varios estímulos - como citocinas, endotoxinas y factores de crecimiento origina prostaglandinas inductoras, que contribuyen al desarrollo del edema, rubor, fiebre e hiperalgesia. La COX-2 se expresa también en las células vasculares endoteliales normales, que secretan prostaciclina en respuesta al estrés de cizallamiento. El bloqueo de la COX-2 resulta en inhibición de la síntesis de prostaciclina. (Batlouni, 2010).

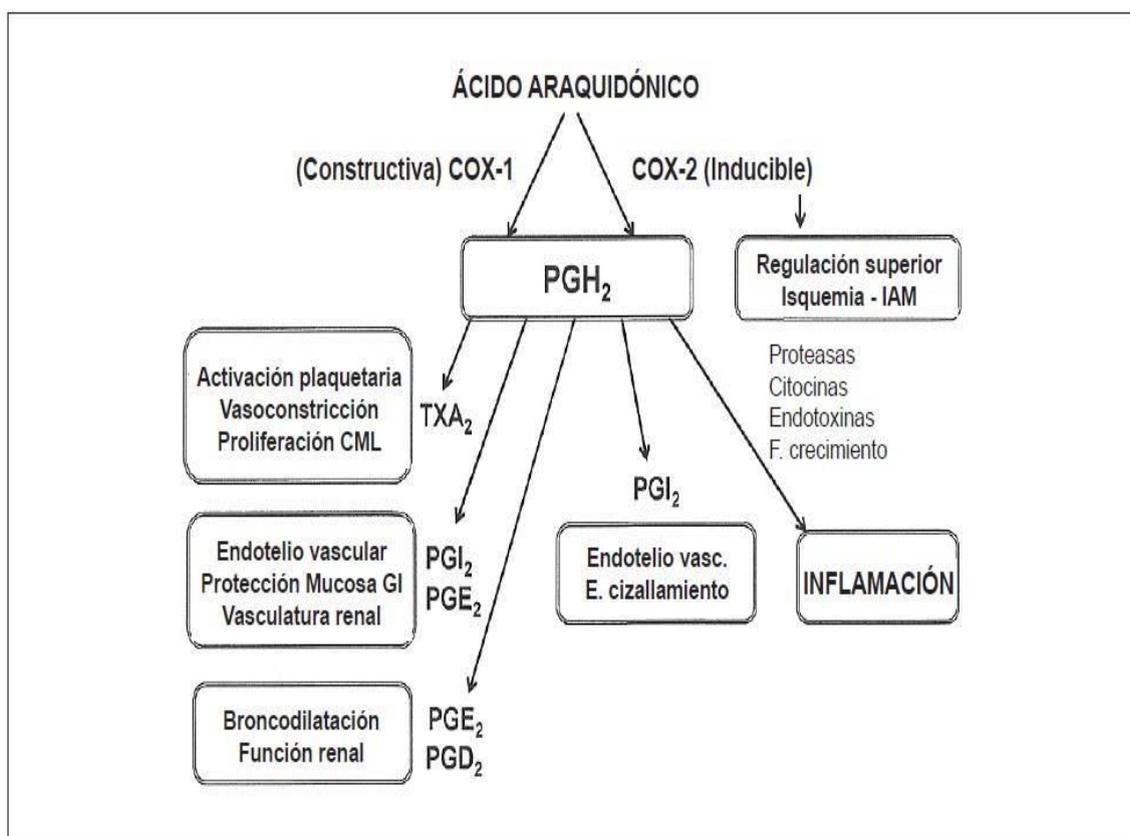


Fig. 2 - Representación esquemática de los efectos relacionados a la activación de la COX-1 y COX-2. COX - ciclo-oxigenasa; PG - prostaglandina; TX - tromboxano; IAM - infarto agudo de miocardio.

INHIBICIÓN DE LA CICLOOXIGENASA POR EL AINES

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) se encuentran entre los medicamentos más prescritos en todo el mundo. Se utilizan principalmente en el

tratamiento de la inflamación, dolor y edema, así como también en las osteoartritis, artritis reumatoides y disturbios musculoesqueléticos. Esta clase heterogénea de fármacos incluye la aspirina y variados otros agentes inhibidores de la cicloxigenasa (COX), selectivos o no (Tabla 1). La aspirina es el AINE más antiguo y ampliamente estudiado, sin embargo se lo considera separadamente de los demás, por su uso predominante en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, en dosis bajas. Los AINEs no selectivos son los más antiguos, designados tradicionales o convencionales. Los AINEs selectivos para la COX-2 se designan COXIBEs². En los últimos años, ha sido cuestionada la seguridad del uso de los AINEs en la práctica clínica, particularmente de los inhibidores selectivos de la COX2 en la presencia de determinadas condiciones y enfermedades, lo que con levó la retirada de algunos de estos fármacos del mercado. Los AINEs tradicionales pueden presentar estándar de selectividad COX-2 similar al de los COXIBEs, como es el caso del diclofenaco comparado con el celecoxib, o ser inhibidores más activos de la COX-1, como naproxeno e ibuprofeno. (Batlouni, 2010).

FARMACOLOGIA DE LOS AINES

Las diferencias en los efectos biológicos de los inhibidores de la COX resultan del grado de selectividad para las dos isoenzimas, de las variaciones tisulares específicas en su distribución y de las enzimas que convierten la PGH₂ en prostanoïdes específicos. Los AINEs no selectivos de la COX inhiben la producción de prostaglandinas en la mucosa gastrointestinal, pudiendo causar gastroduodenitis, úlcera gástrica y sangrado digestivo. Estos AINEs, como la aspirina, reducen la producción plaquetaria de TXA₂, debido al bloqueo de la COX-1, y previenen la trombosis arterial (Figura 3). Recientemente, ha sido postulado que los inhibidores selectivos de la COX-2 aumentan el riesgo cardiovascular. Estos agentes no bloquean la formación de TXA₂, ni ejercen acción antiplaquetaria, debido a la inhibición mínima de la COX-1, pero reducen la producción de prostaciclina. El aumento del riesgo cardiovascular podría resultar de la no oposición a las acciones de la TXA₂ y de la propensión a trombosis. Además de ello, variados modelos experimentales vienen evidenciando el efecto cardioprotector de la COX-2, que pudiera ser bloqueado por los inhibidores de esta isoforma. La COX-2 se expresa en niveles bajos por las células endoteliales en

condiciones estáticas, pero se la induce por medio del estrés de cizallamiento. Estos hallazgos sugieren que la reducción de la producción de prostaciclina, secundaria al descenso de la COX-2, puede aumentar el riesgo de aterogénesis focal en locales de bifurcación vascular. A partir de la década de 1960, muchos AINEs no selectivos se introdujeron en la práctica clínica. Estos AINEs, tradicionales o convencionales, presentan efectos inhibitorios variados con relación a la COX-1 y COX-2, así como a los efectos colaterales en el tubo digestivo. La aspirina es aproximadamente 166 veces más potente como inhibidor de la COX-1 en relación a la COX-2. La aspirina acetila e inhibe irreversiblemente la isoenzima COX-1, lo que conlleva la inhibición plaquetaria completa, por el tiempo de vida de las plaquetas. Otros AINEs no selectivos, como naproxeno, ibuprofeno y piroxicam, ocasionan inhibición variable de la COX-1 y COX-2 y provocan inhibición plaquetaria reversible. (Batlouni, 2010).

