



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD  
ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS Y TALLOS DE  
MALVA OLOROSA (*PELARGONIUM ODORATISSIMUM*)

NOLES ZERNA KERLY PRISCILLA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

RUEDA RODRIGUEZ ESTEFANIA AMANDA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA  
2019



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

Evaluación de la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de hojas y tallos de malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*)

NOLES ZERNA KERLY PRISCILLA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

RUEDA RODRIGUEZ ESTEFANIA AMANDA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA  
2019



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

TRABAJO TITULACIÓN  
TRABAJO EXPERIMENTAL

Evaluación de la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de  
hojas y tallos de malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*)

NOLES ZERNA KERLY PRISCILLA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

RUEDA RODRIGUEZ ESTEFANIA AMANDA  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

GARCIA MIR VIVIANA

MACHALA, 19 DE SEPTIEMBRE DE 2019

MACHALA  
2019

**Nota de aceptación:**

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado Evaluación de la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de hojas y tallos de malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*), hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.



---

GARCIA MIR VIVIANA  
0959164617  
TUTOR - ESPECIALISTA 1



---

JARAMILLO JARAMILLO GLADYS CARMITA  
0701575920  
ESPECIALISTA 2



---

NÚÑEZ QUEZADA THAYANA  
0702161068  
ESPECIALISTA 3

Machala, 19 de septiembre de 2019

# TESIS NOLES Y RUEDA

---

## INFORME DE ORIGINALIDAD

---

<b>1</b> %	<b>1</b> %	%	<b>3</b> %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

---

## FUENTES PRIMARIAS

---

<b>1</b>	<b>ri.ues.edu.sv</b> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>2</b>	<b>revistas.curn.edu.co</b> Fuente de Internet	<b>1</b> %

---

Excluir citas      Activo  
Excluir bibliografía      Activo

Excluir coincidencias      < 1%

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Las que suscriben, NOLES ZERNA KERLY PRISCILLA y RUEDA RODRIGUEZ ESTEFANIA AMANDA, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado Evaluación de la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de hojas y tallos de malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*), otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Las autoras declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Las autoras como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 19 de septiembre de 2019

NOLES ZERNA KERLY PRISCILLA  
0750204950

RUEDA RODRIGUEZ ESTEFANIA AMANDA  
0706981149

## DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado:

A Dios por permitirme tener vida, salud y ser el inspirador en cada uno de mis pasos dados en mí convivir diario.

A mis padres: Isabel Zerna y Enrique Noles y a mi tía Yolanda Zerna, ya que son un pilar fundamental en mi formación académica, me han dado todo lo que soy como persona y todo ello de una manera desinteresada y lleno de amor.

A Geani Batistella por su invaluable apoyo y cariño que siempre me ha ofrecido.

A mis hermanos por lo que representan para mí y por ser parte importante de una hermosa familia unida.

A mi persona especial José Luis Gomezcoello quien ha sido sumamente importante y ha estado en los momentos difíciles apoyándome y motivándome.

Y a mis verdaderos amigos por permitirme aprender más de la vida a su lado.

***Kerly Noles Zerna***

El presente trabajo está dedicado:

A Dios por ser mi guía y fortaleza, bendiciéndome en todo momento con su maravilloso amor y fuerza, dándome así la oportunidad de vivir para seguir adelante con mis metas.

A mi familia, especialmente a mis padres: Blanca Rodríguez y Modesto Rueda, quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, e inculcando en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía a lo largo de toda mi vida.

Al Instituto de Fomento al Talento Humano, por su contribución y apertura crediticia para financiar mis estudios de tercer nivel.

Y a todas las personas especiales que me acompañaron y me brindaron su apoyo en esta etapa de mi formación tanto profesional y humana.

***Estefanía Rueda Rodríguez***

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a la Universidad Técnica de Machala por la oportunidad y formación brindada, al laboratorio Bioquímico Médico BIOMEDILAB por darnos la apertura en sus instalaciones para cumplir uno de los objetivos de esta investigación.

De manera especial nuestro agradecimiento al Dr. Lenin Torres, Dr. Osmany Cuesta y a nuestra tutora Dra. Viviana García Mir por su aporte y colaboración en el desarrollo de nuestro trabajo investigativo.

A nuestros docentes y técnicos de laboratorio por su disposición, atención, confianza, tiempo y conocimientos impartidos a lo largo de nuestra formación.

Por último expresamos nuestro agradecimiento y gratitud a José Luis Gomezcoello y Kevin Noles Ramón, por ayudarnos a superar cada obstáculo que se presentaba en el camino, además por su paciencia, compañía y gran apoyo incondicional durante este proceso.



## RESUMEN

Mundialmente la medicina tradicional ha sido utilizada mediante conocimientos y prácticas empíricas que han logrado mejorar la calidad y el estilo de vida de la población, sin embargo, con el paso del tiempo su uso ha desaparecido por la aplicación de la medicina convencional, que ha subestimado el uso de las plantas medicinales. En el Ecuador, por su amplia variedad de flora, las investigaciones científicas se han enfocado en el aprovechamiento de estos recursos e impulsando el uso de principios activos derivados de plantas. Dentro de la composición química del aceite esencial de las hojas de *Pelargonium odoratissimum* o malva olorosa, existen metabolitos como flavonoides, metil-eugenol, limoneno y fencon, los cuales le proporcionan un efecto antibacteriano. Por esta razón, el presente trabajo de investigación tuvo como finalidad evaluar la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de hojas y tallos de malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*). Inicialmente, se realizó la recolección de información etnobotánica a través de una encuesta, que fue procesada por el test estadístico denominado reducción de dimensiones con escalamiento óptimo, la cual permitió realizar un análisis desde el punto de vista cultural y científico de la planta en estudio. Luego, se procedió a la recolección, selección y lavado de la droga fresca. Posteriormente, el aceite esencial fue extraído por el método de arrastre de vapor utilizando un montaje tipo Clevenger. El rendimiento obtenido después de la extracción fue del 0.16%, siendo este menor a lo esperado, por lo que se procedió a la elaboración de extractos alcohólicos e hidroalcohólicos a partir de la droga seca, a la cual se le determinaron los parámetros de control de calidad, los mismos que cumplieron con los rangos establecidos por la literatura. Se elaboró los extractos con etanol absoluto y etanol-agua a una concentración de 50:50 por percolación, a los que se les realizó los ensayos de calidad como: densidad, índice de refracción, °Brix, entre otros. La determinación cualitativa de los metabolitos bioactivos se determinó mediante tamizaje fitoquímico, observando la presencia de alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, cumarinas, saponinas y taninos. Para la observación de compuestos polares y apolares se empleó el método de cromatografía en capa delgada, utilizando como soporte sílica gel 60 GF 254 y fases móviles (BAW 65:25:10; MeOH: CHCl<sub>3</sub> 9:1) con diferentes sistemas de revelado. En la caracterización de compuestos químicos presentes en los extractos, se utilizó el equipo UHPLC-PDA.MS, dando como resultado picos representativos a flavonoides glicosilados y otros compuestos que no pudieron ser

identificados. Así mismo, la actividad antibacteriana fue evaluada frente a una cepa clínica de *Staphylococcus aureus*, usando los extractos concentrados y diluciones de 1/2,1/4,1/5,1/10 por el método de difusión en disco y dilución en agar, dando resultados diferentes en los dos métodos. A pesar de ello se determinó que la bacteria es sensible a todos los extractos, sin embargo, el extracto hidroalcohólico de hojas mostró inhibir a la bacteria a una concentración mínima de 200 ug/mL. Por lo tanto, mediante este trabajo se logró evaluar la composición química y actividad antibacteriana de hojas y tallos de *P.odoratissimum*, dando resultados favorables para su futuro uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la cepa en estudio.

**Palabras Claves:** *Pelargonium odoratissimum*, información etnobotánica, composición química, actividad antibacteriana, *Staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

Use of traditional medicine has been universally developed through empirical knowledge and practices that have disappeared over time replaced with conventional medicine that underestimates medicinal plants use. Ecuador, since its great flora variety, many scientific investigations had been focused on these resources and the use of active ingredients derived from plants has been promoted. *Pelargonium odoratissimum* or odorous mauve chemical composition contains metabolites such as flavonoids, methyl-eugenol, limonene and phencone present in the leaves essential oil, which provide antibacterial effect. This paper have the objective to evaluate the chemical composition and antibacterial activity of leaves extracts and stems of odorous mauve (*Pelargonium odoratissimum*). Initially, an ethnobotanical information recollection was carried out through a survey processed by the statistical test dimensional reduction with optimal scaling, allowing an plant analysis from both, cultural and scientific perspective. It was proceeded to collect, select and wash the fresh drug. Subsequently the essential oil was extracted by the steam trawling method using a Clevenger type assembly, although the expected yield of 0.16% wasn't obtained, production of alcoholic and hydroalcoholic extracts was made starting from the dry drug to which quality control parameters were determined, according to the ranges established by the literature. The extracts were produced with absolute ethanol and ethanol-water at a concentration of 50:50 by percolation method, and extracts quality tests were performed such as: density, refractive index, Brix, among others. Qualitative determination of bioactive metabolites was determined by phytochemical sifting suggesting the presence of alcaloids, sugars reducers, flavonoids, coumarins, saponins and tannins. Thin layer chromatography was used, with silysian gel 60 GF 254 as support and mobiles phases (BAW 65:25:10; MeOH:CHCl<sub>3</sub> 9:1) with different revealing systems, observing the existence of apolar and polar compounds. For compounds characterization an UHPLC-PDA.MS equipment was used, resulting in representative peaks of glycosylated flavonoids and other compounds that couldn't be identified. Also, antibacterial activity was evaluated against the clinical strain of *Staphylococcus aureus* using concentrated extracts and dilutions of 1/2,1/4,1/5,1/10 by disc diffusion method and agar dilution, giving different results in both methods. Despite bacteria sensitivity to all methods was determined, hydroalcoholic extract of leaves showed inhibit the bacteria at a minimum concentration

of 200 µg/mL. Therefore, through this work it was possible to evaluate the chemical composition of both leaves and stems of *P.odoratissimum* which are associated with antibacterial activity, bringing favorable results for future use in diseases treatment related to the strain in study.

**Keywords:** *Pelargonium odoratissimum*, ethnobotanical information, chemical composition, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	13
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	14
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	14
JUSTIFICACIÓN .....	15
HIPÓTESIS .....	16
OBJETIVOS .....	17
OBJETIVO GENERAL .....	17
OBJETIVO ESPECÍFICO .....	17
CAPÍTULO I .....	18
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	18
1.1. <i>Pelargonium odoratissimum</i> .....	18
1.1.1. Generalidades .....	18
1.1.2. Taxonomía .....	18
1.1.3. Requerimientos medioambientales.....	19
1.1.4. Descripción botánica.....	19
1.1.5. Distribución y hábitat.....	19
1.1.6. Composición química.....	19
1.1.7. Propiedades farmacológicas .....	20
1.2. Cromatografía .....	21
1.2.1. Cromatografía en capa delgada (CCD).....	21
1.2.2. Cromatografía líquida de alta eficacia (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) .....	22
1.3. Actividad antibacteriana .....	22
1.3.1. Grupos químicos con acción antibacteriana aislados de plantas.....	23
1.4. Bacteria de interés clínico.....	24
1.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
1.4.2. Características .....	24
1.4.3. Enfermedades.....	25
1.4.4. Perfil antibiótico.....	25

CAPÍTULO II .....	27
2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	27
2.1. MATERIALES .....	27
2.1.1. Insumos .....	27
2.1.2. Material de laboratorio .....	27
2.2. EQUIPOS .....	28
2.3. REACTIVOS .....	28
2.4. MÉTODOS .....	29
2.4.1. Recolección de información etnobotánica .....	29
2.4.2. Material vegetal .....	29
2.4.3. Selección de la muestra. ....	30
2.4.4. Parámetros morfométricos .....	30
2.4.5. Obtención del Aceite Esencial (AE) .....	30
2.4.5.1. Preparación de la muestra para la obtención de AE. ....	30
2.4.5.2. Extracción del aceite esencial .....	30
2.4.5.3. Determinación del rendimiento .....	31
2.4.6. Droga vegetal seca .....	31
2.4.6.1. Preparación de la muestra. ....	31
2.4.6.2. Control de calidad de la droga seca .....	31
2.4.6.2.1. Propiedades organolépticas .....	32
2.4.6.2.2. Contenido de humedad .....	32
2.4.6.2.3. Contenido de cenizas totales .....	32
2.4.6.2.4. Determinación de cenizas solubles en agua. ....	33
2.4.6.2.5. Determinación de cenizas insolubles en HCL. ....	33
2.4.6.2.6. Determinación de sustancias solubles .....	34
2.4.7. Screening fitoquímico .....	35
2.4.8. Obtención del extracto .....	35
2.4.9. Control de calidad de los extractos vegetales .....	36
2.4.9.1. Propiedades organolépticas .....	36
2.4.9.2. Determinación de densidad relativa .....	37
2.4.9.3. Determinación de pH .....	37
2.4.9.4. Determinación de índice de refracción y °Brix .....	37

2.4.9.5.	Determinación de sólidos totales .....	37
2.4.10.	Cromatografía en capa delgada (CCD).....	38
2.4.11.	Identificación de compuestos en extractos secos de hojas y tallos de <i>Pelargonium odoratissimum</i> por UHPLC-PDA-MS.....	38
2.4.12.	Análisis microbiológico.....	39
2.4.12.1.	Selección de microorganismos .....	40
2.4.12.2.	Preparación del agar .....	40
2.4.12.3.	Preparación del inóculo .....	40
2.4.12.4.	Inoculación .....	40
2.4.12.5.	Método de difusión en disco (Kirby-Bauer).....	40
2.4.12.6.	Método de dilución en agar .....	41
2.4.13.	Análisis Estadístico.....	41
CAPÍTULO III .....		42
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
3.1.	Análisis de la recolección de información etnobotánica.....	42
3.2.	Caracterización morfológica de la droga fresca.....	46
3.3.	Obtención del Aceite Esencial (AE).....	46
3.4.	Control de calidad de droga cruda.....	47
3.5.	Screening fitoquímico.....	48
3.6.	Análisis de los extractos.....	49
3.6.1.	Propiedades organolépticas .....	49
3.6.2.	Parámetros de calidad de los extractos .....	49
3.7.	Cromatografía en capa delgada (CCD).....	50
3.7.1.	Revelado con luz ultravioleta.....	50
3.7.2.	Revelado con vainillina/calor .....	50
3.7.3.	Revelado con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /calor.....	51
3.8.	Identificación de compuestos en extractos secos de hojas y tallos de <i>Pelargonium odoratissimum</i> por UHPLC-PDA-MS .....	52
3.9.	Actividad antibacteriana .....	60
3.9.1.	Método de difusión en disco.....	60
3.9.2.	Método de dilución en agar .....	62

CAPÍTULO IV .....	65
4. CONCLUSIONES .....	65
CAPÍTULO V .....	66
5. RECOMENDACIONES .....	66
BIBLIOGRAFÍA .....	67
ANEXO .....	73



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación Taxonómica de <i>Pelargonium odoratissimum</i> .....	18
<b>Tabla 2.</b> Composición química del aceite esencial de <i>P. odoratissimum</i> .....	20
<b>Tabla 3.</b> Resumen de Modelo .....	43
<b>Tabla 4.</b> Matriz de correlaciones de variables transformadas .....	44
<b>Tabla 5.</b> Medidas discriminantes .....	45
<b>Tabla 6.</b> Características morfométricos de las hojas y tallos de <i>Pelargonium odoratissimum</i> n=100.....	46
<b>Tabla 7.</b> Obtención del Aceite Esencial de <i>P.odoratissimum</i> .....	46
<b>Tabla 8.</b> Control de calidad de la droga cruda (media/SD; n=3) .....	47
<b>Tabla 9.</b> Screening fitoquímico realizado a los extractos de hojas y tallos de <i>P.odoratissimum</i> .....	48
<b>Tabla 10.</b> Parámetros de calidad de los extractos de hojas y tallos de <i>P.odoratissimum</i> . (media/SD; n=3).....	49
<b>Tabla 11.</b> Identificación de los posibles compuestos presentes en las hojas de <i>P. odoratissimum</i> en proporción MeOH:H <sub>2</sub> O (3:7v/v) .....	55
<b>Tabla 12.</b> Identificación de los posibles compuestos presentes en las hojas de <i>P. odoratissimum</i> en proporción MeOH:H <sub>2</sub> O (8:2v/v) .....	56
<b>Tabla 13.</b> Identificación de los posibles compuestos presentes en los tallos de <i>P. odoratissimum</i> .....	59
<b>Tabla 14.</b> Halos de inhibición de extractos de <i>P.odoratissimum</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> (media/SD; n=3).....	62
<b>Tabla 15.</b> Concentración mínima inhibitoria de extractos de <i>P.odoratissimum</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> (media/SD; n=3).....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Pelargonium odoratissimum</i> .....	18
<b>Figura 2.</b> Ensayos para screening fitoquímico .....	35
<b>Figura 3.</b> Grado de instrucción de los habitantes de la Parroquia Chantaco .....	42
<b>Figura 4.</b> Diagrama conjunto de puntos de categorías .....	43
<b>Figura 5.</b> Puntos de Categoría: ¿Esta planta le causó efectos adversos?.....	44
<b>Figura 6.</b> Medidas discriminantes .....	45
<b>Figura 7.</b> Revelado con luz ultravioleta a 264 nm.....	50
<b>Figura 8.</b> Revelado con vainillina .....	51
<b>Figura 9.</b> Revelado con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /Calor.....	51
<b>Figura 10.</b> Cromatograma representativo de extracto de hojas de <i>P. odoratissimum</i> en proporción de MeOH:H <sub>2</sub> O (3:7v/v) en modo negativo.....	52
<b>Figura 11.</b> Cromatograma representativo de extracto de hojas de <i>P. odoratissimum</i> en proporción de MeOH:H <sub>2</sub> O (3:7v/v) en modo positivo.....	53
<b>Figura 12.</b> Cromatograma representativo de extracto de hojas de <i>P. odoratissimum</i> en proporción de MeOH:H <sub>2</sub> O(8:2v/v) en modo negativo.....	53
<b>Figura 13.</b> Cromatograma representativo de extracto de hojas de <i>P. odoratissimum</i> proporción de MeOH:H <sub>2</sub> O(8:2v/v) en modo positivo. ....	54
<b>Figura 14.</b> Cromatograma representativo de extracto de tallos de <i>P. odoratissimum</i> en proporción de MeOH:H <sub>2</sub> O(3:7v/v) en modo negativo.....	57
<b>Figura 15.</b> Cromatograma representativo de extracto de tallos de <i>P. odoratissimum</i> en proporción de MeOH:H <sub>2</sub> O(3:7v/v) en modo positivo. ....	57
<b>Figura 16.</b> Cromatograma representativo de extracto de tallos de <i>P. odoratissimum</i> en proporción de MeOH:H <sub>2</sub> O(8:2v/v) en modo negativo.....	58
<b>Figura 17.</b> Cromatograma representativo de extracto de tallos de <i>P. odoratissimum</i> en proporción de MeOH:H <sub>2</sub> O(8:2v/v) en modo positivo. ....	58
<b>Figura 18.</b> Cepa bacteriana de <i>S. aureus</i> .....	61
<b>Figura 19.</b> Discos de control con disolvente .....	61
<b>Figura 20.</b> Discos con extracto concentrado.....	61
<b>Figura 21.</b> Discos impregnados con diluciones de extracto de hojas y tallos de <i>P. odoratissimum</i> .....	61
<b>Figura 22.</b> Método de dilución en agar con extractos concentrados y diluciones de hojas de <i>P. odoratissimum</i> .....	63
<b>Figura 23.</b> Método de dilución en agar con extractos concentrados y diluciones de tallos de <i>P. odoratissimum</i> .....	63

## INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional es una realidad presente en todo el mundo, debido a su aceptación y uso relacionado con la disponibilidad, accesibilidad, autoadministración y la percepción de que es seguro y eficaz, basándose en conocimientos y prácticas ancestrales, constituyendo parte del patrimonio de cada país, que ha sido transmitido de una generación a otra desde centenares de años antes del desarrollo de nuestra medicina actual <sup>1,2</sup>.