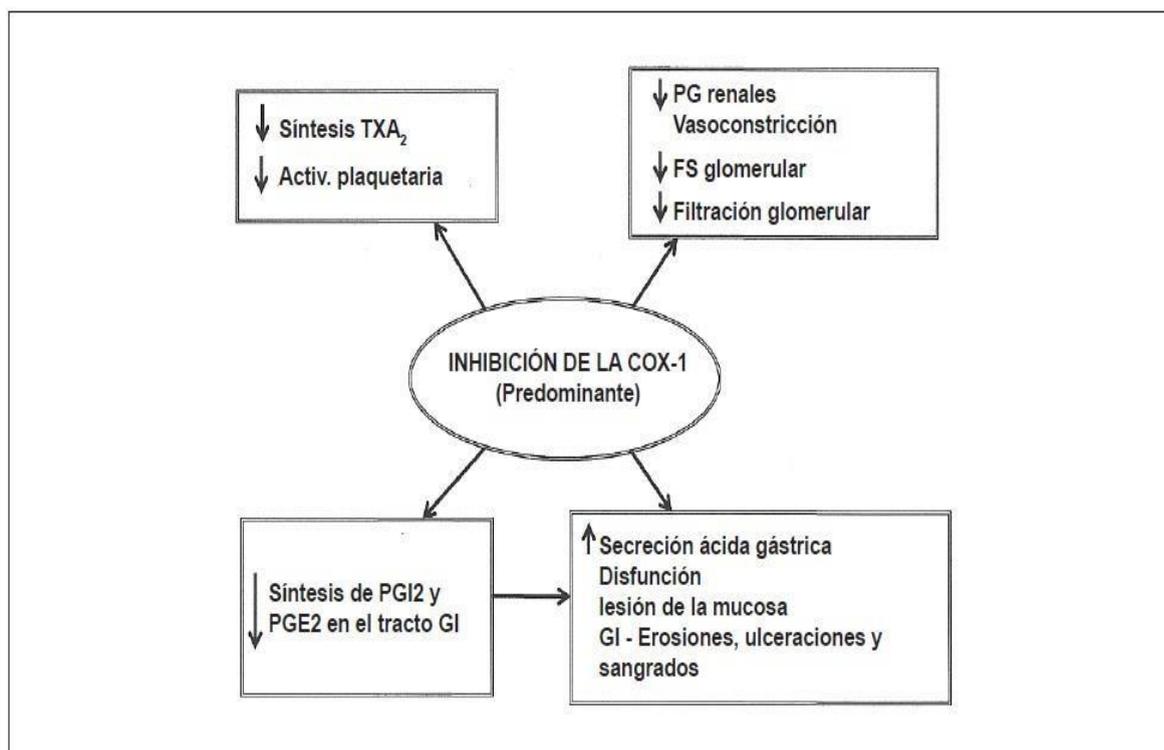


Fig. 3 - Representación de los efectos relacionados a la inhibición de COX-1. COX - ciclo-oxigenas e; PG - prostaglandina; TX - tromboxano; GI – gastrointestinal

ANTIINFLAMATORIOS ESTEROIDEOS (GLUCOCORTICOIDES)

Los glucocorticoides son fármacos antiinflamatorios, antialérgicos e inmunosupresores derivados del cortisol o hidrocortisona, hormona producida por la corteza adrenal esencial para la adaptación al estrés físico o emocional. En

la primera mitad del siglo XX, tres hechos relacionados generaron la revolución esteroide, uno de los más destacados ejemplos de la hoy llamada medicina traslacional, que implica aplicar lo obtenido en el laboratorio (workbench) al enfermo (bedside). Así, la precisión química de Edward Kendall para purificar e identificar los esteroides presentes en los extractos adrenales, la Segunda Guerra Mundial que dirigió la intervención estatal e industrial de EE.UU. en la producción de dichos esteroides para uso bélico, y la hipótesis desacertada del tenaz reumatólogo Philip Hench, produjeron la rápida introducción de los glucocorticoides en la práctica médica más allá de la endocrinología. Muy pronto se contó con nuevas y eficaces herramientas, que tan pronto como se sintetizaban se utilizaban, produciendo una verdadera revolución en el campo de la inflamación y las enfermedades reumáticas. (Serra, Roganovich, & Rizzo, 2012).

MECANISMO DE ACCIÓN ANTIINFLAMATORIO

A los glucocorticoides suelen atribuírseles dos mecanismos: uno genómico, lento, con latencia y persistencia del efecto por horas-meses, y otro no genómico, rápido, de inicio y persistencia fugaces. El primero se debe a proteínas modificadoras de la transcripción génica pertenecientes a la superfamilia de receptores nucleares; el segundo a moléculas diferentes poco caracterizadas. (Serra, Roganovich, & Rizzo, 2012).

Los corticoides son sumamente efectivos en controlar la inflamación en las enfermedades alérgicas. Esto se debe a la multiplicidad de efectos celulares que poseen. Los principales efectos son consecuencia de la supresión de la síntesis de citoquinas y moléculas de adhesión en células inflamatorias y estructurales. El mecanismo de unión al DNA y estimulación de la síntesis proteica, (transactivación), es responsable de algunas de las acciones antiinflamatorias a través de la síntesis de inhibidores de proteasas, inhibidores de prostaglandinas y leucotrienos (lipocortina) y a receptores, aunque estos efectos demoran 24 a 48 horas y sólo explican una parte de la acción antiinflamatoria de estas drogas. Además los Glucocorticoides aumentan la síntesis de la lipocortina y la p11/calpactina, proteínas que inhibe la fosfolipasa A2, disminuyendo el aporte de ácido araquidónico para las vías de la lipooxigenasa y la cicloxigenasa. (Jares, & Pignataro, 2002).

ACCIONES FARMACOLÓGICAS

Los efectos antiinflamatorio, antialérgico e inmunosupresor constituyen la base terapéutica y se deben a la inhibición de:

- Producción y secreción de citocinas proinflamatorias como interleukina IL-1, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interferón gamma (IFN- γ) y factor estimulante de colonias granulocíticas y macrofágicas (GM-CSF), por interferencia directa sobre las cascadas y mecanismos genómicos.
- Acumulación de macrófagos y neutrófilos en focos inflamatorios, por reprimir la expresión de las moléculas de adhesión endoteliales y la síntesis del activador de plasminógeno.
- Síntesis y liberación de autacoides y de enzimas lisosomales en las reacciones de fase aguda. Degranulación y respuesta de los mastocitos a la IgE.
- Expansión clonal y citotoxicidad espontánea mediada por células T.

Hipótesis

Basados en la información existente que reporta la presencia de flavonoides en *Origanum vulgare* L, aunado al conocimiento que los flavonoides tienen efecto Antiinflamatorio, es posible que la administración del extracto de *Origanum vulgare* L. a las ratas albinas debe impedir o retardar el proceso inflamatorio experimentalmente inducido.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la actividad antinflamatoria del extracto de *Origanum vulgare* L. en ratas albinas con inflamación experimentalmente inducida.

Objetivos específicos

- [Obtener el extracto de *Origanum vulgare* L. "orégano". mediante el método de percolación.
- ▮ Determinar el porcentaje de sólidos totales en el extracto de *Origanum vulgare* L. "orégano".
- ▮ Realizar el estudio fitoquímico preliminar de *Origanum vulgare* L. "orégano".
- [Determinar la actividad antinflamatoria del extracto de *Origanum vulgare* L. "orégano" en la inflamación experimentalmente inducida en ratas albinas.

IV. METODOLOGÍA. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. MATERIALES

4.2.1 MATERIAL BOTÁNICO

El material vegetal estuvo conformado por los tallos, hojas e inflorescencias de la planta conocida como “orégano”.

4.1.2. MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas hembras de 6 meses de edad, con un peso entre 170-200g de peso corporal, las cuales fueron adquiridas del bioterio de la Universidad Nacional de Trujillo. (Anexo II)

El total de animales adquiridos fue sometido a un proceso de aclimatación por una semana antes de realizar la prueba, a una temperatura controlada de 20 ± 2 °C, con un ciclo de luz/oscuridad de 12-12 h y humedad de 30 %. Aproximadamente.