En la cultura de muchos pueblos, se ha convertido en una parte importante para preservar la salud, prevenir y tratar múltiples enfermedades, mejorando así la calidad y estilo de vida de las personas que hacen uso de ella. A pesar de ello, se ha ido deteriorando el uso de plantas medicinales que poseen un alto índice de propiedades curativas, debido a que han sido subestimadas por los diferentes servicios de salud.

Desde hace muchos años es de conocimiento que en el territorio Ecuatoriano existe una gran biodiversidad de flora, por lo que muchas personas han visto la necesidad de recopilar información científica de estas plantas, creando fichas etnobotánicas que permitan contribuir al desarrollo de nuevas investigaciones, aprovechando estos recursos y potenciando el uso de los principios activos presentes en las plantas.

En el estudio de *Pelargonium odoratissimum* comúnmente conocida como malva olorosa, existe un potencial interés de profundizar su estudio, ya que según Pombo et al., (2016) describe que esta especie perteneciente a la familia Geraniaceae contiene en su composición química flavonoides tales como quercetina, kaempferol y miricetina, además de metil-eugenol, limoneno y fencon, todos estos presentes en el aceite esencial de sus hojas, los cuales le proporcionan la actividad frente a cepas bacterianas<sup>3</sup>.

Durante este estudio se han empleado métodos cromatográficos y modelos biológicos que permitieron evaluar la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum*. Todo esto con el fin de determinar compuestos biológicamente activos con efecto antibacteriano, que en un futuro puedan ser aplicados por las diferentes industrias farmacéuticas y profesionales de la Salud como una alternativa ante agentes infecciosos resistentes.

## DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### Planteamiento del problema

Uno de los problemas que afectan a el Ecuador y el mundo entero, son las enfermedades infecciosas causadas por la exposición a una gran variedad de bacterias, que con el pasar de los años se han vuelto resistentes a un sin número de antibióticos, generando así un alto índice de morbimortalidad, siendo *Staphylococcus aureus* una de las especies cuya resistencia es más preocupante desde el punto de vista de la salud pública según la OMS <sup>4</sup>.

A pesar de que existe una diversidad de plantas medicinales en nuestro país, la información química y farmacológica de las mismas es escasa, tal es el caso de la especie vegetal *Pelargonium odoratissimum*, la cual ha sido utilizada tradicionalmente desde tiempos remotos para dolencias estomacales y curaciones de heridas.

Por lo tanto, es indispensable el estudio sistematizado, con el fin de descubrir moléculas bioactivas novedosas que permitan controlar enfermedades asociadas a microorganismos, de tal manera que se validen los usos tradicionales de estas plantas aprovechando la biodiversidad de nuestro país y mejorando la salud de la población.

### Formulación del problema

¿En qué medida los extractos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum* contienen metabolitos con actividad antibacteriana, capaz de eliminar agentes infecciosos como *Staphylococcus aureus* de interés clínico?

## JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades infecciosas son causadas principalmente por microorganismos que pueden ser bacterias, hongos, virus y parásitos, que por lo general se transmiten de forma directa o indirecta de una persona a otra y pueden extenderse hacia diferentes áreas geográficas, debido a los cambios o evolución de estos organismos <sup>5,6</sup>

En países subdesarrollados e industrializados las enfermedades infecciosas afectan particularmente niños, poblaciones indígenas y minorías en desventaja social. Debido a esto se han considerado como la segunda causa de muerte a nivel mundial, ya que de los 57 millones de muertes que ocurren en todo el mundo, 15 millones se deben a enfermedades infecciosas <sup>5,7</sup>.

Es evidente que el problema de las enfermedades infecciosas es global y muchos países no se escapan de esta realidad, pues día a día nos enfrentamos a diversas enfermedades causadas por bacterias resistentes a múltiples antibióticos.

Por lo tanto, el presente trabajo se realizó con el propósito de investigar nuevos principios activos, para el tratamiento de enfermedades infecciosas que hoy en día siguen siendo una amenaza para la salud de la población en general, debido a que han causado un alto índice de mortalidad.

Esto nos indica lo difícil que siguen siendo este tipo de enfermedades causadas por microorganismos, por lo cual hoy en día aunque contamos con industrias farmacéuticas y nuevas tecnologías, se ha dejado de lado la creación de nuevos antimicrobianos por ser procesos muy costosos y difíciles de financiarlos, dando lugar a la resistencia bacteriana por el uso indiscriminado de antibióticos ya existentes, constituyéndose así un grave problema de salud a nivel mundial.

Debido a esto fomentamos el uso de los recursos naturales y la medicina tradicional, como una alternativa mucho más económica, accesible y ecológica que ayude al mejoramiento de la salud.

## **HIPOTESIS**

Los extractos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum* tienen posibles metabolitos responsables de la actividad antibacteriana, contra microorganismos infecciosos tales como *Staphylococcus aureus*.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum*, mediante la información etnobotánica, métodos cromatográficos y modelos biológicos para determinar su posible uso terapéutico.

### OBJETIVO ESPECÍFICO

1. Obtener información etnobotánica de *P.odoratissimum*, mediante un procesamiento multivariado de una encuesta desde una perspectiva cultural y científica.
2. Analizar los parámetros físicos –químicos de la droga cruda y extractos de las hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum*.
3. Caracterizar los metabolitos presentes en los extractos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum*, mediante cromatografía en capa delgada y cromatografía líquida de alta eficacia.
4. Comparar el potencial antibacteriano de los extractos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum* en diferentes concentraciones, a través del método de difusión en disco y dilución en agar.

# CAPÍTULO I

## 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. *Pelargonium odoratissimum*

#### 1.1.1. Generalidades

La *Pelargonium odoratissimum* es una planta perenne, autofértil, también conocida como malva blanca, malva común y malva olorosa, la cual se ha utilizado como una planta ornamental por la fragancia de sus hojas. Crece durante todo el año y florece durante mayo a julio <sup>8,9</sup>.

**Figura 1. *Pelargonium odoratissimum*.**



**Fuente:** Corporación Utopía.

#### 1.1.2. Taxonomía

En el Ecuador existe una gran diversidad de plantas que pueden ser utilizadas en la medicina natural, entre ellas podemos encontrar a *Pelargonium odoratissimum* como una especie importante. En la Tabla 1 se describe su taxonomía, la cual permite diferenciarla de otras especies facilitando así el estudio de la misma.

**Tabla 1. Clasificación Taxonómica de *Pelargonium odoratissimum*.**

<b>Dominio</b>	Eukaryota
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Subreino</b>	Tracheobionta
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	Rosidae
<b>Orden</b>	Geraniales
<b>Familia</b>	Geraniaceae
<b>Género</b>	Pelargonium
<b>Especie</b>	<i>Odoratissimum</i>

**Fuente:** United States Department of Agriculture <sup>10</sup>.



### **1.1.3. Requerimientos medioambientales.**

La *Pelargonium odoratissimum* es una planta auto fértil muy sensible a las heladas que crece en zonas tropicales, mediterráneas y climas subtropicales , tolerando niveles de pH ácidos, básicos y neutros <sup>8,9</sup>.

### **1.1.4. Descripción botánica**

La *Pelargonium odoratissimum* contiene las siguientes características <sup>8,11</sup>:

- a. Es una planta que posee una altura de 20 a 30 cm de altura.
- b. Las flores son pequeñas de color blanco y rosa pálido.
- c. Las hojas son verdes, sencillas de 30 a 40 mm de diámetros, muy blandas, perennes, asimétricas y redondeadas con un ángulo basal obtuso que poseen un aroma a manzana.
- d. Posee un tallo fino, erecto y escamoso con ramas de floración de 60 cm de longitud aproximadamente.
- e. Las raíces son ligeramente tuberosas.

### **1.1.5. Distribución y hábitat**

La *Pelargonium odoratissimum* es una planta nativa de Sudáfrica, la cual se expande por toda Europa, Asia occidental y norte de África. Además, en los países de Francia, España, Argelia y Grecia es cultivada para la destilación de su aceite <sup>11</sup>. Actualmente se ha introducido en países Asiáticos y Sudamericanos, entre ellos el Ecuador y según se sabe se ha cultivado en jardines para fines ornamentales <sup>12</sup>.

### **1.1.6. Composición química**

Los aspectos botánicos, químicos y farmacológicos de la especie *Pelargonium odoratissimum* son revisados por Pombo et al., (2016), quien señala que esta planta en su composición química presenta flavonoides tales como quercetina, kaempferol y miricetina, además de aceites esenciales como metil-eugenol, limoneno y fencon, los cuales le brindan las propiedades farmacológicas a la planta. En su estudio farmacognóstico se encontraron 32 compuestos, los mismos que constituyen cerca del 73,97% de la composición relativa total del aceite, los cuales se encuentran representados en la Tabla 2 <sup>3</sup>:

**Tabla 2. Composición química del aceite esencial de *Pelargonium odoratissimum*.**

N°	Compuesto	%	N°	Compuesto	%
1	Linalol	0,32	17	Citronelil propionato	0,14
2	Mentona	0,6	18	Fenil-etil-butanoato	5,74
3	Citronelol	8,99	19	$\gamma$ -muroleno	0,4
4	Geraniol	12,69	20	Epizonareno	1,55
5	-cubebeno	0,43	21	cis- -bisabolenol	4,55
6	Ácido caprílico	2,1	22	trans-nerolidol	0,32
7	Acetato de geraniol	0,6	23	fenil etil tiglato	4,18
8	-copaeno	0,44	24	Neril iso-valerato	0,13
9	$\beta$ -bourboneno	0,55	25	Cedrol	0,44
10	Sibireno	0,58	26	$\gamma$ -eudesmol	11,4
11	Cariofileno	0,75	27	Agarospírol	0,39
12	Bergamoteno	10,63	28	Geranil tiglato	0,31
13	$\beta$ -cedreno	0,29	29	14-hidroxi- $\alpha$ -humuleno	0,21
14	Butanoato de linalol	0,42	30	Farnesol	0,41
15	$\beta$ -guaíeno	0,31	31	Acetato de nerolidol	0,56
16	$\gamma$ -elemeno	0,22	32	Acetato de cinamilo	3,32
<b>TOTAL: 73,97%</b>					
<b>FUENTE:</b> Pombo et al., (2016) <sup>3</sup> .					

### 1.1.7. Propiedades farmacológicas

Antiguamente, esta planta aromática ha sido utilizada para tratar afecciones de la piel como quemaduras, llagas, infecciones de garganta, gastroenteritis, eliminación de gases, entre otras.

Esto debido a que los aceites esenciales han demostrado poseer propiedades antibacterianas, antifúngica, antivirales, insecticidas y antioxidantes. A continuación, se enumeran algunas de las investigaciones que han permitido comprobar las actividades que posee *Pelargonium odoratissimum*, entre ellas:

- a. La actividad antimicrobiana del aceite esencial que fue comprobada a través de estudios contra cepas bacterianas de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus carbonarius* y *Aspergillus parasiticus* <sup>13</sup>.
- b. Actividad antifúngica, anti-aflatoxina y antioxidante de los aceites esenciales y su eficacia in vivo en la protección de semillas de garbanzo <sup>14</sup>.
- c. Efecto antifúngico del aceite esencial contra importantes hongos patógenos de los cereales <sup>15</sup>.
- d. Actividad espasmolítico del aceite esencial <sup>16</sup>.
- e. Actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de las hojas de *Pelargonium Odoratissimum* contra dos cepas de bacterias gram negativas (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) y dos cepas de bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Streptococcus spp*) <sup>17</sup>.

## **1.2.Cromatografía**

Es el método físico de separación en la que los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases: una de ellas permanece fija (Fase estacionaria) mientras que la otra se desplaza (fase móvil) en contacto con ella en una dirección definida sobre un sistema que contiene un sólido orgánico o inorgánico insoluble de mayor o menor grado de división, obteniéndose como resultado la retención de los componentes de la mezcla a diferentes distancias del punto de partida <sup>18,19,20</sup>.

### **1.2.1. Cromatografía en capa delgada (CCD).**

Es un método cromatográfico que permite identificar los metabolitos secundarios existentes en extractos vegetales, en el cual la fase estacionaria consiste en una capa delgada de un adsorbente (gel sílice, celulosa, alúmina), depositada sobre un soporte plano como una placa de vidrio o de aluminio que contiene la fase móvil, en donde la elección del eluyente se realizará de acuerdo a la polaridad del componente <sup>20</sup>.

La aplicación de la cromatografía de capa delgada, es un método imprescindible en cada laboratorio a causa de su nitidez de separación, sensibilidad, rapidez y sobre todo sencillez, además presenta innumerables ventajas como <sup>21,22</sup>:

- a) Establecer el control durante el desarrollo de la síntesis.
- b) Definir la relación de una mezcla.

- c) Poder elegir cualquier fase estacionaria, así la libertad de modificar la fase móvil, en busca de mejores resultados.

### **1.2.2. Cromatografía líquida de alta eficacia (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)**

Un sistema de HPLC es el que permite la separación y cuantificación de muestras complejas. Este sistema, consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil, que actúa de portador de la muestra, la cual es inyectada en el seno de la fase móvil donde es soluble y luego es transportada a través de una columna por el flujo continuo de fase móvil a alta presión. De esta manera se consigue <sup>19,23</sup> :

- a. Aumentar la eficacia de la separación al disminuir el tamaño de partícula.
- b. Reducir la duración del proceso de separación.
- c. Realizar la detección en continuo del eluato y por tanto la automatización.
- d. Trabajar en escala preparativa.

Por lo tanto, este es uno de los métodos más aplicados por las industrias químicas y farmacéuticas, así como en la biotecnología y la bioquímica, principalmente por su versatilidad, alta sensibilidad, fácil adaptabilidad e idoneidad para la separación de compuestos volátiles o termolábiles <sup>24</sup>.

### **1.3. Actividad antibacteriana**

Es la acción que posee una sustancia con el fin de matar o evitar el crecimiento de bacterias, las cuales muchas de las veces representan una amenaza para la salud humana. Estas sustancias pueden clasificarse en bactericidas (eliminan a las bacterias) y bacteriostáticos (impiden el crecimiento) según la acción que ejercen sobre las bacterias. Alrededor del 60% de la población mundial utiliza plantas naturales y productos derivados de ellas, para tratar diversas enfermedades.

Estos productos naturales hoy en día son utilizados como una de las “medicinas” de gran importancia por su efectividad, debido a que el 60 y 80% de fármacos son derivados de productos naturales, así como los extractos de plantas y/o compuestos puros, que proveen oportunidades ilimitadas para el desarrollo de nuevas drogas, que puedan ser utilizadas para el control bacteriano <sup>25</sup>.

### **1.3.1. Grupos químicos con acción antibacteriana aislados de plantas.**

La actividad antibacteriana de hierbas y plantas, es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antibacteriana de estos compuestos <sup>25</sup>.

Algunos de los grupos químicos con acción antibacteriana son:

#### **a) Fenoles.**

Los compuestos fenólicos son agentes de uso tópico, a los cual se les han atribuido una amplia gama de aplicaciones. El nivel de desinfección de estos agentes es intermedio y su actividad está en íntima relación con la concentración y la especie microbiana a tratar. Los fenoles poseen actividad bacteriostática o bactericida, fungicida, viricida y son más efectivos sobre las bacterias grampositivas que sobre las gramnegativas <sup>26</sup>.

#### **b) Quinonas.**

Son anillos aromáticos que poseen una alta reactividad, formando complejos con los aminoácidos hidrofílicos de las proteínas, la mayoría de las veces inactivándola y anulando su función. Por lo cual, el potencial antimicrobiano de este grupo es amplio <sup>27</sup>.

#### **c) Taninos.**

Son sustancias orgánicas presentes en extractos de plantas, los cuales actúan como defensas contra los diferentes microorganismos existentes, estos compuestos se han dividido en hidrolizables y condensados, cada uno con diversas actividades biológicas como: antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiano <sup>28</sup>.

#### **d) Cumarinas.**

Son compuestos derivados de la benzo- $\alpha$ -pirona que tienen actividad antiinflamatoria, vasodilatadora y acción antimicrobiana, gracias a la interacción con el DNA eucariótico que además explica también su actividad antiviral <sup>27</sup>.

#### **e) Alcaloides.**

Los alcaloides son un grupo de compuestos de baja masa molecular con un nitrógeno heterocíclico derivado de un aminoácido, se han identificado predominantemente de plantas, han sido utilizados como agentes anticancerígenos, analgésicos y antimaláricos, además de estas propiedades se ha reportado la actividad antimicrobiana, ya que provoca una intercalación entre la pared celular y el DNA del microorganismo <sup>29</sup>.

#### **f) Saponinas.**

Son glicósidos identificados en plantas que con una cadena de azúcares unida al carbono-3 tienen gran actividad microbicida, la cual depende de la ramificación de los azúcares, ya que cuando la saponina pierde un azúcar terminal, la cadena queda linealizada y la saponina pierde dicha actividad <sup>30</sup>.

Actúan como una barrera química o escudo en el sistema de defensa de la planta para contrarrestar los patógenos, además, pueden ejercer una amplia actividad biológica y farmacológica, destacándose su efecto insecticida, anti-inflamatorio, broncolítico, así como su actividad citotóxica frente a varias neoplasias <sup>31</sup>.

### **1.4. Bacteria de interés clínico**

#### **1.4.1. *Staphylococcus aureus***

Según la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) *Staphylococcus aureus* es uno de los 6 microorganismos de mayor importancia en la práctica médica diaria y representa una de las causas más frecuentes de infecciones en la comunidad, debido a que se encuentra ampliamente diseminado en el ambiente, provocando así un grave problema de salud <sup>32,33</sup>.

#### **1.4.2. Características**

El *Staphylococcus aureus* presenta características propias de la especie las cuales son <sup>34,35</sup>:

- a. Bacteria Gram-positiva no móvil.
- b. No forma esporas.
- c. Puede encontrarse solo, en pares, en cadenas cortas o en racimos.

- d. Es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias.
- e. El microorganismo produce catalasa, coagulasa y crece rápidamente en agar sangre.
- f. Sus colonias miden de 1 a 3 mm.
- g. Producen un típico pigmento amarillo, debido a la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24-36 horas.
- h. Coloniza persistentemente el nasofaringe y tracto gastrointestinal.

### **1.4.3. Enfermedades**

Este microorganismo posee un alto grado de patogenicidad y es responsable de una amplia gama de enfermedades, que van desde procesos banales hasta infecciones graves que comprometen la vida del paciente. *S. aureus* coloniza la piel y mucosas de 30 a 50% de adultos y niños sanos; el 20 % de forma permanente y hasta 30 % de forma intermitente <sup>32</sup>.

Sin embargo, *Staphylococcus aureus* es importante no solo porque ocasiona infecciones en diversas partes del organismo humano, sino porque es una de las principales bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. Tales enfermedades son causadas por diversas acciones, incluyendo la capacidad del patógeno de producir toxinas, siendo esto relativamente común en determinados sectores de la población y en algunas regiones geográficas desfavorecidas por la falta de sistemas de salud y de control <sup>33</sup>.

Las enfermedades causadas por esta bacteria son muy diversas, pero las más frecuentes son <sup>36,37</sup>:

- a. Infecciones del sistema nervioso central e infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis.
- a. Infecciones respiratorias como neumonía, bronquitis, sinusitis.
- b. Infecciones del tracto urinario como cistitis.
- c. Conjuntivitis, artritis, meningitis, enterocolitis, prostatitis.

### **1.4.4. Perfil antibiótico**

La resistencia de *S. aureus* a penicilina es un hecho desde que se empezó a utilizar de forma masiva en los años cuarenta, poco después aparecían las primeras cepas resistentes a meticilina.

Durante muchos años, los glicopéptidos y en concreto la vancomicina, han sido los antimicrobianos de elección para tratar este tipo de infecciones. No obstante, en los últimos años ha existido un incremento progresivo de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de vancomicina, lo cual se ha vuelto un nuevo contratiempo para el tratamiento. Debido a ello, linezolid, tigeciclina y daptomicina, han sido alternativas válidas a los glicopéptidos que se han utilizado en los últimos 10 años, sin embargo, han surgido también resistencias que han limitado su uso en algunas ocasiones, por lo que después de muchos años sin poder contar con nuevos antimicrobianos, nuevas opciones como dalvabancina, ceftarolina o tedizolid están disponibles para el uso contra este tipo de infecciones.

Es importante adecuar el tratamiento antibiótico una vez identificado el microorganismo y analizado su perfil de sensibilidad, debido a que no todos los antibióticos tienen la misma actividad intrínseca frente a *S. aureus* y la elección del tratamiento definitivo va a depender no solo del antibiograma, sino también de la condición clínica del paciente, de sus comorbilidades, de su función renal y del foco de infección <sup>38</sup>.



## CAPÍTULO II

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. MATERIALES

##### 2.1.1. Insumos

- Papel periódico
- Papel aluminio
- Tijeras
- Frascos color ámbar
- Fundas Herméticas
- Papel filtro
- Algodón
- Guantes de látex
- Mascarilla
- Cinta Parafilm
- Inyecciones de 1mL
- Bandejas de Aluminio

##### 2.1.2. Material de laboratorio

- Vasos de precipitación de 50-100-250-500-1000 mL PYREX
- Agitador de vidrio
- Crisoles y capsulas de porcelana
- Tubos de ensayo KIMAX
- Matraz Erlenmeyer 100-250 mL PYREX
- Probetas de 25-50-100 mL
- Embudos
- Picnómetro
- Balón de 500 mL PYREX
- Pipetas graduadas y volumétricas 5-10 mL
- Pipetas Pasteur
- Mechero
- Espátula
- Portaembudo de madera
- Pinzas
- Capilares
- Caja Petri
- Tubos eppendorf
- Filtro titan 3 con membrana PVDF
- Soportes
- Cámara Cromatográfica
- Placas de cromatografía en capa fina.
- Viales

## 2.2.EQUIPOS

- Balanza Analítica PIONEER OHAUS, serie PA214C (2013)
- Campana de extracción de gases (FUME HOOL FH1200)
- Refractómetro ANTON PARR, serie 81429837 (2014)
- Rotoevaporador (HEIDOLPH LABOROTA 4001)
- pH-metro digital BANTE, serie 2123545 (2013)
- Estufa MEMMERT, serie F-Nr8125413 (1984)
- Equipo UHPLC-PDA-MS Ultimate 3000
- Mufla (THERMO SCIENTIFIC)
- Cocineta (SCIENTIFIC)
- Equipo Clevenger
- Calibrador de Vernier.
- Desecador
- Lámpara UV-visible

## 2.3.REACTIVOS

- |  |  |
|--|--|
| - Agua destilada   | - Cloruro de Sodio en polvo  |
| - Sulfato de sodio anhídrido                                       | - Reactivo de Mayer  |
| - Etanol absoluto  | - Cloroformo: Metanol (9:1)  |
| - Ácido Clorhídrico concentrado                                    | - BAW (65:25:10)   |
| - Nitrato de plata   | - Extracto alcohólico de <i>Pelargonium odoratissimum</i>            |
| - Ácido clorhídrico al 1%  | - Extracto Hidroalcohólico 50:50 de <i>Pelargonium odoratissimum</i> |
| - Reactivo de Drangendorff   | - Metanol MeOH:H <sub>2</sub> O (8:2v/v).                            |
| - Reactivo de Wagner   | - Fase sólida (Sep-Park C18, 5g)                                     |
| - Reactivo Baljet  | - Acetonitrilo   |
| - Reactivo de Fehling A y B  | - Ácido Fórmico  |
| - Solución de Cloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica | - Columna accuore RP-MS (Thermo scientific) 100x2.1 mm x 2.6 um      |
| - Acetato de sodio   |  |
| - Cinta de magnesio metálico                                       |  |
| - Alcohol amílico  |  |

## 2.4.MÉTODOS

### 2.4.1. Recolección de información etnobotánica

En el presente trabajo se realizó una encuesta a los habitantes de la Parroquia Chantaco durante el mes de marzo del 2019, a través de un cuestionario constituido de 11 preguntas de tipo cerrada, con el fin de recolectar información sobre *P. odoratissimum* acerca de sus posibles actividades terapéuticas y usos.

Debido a que la población es desconocida, la selección de la muestra se realizó de acuerdo a la fórmula 1<sup>39</sup>, dando como resultado un total de 200 personas, las cuales fueron escogidas al azar y desearon participar de forma voluntaria, tomando en cuenta un nivel de significancia de 0,05, proporción de éxito de 0.85, proporción de fracaso de 0.15 y un margen de error del 5 %.

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 * p * q}{d^2} \quad (1)$$

Donde: n = Tamaño de la muestra, p = Probabilidad o porcentaje de éxito, q = Probabilidad o porcentaje fracaso, d = error muestral.

El análisis de la encuesta se realizó con el software IBM SPSS utilizando el test estadístico de reducción de dimensiones en escalamiento óptimo, para agrupar y encontrar grupos homogéneos de variables, con una convergencia de 0,0001 y iteraciones máximas de 100.

### 2.4.2. Material vegetal

Se utilizó las hojas y tallos de la especie *Pelargonium odoratissimum* procedentes de la parroquia Chantaco, a 30 km de la ciudad de Loja, ubicada entre los cerros Huaynapamba al Norte, Cutishapa al occidente, Matanerro (San Juan) al nor oriente y al sur de Loma Blanca, con la siguiente ubicación geográfica 3° 52' 47" S - 79° 19' 43" O, la misma que fue recolectada en los meses de abril y mayo.

### **2.4.3. Selección de la muestra.**

Se realizó una selección de las hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum*, garantizando que se encuentren en buen estado y se rechazó aquellas que presentaron cualquier tipo de afección por factores externos o internos como insectos, contaminación por arena u otro tipo de materia inorgánica, de modo que los resultados de la investigación no sean afectados.

### **2.4.4. Parámetros morfométricos**

Para realizar el análisis morfométrico, se utilizaron 100 hojas y 100 tallos procedentes de la especie de *Pelargonium odoratissimum*, para lo cual se necesitó un calibrador de Vernier con el fin de evaluar su longitud y ancho (cm) respectivamente, dichas partes de la planta fueron seleccionadas de manera aleatoria.

### **2.4.5. Obtención del Aceite Esencial (AE)**

#### **2.4.5.1. Preparación de la muestra para la obtención de AE.**

Las hojas y tallos frescos de *Pelargonium odoratissimum* se lavaron con abundante agua potable y seguidamente con agua destilada, para eliminar el polvo o cualquier otro tipo de impurezas presente, posteriormente, fueron ligeramente trituradas y utilizadas en el proceso de extracción en el menor tiempo posible, evitando así la volatilización de los compuestos aromáticos.

#### **2.4.5.2. Extracción del aceite esencial**

La extracción del aceite esencial se realizó según la metodología descrita por Pombo et al., (2016) y las Normas ISO 4731 del (2012), el cual determina que el método más adecuado para la extracción de estos compuestos volátiles es la hidrodestilación por arrastre de vapor en un equipo Clevenger, utilizándose 250 g de droga vegetal fresca entre hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum*, posteriormente, las partes aéreas se colocaron en el balón de 1000 mL con 800 mL de agua destilada, en un periodo de 3 a 4 horas a una temperatura constante de 98-99°C, finalmente para la decantación del aceite se utilizó sulfato de sodio anhídrido separándose de la capa acuosa<sup>3,40</sup>.

### **2.4.5.3.Determinación del rendimiento.**

Para la determinación del rendimiento, se tomó en cuenta la relación entre el peso del volumen obtenido del aceite esencial, con el peso de la droga cruda, utilizando la fórmula 2<sup>41</sup>:

$$R=V/M*100 \quad (2)$$

Donde:

R: rendimiento (%).

V: volumen de aceite esencial (ml).

M: masa del material vegetal (g).

### **2.4.6. Droga vegetal seca**

#### **2.4.6.1. Preparación de la muestra.**

Las hojas y tallos previamente seleccionados de *Pelargonium odoratissimum* se separaron y lavaron con agua potable y seguidamente con agua destilada, con el fin de eliminar cualquier tipo de impureza. Posteriormente, los tallos fueron cortados en partes pequeñas y llevados junto con las hojas a un proceso de secado, colocando las partes aéreas de la planta en secadores artesanales por 48 horas y posteriormente a la estufa marca MEMMERT, a una temperatura de 40°C por 72 horas, eliminando así totalmente la humedad.

Una vez terminado el proceso de secado, se procedió a fragmentar las hojas y tallos para almacenarlas en fundas herméticas identificadas<sup>42</sup>.

#### **2.4.6.2.Control de calidad de la droga seca**

El control de calidad consiste en múltiples ensayos por los que deben pasar las drogas vegetales, con el fin de garantizar el buen estado y calidad de las mismas, de tal manera que dichos controles fueron realizados por triplicado y basándonos en la metodología descrita por Miranda & Cuellar (2001), la Organización Mundial de la Salud del (2011) y otros organismos encargados de asegurar la inocuidad de los productos farmacéuticos<sup>43,44</sup>.

#### **2.4.6.2.1. Propiedades organolépticas**

El estudio de las propiedades organolépticas es un examen preliminar de la droga cruda, de tal manera que se evaluó el color, olor y textura de la misma, haciendo uso de los órganos de los sentidos.

#### **2.4.6.2.2. Contenido de humedad**

Se define como humedad a la cantidad de agua presente en la droga vegetal, el cual debe encontrarse entre los valores referenciales establecidos en la farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (2013) <sup>45</sup>, debido a que cantidades superiores puede afectar al procesamiento, conservación y calidad del producto.

Para determinar el contenido de humedad, se tararon las cápsulas de porcelana por 30 min a una temperatura de 100 a 105°C, se las llevó a un desecador para su enfriamiento y posterior pesado, una vez realizado este procedimiento se pesó en las cápsulas 2 g de la droga cruda y se las llevó a la estufa marca MEMMERT, a una temperatura de 105°C por 3 horas, transcurrido el tiempo, se colocaron al desecador hasta alcanzar una temperatura ambiente para su posterior pesado, finalmente las cápsulas fueron llevadas a la estufa durante 1 hora más, hasta obtener peso constante. Los resultados del ensayo se expresan mediante fórmula 3:

$$Hg = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 \quad (3)$$

Donde: Hg = Pérdida en peso por desecación (%),  $M_2$  = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g),  $M_1$  = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g), M = Masa de la cápsula vacía (g), 100 = Factor matemático

#### **2.4.6.2.3. Contenido de cenizas totales**

Para determinar las cenizas totales, se pesó en una balanza analítica marca PIONEER OHAUS 2 g de la droga cruda en un crisol de porcelana que esté previamente tarado. Luego, se colocó el crisol con la droga pesada en la mufla durante tres horas a una temperatura de 700-750°C, hasta lograr su completa carbonización e incineración.

Para finalizar, la muestra carbonizada se la lleva al desecador para su enfriamiento y posterior proceso de pesado, expresando los resultados mediante la fórmula 4:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 \quad (4)$$

Donde: C = Porcentaje de cenizas totales en base hidratada (%), M = Masa del crisol vacío (g), M<sub>1</sub> = Masa de crisol con la porción de ensayo (g), M<sub>2</sub> = Masa del crisol con la ceniza (g), 100 = Factor matemático para los cálculos

#### **2.4.6.2.4. Determinación de cenizas solubles en agua.**

Para realizar la determinación de cenizas solubles en agua se utilizó las cenizas totales, a las cuales se le añadieron 15 mL de agua destilada, dejando hervir por 5 minutos con el crisol tapado para luego filtrar la solución obtenida.

El residuo que queda en el papel filtro se lo coloca en un crisol de porcelana y se lo lleva a la mufla marca THERMO SCIENTIFIC durante 3 horas, a una temperatura de 700 a 750°C hasta lograr una completa incineración.

Para finalizar se pesa el crisol con la muestra incinerada y se realizan los cálculos usando la fórmula 5:

$$Ca = \frac{M_2 - Ma}{M_1 - M} \times 100 \quad (5)$$

Donde: Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada, M<sub>2</sub> = masa del crisol con las cenizas totales (g), Ma = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g), M<sub>1</sub> = masa del crisol con la muestra de ensayo (g), M = masa del crisol vacío, 100 = factor matemático.

#### **2.4.6.2.5. Determinación de cenizas insolubles en HCL.**

Se añadió de 2-3 ml de ácido clorhídrico al 10% a las cenizas totales, posterior a aquello se tapó el crisol y se llevó a baño maría por 10 minutos. La tapa se lavó con 5 ml de agua caliente y se añadió el contenido al crisol para luego ser filtrado.

El residuo que queda en el papel filtro se lavó con agua caliente y se aciduló con  $\text{HNO}_3$ , luego se añadió una o dos gotas de  $\text{AgNO}_3$  a una concentración de 0.1 M. Con la ayuda de una estufa marca MEMMERT, se desecó el filtrado con el residuo a una temperatura de 100 a 150°C e incineró durante 2 horas en la mufla a una temperatura de 700–750°C. Finalmente se pesó el crisol previamente enfriado en un desecador y los resultados se expresan mediante la fórmula 6:

$$B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 \quad (6)$$

Donde: B = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada, M = masa del crisol con la porción de ensayos (g),  $M_1$  = peso en g de la cápsula con la muestra,  $M_2$  = peso en g de la cápsula con la muestra calcinada.

#### **2.4.6.2.6. Determinación de sustancias solubles**

Se pesó 5 g de la droga cruda molinada y se colocó en un Erlenmeyer de 250 mL de capacidad, al cual se le añadió 100 mL de disolvente (Alcohol, Mezclas Hidroalcohólicas y agua). Se tapó con papel filtro y se agitó por 6 horas, posterior a ello se dejó reposar por 24 horas.

Luego de las 24 horas se agitó por media hora más y se filtró, el filtrado obtenido se tomó una alícuota de 0.02 L que equivalen a 20 mL y se colocó en una cápsula previamente tarada que se llevó a evaporación por baño maría para posterior desecación en una estufa marca MEMMERT a 105°C por 3 horas. Se deja enfriar, se pesa y expresan los resultados mediante la fórmula 7:

$$Ss = \frac{R * 500 * 100}{M(10 - H)} \times 100 \quad (7)$$

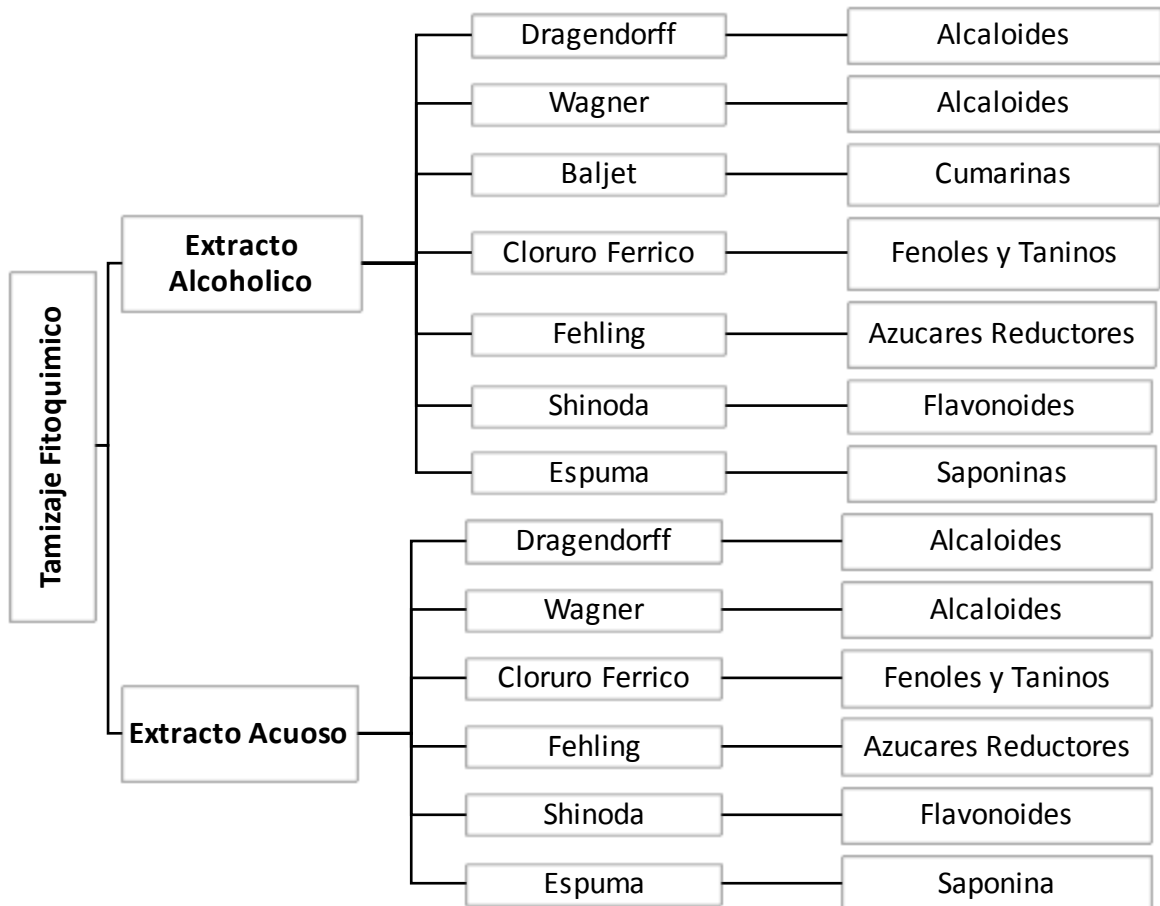
Donde: Ss = Sustancias solubles, H= Humedad de la muestra (%), 500 y 100 = Factores matemáticos para los cálculos, R = Residuo de la muestra (g), M = Masa de la muestra (g).