La alimentación consistió en maíz chancado y agua ad libitum.

4.1.3. MATERIALES DE LABORATORIO

- Mortero y pilón.
- Vasos de precipitación de 50 mL, 100 mL y 150 mL.
- Fiolas de 10 mL, 25 mL, 50 mL.
- Pipetas de 1 mL, 5 mL y 10 mL.
- Baguetas.
- Frascos para muestras biológicas.
- Frascos de vidrio color ámbar de 120 mL.
- Sondas intragástricas.
- Jeringas descartables de 1 mL y de 5 mL.
- Agujas descartables N° 21G y N° 26G.
-
-

4.1.4. Equipos

- Balanza analítica Biolab
- Estufa Memert.
- Molino manual CORONA.
- Pletismómetro digital PANLAB LE7500.
- Medidor Tail-Flick PANLAB LE7106.
- Baño maría Memert.

- Kit de disección.

4.1.5. REACTIVOS

- | | |
|------------------------------------|---------------------|
| □ Tricloruro férrico, | □ Amoníaco. |
| □ Gelatina, | □ Etanol |
| □ Reactivo de ninhidrina, | □ Metanol |
| □ Reactivo de Keller-Kelliani, | □ n-butanol |
| □ Reactivo de Borntrager, | □ Acetato de etilo. |
| □ Reactivo de Liebermann-Burchard, | □ Ácido acético. |
| □ Reactivo de Shinoda, | □ Benceno. |
| □ Reactivo de Dragendorff, | □ Acetona. |
| □ Reactivo de Mayer, | □ n-hexano. |
| □ Reactivo Bertrand, | □ Éter de petróleo. |
| □ Reactivo de Bouchardart, | □ Agua destilada. |
| □ Reactivo de Rosenheim, | |
| □ Ácido clorhídrico al 1%, | |
| □ Cloroformo. | |

4.2 TIPOS DE ESTUDIOS

El estudio realizado fue de tipo experimental, prospectivo.

4.2.1. Obtención de la muestra

Se compró 2 kilogramos de *Origanum Vulgare L.* en el mercado de abastos de la ciudad de Piura. Según refieren los comerciantes el material vegetal procede del distrito de Huancabamba.

4.2.2. SELECCIÓN Y LAVADO

Se seleccionaron plantas que presenten tallos, hojas e inflorescencias intactas, en buen estado, libres de deterioro y de contaminación microbiana.

La planta completa de *Origanum vulgare L.* fueron lavados a chorro de agua.

4.2.3. SECADO Y PULVERIZACIÓN

Luego la muestra vegetal fue presecada a temperatura ambiente y a la sombra por un periodo de 48 horas.

Terminado este periodo, se acondicionó el material botánico en sobres de papel kraft para luego ser sometida a secado final en la estufa a 37 ° C hasta peso constante,

Luego se procedió a pulverizarla la muestra en un molino manual de discos marca CORONA®,

Finalmente se pesó la cantidad de muestra pulverizada obtenida.

4.2.4. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE ORIGANUM VULGARE L. "ORÉGANO": PERCOLACIÓN.

Se realizó según el método de Percolación. El método oficial de extracción, descrito en la Farmacopea Americana, USP. De la siguiente manera:

Cuidadosamente se humectó 100 g de la planta pulverizada y pesada con 180 mL de etanol al 70 % hasta obtener una humectación uniforme.

Se dejó macerar por 24 horas.

Pasadas las 24 horas se transfirió al percolador

Luego se adicionó etanol al 70 % hasta saturar la droga (1 cm sobre el nivel de la planta)

Se cubrió la parte superior del percolador con papel aluminio y cuando el líquido esté a punto de gotear del percolador cerramos la llave del orificio inferior y permitimos la maceración de la planta por 24 horas.

Transcurridas las 24 horas se inició la percolación despacio (XX gotas por minuto).

Realizamos la percolación hasta obtener 2 L. de extracto fluido.

Después de 48 horas en ambiente fresco y en oscuridad el extracto fluido fue sometido a filtración al vacío y luego almacenado en frasco ambar.

4.2.5 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE SÓLIDOS TOTALES EN EL EXTRACTO

Se colocó 5 mL. Del extracto de *Origanum vulgare* L. en una cápsula de porcelana limpia, seca y previamente tarada.

Se levó la cápsula a calor indirecto con vapor de agua y se evaporara el extracto hasta que el residuo este aparentemente seco.

Posteriormente se pasó a una estufa a una temperatura de 105 °C +/- 2°C durante 3 horas

Se retiró la cápsula de la estufa y se colocó en una desecadora durante 5 horas

Concluido el tiempo adecuado, se pesó la capsula de porcelana.

Los sólidos totales (St) en g/100 mL se calculan mediante la siguiente fórmula:

$$\text{St} = (\text{Pr} - \text{P})/\text{Vx100}$$

Donde:

Pr..... masa de la cápsula más el residuo (g)

P..... masa de la cápsula vacía (g)

V..... volumen de la porción de ensayo (mL)

100..... factor matemático

El ensayo se realizó por triplicado. Los valores se aproximaron hasta la décima

MÉTODO DE CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO

CONCENTRACIÓN MEDIANTE ROTAVAPOR

Este procedimiento consiste en evaporar parte del menstuo mediante una combinación de temperatura provista por un baño calefactor (que conduce a la ebullición del extracto) y la disminución de la presión atmosférica mediante una bomba de vacío. Además el rotavapor produce una rotación que aminora el peligro de ebullición y acelera la evaporación mediante el aumento de la superficie de la solución (Carrión, & García, 2010).

4.2.6. MARCHA FITOQUÍMICA

Ambiente de trabajo: Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

4.2.7. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO DE ORIGANUM VULGARE L.

Método: edema plantar inducido por carragenina descrito por primera vez por Winter y Porter, 1957 y posteriormente modificado por Sugishita. (Delaporte, Sánchez, Cuellar, & Mello, 2001).

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Se basa en la inducción de la inflamación por inyección subplantar (pata posterior izquierda de la rata) de una suspensión de λ carragenina al 1% (0.1 mL), cuyo

principal signo es la formación de edema, el cual es medido con el pletismómetro digital PANLAB LE7500.

MUESTRA PROBLEMA: Extracto etanólico de *Origanum vulgare* L.

PATRON: Diclofenaco sodico.

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN: Se utilizaron 36 ratas albinas, hembras, procedentes del bioterio de la Universidad Nacional de Trujillo.

Divididas de forma aleatoria en cinco grupos: G1, G2, G3, G4, G5.

Donde a cada grupo se le administró:

Tabla 1. Concentraciones de las sustancias administradas a cada grupo de trabajo para la evaluación del efecto antiinflamatorio.

GRUPO	CONCENTRACIONES ADMINISTRADAS
Control (-)	(Solución Salina Fisiológica)
Problema 1	Extracto de <i>Origanum vulgare</i> L. al 2% (125 mg/K g)
Problema 2	Extracto de <i>Origanum vulgare</i> L. al 2% (250 mg/K g)
Problema 3	Extracto de <i>Origanum vulgare</i> L. al 2% (500 mg/K g)
Control (+)	Diclofenaco sódico al 0.25% (50 mg/ Kg)

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PROBLEMA:

- Se dispuso 3 fioas de 100 mL.
- En una de las fioas se colocó 100 mL del extracto de *Origanum vulgare* L. al 2% (500 mg/Kg).
- En una segunda fiola se colocó 50 mL del extracto de *Origanum vulgare* L. al 2%. y se aforo a 100 mL con agua destilada, agitándola constantemente hasta que se formó una suspensión homogénea. (250 mg/Kg).
- En la tercera fiola se colocó 25 mL del extracto de *Origanum vulgare* L. al 2%. y se aforo a 100 mL con agua destilada, agitándola constantemente hasta que se formó una suspensión homogénea. (125 mg/Kg).