### 2.4.7. Screening fitoquímico

Es un ensayo preliminar de tipo cualitativo, el cual permite detectar metabolitos presentes en un extracto vegetal mediante reacciones químicas de precipitación y color, para ello se utilizó 2 mL de cada uno de los extractos y los reactivos correspondientes a los ensayos planteados en la figura 2 <sup>44</sup>:

**Figura 2. Ensayos para screening fitoquímico**



**Fuente:** Miranda & Cuellar (2001).

### 2.4.8. Obtención del extracto

La obtención del extracto se realizó siguiendo la metodología de Miranda & Cuellar (2001), utilizando una extracción por percolación a partir de la droga seca y fragmentada, en cuanto a la selección del disolvente, se realizó en base a la investigación de Gomes et al., (2014) el cual uso como disolvente etanol <sup>46</sup>.

Se procedió a pesar 20 g de droga seca en una balanza analítica marca PIONEER OHAUS, con desviación permisible de 0,5 g y se humectó con los solventes de extracción (Etanol absoluto y mezcla hidroalcohólica de etanol: agua; 50:50) durante un periodo de 30 minutos, luego se transvasó al equipo de percolación y se colocó papel filtro sobre la mezcla, adicionando la cantidad necesaria de menstro hasta que este cubra la masa vegetal y quede de 3 a 5 cm por encima de ella.

Se deja macerar en el percolador cerrado por un periodo de 24 horas, pasado este periodo se procede a abrir la llave a 20 gotas por minuto.

Los extractos obtenidos fueron almacenados en frascos ámbar protegidos de la luz y almacenados en refrigeración hasta la realización de los análisis correspondientes.

#### **2.4.9. Control de calidad de los extractos vegetales**

Los métodos utilizados para el control de calidad de los extractos nos permitieron garantizar la eficiencia, estabilidad y seguridad de los mismos, a través de técnicas analíticas simples, precisas y confiables, por consiguiente los parámetros de calidad se realizaron por triplicado, teniendo en cuenta la normativa de la OMS (2011) y Miranda & Cuellar (2001) <sup>43,44</sup>.

##### **2.4.9.1. Propiedades organolépticas**

El análisis sensorial se realizó con el fin de evaluar las características presentes en cada uno de los extractos, considerándose principalmente el color y olor:

- a. **Determinación de olor:** Se evaluó de acuerdo a una escala propia de percepción olfativa. Con la ayuda de una tira de papel filtro, se tomó una muestra que estuvo contenida en un tubo de ensayo y se determinó el olor según la valoración del investigador.
- b. **Determinación de color:** Cada extracto estuvo contenido en tubos de ensayo con 5 mL de la muestra, tomándose en cuenta la presencia de partículas, intensidad de color y transparencia.

#### **2.4.9.2.Determinación de densidad relativa**

La densidad relativa consiste en la variación entre masas para determinar así el grado de pureza de la muestra problema, el ensayo se realizó por picnometría y con una balanza analítica marca PIONEER OHAUS.

Se pesó el picnómetro vacío, con agua y extractos dependiendo de la capacidad. Los resultados se expresaron en mg/ml mediante la fórmula 8:

$$D = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} \quad (8)$$

Donde: D = Densidad relativa,  $M_1$  = Peso del picnómetro con la muestra (g), M = Peso del picnómetro vacío (g),  $M_2$  = Peso del picnómetro con el agua (g).

#### **2.4.9.3.Determinación de pH**

El pH expresa el grado de acidez o alcalinidad de la muestra ensayo, para la realización de este parámetro se inició con la calibración del pH-metro digital marca BANTE, una vez regulado se procede a la lectura y finalmente se determina el valor del pH de la muestra.

#### **2.4.9.4.Determinación de índice de refracción y °Brix**

Estos parámetros se realizaron en un Refractómetro de marca ANTON PAR, colocándose aproximadamente 1 mL de cada extracto. Se determinó los valores para cada ensayo.

#### **2.4.9.5.Determinación de sólidos totales**

Se añadió 5 mL del extracto en una cápsula previamente tarada, se evaporó sobre un baño de agua hasta que el residuo esté aparentemente seco, posteriormente se trasladó a la estufa de secado marca Memmert durante un periodo de 3-4 horas a 105°C, finalmente terminado este proceso se coloca en un desecador hasta que alcance una temperatura ambiente y se pesó hasta obtener un peso constante. Los resultados se expresan mediante la fórmula 9:

$$St = \frac{P_r - P}{V} \times 100 \quad (9)$$

Donde:  $P_r$  = masa de la cápsula más el residuo (g),  $P$  = masa de la cápsula vacía (g),  $V$  = volumen de la porción de ensayo, 100 = factor matemático para el cálculo.

#### **2.4.10. Cromatografía en capa delgada (CCD)**

El análisis de los extractos fueron realizados mediante cromatografía en capa delgada (CCD) para la identificación de compuestos, empleando placas de Sílica gel GF<sub>254</sub>, fases móviles como: Cloroformo: Metanol (9:1); Butanol: ácido acético: agua (65:25:10). Además se utilizó revelados físicos (Luz ultravioleta) y químicos (Ácido Sulfúrico, vainillina).

Para realizar la corrida cromatográfica, se empleó una cámara de vidrio de 21,5 de altura, 23 cm x 6 cm en la base y 28 cm x 13 cm el área de la carga superior. El proceso se realizó bajo una cámara extractora de gases proporcionando así las condiciones óptimas de seguridad y trabajo.

#### **2.4.11. Identificación de compuestos en extractos secos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum* por UHPLC-PDA-MS**

Para la identificación de componentes presente en hojas y tallos de *P.odoratissimum* se establecieron condiciones óptimas, las cuales corresponden a:

- Columna accucore RP-MS (Thermo scientific) 100 x 2.1 mm x 2.6  $\mu$ m
- Volumen de inyección: 2  $\mu$ L
- Temperatura: 35 C
- Concentración de la muestra: 10 mg/mL
- Fase móvil: Fase B (Acetonitrilo) y Fase D (0.1% de Ácido Fórmico)

A continuación se detalla el procedimiento realizado para el análisis de las muestras:

Preparación del Extracto Seco: Los extractos etanólicos de hojas y tallos de *P. odoratissimum* fueron filtrados y concentrados en un Rotoevaporador (HEIDOLPH LABOROTA 4001) hasta su sequedad, posteriormente fueron almacenados en frascos de vidrio hasta su uso.

Tratamiento de las muestras: A partir de los extractos secos, las muestras fueron pasadas a través de una columna de extracción en fase sólida (Sep-Park C18, 5g) para eliminar las clorofilas y compuestos apolares. La columna se acondicionó y eluyó con MeOH:H<sub>2</sub>O (8:2v/v). El eluato se concentró en un rotoevaporador a 40°C para obtener los extractos secos.

Análisis de los extractos en el UHPLC-PDA.MS: Los extractos secos (10 mg) se disolvieron en 1 mL de MeOH grado HPLC y se filtraron a través de filtros Titan 3 con membrana de PVDF (17 mm y 02 µm) directamente a viales de vidrio transparente (12x32mm), estos se inyectaron en el equipo UHPLC-PDA.MS Ultimate 3000 equipado con un detector de arreglo de diodos, el cual registró cromatogramas a 214, 250, 280 y 330 nm, donde se obtuvo espectros UV-Vis en el rango 200-600 nm. El detector de masas LTQ XI contiene una fuente de ionización por electronebulización y un analizador de trampa lineal de iones, en el cual se realizaron experimentos en modo ion negativo y positivo en forma scan dependiente en el rango de masas de 100-1000 Da para obtener espectros MS/MS. El voltaje del spray fue de 5kV y 50V para capilar y la temperatura de la fuente de 225°C. Las relaciones de gas principal, auxiliar y barrido fueron 34:5:3(nitrógeno, unidades arbitrarias).

El flujo de la fase móvil fue de 0.400mL/min a un gradiente de 0 min, 15% de B hasta 44 min, 100% de B y 0 min, 85% de D hasta 44 min, 5% de D.

#### **2.4.12. Análisis microbiológico**

Para la determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de *Pelargonium odoratissimum*, se utilizó el laboratorio Bioquímico Médico BIOMEDILAB del cantón Santa Rosa, ubicado en Cdlá Central Avenida Jofre Lima y los Laureles.

#### **2.4.12.1. Selección de microorganismos**

Para evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de hojas y tallos de *P. Odoratissimum*, se utilizaron cepas de *S. aureus* aisladas y purificadas.

#### **2.4.12.2. Preparación del agar**

Se pesó 19 g de Agar Mueller Hinton, que fueron suspendidos en 500 mL de agua purificada para llevar a calentamiento con una agitación frecuente hasta su ebullición y disolución completa del polvo.

Posteriormente, se colocaron 25 ml de agar en tubos tapa rosca para llevar a esterilizar al autoclave a 121°C durante 15 minutos, una vez esterilizado se deja enfriar a 45 - 50°C y se procede a distribuir en cada una de las cajas Petri previamente esterilizadas para que se solidifiquen a temperatura ambiente <sup>47</sup>.

#### **2.4.12.3. Preparación del inóculo**

Se tomó con el asa bacteriológica colonias de la batería en estudio y se transfirió a un tubo que contenía 3 mL de Cloruro de sodio 0.9 % (NaCl), el cual se homogenizó en un vortex hasta obtener la turbidez de la escala 0.5 de MacFarland, la misma que permitió la preparación de inóculos normalizados para pruebas de sensibilidad antimicrobiana <sup>48,49</sup>.

#### **2.4.12.4. Inoculación**

La inoculación se realizó en los dos métodos dentro de los 15 min de la preparación del inóculo. Para ello se tomó un hisopo estéril, el cual se humedeció en el tubo que contenía la solución bacteriana a escala 0.5 McFarland, el mismo que fue estriado mediante la técnica de agotamiento.

#### **2.4.12.5. Método de difusión en disco (Kirby-Bauer)**

Dentro de los métodos para la determinación de la sensibilidad bacteriana en extractos naturales se encuentra el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), el cual se caracteriza por ser de fácil estandarización y reproducibilidad, ya que es uno de los métodos recomendados por el Subcomité de ensayos de susceptibilidad del NCCLS de los Estados Unidos <sup>50</sup>.

Para el desarrollo del mismo se describe la técnica utilizada a continuación <sup>51</sup>:

1. Se preparó diluciones de 1/2, 1/4, 1/5, 1/10 a partir del extracto concentrado.
2. Se realizó la inoculación de la bacteria en el agar a campo lleno.
3. Se colocó sobre la superficie de la placa de agar inoculada cada uno de los discos de papel filtro.
4. Los discos se impregnaron con 25 µL de los extractos puros, diluciones y blancos.
5. Finalmente se incubaron las placas a una temperatura de  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 h y se midieron los halos de inhibición incluyendo el diámetro de los discos.

#### **2.4.12.6. Método de dilución en agar**

La dilución en agar es uno de los métodos que permitió de manera apropiada determinar cuantitativamente la actividad antimicrobiana. Con esta técnica se puede obtener la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), la que se define como la mínima concentración de extracto que inhibe el crecimiento de una cepa bacteriana determinada <sup>52</sup>.

Para el desarrollo del mismo se describe la técnica utilizada a continuación <sup>53</sup>:

1. Se preparó diluciones de 1/2, 1/4, 1/5, 1/10 a partir del extracto concentrado.
2. Se mezcló el agar con cada una de las diluciones del extracto de la planta.
3. Se agitó la mezcla agar-extracto, con el fin de obtener una solución homogénea y se deja solidificar.
4. Se inoculó la bacteria asegurándose de que la totalidad de la superficie del medio quedará inoculada masivamente.
5. Las placas fueron incubadas a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  por 18 a 24h.
6. Finalmente se realizó la lectura de la susceptibilidad antimicrobiana por observación de la presencia o ausencia de crecimiento en la superficie del agar.

#### **2.4.13. Análisis Estadístico**

Los datos del estudio fueron procesados mediante el software estadístico IBM SPSS versión 25, donde se obtuvo resultados estadísticos de tendencia central y dispersión como la media y desviación estándar. Además, se realizaron comparaciones las cuales fueron evaluadas por la prueba t student para muestras independientes y ANOVA doble, tomando en cuenta un nivel de significación del 0.05.

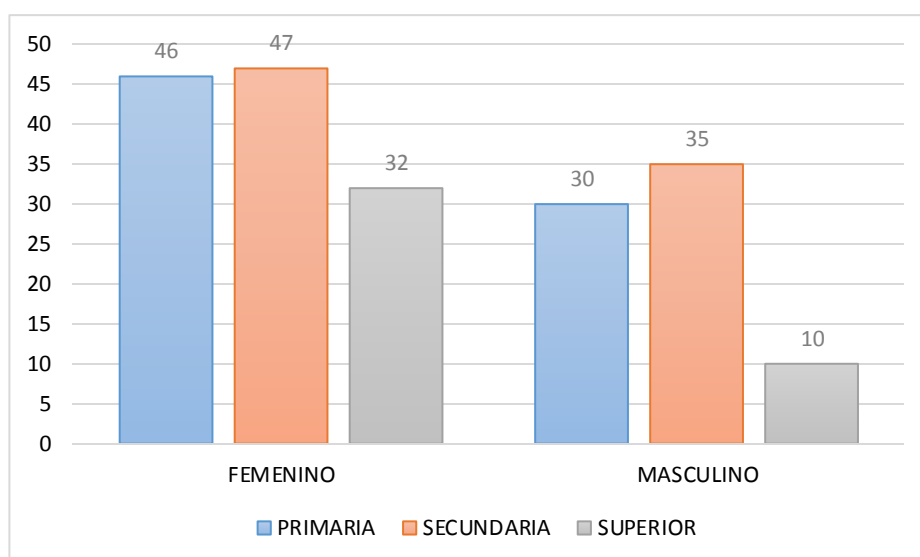
## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Análisis de la recolección de información etnobotánica

La figura 3 muestra los resultados del grado de instrucción de los habitantes de la Parroquia Chantaco entre hombres y mujeres, los mismos que tienen relación con el conocimiento acerca de nuestra planta en estudio. Del total de 200 personas encuestadas, el 62.5 % fueron mujeres y el 37.5% hombres, los cuales presentaron un nivel de instrucción entre primaria y secundaria mayoritariamente.

**Figura 3. Grado de instrucción de los habitantes de la Parroquia Chantaco**



A continuación se evidencian las respuestas obtenidas de las 162 personas que conocían a *P.odoratissimum*, resultados que fueron procesados mediante el test estadístico reducción de dimensiones en escalamiento óptimo, con el fin de agrupar dimensiones y analizar la relación entre variables según la distancia existente entre las categorías.

En la tabla 3 de resumen del modelo, se puede observar que se crearon 2 dimensiones, la cual permite analizar la importancia de cada una de ellas.



Además, se puede evidenciar que la primera dimensión es más importante que la segunda, debido a que existe más inercia en la dimensión 1 (0,757) que en la segunda (0,573).

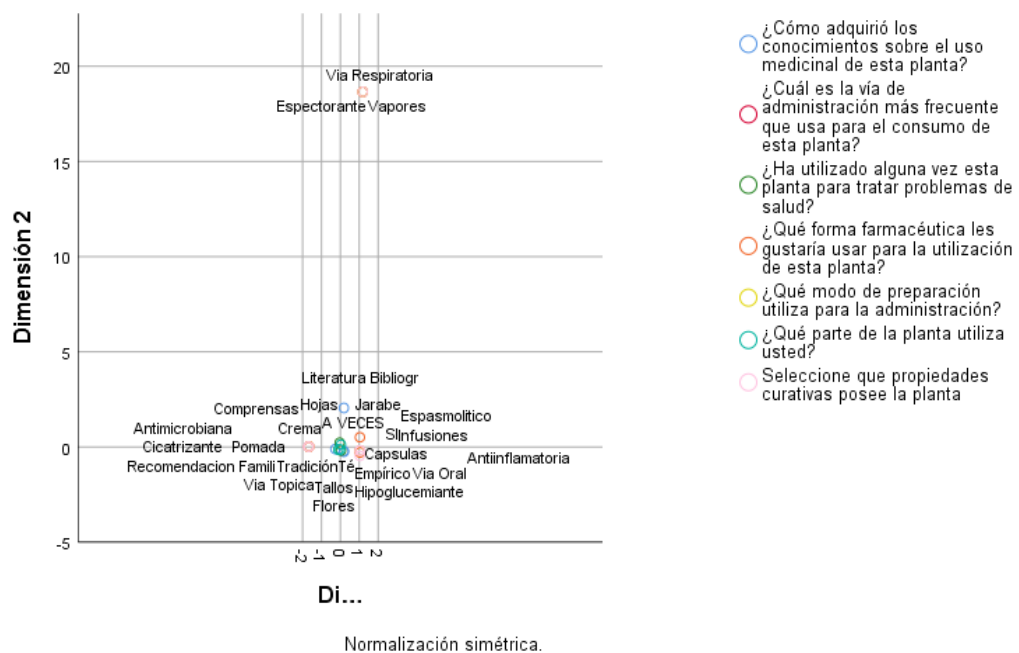
**Tabla 3. Resumen de Modelo**

Dimensión	Alfa de Cronbach	Varianza contabilizada para		
		Total (autovalor)	Inercia	% de varianza
1	.946	5.298	.757	75.687
2	.876	4.008	.573	57.264
Total		9.307	1.330	
Media	.916 <sup>a</sup>	4.653	.665	66.476

a. La media de alfa de Cronbach se basa en la media de autovalor.

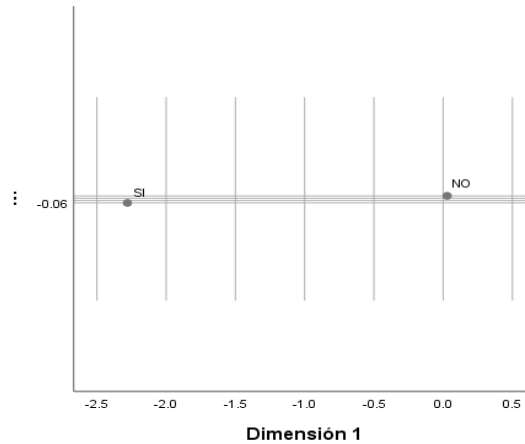
En la figura 4 del diagrama conjunto de puntos de categorías se presentan todas las variables, donde se analizó la cercanía o lejanía con el origen, además de la distribución a lo largo de cada eje, observándose que nuestra planta en estudio no posee acción expectorante, no es utilizada en vapores, ni administrada por vía respiratoria. Estas no guardan relación por la distancia existente con el resto de las variables.

**Figura 4. Diagrama conjunto de puntos de categorías**



Para analizar los efectos adversos de *P.odoratissimum*, se realizó la figura 5 de punto de categoría, determinándose que nuestra planta en estudio no posee efectos adversos.

**Figura 5. Puntos de Categoría: ¿En alguna ocasión esta planta le causó efectos adversos?**



En la tabla 4 se identifica el nivel de asociación entre las variables. Los valores de coeficiente de correlación encontrados, mostró que las propiedades curativas que posee la planta, la vía de administración más frecuente y el modo de preparación para su administración estuvieron cercanas con un  $r=1$ .