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN PATRÓN DE DICLOFENACO SÓDICO AL 0.25%

- Se trabajó con tabletas de VOLTAREN® 50, las cuales contienen 50 mg de Diclofenaco sódico cada una.
- Se colocó cinco tabletas de VOLTAREN® 50 en una fiola de 100 mL.
- Se agregan 50 mL de agua destilada y se aforo a 100 mL con agua destilada, agitó constantemente hasta que se formó una suspensión; para luego aforar hasta 100 mL con agua destilada, agitándola constantemente hasta la formación de una suspensión homogénea.

PROCEDIMIENTO:

Medición del estado basal de la pata posterior izquierda de la rata.

Administración de λ carragenina al 1% (0.1mL) suspendido en NaCl

0.9%, en la pata posterior izquierda de cada una de las ratas.

Administración intragástrica a cada grupo según lo descrito a continuación:

Tabla 2. Volúmenes administrados a cada grupo de trabajo para la evaluación del efecto antiinflamatorio.

GRUPO	CONCENTRACIONES ADMINISTRADAS
Control (-)	4 mL de Solución Salina Fisiológica
Problema 1	Entre 3.88 a 4.12 mL de extracto de Origanum Vulgare L. al 0.5 %
Problema 2	Entre 3.88 a 4.12 mL de extracto de Origanum Vulgare L. al 1 %
Problema 3	Entre 3.88 a 4.12 mL de extracto de Origanum Vulgare L. al 2 %
Control (+)	Entre 3.88 a 4.12 mL de la suspensión de Diclofenaco sódico al 0.25%

‖ Medición del volumen de la pata en el pletismómetro digital PANLAB LE7500 a las:

1, 2, 3, 4 y 5 horas.

[La diferencia de volumen entre la pata inflamada y la misma pata normal antes de la inyección de carragenina es indicativa del grado de inflamación.

[Los resultados se determinaron primero como porcentaje de inflamación utilizando la siguiente fórmula:

Donde: % inflamación =
$$\frac{\Delta V}{V_0} \times 100$$

ΔV = Diferencia entre volumen final (V_f) – el volumen inicial de la pata (V_0)

V_0 = Volumen inicial de la pata

[En segundo lugar los resultados nos permiten determinar el porcentaje de inhibición de la inflamación utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(Ct - Co)_{\text{Control}} - (Ct - Co)_{\text{Tratada}}}{(Ct - Co)_{\text{Control}}} \times 100$$

Donde:

C_t es el volumen de la pata al tiempo “t” después de la inyección de la carragenina,

C_o es el volumen normal de la pata antes de la inyección de carragenina.

V. RESULTADOS

Tabla 3. Marcha fitoquímica.

TIPO DE METABOLITO	REACTIVO	RESULTADO	CALIFICACION
Terpenos y esteroides	R Lieberman- Buchard.	Coloración violeta	+ + + + +
Flavonoides	R. Shinoda	Coloración rosa	+ + + + +
Compuestos fenólicos	Tricloruro férrico	Verde oscuro	+ + +
Taninos	Gelatina	Precipitado	+
Quinonas	R. Borntranger	Precipitado rojo	+ +
Alcaloides	Dragendorf	Precipitado	+
Aminas libres	Ninhidrina	Coloración purpura	+ +
Cumarinas	R. Baljet	Anillo rojo	+ + +
Azúcares Reductores	R. Fehling	Precipitado rojo	+ + + + +

Tabla 4. Determinación del porcentaje de sólidos totales en los extractos

TIPO DE EXTRACTO	CONCENTRACION (%)	OBSERVACION
SOLUCION	0.67	Percolado
SOLUCION ACUOSA DE TRABAJO	2	Concentrado y ajustado

4.2. Determinación del efecto antiinflamatorio en las diferentes dosis del extracto de *Origanum vulgare* L. “Orégano)

Tabla 4. Valores promedio de la variación de volumen final (en mL) de los tratamientos en el tiempo.

Tiempo	SSF	d1	d2	d3	Diclofenaco
0	1.224	1.224	1.224	1.224	1.224
1	1.874	1.698	1.584	1.395	1.404
2	1.994	1.852	1.786	1.654	1.624
3	2.251	2.152	2.011	1.705	1.652
4	2.043	1.911	1.845	1.658	1.602
5	1.946	1.84	1.82	1.628	1.588

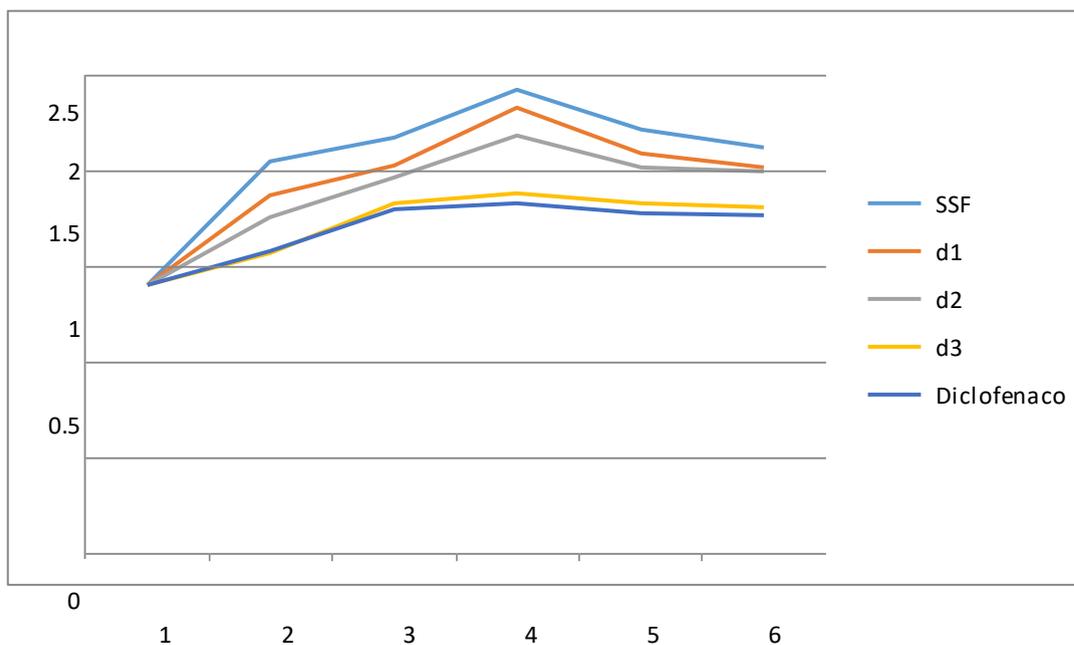


Figura 1. Variación del volumen final en el tiempo de las dosis del extracto y patrones.

Tabla 5. Valores promedio de la variación de volumen (ΔV en mL) de los tratamientos en el tiempo.