**Tabla 4. Matriz de correlaciones de variables transformadas**

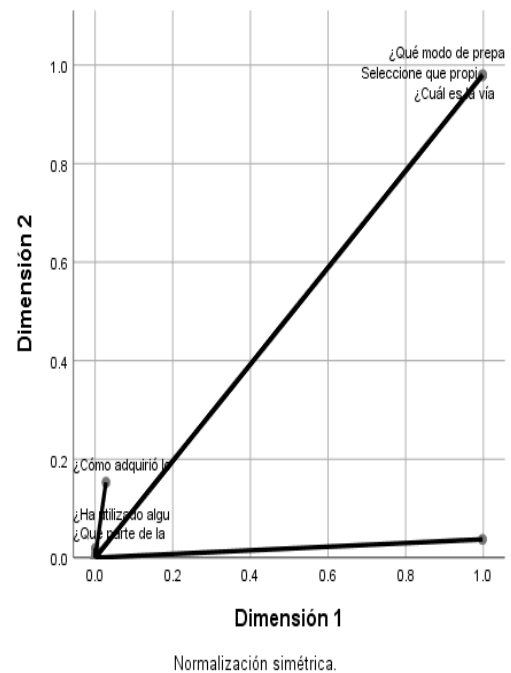
	¿Ha utilizado alguna vez esta planta para tratar problemas de salud?	¿Cómo adquirió los conocimientos sobre el uso medicinal de esta planta?	Seleccione que propiedades curativas posee la planta	¿Qué parte de la planta utiliza usted?	¿Cuál es la vía de administración más frecuente que usa para el consumo de esta planta?	¿En alguna ocasión esta planta le causó efectos adversos su salud?	¿Qué forma farmacéutica les gustaría usar para la utilización de esta planta?	¿Qué modo de preparación utiliza para la administración?
¿Ha utilizado alguna vez esta planta para tratar problemas de salud?	1.000	.284	.007	-.032	.007	.008	.007	.007
¿Cómo adquirió los conocimientos sobre el uso medicinal de esta planta?	.284	1.000	.124	.116	.123	-.091	.122	.123
Seleccione que propiedades curativas posee la planta	.007	.124	1.000	.015	1.000	.142	1.000	1.000
¿Qué parte de la planta utiliza usted?	-.032	.116	.015	1.000	.015	-.013	.015	.015
¿Cuál es la vía de administración más frecuente que usa para el consumo de esta planta?	.007	.123	1.000	.015	1.000	.142	1.000	1.000
¿En alguna ocasión esta planta le causó efectos adversos su salud?	.008	-.091	.142	-.013	.142	1.000	.142	.142
¿Qué forma farmacéutica les gustaría usar para la utilización de esta planta?	.007	.122	1.000	.015	1.000	.142	1.000	1.000
¿Qué modo de preparación utiliza para la administración?	.007	.123	1.000	.015	1.000	.142	1.000	1.000
Dimensión	1	2	3	4	5	6	7	8
Autovalor	4.046	1.304	1.032	.964	.654	.000	.000	.000

La tabla 5 y figura 6 indican que entre más lejos del origen, más explicativa son las variables, y la cercanía con una u otra dimensión dan cuenta de su relación y su importancia dentro del estudio. De tal manera hemos podido observar que las variables más incidentes son: las propiedades curativas que posee la planta, la vía de administración más frecuente y el modo de preparación para su administración.

**Tabla 5. Medidas discriminantes**

	Dimensión		Media
	1	2	
¿Ha utilizado alguna vez esta planta para tratar problemas de salud?	.001	.019	.010
¿Cómo adquirió los conocimientos sobre el uso medicinal de esta planta?	.025	.153	.089
Seleccione que propiedades curativas posee la planta	.997	.980	.988
¿Qué parte de la planta utiliza usted?	.001	.008	.004
¿Cuál es la vía de administración más frecuente que usa para el consumo de esta planta?	.997	.980	.988
¿En alguna ocasión esta planta le causo efectos adversos su salud?	.033	.000	.016
¿Qué forma farmacéutica les gustaría usar para la utilización de esta planta?	.997	.037	.517
¿Qué modo de preparación utiliza para la administración?	.997	.980	.988
Total activo	4.046	3.156	3.601
% de varianza	50.573	39.447	45.010

**Figura 6. Medidas discriminantes**



Por lo tanto, en la recolección de información se determinó que la mayoría de habitantes hacen uso de la planta por tradición o recomendación familiar, ya que tienen confianza en la medicina tradicional. Dentro de las actividades terapéuticas que presentan las partes aéreas de *P.odoratissimum* se pueden mencionar: espasmolítica, antimicrobiana, antiinflamatoria y cicatrizante. La vía de administración más frecuente que utilizan es la vía oral y tópica, a través de compresas e infusiones, por lo que muchas de las personas encuestadas desearían la aplicación de las propiedades en una forma farmacéutica, especialmente en té, cremas y jarabe.

### 3.2. Caracterización morfométrica de la droga fresca

El valor obtenido del largo y ancho de las hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum* se describen en la tabla 6, los cuales son aproximados a los establecidos por la literatura. Además de la caracterización morfométrica, se realizó un estudio macroscópico, en el cual se puede observar que las hojas de esta especie presentaron una coloración verde con aroma a manzana y textura blanda. Los tallos fueron de color verde, finos y escamosos, los datos coinciden con los reportados por Christodoulakis et al., (2013) <sup>11</sup>.

**Tabla 6. Características morfométricas de las hojas y tallos de *P.odoratissimum* n=100.**

Parte aérea	Longitud (cm)	Ancho (cm)
	X/SD	X/SD
<b>HOJAS</b>	4,97/0,02	4,99/0,05
<b>TALLOS</b>	16,02/0,02	0,05/0,01

### 3.3. Obtención del Aceite Esencial (AE)

Los aceites esenciales son sustancias aromáticas responsables de las fragancias de las flores u otros órganos vegetales, en la tabla 7 se muestra las características organolépticas, volumen y rendimiento del aceite esencial obtenido de las hojas de *P. odoratissimum*, el cual fue de 0.16%, resultado que difiere con lo descrito por Pombo et al.,(2016), que obtuvo un rendimiento de 0,3% m/v, diferencias que pudieron ser atribuidas al bajo contenido de aceites esenciales, tamaño de partícula y tiempo de recolección de la planta <sup>3</sup>.

**Tabla 7. Obtención del Aceite Esencial de *P.odoratissimum***

Especie	Color	Olor	mL Obtenidos	Rendimiento (%)
<i>Pelargonium odoratissimum</i>	Ligeramente verde	Característico	0.5 mL	0.16 %

### 3.4. Control de calidad de droga cruda

Para el empleo terapéutico de las drogas vegetales, es necesario realizar un control basado en numerosos ensayos, los cuales permitan asegurar la calidad y eficacia de las mismas, en la tabla 8 se detallan los resultados obtenidos en el estudio.

**Tabla 8. Control de calidad de la droga cruda (media/SD; n=3)**

Ensayos		Hojas	Tallos
Humedad (%)		7,59/0,005	10,15/0,000
Cenizas Totales (%)		3,11/0,001	3,96/0,002
Cenizas Insolubles en HCl (%)		0,58/0,001	1,54/0,001
Cenizas Solubles en H <sub>2</sub> O (%)		2,42/0,003	2,29/0,002
Sustancias Solubles	Agua	9,15/0,002	23,76/0,001
	Alcohol	7,41/0,436	3,71/0,285
	Mezcla Hidroalcohólica	15,96/0,001	25,86/0,002

Uno de los ensayos es el contenido de humedad, que representa un parámetro básico en el control de calidad de la droga vegetal, debido a que el deterioro por parte de microorganismos estará condicionado por porcentajes de agua superiores a los establecidos por las normas y Farmacopeas, las cuales indican que los límites permisibles van entre 8 y 14 % con algunas excepciones, siendo así se ha podido observar que el promedio de humedad de *P.odoratissimum* se encontró dentro del rango permitido, que fueron de 7.59 % para hojas y 10,15% para tallos, las cuales no muestran diferencias significativas.

En la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (2013), se han establecido parámetros para cenizas totales (< 5%) y para cenizas insolubles en HCl (< 2%), los cuales ayudan a descartar posibles adulteraciones en la droga vegetal, los mismos que al ser analizados y comparados con el estudio, han demostrado encontrarse dentro de los valores permitidos. No obstante, se ha podido observar diferencias entre las hojas y tallos de *P.odoratissimum*, dando un mayor contenido de cenizas totales e insolubles en HCl en los tallos y una mayor acumulación de cenizas solubles en agua para hojas, indicativas de mayor contenido de minerales, resultados que podrían estar relacionados a diversos factores ambientales <sup>45</sup>.

En cuanto a los resultados de sustancias solubles detallados en la tabla 8, indican que las mezclas hidroalcohólicas disuelven mayor proporción de componentes en hojas y tallos de *P.odoratissimum*, a diferencia de los valores obtenidos para el disolvente acuoso y alcohólico, siendo este último menor a todos. Sin embargo, este ensayo solo proporciona información acerca de la capacidad extractiva de un disolvente, más no del tipo de metabolito a extraer <sup>54</sup>.

### 3.5. Screening fitoquímico

La tabla 9 reporta los resultados obtenidos en la identificación cualitativa de metabolitos, dando positivo en el extracto alcohólico para alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, cumarinas y taninos en las hojas, siendo estos tres últimos similares para tallos. Estos resultados al ser comparados con el estudio realizado por Abdulmageed et al.,(2018) <sup>17</sup>, acerca del desarrollo de un cribado fitoquímico en *P.odoratissimum* con un extracto metanólico, han demostrado similitudes en los componentes. De igual manera se desarrolló el análisis del extracto acuoso de hojas y tallos, obteniéndose la presencia de flavonoides, cumarinas, saponinas, adicionalmente se obtuvo un resultado positivo de alcaloides y azúcares reductores únicamente para hojas y taninos para tallos. Estos resultados comprueban que tanto el extracto alcohólico como acuoso, presentan posibles metabolitos responsables de la actividad antibacteriana entre otras.

**Tabla 9. Screening fitoquímico realizado a los extractos de hojas y tallos de *P.odoratissimum***

METABOLITO	ENSAYO	Extracto alcohólico		Extracto acuoso	
		Hojas	Tallos	Hojas	Tallos
Alcaloides	Dragendorff	++	-	+	-
	Wagner	++	-	+	-
	Mayer	+	-	+	-
Flavonoides	Shinoda	+	+	+	+
Cumarinas	Beljet	+	+	+	+
Saponinas	Espuma	-	-	+++	++
Taninos	Cloruro férrico	+++	+++	+++	+++
Azúcares reductores	Felhing	+	-	+	-
Presencia(+), Ausencia(-)					

### 3.6. Análisis de los extractos

#### 3.6.1. Propiedades organolépticas

Dentro del control de calidad de un extracto es necesario realizar un análisis organoléptico, el cual permitió obtener como resultado características físicas similares en ambos extractos, percibiéndose un aroma característico de la planta y observando un aspecto líquido, a diferencia del color, que fue ámbar para extractos hidroalcohólicos y verde intenso en extractos de tipo alcohólico tanto para tallos y hojas de *P.odoratissimum*. A lo largo del estudio estas características se mantuvieron constantes.

#### 3.6.2. Parámetros de calidad de los extractos

La tabla 10 muestra los resultados de los ensayos físicos y químicos para el control de calidad de extractos realizados a 21°C como son pH, densidad, °Brix, glucosa, fructosa y sólidos totales, los mismos que al ser analizados estadísticamente, han demostrado presentar variaciones significativas del 0,00 ( $p < 0,05$ ) tanto en hojas y tallos de los extractos alcohólicos e hidroalcohólicos, mientras el índice de refracción no mostró diferencias en las partes vegetativas de la planta, ni en los diferentes tipos de extracto.

Estas diferencias estadísticas, pueden generarse debido a la variación de constituyentes que posee la planta y el tipo de disolvente utilizado en la extracción de sus metabolitos. Además, es importante recalcar que estos resultados son los primeros en ser publicados, debido a que no se han evidenciado estudios relacionados con esta especie.

**Tabla 10. Parámetros de calidad de los extractos de hojas y tallos de *P.odoratissimum*. (media/SD; n=3)**

PROPIEDADES	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO		EXTRACTO ALCOHÓLICO	
	Hojas	Tallos	Hojas	Tallos
pH	5,92/0,00	6,30/0,00	5,34/0,01	5,10/0,01
Densidad Relativa	0,95/0,01	0,94/0,01	0,82/0,00	0,81/0,00
° Brix	19,63/0,02	18,19/0,00	21,75/0,02	21,47/0,00

**Tabla 10. (Continuación)**

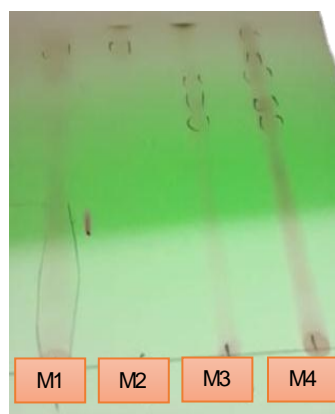
Índice de Refracción	1,36/0,01	1,36/0,00	1,37/0,001	1,37/0,00
Glucosa (%)	19,75/0,00	18,30/0,01	21,94/0,01	21,66/0,00
Fructosa (%)	19,87/0,00	18,41/0,00	22,07/0,00	21,77/0,00
Sólidos Totales	2,40/0,01	1,28/0,01	0.768/0,00	0.406/0,00

### 3.7. Cromatografía en capa delgada (CCD)

Para la identificación cualitativa de metabolitos en extractos vegetales, se utilizó un método sencillo y rápido como lo es la cromatografía en capa delgada, la cual sirvió como guía en análisis posteriores de nuestro estudio, para lo cual se utilizaron tres tipos de reveladores que se describen a continuación.

#### 3.7.1. Revelado con luz ultravioleta

En el revelado con luz ultravioleta a 264 nm que se muestra en la figura 7, se observó varias manchas en la muestra 1, 3, 4, de las cuales según la literatura indican la existencia de metabolitos con grupos cromóforos conjugados. Además, se observó una coloración roja a 365 nm en todas las muestras características de clorofila.



- M1**= Extracto Hidroalcohólico de tallos
- M2**= Extracto Etanólico de tallos
- M3**= Extracto Etanólico de hojas
- M4**= Extracto Hidroalcohólico de hojas

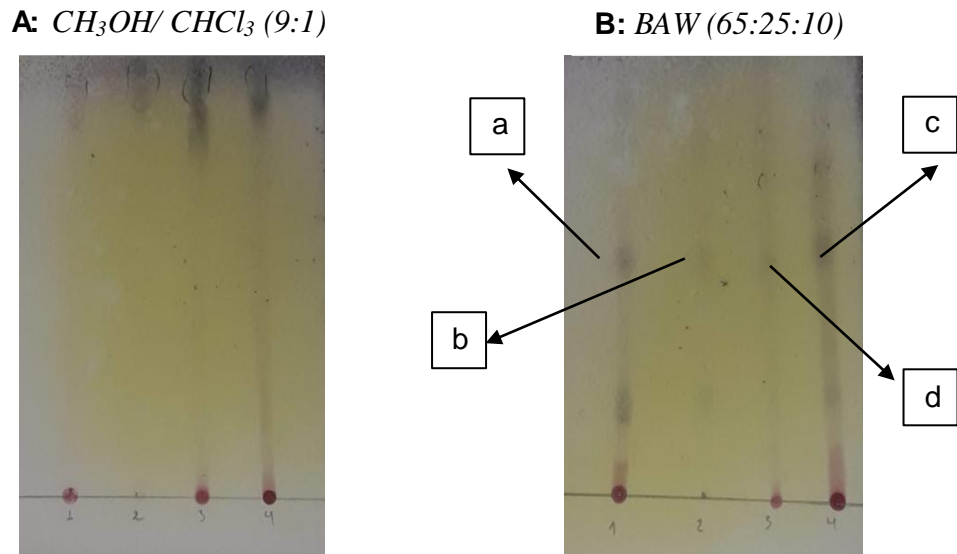
**Figura 7. Revelado con luz ultravioleta a 264 nm**

#### 3.7.2. Revelado con vainillina/calor

En la figura 8 del cromatograma A se muestra el revelado con vainillina, en la cual se pudieron detectar manchas color violeta que sugieren la presencia de compuestos terpénicos.



Además, se puede observar que en el cromatograma B el metabolito a, b, c, d está presente en las 4 muestras.

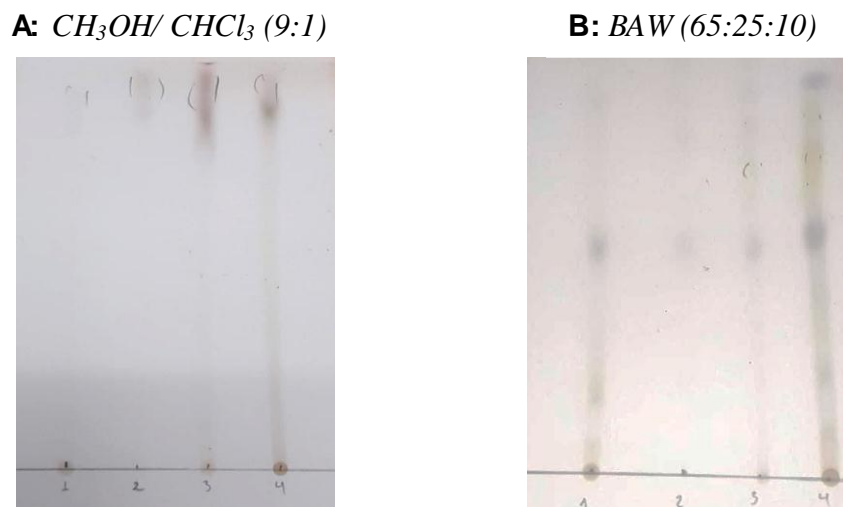


**Figura 8. Revelado con vainillina**

### 3.7.3. Revelado con $H_2SO_4$ /calor

En la figura 9 del cromatograma A y B, se puede evidenciar manchas oscuras, representativas a complejos orgánicos y manchas de color verde y azul en la muestra 3 y 4 del cromatograma B, características de flavonoides.

Estos resultados son similares a los reportados por Bisi et al., (2017) en un estudio fitoquímico realizado a *Pelargonium sidoides*, la cual nos ha servido para comparar con nuestro estudio por ser del mismo género <sup>55</sup>.