Tiempo	SSF	d1	d2	d3	Diclofenaco
0	0	0	0	0	0
1	0.65	0.518	0.456	0.367	0.228
2	0.888	0.787	0.732	0.487	0.398
3	1.027	0.928	0.787	0.517	0.428
4	0.819	0.687	0.621	0.501	0.378
5	0.722	0.721	0.668	0.588	0.364

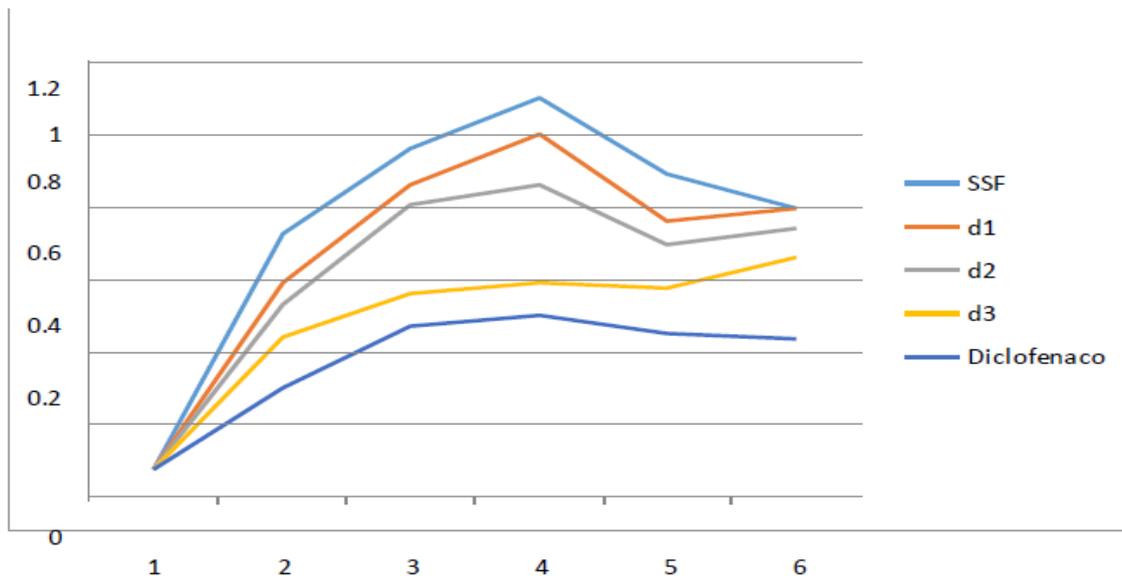


Figura 2. Valores promedio de la variación de volumen (ΔV en mL) de los tratamientos en el tiempo.

Para este caso se estableció que:

H_0 : Los promedios de la variación de volumen (mL) de todos los grupos son iguales.

H_1 : Por lo menos uno de los promedios de uno de los grupos es diferente.

Del análisis estadístico ANOVA (Anexo XIV), evidenciamos que a los tiempos 0, 1, 2 y 3 horas los valores de variación de volumen presentan diferencia significativa, por lo tanto, para estos casos rechazamos la H_0 y aceptamos la H_1 . Por otro lado, a los

tiempos 4 y 5 horas los valores no presentan diferencia significativa, por lo que se asume que los valores de variación de volúmen son iguales estadísticamente. Para los tiempos 0, 1, 2 y 3 horas se realizó el Test de Tukey (comparaciones múltiples).

Tabla 6. Valores promedio del porcentaje de inflamación de cada tratamiento en el tiempo.

Tiempo	SSF	d1	d2	d3	Diclofenaco
0	0	0	0	0	0
1	53.1	42.15	37.418	29.983	18.464
2	72.54	71.08	59.64	39.706	32.516
3	83.905	75.82	64.297	42.157	34.967
4	66.912	64.3	50.735	38.889	30.882
5	58.99	58.497	54.412	47.059	29.739

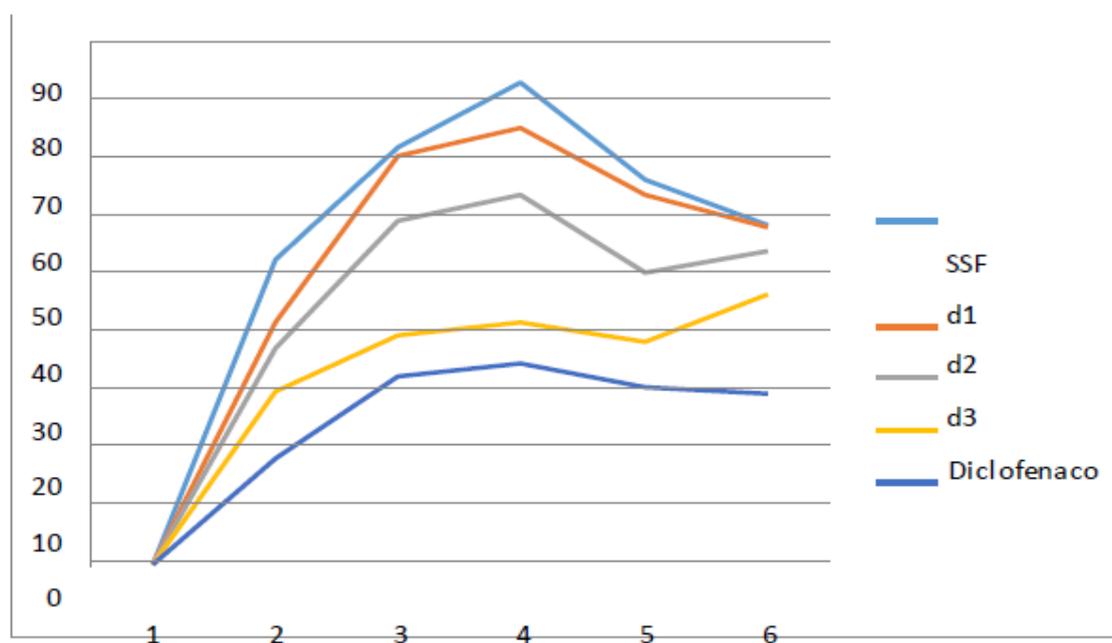


Figura 3. Valores promedio del porcentaje de inflamación de cada tratamiento en el tiempo.

Tabla 7. Porcentaje de inhibición de la inflamación para cada tratamiento en el tiempo.

Tiempo	SSF	d1	d2	d3	Diclofenaco
0	0	0	0	0	0
1	0	20.308	29.846	43.538	64.923
2	0	11.374	17.568	45.158	55.18
3	0	9.64	23.369	49.659	58.325
4	0	16.117	24.176	38.828	53.846
5	0	0.139	7.479	18.56	49.584

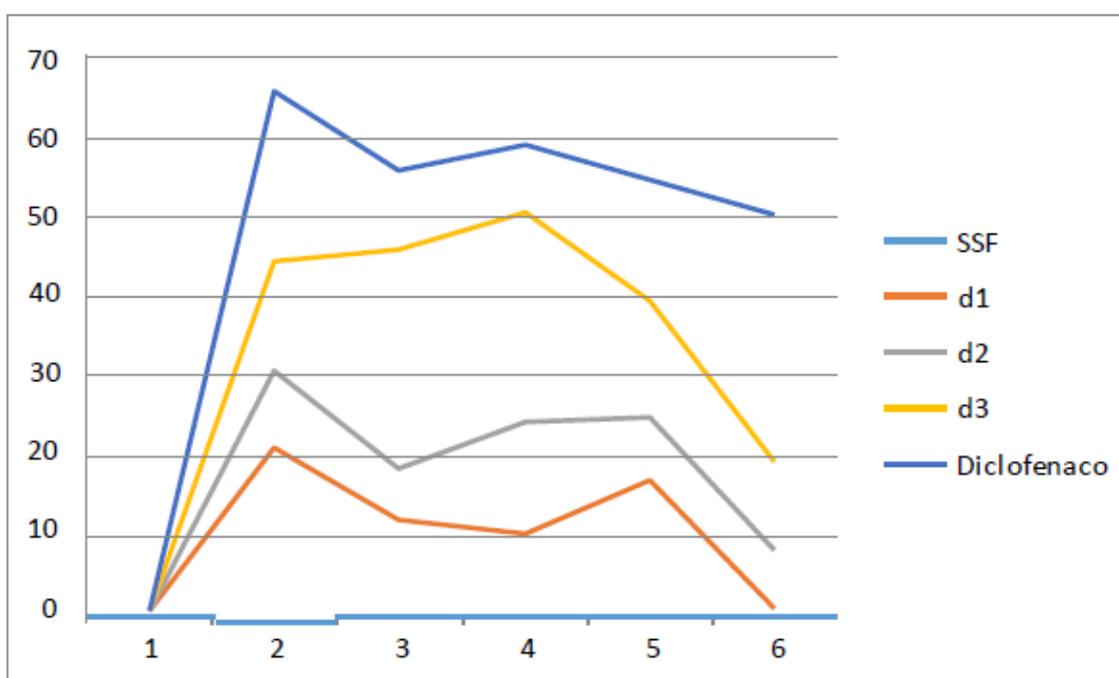


Figura 4. Porcentaje de inhibición de la inflamación para cada tratamiento en el tiempo.