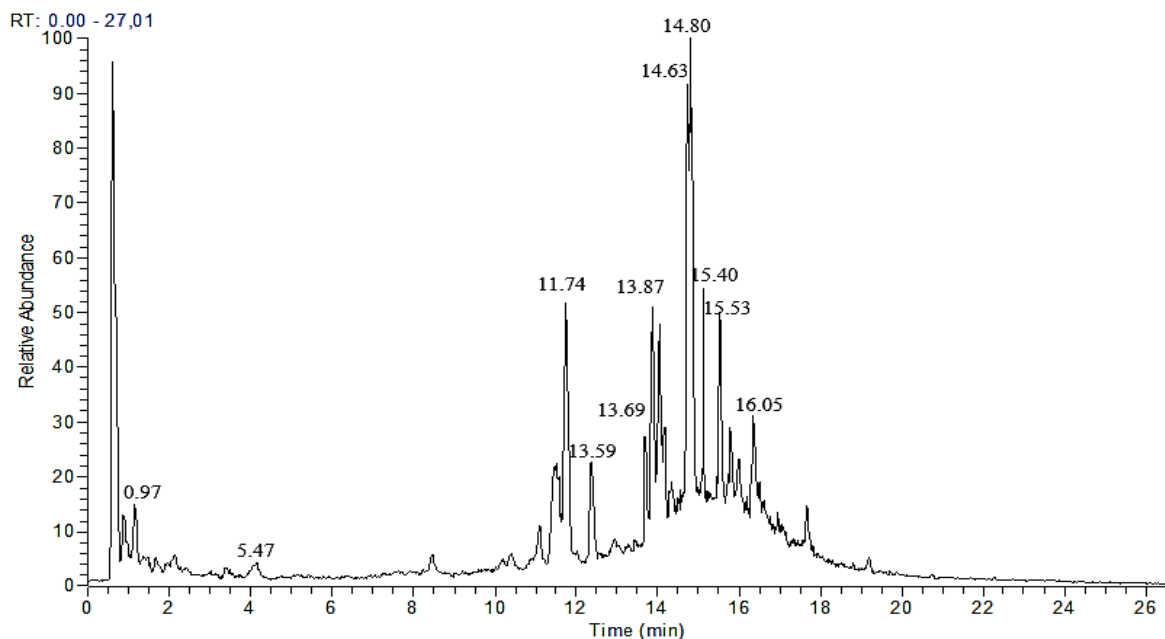
**Figura 9. Revelado con  $H_2SO_4$  /Calor**

Es importante recalcar que existieron manchas en el punto de aplicación con alta intensidad afines a la sílice gel en los tres tipos de revelado, que hacen referencia a una mayor proporción de compuestos polares, sin embargo, también se presentaron compuestos apolares que eluyeron de acuerdo a la afinidad con la fase móvil, de la cual se ha observado que el BAW 65:25:10 presentó mejor eficiencia en la separación de componentes.

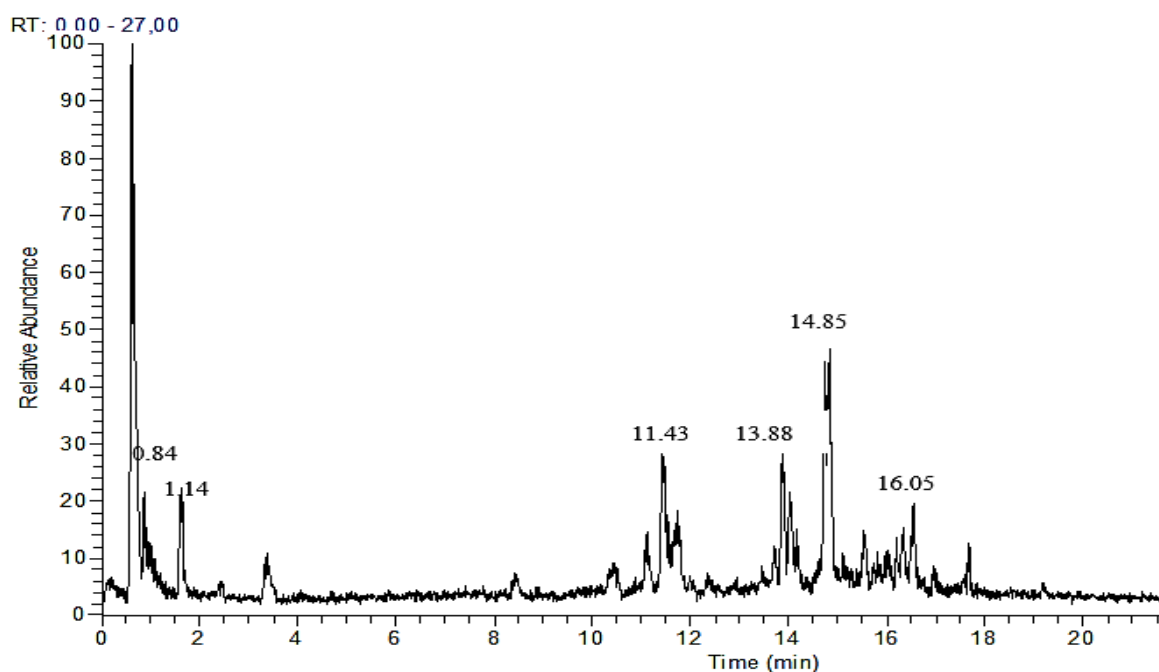
### 3.8. Identificación de compuestos en extractos secos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum* por UHPLC-PDA-MS

El análisis por UHPLC-PDA-MS, permitió separar e identificar compuestos presentes en nuestra muestra problema, utilizando el método de ionización en modo negativo y positivo, obteniéndose cromatogramas con picos que representan compuestos presentes en los extractos, tal y como se muestran en las siguientes figuras.

En la figura 10 y 11, se observó la presencia de una molécula denominada Kaempferol 3-O-glucósido, la cual se fraccionó en modo negativo y positivo a un tR de 16.05.

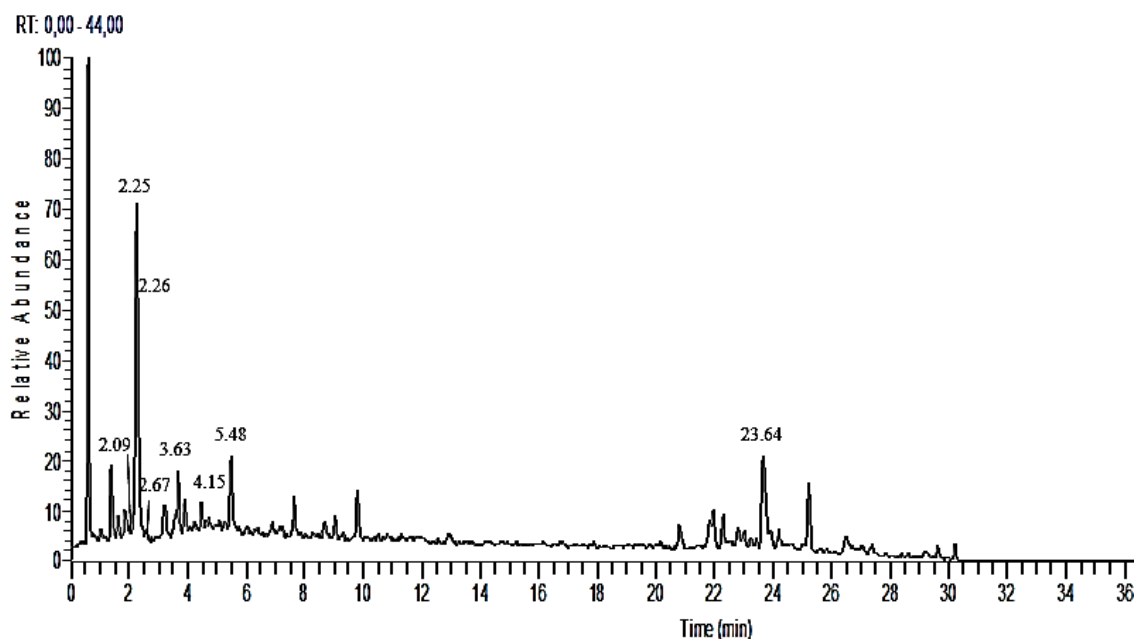


**Figura 10. Cromatograma representativo de extracto de hojas de *P. odoratissimum* en proporción de MeOH:H<sub>2</sub>O (3:7v/v) en modo negativo.**

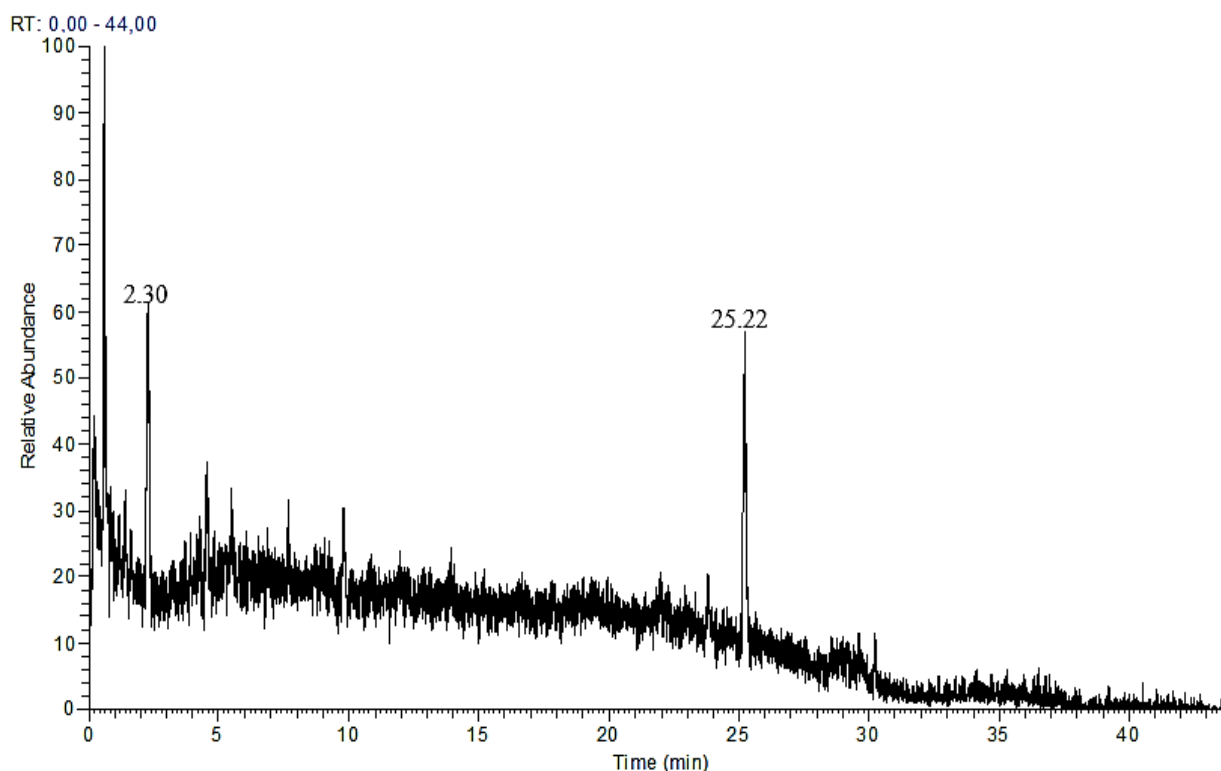


**Figura 11. Cromatograma representativo de extracto de hojas de *P. odoratissimum* en proporción de MeOH:H<sub>2</sub>O (3:7v/v) en modo positivo.**

En la figura 12 y 13, se encontraron picos diferentes a los extraídos con MeOH:H<sub>2</sub>O (3:7v/v) tanto en modo positivo y negativo.



**Figura 12. Cromatograma representativo de extracto de hojas de *P. odoratissimum* en proporción de MeOH:H<sub>2</sub>O(8:2v/v) en modo negativo.**



**Figura 13. Cromatograma representativo de extracto de hojas de *P. odoratissimum* proporción de MeOH:H<sub>2</sub>O(8:2v/v) en modo positivo.**

Los picos obtenidos en los perfiles cromatográficos 10, 11, 12 y 13, son representativos de flavonoides glicosilados como flavonoles y flavanoles, los cuales se encontraron en mayor proporción.

Además, se observaron picos de mayor intensidad a los cuales no se les asignó una posible estructura, debido a que no se encuentran reportados en la literatura.

En las tablas 11 y 12, se proporciona información de los tiempos de retención (tR), masas moleculares (m/z) y fragmentos de cada uno de los posibles compuestos identificados en los cromatogramas observados en las figuras 10, 11, 12 y 13, tanto de modo negativo y positivo.

**Tabla 11. Identificación de los posibles compuestos presentes en las hojas de *P. odoratissimum* en proporción MeOH:H<sub>2</sub>O (3:7v/v)**

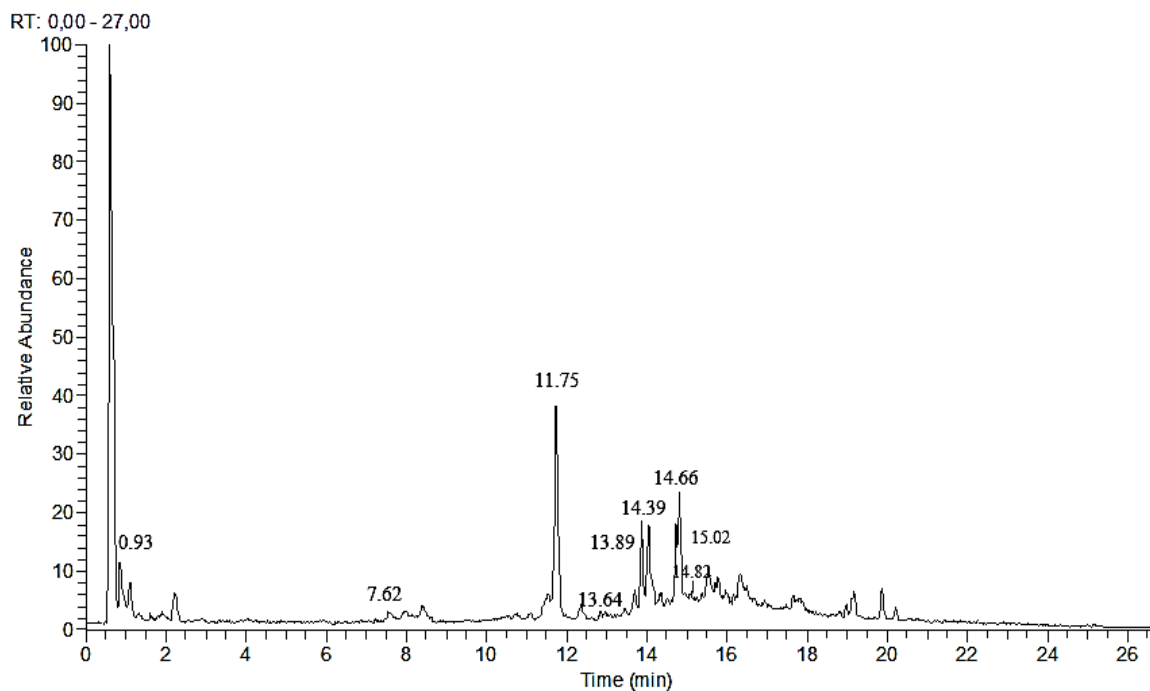
Extracto de hojas de <i>P. odoratissimum</i> en proporción MeOH:H <sub>2</sub> O (3:7v/v) en modo negativo y positivo.					
N <sup>o</sup>	t <sub>R</sub> (min)	(M-H) <sup>-</sup> m/z	(M-H) <sup>+</sup> m/z	Fragmentaciones [(M-H) <sup>-</sup> / (M-H) <sup>+</sup> ]	Asignación estructural tentativa
1	0.84	-	289.08	-/ 148.05,216.25,244.15,216.25	Dihydrokaempferol
2	0.97	331.18	-	124.99,169.00,192.99,211.00,271.12 /-	Glucosa monogalilo
3	1.14	-	294.10	-/ 124.16,204.95,276.07	Catequina
4	5.47	295.06	-	112.89,148.63,162.98 /-	Ester de p- ácido cumárico
5	11.43	-	392.16	-/150.91,212.93,374.85	- <sup>a</sup>
6	11.74	633.20	-	275.16,301.05,419.21/-	- <sup>a</sup>
7	13.59	479.00	-	179.04,316.12,317.10 /-	Miricetina 3-O-glucósido
8	13.69	785.27	-	301.06,463.26,615.23 /-	Quercetina-3-O-rutinosido-7-O-glucósido
9	13.87	447.26	-	327.21,357.17,429.25/-	- <sup>a</sup>
10	13.88	-	449.18	-/329.13,383.13,431.15	- <sup>a</sup>
11	14.63	609.33	-	178.99,271.12,301.15 /-	Quercetina 3-O-ramnosil (1-6) hexaóxido
12	14.80	431.27	-	311.20,312.23,341.19/-	- <sup>a</sup>
13	14.85	-	433.24	-/313.12,367.14,415.18	- <sup>a</sup>
14	15.40	449.38	-	251.20,269.19,287.26 /-	Hexósido de flavanona
15	15.53	469.49	-	178.97,317.14,384.30/-	- <sup>a</sup>
16	16.05	-	449.12	-/166.82,240.98,287.11,449.07	Kaempferol 3-O-glucósido
- <sup>a</sup> : sin asignación posible					

**Tabla 12. Identificación de los posibles compuestos presentes en las hojas de *P. odoratissimum* en proporción MeOH:H<sub>2</sub>O (8:2v/v)**

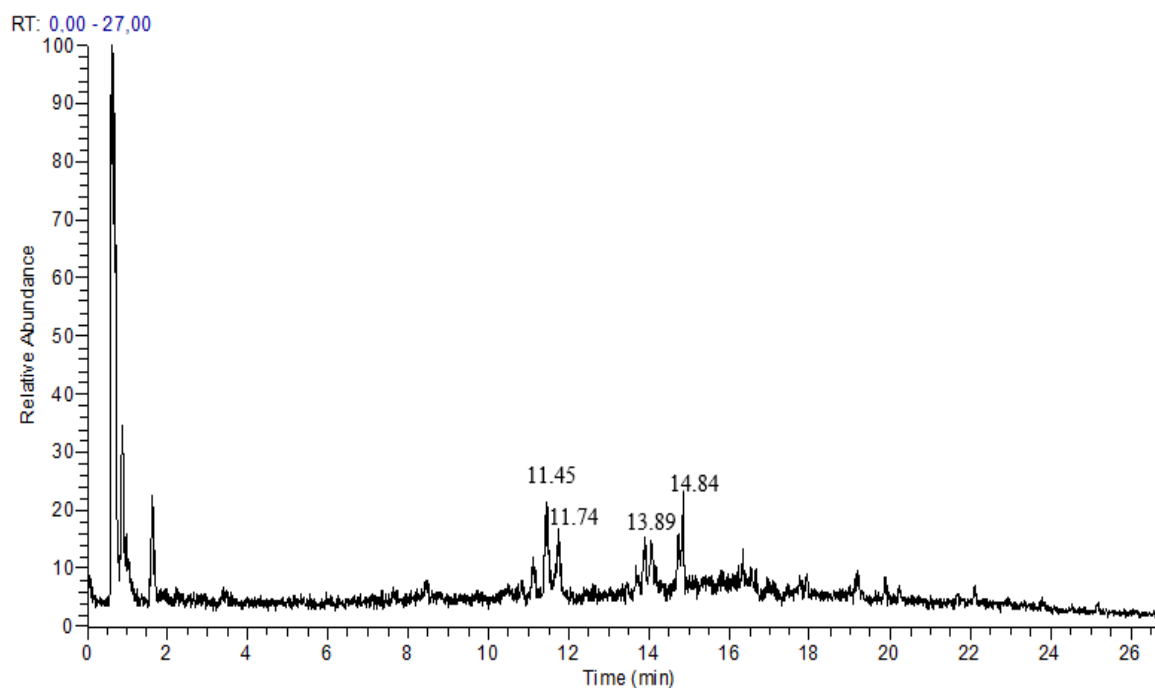
Extracto de hojas de <i>P. odoratissimum</i> en proporción MeOH:H <sub>2</sub> O (8:2v/v) en modo negativo y positivo.					
N°	t <sub>R</sub> (min)	(M-H) <sup>-</sup> m/z	(M-H) <sup>+</sup> m/z	Fragmentaciones [(M-H) <sup>-</sup> / (M-H) <sup>+</sup> ]	Asignación estructural tentativa
1	2.09	301.07	-	151.18,256.99,273.01/-	Quercetina
2	2.25	609.31	-	179.00,271.09,301.12 /-	Quercetina 3-O- ramnosil (1-6) hexósido
3	2.26	431.35	-	309.30,311.19,341.10/-	— <sup>a</sup>
4	2.30	-	433.09	-/313.13,367.18,415.18	— <sup>a</sup>
5	2.67	463.22	-	178.94,255.25,271.19,299.11, 301.12 /-	Quercetin 3-O- glucoside
6	3.63	447.220	-	227.14,255.03,284.14,285.14 /-	Kaempferol 3-O- glucoside
7	4.15	417.28	-	284.14,255.24,371.31 /-	Kaempferol 3-O- pentoside
8	5.48	285.13	-	174.97,257.06,285.14/-	— <sup>a</sup>
9	23.64	555.45	-	165.06,300.16,317.22/-	— <sup>a</sup>
10	25.22	-	363.22	-/168.87,291.00,345.09	— <sup>a</sup>
— <sup>a</sup> : sin asignación posible					

Las figuras 14, 15, 16 y 17 muestran los cromatogramas obtenidos a partir de los extractos de tallos, en los cuales al igual que los de hojas se ha podido evidenciar la presencia de flavonoides glicosilados y otros picos de mayor intensidad que no pudieron ser identificados.