VI. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La inflamación es uno de los más importantes mecanismos de respuesta en contra de una agresión. Esta es la expresión de la respuesta del organismo al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Tiene como objetivo eliminar el agente causal, luego reparar el tejido dañado y finalmente mantener la homeostasis.

En el presente trabajo de investigación se evaluó la actividad anti-inflamatoria del extracto de *Origanum vulgare* L. "Orégano", haciendo uso de una técnica extensamente utilizada para evaluar la posible actividad anti-inflamatoria de sustancias como es el método de "inducción del edema subplantar por Carragenina. Este método experimental de la inducción de inflamación por administración de Carragenina en la pata de la rata fue propuesto por Winter. Es la técnica de valoración de la actividad anti-inflamatoria más frecuentemente utilizada. Este modelo ha sido usado con éxito en el descubrimiento y evaluación de inhibidores selectivos de la cicloxigenasa.

En primer lugar encontramos que según los resultados del screening fitoquímico presentados en la cuadro 3 nos muestran que en los extractos de *Origanum vulgare* L. "Orégano" arrojan resultados positivo a las pruebas para flavonoides, cumarinas, quinonas, terpenos y esteroides principalmente. Estos resultados concuerdan con Diofanor Acevedo, el cual, no solo reporta la presencia de flavonoides, sino que logra identificar la presencia de apigenina y luteolina.

Adicionalmente debemos destacar que el estudio realizado en los extractos de *Origanum vulgare* L. "Orégano" nos arroja una reacción positiva para coumarinas; hecho sobre lo que no hemos encontrado ningún reporte en la literatura consultada, por lo que sería motivo de un estudio posterior, cuyo sustento sería el hecho que *Origanum vulgare* L. "Orégano" es una de las especias culinarias más utilizadas en el mundo y sería potencialmente peligroso su consumo excesivo por personas que estén consumiendo anticoagulantes.

Antes de analizar los resultados obtenidos al realizar el “Método del Edema subplantar” inducido por carragenina debemos establecer que concordamos con MARIANA ALEJANDRA LEAL TORO que afirma que los modelos de inflamación aguda tienen la ventaja sobre los modelos de inflamación crónica de ser más fácilmente reproducibles y en un tiempo considerablemente menor; además de ser simples en su realización y en la obtención de resultados, presentan la ventaja de tener un corto periodo de latencia entre inducción y manifestación clínica de inflamación (alrededor de 1 hora post inducción). Entre los modelos de inflamación aguda se puede mencionar el modelo de inducción de inflamación aguda en la pata de rata por carragenina. En este modelo experimental se encuentran involucradas la histamina y serotonina en la primera fase de la inflamación y en una segunda fase posterior, no menos importante, están presentes las prostaglandinas; de ahí que los compuestos inhibidores de la síntesis de prostaglandinas resultan eficaces en la inhibición de dicho proceso. Se prefiere usar carragenina al dextran, porque el edema que se produce está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y además, porque la actividad antiinflamatoria de este ensayo guarda una buena correlación con la actividad antiinflamatoria en clínica. (Leal, 2009).

Los resultados de la ejecución del “Método del Edema subplantar” inducido por carragenina utilizado en la realización del presente trabajo de investigación se presentan en las tablas N° 1, 2, 3 y 4. Cada uno de ellos acompañado de su correspondiente gráfico de línea para visualizar más fácilmente los cambios producidos durante la experiencia. En la tabla N° 1 y en el gráfico N° 1 se presentan los promedios del aumento del volumen de la pata de la rata de cada uno de los grupos participantes en esta experiencia. A groso modo podemos ya observar que el edema en el grupo tratado con SSF (grupo control negativo) aumenta en las 3 primeras horas para luego disminuir en la 2 últimas horas; en cambio en el grupo tratado con Diclofenaco (Control positivo) el edema que se produce es mucho menor que en el grupo tratado con SSF. En cuanto al efecto de las 3 dosis de extracto de *Origanum vulgare* L. “Orégano”, solo la dosis de solución al 2 % muestran un comportamiento similar al diclofenaco; mientras que las otras dosis de 0.5 % y 1 % muestran un efecto mucho más cercano al grupo tratado con SSF. (Control negativo).

En la tabla N° 1 y en el gráfico N° 1 se puede observar que para el grupo tratado con SSF (Control negativo) y para el grupo tratado con Diclofenaco (Control positivo) el aumento de volumen de las patas de los animales en experimentación es más o menos el esperado y la evolución en el tiempo es similar a lo reportado por Sugishita, Amagaya, & Ogihara. (1981).

Las tablas N° 2 y N° 3 se presentan los resultados de 2 maneras diferentes, pero que una vez graficados muestran el mismo comportamiento, de tal manera que esto sirva para afianzar la confiabilidad de los resultados obtenidos. En la tabla N° 2 se presentan los resultados como promedios del incremento del volumen (Δ Vol) de cada una de las patas de las ratas sometidas a experimentación; y en el segundo caso ese Δ Vol. Se presenta como porcentaje. Este artificio nos permite presentar los resultados en los gráficos N° 2 y N° 3, donde podemos observar que el comportamiento en el tiempo de todos los grupos sometidos a la experiencia es muy similar. De tal manera que podemos afirmar que para un nivel de significancia de $p < 0.05$ la inhibición de la inflamación al administrar la solución al 2 % es similar a la inhibición de la solución de Diclofenaco al 0.25 % en las primeras 3 horas; pero en la 4ta y 5ta hora este efecto disminuye considerablemente.

En la tabla N° 4 y en el gráfico N° 4 se presentan los resultados medulares de la presente investigación, pues a diferencia de los anteriores, en esta tabla y en este gráfico se presentan los resultados como porcentaje de inhibición de la inflamación inducida por la carragenina, de una manera que la potencia antiinflamatoria de cada sustancia se vea más fácilmente. Al analizar los resultados obtenidos observamos que la actividad antiinflamatoria de los tratamientos con las soluciones al 0.5 % y 1 % no es estadísticamente significativa ($p < 0.05$) al ser comparada con los resultados obtenidos por el grupo tratado con SSF (Control negativo); pero la actividad antiinflamatoria del tratamiento con la solución al 2 % de *Origanum vulgare* L. "Orégano" sí es estadísticamente significativa ($p < 0.05$) al ser comparada con el grupo control negativo; y muy similar al efecto del grupo control positivo.

En primer lugar, los resultados obtenidos y presentados en la tabla N° 4 confirman que *Origanum vulgare* L. "Orégano" tiene efecto antiinflamatorio. También indican que este efecto es dosis dependiente, pues tal y como se ve en el gráfico N° 4 el efecto

aumenta con el aumento en la concentración de las soluciones de *Origanum vulgare* L. “Orégano” administradas.

Una vez aclarado el primer punto, lo siguiente y mucho más importante es destacar de acuerdo a lo que indica Baez (2007), que cuando se hace la inducción de la inflamación (Edema plantar) con carragenina la respuesta inflamatoria en la primera hora es producto de la acción de la histamina y de la serotonina como mediadores principalmente. Luego, aproximadamente entre una hora y media a dos y media horas después de la inyección de carragenina, intervienen las Cininas como mediadores; y que la última fase esta mediada por prostaglandinas (PGE1 Y PGE2, PGF2). Por lo tanto, para tratar de explicar por qué el efecto antinflamatorio de *Origanum vulgare* L. “Orégano” solo se produce en las 3 primeras horas, debemos considerar lo que ya se conoce desde hace muchos años que una vez que el principio activo llega a la célula después de la absorción, el fármaco o principio activo se unirá a unas proteínas llamadas “receptores y que cada uno de estos tipos de receptores puede activar una función en la célula o pueden hacer que estos queden bloqueados para que se detenga una función de la célula. Entonces en base a estos conceptos podemos inferir que algunas de las sustancias presentes en *Origanum vulgare* L. “Orégano” bloquean fundamentalmente histamina y serotonina mayormente, y con menor eficacia bloquean las Cininas; y que no pueden bloquear las prostaglandinas que median la última fase de la respuesta inflamatoria.

Finalmente, el origen del efecto antinflamatorio de *Origanum vulgare* L. “Orégano” se tiene que sustentar en la presencia de una o más sustancias que sean parte de la composición química de la especie vegetal en estudio. Entonces, basándonos en los resultados del estudio fitoquímico presentados en el cuadro 3, observamos que tenemos la presencia de flavonoides, terpenos y esteroides. Entonces debemos considerar lo que reporta Harold Alberto GÓMEZ ESTRADA que dice “existen muchos trabajos sobre evaluación de la actividad antinflamatoria que se han realizado tanto en extractos como en metabolitos secundarios aislados de fuentes naturales. Estos estudios se han realizado guiados a través de diferentes modelos farmacológicos tanto in vivo como in vitro”. Harold Alberto GÓMEZ ESTRADA también reporta que los flavonoides, una clase de metabolitos aromáticos ampliamente distribuidos en la naturaleza, poseen una gran variedad de efectos biológicos entre los que sobresale la actividad antinflamatoria. En

2001, Xagorari et al, reportaron la actividad inhibitoria de TNF- α en macrófagos RAW 264.7 estimulados con LPS de algunos compuestos como luteolina, quercitina, luteolina 7-glucósido y del isoflavonoide genistina.

Luteonina fue igualmente activo en estudios in vivo disminuyendo la inflamación en oreja de ratones producida por acetato de miristatoforbol (PMA) y ozaxolona..

Por último Harold Alberto GÓMEZ ESTRADA también nos dice que sobre el efecto ant inflamatorio de terpenos y compuestos relacionados se ha reportado que un extracto de *Tripterygium wilfordii* Hook. F. (Calatraceae) inhibía notablemente la síntesis de Mna y la expresión de las proteínas MMP-3 y MMP-13, inducida por citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-17 y TNF- en osteoartritis primaria humana (concentración media inhibitoria). Lo cual nos induce a pensar y talvez afirmar que el efecto ant inflamatorio de *Origanum vulgare* L. “Orégano” se debe a la presencia de los terpenos y esteroides presentes en esta especie vegetal (Gómez, González, & Medina, 2011).

VII. CONCLUSIONES

- El screening fitoquímico presentados en la cuadro 3 nos muestran que en los extractos de *Origanum vulgare* L. “Orégano” arrojan resultados positivo a las pruebas para flavonoides, cumarinas, quinonas, terpenos y esteroides principalmente.
- Los extractos de *Origanum vulgare* L. “Orégano” nos arroja una reacción positiva para coumarinas; hecho sobre lo que no hemos encontrado ningún reporte en la literatura consultada, por lo que sería motivo de un estudio posterior, cuyo sustento sería el hecho que *Origanum vulgare* L. “Orégano” es una de las especias culinarias más utilizadas en el mundo y sería potencialmente peligroso su consumo excesivo por personas que estén consumiendo anticoagulantes.
- La dosis de solución al 2 % muestra un comportamiento similar al diclofenaco
- Se puede afirmar que para un nivel de significancia de $p < 0.05$ la inhibición de la inflamación al administrar la solución al 2 % es similar a la administración de la solución de Diclofenaco al 0.25 % en las primeras 3 horas; pero en la 4ta y 5ta hora este efecto disminuye considerablemente.
- Los resultados obtenidos y presentados en la tabla N° 4 confirman que *Origanum vulgare* L. “Orégano” tiene efecto antiinflamatorio.
- También indican que este efecto es dosis dependiente, pues tal y como se ve en el gráfico N° 4 el efecto aumenta con el aumento en la concentración de las soluciones de *Origanum vulgare* L. “Orégano” administradas.

- El origen del efecto antiinflamatorio de *Origanum vulgare* L. “Orégano” se tiene que sustentar en la presencia de una o más sustancias que sean parte de la composición química de la especie vegetal en estudio ya que tenemos la presencia de flavonoides, terpenos y esteroides.

- El efecto antiinflamatorio de *Origanum vulgare* L. “Orégano” se debe a la presencia de los terpenos y esteroides presentes en esta especie vegetal.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con las investigaciones farmacológicas, de las propiedades antiinflamatorias de las hojas de *Origanum vulgare* L. "**Orégano**".
2. Realizar estudios farmacológicos de actividad antinflamatoria en otras partes de la planta estudiada tales como: tallo, raíz y corteza, para un mejor aprovechamiento de estas especies, así como para complementar esta investigación y descartar la idea del uso de la planta en su totalidad.
3. Continuar con investigaciones farmacológicas de usos medicinales imputados popularmente a las especies de *Origanum vulgare* L. "**Orégano**", para fundar bases científicamente aceptadas para un uso adecuado y racional en la terapia con plantas medicinales.
4. Efectuar estudios fitoquímicos y farmacológicos para aislar el componente responsable de la actividad antinflamatoria de las hojas de *Origanum vulgare* L. "**Orégano**". Incentivando más al estudiante de farmacia de la Universidad San Pedro por la investigación en especies vegetales.

IX. REFERENCIAS

- Albado, E., Saez, G., & Grabiell, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Rev Med Hered*, 12(1), 16-19.
- Báez, G. (2007). *Determinación del efecto antiinflamatorio de los extractos hexánicos, etanólicos y clorofórmicos de las plantas medicinales: Bursera aloexylon, Amphipterygium adstringens, Tilia mexicana, Verbascum thapsus, Rosmarinus officinalis, Salvia hispanica, Aloe vera, Opuntia ficus-indica en un modelo animal* (Tesis de Maestría en Biomedicina Clínica, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Universidad de las Américas, Puebla).
- Beyra, Á., León, M., Iglesias, E., Ferrándiz, D., Herrera, R., & Volpato, G. (2004). Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 61(2), 185. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/556/55661207/>
- Benavides, V., D'Arrigo, G., Pino, J. (2010). Effects of aqueous extract of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) on the preimplantational mouse embryos. *Revista Peruana de Biología*, 17(3), 381. Recuperado de: <http://www.sciebo.org.pe/pdf/rpb/v17n3/a15v17n3.pdf>
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (1994). Recuperado de: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/moноgrafia.php?l=3&t=Or%C3%A9gano&id=7890>
- Batlouni, M. (2010). Antiinflamatorios No Esteroides: Efectos Cardiovasculares, Cerebrovasculares y Renales. *Arq Bras Cardiol*, 94(4), 538-546.
- Camacho, M., & Honorio, C. (2017). *Evaluación del efecto antiinflamatorio en ratas albinas según el modelo edema plantar y efecto analgésico en ratones albinos según el modelo tail flick del extracto etanólico de Dalea isidori Barneby "Yerbechil"*. Tesis de Pregrado. UNMSM. Perú.
- Carrión, A., García, C. (2010). *Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica* (Licenciatura). Universidad de Cuenca.