En la figura 14 y 15 se observó la presencia de dos moléculas no identificadas, que se fraccionan en modo negativo y positivo a un t<sub>R</sub> de 11.75 – 13.89.

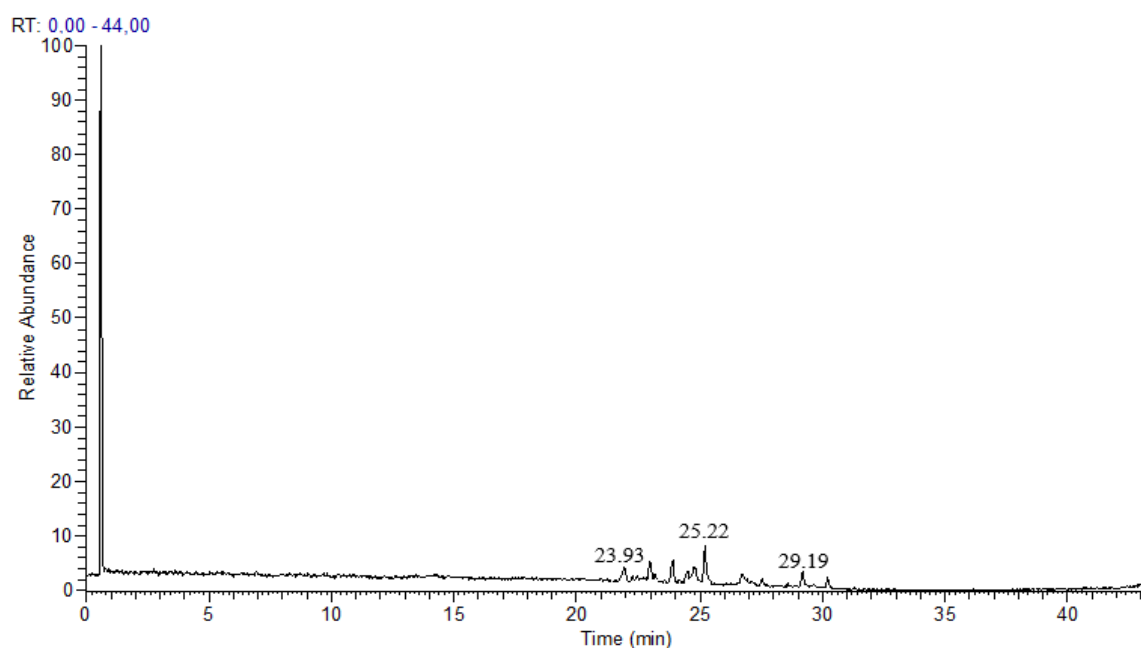


**Figura 14. Cromatograma representativo de extracto de tallos de *P. odoratissimum* en proporción de MeOH:H<sub>2</sub>O(3:7v/v) en modo negativo.**

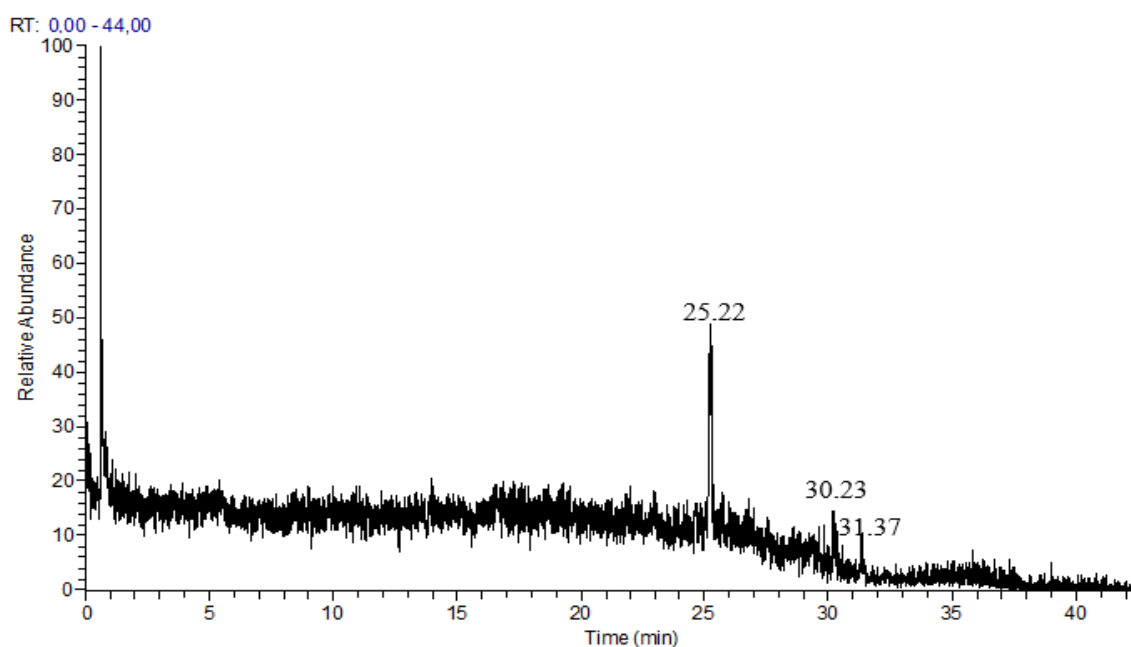


**Figura 15. Cromatograma representativo de extracto de tallos de *P. odoratissimum* en proporción de MeOH:H<sub>2</sub>O(3:7v/v) en modo positivo.**

En la figura 16 y 17 se observó la presencia de una molécula no identificada, que se fraccionan en modo negativo y positivo a un tR de 25.22.



**Figura 16. Cromatograma representativo de extracto de tallos de *P. odoratissimum* en proporción de MeOH:H<sub>2</sub>O(8:2v/v) en modo negativo.**



**Figura 17. Cromatograma representativo de extracto de tallos de *P. odoratissimum* en proporción de MeOH:H<sub>2</sub>O(8:2v/v) en modo positivo.**



En la tabla 13, se detallan los posibles compuestos identificados en los cromatogramas de las figuras 14, 15,16 y 17.

**Tabla 13. Identificación de los posibles compuestos presentes en los tallos de *P. odoratissimum***

<b>Extracto de tallos de <i>P. odoratissimum</i> en proporción MeOH:H<sub>2</sub>O(3:7v/v) en modo negativo y positivo.</b>					
<b>N°</b>	<b>t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>(M-H)<sup>-</sup> m/z</b>	<b>(M-H)<sup>+</sup> m/z</b>	<b>Fragmentaciones [(M-H)<sup>-</sup>/ (M-H)<sup>+</sup>]</b>	<b>Asignación estructural tentativa</b>
1	0.93	331.15	-	125.05,168.96 /-	Glucosa monogabilo
2	7.62	305.15	-	167.02,137.07,125.00 /-	Epigallocatequina
3	11.75	633.22	-	275.11,301.04, 302.04,463.17/-	<sup>a</sup> -
4	13.64	479.22	-	179.07,316.16,317.15/-	Miricetina 3-O-glucósido
5	13.89	447.09	-	327.16,357.21,429.23/-	<sup>a</sup> -
6	14.39	301.07	-	255.16,273.09/-	Quercetina
7	14.66	609.30	-	179.05,271.04,301.13/-	Quercetina 3-O-ramnosil-hexósido(1-6)
8	14.82	431.24	-	311.18,341.18,413.23/-	<sup>a</sup> -
9	14.84	-	433.13	-/313.12,337.16,367.15,397.11	<sup>a</sup> -
10	15.02	463.20	-	178.93-255.22-271.09-301.13/-	Quercetina 3-O-glucósido
<b>Extracto de tallos de <i>P. odoratissimum</i> en proporción MeOH:H<sub>2</sub>O(8:2v/v) en modo negativo y positivo</b>					
<b>N°</b>	<b>t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>(M-H)<sup>-</sup> m/z</b>	<b>(M-H)<sup>+</sup> m/z</b>	<b>Fragmentaciones [(M-H)<sup>-</sup>/ (M-H)<sup>+</sup>]</b>	<b>Asignación estructural tentativa</b>
1	23.93	295.31	-	171.03,277.26,295.06	<sup>a</sup> -
2	25.22	120.88	-	58.81,70.88,120.98	<sup>a</sup> -
3	25.22	-	363.22	-/176.89,240.93,345.19	<sup>a</sup> -
4	29.19	271.28	-	184.83,225.25,253.37	<sup>a</sup> -
5	30.23	-	347.03	-/142.93,329.06,347.01	<sup>a</sup> -
6	31.37	-	593.36	-/533.34,534.38,575.41	<sup>a</sup> -
<sup>a</sup> : sin asignación posible					

En los cromatogramas obtenidos se pudo evidenciar que los picos presentes a un tiempo de retención (min) de 11.74, 11.43, 14.80, 25.22, son similares en hojas y tallos, sin embargo, existen picos de moléculas que difieren en cada una de las partes aéreas.

En las tablas 11, 12 y 13 se muestra una gran variación de componentes tanto en hojas como en tallos, algunos de estos compuestos coinciden con los datos reportados por Sayed et al.,(2014) <sup>56</sup> ; Boukhris et al., (2012) <sup>57</sup>, los cuales realizaron un estudio de la composición química de *Pelargonium graveolens* y Schnitzler et al., (2008) <sup>58</sup>, quienes determinaron los constituyentes presentes en *Pelargonium sidoides*, todos ellos utilizando el método de UHPLC-MS/MS, cabe recalcar que no se ha encontrado estudios en nuestra planta, por lo que se realizó una comparación con estas especies del mismo género.

Los constituyentes bioactivos encontrados en hojas y tallos de *P. odoratissimum*, se encuentra asociados con la actividad inhibitoria hacia bacterias, debido que de acuerdo a lo descrito por Rodríguez et al.,(2017) los flavonoides actúan de manera sinérgica contra bacterias de interés clínico, ya que poseen la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano e incluso de hongos, además de ello son responsables de otras actividades terapéuticas que podrían ser útiles para la cura o alivio de enfermedades <sup>59</sup>.

### **3.9. Actividad antibacteriana**

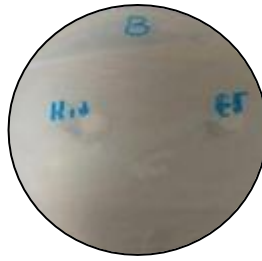
#### **3.9.1. Método de difusión en disco**

La figura 21, muestra los resultados obtenidos mediante el método de difusión en disco, el cual permitió determinar la resistencia o sensibilidad de *Staphylococcus aureus* frente a los extractos naturales de *P. odoratissimum* y a las diferentes concentraciones del mismo.

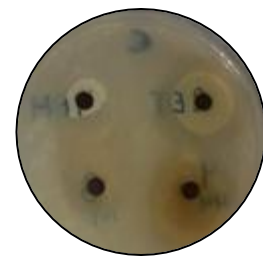
Además, se realizaron controles negativos de los solventes como se lo muestra en la figura 19, en el cual se puede evidenciar que estos no interfieren en los resultados, por lo tanto la inhibición está asociada a los constituyentes extraídos de la planta <sup>60</sup>.



**Figura 18. Ceba bacteriana de *S.aureus***



**Figura 19. Discos de control con disolvente**



**Figura 20. Discos con extracto concentrado**

<b>Hojas de <i>P.odoratissimum</i></b>	
<b><i>E. Etanólico</i></b>	<b><i>E. Hidroalcohólico</i></b>
<b>Tallos de <i>P.odoratissimum</i></b>	
<b>1= 1/2 ; 2= 1/4 ; 3= 1/5 ; 4= 1/10</b>	

**Figura 21. Discos impregnados con diluciones de extracto de hojas y tallos de *P. odoratissimum***

La tabla 14, muestra los halos de inhibición de cada uno de los extractos en diferentes diluciones, dando como resultados una inhibición bacteriana únicamente en extractos etanólicos, sin embargo en extractos hidroalcohólicos no se logró apreciar sensibilidad frente a la cepa ensayada.

**Tabla 14. Halos de inhibición de extractos de *P.odoratissimum* frente a *Staphylococcus aureus* (media/SD; n=3)**

<i>Staphylococcus aureus</i>							
Tipo de Extracto	HALO DE INHIBICIÓN (mm)					Criterio de Interpretación	
	Concentrado	Diluciones					
		1/2	1/4	1/5	1/10		
Etanólico hojas	20/0,00	14	12	0	0	≥20	Sensible
Etanólico tallos	22/0,00	21	15	0	0	15-19	Intermedio
Hidroalcohólico hojas	0	0	0	0	0	≤14	Resistente
Hidroalcohólico tallos	0	0	0	0	0	<b>Fuente: CLSI</b>	


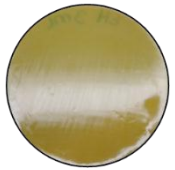
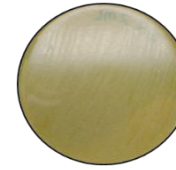
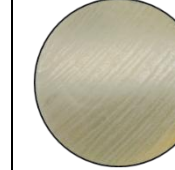
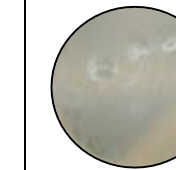


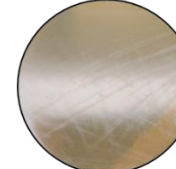
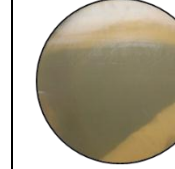
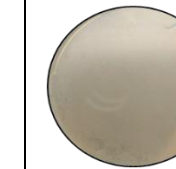
De acuerdo al criterio de interpretación establecido por Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, se pudo determinar que en el extracto etanólico de tallos la bacteria presentó una inhibición intermedia en diluciones de 1/4, sensible a 1/2 y cuando este se encuentra concentrado, a diferencia del extracto etanólico de hojas, en el cual la inhibición de la bacteria es intermedia en las dos primeras diluciones (1/2,1/4) y sensible en el extracto concentrado <sup>60</sup>.

Los resultados obtenidos al ser comparados con los reportados por Abdulmageed et al.,(2018), han mostrado tener el mismo efecto sobre la misma cepa a pesar de sus diferencias en cuanto al diámetro del halo de inhibición <sup>17</sup>.

### 3.9.2. Método de dilución en agar


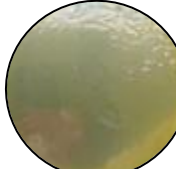
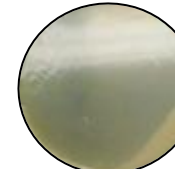

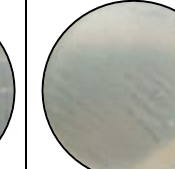
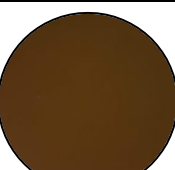



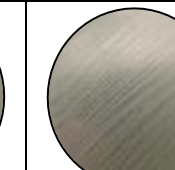
En las ilustraciones 22-23 se muestran los resultados obtenidos mediante dilución en agar, el cual permitió determinar de manera cuantitativa la concentración mínima inhibitoria de los extractos naturales de *P. odoratissimum* frente a *Staphylococcus aureus*, además de confirmar la sensibilidad y resistencia de esta bacteria.

El estudio de la actividad antibacteriana realizado a las hojas de *P.odoratissimum* en los dos tipos de extracto, determinó que el extracto etanólico posee una CMI de 250 µg/mL, a diferencia del hidroalcohólico que tiene una concentración de 200 µg/mL, resultados evidenciados en la figura 22.

<b>Extracto Etanólico de Hojas de <i>P.odoratissimum</i></b>				
				
<b>Extracto Hidroalcohólico de Hojas de <i>P.odoratissimum</i></b>				
				
<b>A:</b> Concentrado	<b>B:</b> 500 µg/mL (1/2)	<b>C:</b> 250 µg/mL (1/4)	<b>D:</b> 200 µg/mL (1/5)	<b>E:</b> 100 µg/mL (1/10)

**Figura 22. Método de dilución en agar con extractos concentrados y diluciones de hojas de *P. odoratissimum***

La figura 23, demuestra que en el caso de tallos, el extracto etanólico presentó una inhibición de la bacteria a una concentración mínima de 250 µg/mL, contrario al hidroalcohólico que fue de 500 µg/mL.

<b>Extracto Etanólico de tallos de <i>P.odoratissimum</i></b>				
				
<b>Extracto Hidroalcohólico de tallos de <i>P.odoratissimum</i></b>				
				
<b>A:</b> Concentrado	<b>B:</b> 500 µg/mL (1/2)	<b>C:</b> 250 µg/mL (1/4)	<b>D:</b> 200 µg/mL (1/5)	<b>E:</b> 100 µg/mL (1/10)

**Figura 23. Método de dilución en agar con extractos concentrados y diluciones de tallos de *P. odoratissimum*.**

Los resultados obtenidos en la tabla 15, indican que los cuatro extractos presentaron actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, sin embargo, el extracto hidroalcohólico de hojas fue el más eficaz, debido a que inhibió el crecimiento de la bacteria hasta la dilución 1/5, cuya concentración representa 200 µg/mL.

**Tabla 15. Concentración mínima inhibitoria de extractos de *P.odoratissimum* frente a *Staphylococcus aureus* (media/SD; n=3)**

<i>Staphylococcus aureus</i>		Parámetros de CMI
Tipo de Extracto ( <i>P.odoratissimum</i> )	CMI (µg/mL)	≤ 100 µg/ml = Buena 100 – 500 µg/ml = Moderada 500 - 1000 µg/ml = Débil
Etanólico hojas	500/0,00	
Etanólico tallos	250/0,00	
Hidroalcohólico hojas	200/0,00	
Hidroalcohólico tallos	500/0,00	<b>Fuente:</b> Zapata et al.,(2009) <sup>61</sup> .

De acuerdo a Zapata et al., (2009), se pudo determinar que en los extractos evaluados de tallos y hojas, la bacteria presentó una inhibición moderada.

En la determinación antibacteriana de los extractos, se notaron diferencias entre los dos métodos empleados, debido a que en el método de difusión en disco la bacteria fue sensible solo en los extractos etanólicos, a diferencia del método de dilución en agar donde se mostraron resultados positivos en todos los tipos de extractos. Estas variaciones en los resultados pueden haberse presentado debido a que los extractos hidroalcohólicos contienen agua, la cual es una molécula fuertemente polar que se interpone en el desarrollo de la técnica de difusión en disco, ya que el papel filtro contiene celulosa y grupos hidroxilos libres que pudieron interactuar con el agua, reteniendo e impidiendo la difusión de los compuestos responsables de la actividad, falseando así los resultados acerca del verdadero potencial antibacteriano del producto evaluado <sup>53</sup>.

Por lo tanto, se determina que para el estudio de extractos vegetales se debe tomar en cuenta las desventajas que presenta el método de difusión en disco, concluyendo que el método más adecuado en este tipo de estudios es la técnica de dilución en agar, debido a que permite una homogeneidad de mezcla agar-extracto.

## CAPITULO IV

### 4. CONCLUSIONES

- Mediante la encuesta se obtuvo información etnobotánica de *P. odoratissimum*, que permitió realizar un análisis desde una perspectiva cultural y científica.
- Los parámetros físicos – químicos de la droga cruda y extractos de las hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum* cumplieron con los rangos establecidos en la literatura, garantizando así la calidad de los mismos.
- En la identificación cualitativa de metabolitos mediante el tamizaje fitoquímico sugiere la presencia de alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, cumarinas, saponinas y taninos dependiendo del tipo de disolvente y la parte de la planta que se use para la extracción de los mismos.
- En el estudio por Cromatografía en capa delgada permitió identificar compuestos polares y apolares.
- En la caracterización de componentes realizado por UHPLC-ESI-MS se determinó la presencia de picos representativos a flavonoides glicosilados y otros compuestos que no pudieron ser identificados.
- Los extractos concentrados y ciertas diluciones utilizadas para la determinación antibacteriana demostraron que *Staphylococcus aureus* es sensible frente a estos, sin embargo el extracto hidroalcohólico de hojas mostró inhibir a la bacteria a una concentración mínima de 200 µg/mL.

## CAPITULO V

### 5. RECOMENDACIONES

- Proseguir con los estudios de la composición química con el fin de caracterizar estructuralmente los compuestos que no fueron identificados en nuestro estudio.
- Realizar más estudios sobre la actividad antimicrobiana de *Pelargonium odoratissimum* contra otras bacterias así como también en hongos y levaduras.
- Evaluar otras propiedades terapéuticas de *P.odoratissimum* y estudios de la toxicidad que permita garantizar su uso.



## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Wada, A. S.; Jatau, A. A.; Bala, A.; Haruna, A. M.; Isa, A. M.; Safiyya, A. S.; Sha'aban, A. Use of traditional medicines among pharmacists in Nigeria. *Complement. Ther. Clin. Pract.* **2019**, *35*, 53–56. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2019.01.014>.
- (2) Zhang, X. Medicina tradicional [https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/).
- (3) Pombo Ospina, L.; Matulevich Peláez, J.; Borrego Muñoz, P.; Cardona Castrillón, W.; Barajas Villamizar, L. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Pelargonium Odoratissimum* (L) L'Hér (Geraniaceae). *Rev. la Fac. Ciencias Básicas* **2016**, *12* (1), 74–83. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.1856>.
- (4) World Health Organization. Farmacoresistencia [https://www.who.int/drugresistance/AMR\\_Importance/es/](https://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/es/) (accessed Jun 4, 2019).
- (5) Martínez, J. Las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes , Un tema de interés para todos Emergent and Re-Emergent Diseases , a Theme of Concern For. *Rev. Médica Electrónica* **2014**, *36* (5), 537–539.
- (6) Behler, D. Emerging Infectious Diseases. *Nurs. Clin. North Am.* **2019**, *54* (2), 297–311. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2019.02.006>.
- (7) Garcia, F. Revisión enfermedades infecciosas emergentes : Interacción entre el mundo microbiano y las sociedades humanas. *Acta Med. Costarric.* **2008**, *50* (3), 136–143.
- (8) Plants for a Future. *Pelargonium odoratissimum* <https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Pelargonium+odoratissimum> (accessed Jun 12, 2019).
- (9) Vojodi, L.; Bagher, M.; Ebrahimzadeh, A.; Valizadeh, R. Effects of ZnSO<sub>4</sub> foliar application on vegetative growth and phenolic and essential oil content of Geranium. *J. Ornament. Plants* **2016**, *6* (3), 193–199.
- (10) United States Department of Agriculture. Classification for kingdom Plantae down to Species *Pelargonium odoratissimum* (L.) <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=PEGR11> (accessed Jun 3, 2019).

- (11) Christodoulakis, N. S.; Gargeraki, K.; Fasseas, C. Leaf structure of *Pelargonium Odoratissimum* ( Soland .), an aromatic species widely used in herbal remedies and confectionery. *J. Herbs,Spices Med. Plants* **2013**, *19*, 132–143. <https://doi.org/10.1080/10496475.2012.755943>.
- (12) Alvarado, M.; Rodas, G. Influencia de la altitud sobre la actividad antibacteriana de extractos de malva olorosa,ortiga y ajeno mediante el método de dilución seriada en tubo de ensayo, Universidad de Cuenca, 2009.
- (13) Andrade, M. A.; Cardoso, M. G.; Batista, L. R.; Freire, J. M.; Nelson, D. L. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil of *Pelargonium odoratissimum*. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2011**, *21*, 47–52. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000009>.
- (14) Prakash, B.; Kedia, A.; Singh, A.; Yadav, S.; Singh, A.; Yadav, A.; Dubey, N. K. Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant activity of plant essential oils and their in vivo efficacy in protection of chickpea seeds. *J. Food Qual.* **2016**, *39*, 36–44. <https://doi.org/10.1111/jfq.12168>.
- (15) Matusinsky, P.; Zouhar, M.; Pavela, R.; Novy, P. Antifungal effect of five essential oils against important pathogenic fungi of cereals. *Ind. Crops Prod.* **2015**, *67*, 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.022>.
- (16) Balchin, M. L.; Hart, S.; Roth, G. The spasmolytic activity of the essential oils of scented *Pelargoniums* (Geraniaceae). *Phyther. Res.* **1997**, *11*, 583–584. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199712\)11:8<583::AID-PTR148>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199712)11:8<583::AID-PTR148>3.0.CO;2-6).
- (17) Abdulmageed, L.; Belgasem, A.; Melad, W. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Menthe piperita* , *Artemisa compestris* l and *Pelargonium odoratissimum* leaves extracts from North Libya. **2018**, *3* (3), 49–52. <https://doi.org/10.11648/j.bsi.20180303.12>.
- (18) Areal, R.; Bessa, J. La cromatografía de capa fina y sus aplicaciones al campo textil. *Bol. Intexter* **1966**, No. 25, 6–26.
- (19) Gismera, M.; Quintana, M.; Da Silva, M. del P. *Introducción a la cromatografía líquida de alta resolución*; 2012.
- (20) Hage, D. S. *Chromatography*; 2018. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816063-3.00001-3>.
- (21) Brown, A.; Villa, P.; Carabeo, V. Separacion de metabolitos por cromatografía de placa delgada. *ICIDCA* **2004**, No. 3, 39–42.

- (22) Balcinde, Y.; Tirado, S.; Perez, C.; Falero, A.; Martí, E.; Pineda, M.; Hung, B. Cromatografía en capa delgada para la separación de los componentes del producto obtenido a partir de cera cruda de caña de azúcar. *Rev. CENIC .Ciencias Quim.* **2005**, *36* (Especial).
- (23) XIE, X. M.; SUN, W. Y.; HUANG, J. Y.; Polachi, N.; TONG, L.; SUN, G. X. Preparative high performance liquid chromatography-based multidimensional chromatography and its application in traditional chinese medicine. *Chinese J. Anal. Chem.* **2016**, *44* (7), 1140–1147. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(16\)60946-5](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(16)60946-5).
- (24) Ialongo, C. *Cromatografía líquida -Aplicaciones clínicas*; 2019; Vol. 6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14513-5>.
- (25) Garcia, D. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos de dos especies de plantas del género *Amaranthus* aplicado sobre cepas de interés clínico en el periodo Diciembre de 2013 – Mayo de 2014, Universidad Nacional de Chimborazo, 2015.
- (26) Abud, K.; Bustos, L.; Covo, E.; Fang, L. Actividad antimicrobiana de los compuestos fenólicos sulfonados en el sistema de conductos radiculares. *Cienc. y Salud Virtual* **2015**, *7* (2), 53–60.
- (27) Domingo, D.; Lopez, M. Revisión plantas con acción antimicrobiana. *Rev. Española Quimioter.* **2003**, *16* (4), 385–393.
- (28) Olivas, J.; Wall, A.; González, G.; López, J.; Álvarez, E.; Rosa, L.; Ramos, A. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutr. Hosp.* **2015**, *31* (1), 55–66. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>.
- (29) Schläger, S.; Dräger, B. Exploiting plant alkaloids. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2016**, *37*, 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.12.003>.
- (30) Kołodziej, B.; Sęczyk, Ł.; Sugier, D.; Kędzia, B.; Chernetsky, M.; Gevrenova, R.; Henry, M. Determination of the yield, saponin content and profile, antimicrobial and antioxidant activities of three *Gypsophila* species. *Ind. Crops Prod.* **2019**, *138*, 111422. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.071>.
- (31) Mena, L.; Tamargo, B.; Salas, E.; Plaza, L.; Blanco, Y.; Otero, A.; Sierra, G. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. ( Jaboncillo ). *Rev. Cuba. Plantas Med.* **2015**, *20* (1), 106–116.

- (32) Álvarez, I.; Ponce, J. *Staphylococcus Aureus* , Evolución de un viejo patógeno. *Rev. Cubana Pediatr.* **2012**, *84* (2), 383–391.
- (33) Zendejas, G.; Avalos, H.; Soto, M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus* : Generalidades , patogenicidad y métodos de identificación. *Rev. Biomed.* **2014**, *25* (3), 129–143.
- (34) Horn, J.; Stelzner, K.; Rudel, T.; Fraunholz, M. Inside Job: *Staphylococcus aureus* host-pathogen interactions. *Int. J. Med. Microbiol.* **2018**, *308* (6), 607–624. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2017.11.009>.
- (35) Missiakas, D. *Staphylococcus Aureus* TarP: A brick in the wall or rosetta stone. *Cell Host Microbe* **2019**, *25* (2), 182–183. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.013>.
- (36) Castro, G. Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas y flores de iso (*Dalea Mutisii*), Escuela superior politecnica de Chimborazo, 2012.
- (37) Seyyed Mousavi, M. N.; Mehramuz, B.; Sadeghi, J.; Alizadeh, N.; Oskouee, M. A.; Kafil, H. S. The pathogenesis of *Staphylococcus aureus* in autoimmune diseases. *Microb. Pathog.* **2017**, *111*, 503–507. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.028>.
- (38) Carmona, F.; Pozo, J. Tratamiento de las infecciones por *Staphylococcus aureus*. *Medicine (Baltimore)*. **2018**, *12* (49), 2918–2923. <https://doi.org/10.1016/j.med.2018.02.007>.
- (39) Viedma Puente, C. *Estadística descriptiva e inferencial*, Ediciones.; Madrid-España, 2018.
- (40) International Organization for Standardization: ISO 4731. Essential oil of Geranium (*Pelargonium* × *Ssp.*). **2012**. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2008.03.003>.
- (41) Pino, O.; Sánchez, Y.; Rojas, M.; Rodríguez, H.; Abreu, Y.; Duarte, Y.; Martínez, B.; Peteira, B.; Correa, T. M.; Martínez, D. Composición química y actividad plaguicida del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake. *Rev. Protección Veg.* **2011**, *26*, 177–186.
- (42) Jumbo, N.; Guevara, A. Capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de un filtrante de cinco hierbas aromáticas y esteviosido (*Stevia rebaudiana* B). *La Granja* **2016**, *24* (2), 83–94. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.07>.
- (43) World Health Organization. *Quality control methods for herbal materials*; 2011.

- (44) Miranda, M.; Cuellar, A. *Farmacognosia y productos naturales*; Ciudad de la Habana, 2001.
- (45) *Farmacopea Herbolaria de Los Estados Unidos Mexicanos*, Segunda Ed.; 2013.
- (46) Gomes, P. B.; Mata, V. G.; Rodrigues, A. E. Characterization of portuguese-grown Geranium oil (*Pelargonium sp.*). *J. Essent. Oil Res.* **2014**, *16* (5), 490–495. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698779>.
- (47) Laboratorios Britania S.A. *Inserto de mueller hinton agar*; 2015.
- (48) Rios, M.; Flores, J. Actividad antibacteriana de chamaesyce thymifolia frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* por el metodo de macrodilucion y difusion en agar., Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, 2016.
- (49) Becton, D. and C. *Patron de turbidez MacFarland*; 2005.
- (50) Ramirez, L.; Marin, D. Metodologias para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Sci. Tech.* **2009**, *XV* (42), 263–268.
- (51) Sanchez, E.; Castillo, S.; Garcia, P. *Investigacion en plantas de importancia medica*; Rivas, C., Oranday, M., Verde, M., Eds.; (Omnia Publisher SL: Barcelona, España, 2016. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3926/oms.313> ©.
- (52) Herrera, M. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana. *Rev. Médica del Hosp. Nac. Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera* **1999**, *34*.
- (53) Corrales, L.; Castillo, A.; Melo, A. Evaluación del potencial antibacterial in vitro de croton lechleri frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. *Nova* **2013**, *11* (19), 51–63. <https://doi.org/10.22490/24629448.1018>.
- (54) Márquez, I.; Bastidas, T. L.; Fernández, G. K.; Campo, M.; Jaramillo, C. G.; Rojas, L. Estudio farmacognóstico preliminar de tallo y raíz de la especie *Moringa oleífera* lam cosechada en Machala. *Rev. Cuba. Plantas Med.* **2017**, *22* (1), 1–13.
- (55) Bisi, M.; Chikwelu, O.; Babatunde, S.; Jacobus, E.; Okoh, A. I. Antibacterial activity of crude extracts of some South African medicinal plants against multidrug resistant etiological agents of diarrhoea. *BMC Complement. Altern. Med.* **2017**, *17* (1), 321. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1802-4>.
- (56) Sayed, E.; Martiskainen, O.; Seif, S.; Nasser, A.; Hammam, O.; Lakkany, N. Protective effect of *Pelargonium graveolens* against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice and characterization of its bioactive constituents by

- HPLC-PDA-ESI-MS/MS Analysis. *Med. Chem. Res.* **2014**, *24* (4), 1438–1448. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1218-3>.
- (57) Boukhris, M.; Simmonds, M.; Sayadi, S.; Bouaziz, M. Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of Rose-Scented Geranium, *Pelargonium graveolens*. *Phyther. Res.* **2012**, *27* (8), 1206–1213. <https://doi.org/10.1002/ptr.4853>.
- (58) Schnitzler, P.; Schneider, S.; Stintzing, F.; Carle, R.; Reichling, J. Efficacy of an aqueous *Pelargonium sidoides* extract against Herpesvirus. *Phytomedicine* **2008**, *15* (12), 1108–1116. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.06.009>.
- (59) Rodríguez, C.; Zarate, A.; Sánchez, L. Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *NOVA* **2017**, *15* (27), 119–129.
- (60) INEI – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán.” *Metodo de determinacion de sensibilidad antimicrobiana*; 2012; Vol. 32.
- (61) Zapata, B.; Stashenko, E.; Betancur-galvis, L.; Mesa-arango, A. C. Actividad antimicótica, citotoxicidad y composición de aceites esenciales de plantas de la familia Labiatae antifungal activity, cytotoxicity and composition of essential oils from Labiatae family plants. *Rev. la Univ. Ind. Santander* **2009**, *41* (3), 223–230.

## ANEXO



### UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

Estimado/a señor/a.

**Instructivo:** La medicina tradicional ha sido una parte importante en la cultura de muchos pueblos, para tratar múltiples enfermedades, mejorando así la calidad y estilo de vida, es por ello que el objetivo del siguiente formulario es recopilar información sobre la Malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*) contribuyendo a la recuperación de la sabiduría popular respecto al uso de esta especie vegetal.

#### ENCUESTA

##### 1. Características socio-demográficas

Edad: \_\_\_\_

Sexo: F  M

Instrucción: Primaria  Secundaria  Superior

##### 2. ¿Conoce usted sobre la Malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*)?

Sí

No

##### 3. ¿Ha utilizado alguna vez esta planta para tratar problemas de salud?

Sí

A veces

##### 4. ¿Cómo adquirió los conocimientos sobre el uso medicinal de esta planta?

Empírico

Por literatura bibliográfica

Tradición

Recomendación familiar o amigo

**5. ¿Qué le motivó al consumo de esta planta?**

- Son más fáciles de conseguir
- Porque los síntomas o dolencias son leves
- Confianza en la medicina tradicional

**6. Seleccione que propiedades curativas posee la Malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*)**

- |                  |                          |                 |                          |
|------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|
| Antimicrobiana   | <input type="checkbox"/> | Expectorante    | <input type="checkbox"/> |
| Antiinflamatoria | <input type="checkbox"/> | Espasmolítica   | <input type="checkbox"/> |
| Cicatrizante     | <input type="checkbox"/> | Hipoglucemiante | <input type="checkbox"/> |

**7. ¿Qué parte de la planta utiliza usted?**

- |       |                          |        |                          |
|-------|--------------------------|--------|--------------------------|
| Hojas | <input type="checkbox"/> | Raíz   | <input type="checkbox"/> |
| Tallo | <input type="checkbox"/> | Flores | <input type="checkbox"/> |

**8. ¿Cuál es la vía de administración más frecuente que usa para el consumo de esta planta?**

- Vía oral
- Vía tópica
- Vía respiratoria

**9. ¿Qué modo de preparación utiliza para la administración?**

- |            |                          |         |                          |
|------------|--------------------------|---------|--------------------------|
| Compresas  | <input type="checkbox"/> | Vapores | <input type="checkbox"/> |
| Infusiones | <input type="checkbox"/> |         |                          |

**10. ¿En alguna ocasión esta planta le causó efectos adversos su salud?**

Sí

No



**11. ¿Qué forma farmacéutica les gustaría usar para la utilización de esta planta?**

- |          |                          |
|----------|--------------------------|
| Cápsulas | <input type="checkbox"/> |
| Cremas   | <input type="checkbox"/> |
| Infusión | <input type="checkbox"/> |
| Jarabe   | <input type="checkbox"/> |
| Pomada   | <input type="checkbox"/> |
| Té       | <input type="checkbox"/> |

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