- Chun, S., Vattem, D., Lin, Y., & Shetty, K. (2005). *Phenolic antioxidants from clonal oregano (Origanum vulgare) with antimicrobial activity against Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*, 40(2), 809-816. doi: 10.1016/j.procbio.2004.02.018
- Delaporte, R., Sánchez, G., Cuellar, A., & Mello, J. (2001). Control de calidad y actividad antiinflamatoria de las drogas vegetales *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze y *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 20(1), 39-46.
- Delves, P., Martin, S., Burton, D., & Roitt, I. (2011). *Roitt's Essential Immunology*. Twelfth Edition. Blackwell Publishing Ltd.
- Garay, H. (2015). *Efecto antibacteriano del aceite esencial de origanum vulgare L." Orégano" sobre cepas de escherichia coli y staphylococcus aureus, in vitro*. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Cajamarca. Perú. 2015.
- García, A. (2017). Respuesta inflamatoria sistémica y disfunción/fracaso multiorgánico tras una agresión: implicaciones metabólicas. *Nutrición Hospitalaria*, 34(1), 244-250. Recuperado de: <https://dx.doi.org/10.20960/nh.1001>
- García, A., López, J. & Sánchez, M. (2000). Respuesta inflamatoria sistémica: fisiopatología y mediadores. *Med Intensiva*, 24(8), 353-360.
- García, J., & Gómez, J. (2000). Fisiopatología de la ciclooxigenasa-1 y ciclooxigenasa-2. *Revista Española de Reumatología*, 27(1), 1-40.
- García-Pérez, E., Fernando Francisco, C. Á., Gutiérrez-Urbe, J. A., & García-Lara, S. (2012). Revisión de la producción, composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(2), 339-353.
- González, L., Molina, J. (2010). Evaluación de la inflamación en el laboratorio. *Revista Colombiana de Reumatología*, 17(1), 35. Recuperado de: <http://www.elsevier.es/es-re-vista-re-vista-colombiana-reumatologia-374-articulo-evaluacion-inflamacion-el-laboratorio-S0121812310700918>

- González, A., Elizondo, S., Gutiérrez, G., & León, J. (2011). Implicaciones fisiopatológicas entre inflamación crónica y el desarrollo de diabetes y obesidad. *Cirugía y Cirujanos*, 79(2), 210. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/circir/cc-2011/cc112q.pdf>.
- Gómez, H., González, K., & Medina, J. (2011). Actividad antiinflamatoria de productos naturales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(3), 182-217
- Gómez, H., González, K., & Domingo, J. (2011). Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(3), 182, 194-197. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85618379003.pdf>
- Grossman, S., & Porth, C. (2014). *Fisiopatología: Alteraciones de la Salud. Conceptos básicos*. 9ª Edición. Wolters Kluwer Health España, S.A. España.
- Jares, E., & Pignataro, O. (2002). Mecanismos moleculares de acción de los corticoides. *Arch Alergia Inmunol Clin*, 33(1), 9-21.
- Leal, M. (2009). *Evaluación del efecto antiinflamatorio de un concentrado de frutos de aristotelia chilensis en un modelo de inflamación aguda subplantar inducida por Carragenina en ratas*. Universidad Austral de Chile. Memoria para optar al Título de Médico Veterinario, Valdivia Chile
- León, M., Alvarado, A., De Armas, J., Miranda, L., Varens, J., & Cuesta del Sol, J. (2015). Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. *Revista Finlay*, 5(1), 47,48. Recuperado de: <http://scielo.sld.cu/pdf/rf/v5n1/rf06105.pdf>
- Lock, O. (1998) *Control de Calidad de Plantas Medicinales y de Fitofármacos: Métodos Químicos y Cromatográficos*. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.

- Lorenzana, L. (2011). Inflamación y Dolor. Recuperado de:
[http://www.ruminal.com.ar/sites/default/files/Inflamaci%C3%B3n%20y%20dolor%20\(Etodolac\).pdf](http://www.ruminal.com.ar/sites/default/files/Inflamaci%C3%B3n%20y%20dolor%20(Etodolac).pdf)
- Marín, J., Nieto, A., & Céspedes, C. (2012). Antioxidant and ant inflammatory activities of Pittocaulon species from México. *Pharmaceutical Biology*, 51(2), 260-66. doi: 10.3109/13880209.2012.718352
- Martins, N., Barros, L., Santos, C., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. (2014). Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. *Food Chemistry*, 158, 73-80. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.02.099
- Matiz, G., Franco, L., & Rincón, J. (2011). Actividad antiinflamatoria de flores y hojas de *Caesalpinia pulcherrima* L. (Swartz). *Salud UIS*, 43(3), 283,284. Recuperado de: <http://www.sciebo.org.co/pdf/suis/v43n3/v43n3a09.pdf>
- Miranda, M, Cuéllar, A. (2000) *Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales*. Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad de La Habana, pp. 41-52.
- Muñoz, L. (2002). *Plantas medicinales españolas: Origanum vulgare* L. (lamiaceae) (orégano). *Acta Botánica Malacitana*, 27(1), 274. Recuperado de:
http://www.bioiveg.uma.es/abm/volumenes/vol27/27_munozcenteno.pdf
- Organización Mundial de la Salud. (2002). *Estrategia de la OMS sobre Medicina Tradicional*. 2002-2005. WHO, Ginebra. Recuperado de:
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67314/WHO_EDM_TRM_2002.1_spa.pdf;jsessionid=CD98978732BC4EBABEFE252B6427EC2D?sequence=1
- Rao, G., Mukhopadhyay, T., Annamalai, T., Radhakrishnan, N., & Sahoo, M. (2011). *Chemical constituents and biological studies of Origanum vulgare* Linn. *Pharmacognosy Research*, 3(2), 143. doi: 10.4103/0974-8490.81964

- Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., & Polissiou, M. et al (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15(7), 549-557. doi:10.1016/j.foodcont.2003.08.009
- Salas, F. (2016). *Producción y exportación de orégano de la Región Tacna, 2016*. Dirección Regional de Agricultura de Tacna, Perú.
- Serra, H., Roganovich, J. & Rizzo, L. (2012). Glucocorticoides: Paradigma de medicina traslacional. De lo molecular al uso clínico. *Medicina (Buenos Aires)*, 72(2), 158-170.
- Sugishita, E., Amagaya, S., & Ogihara, Y. (1981). Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. *Journal of Pharmacobio-dynamics*, 4(8), 565-575.
- Torres, L., Díaz, F., Escalante, G., & Estrada, E. (2008). Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*. *Ciencia e investigación medico estudiantil latinoamericana*, 13(2). Obtenido de: <http://www.cimel.felsocem.net/index.php/CIMEL/article/view/146>
- Vilena, C., & Arroyo, J. (2012). Anti-inflammatory effect of hydroalcoholic extract from *Oenothera rosea* (yawar socco) in rats with induction to acute and chronic inflammation. *Ciencia e Investigación*, 15(1), 16. Recuperado de: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/viewFile/3178/2650>
- Waizel-Bucay, J., & Waizel-Haiat, S. (2016). Las especias o condimentos vegetales. ¿Sólo saborizantes o también remedios medicinales? *An Orl Mex.* 61(3), 208-230.

X. ANEXOS

MARCHA FITOQUIMICA



Origanum vulgare L



Origanum vulgare L para marcha fitoquímica



Origanum vulgare L para extracto acuoso y etanólico



Origanum vulgare L medida del agente extractor para los extractos acuoso y etanólico



Origanum vulgare L proceso de obtención de los extractos acuoso y etanólico





Filtrado y obtención de los extractos acuoso y etanólico de *Origanum vulgare* L



