



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**ESTUDIO DE PRE-ESTABILIDAD DE UNA CREMA ANTIMICROBIANA  
A BASE DE PELARGONIUM ODORATISSIMUM**

**PESANTEZ CHIRIBOGA KEIKO MILEDYS  
BIOQUÍMICA FARMACEUTICA**

**RAMON PONCE KARINA MARCELA  
BIOQUÍMICA FARMACEUTICA**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**ESTUDIO DE PRE-ESTABILIDAD DE UNA CREMA  
ANTIMICROBIANA A BASE DE PELARGONIUM  
ODORATISSIMUM**

**PESANTEZ CHIRIBOGA KEIKO MILEDYS  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**RAMON PONCE KARINA MARCELA  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**TRABAJOS EXPERIMENTALES**

**ESTUDIO DE PRE-ESTABILIDAD DE UNA CREMA  
ANTIMICROBIANA A BASE DE PELARGONIUM  
ODORATISSIMUM**

**PESANTEZ CHIRIBOGA KEIKO MILEDYS  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**RAMON PONCE KARINA MARCELA  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**GARCIA MIR VIVIANA**

**MACHALA  
2023**

# ESTUDIO DE PRE-ESTABILIDAD DE UNA CREMA ANTIMICROBIANA A BASE DE PELARGONIUM ODORATISSIMUM

*por* KEIKO MILEDYS PESANTEZ CHIRIBOGA

---

**Fecha de entrega:** 21-feb-2024 01:10p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2300758448

**Nombre del archivo:** TESIS\_1-.docx (1.09M)

**Total de palabras:** 9578

**Total de caracteres:** 51364

# ESTUDIO DE PRE-ESTABILIDAD DE UNA CREMA ANTIMICROBIANA A BASE DE PELARGONIUM ODORATISSIMUM

## INFORME DE ORIGINALIDAD

1 %

INDICE DE SIMILITUD

1 %

FUENTES DE INTERNET

1 %

PUBLICACIONES

0 %

TRABAJOS DEL  
ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1 Submitted to Universidad Pedagogica y  
Tecnologica de Colombia <1 %  
Trabajo del estudiante

2 repositorio.upads.edu.pe <1 %  
Fuente de Internet

3 Saira Rocío Martínez-Alemán, Francisco  
Daniel Hernández-Castillo, Cristóbal Noé  
Aguilar-González, Raúl Rodríguez-Herrera et  
al. "Extractos de pulpa de café: Una revisión  
sobre antioxidantes polifenólicos y su  
actividad antimicrobiana", Investigación y  
Ciencia de la Universidad Autónoma de  
Aguascalientes, 2019 <1 %  
Publicación

4 buleria.unileon.es <1 %  
Fuente de Internet

5 www.scribd.com <1 %  
Fuente de Internet

---

Excluir citas Activo

Excluir coincidencias < 20 words

Excluir bibliografía Activo

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

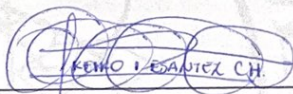
Las que suscriben, PESANTEZ CHIRIBOGA KEIKO MILEDYS y RAMON PONCE KARINA MARCELA, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado ESTUDIO DE PRE-ESTABILIDAD DE UNA CREMA ANTIMICROBIANA A BASE DE PELARGONIUM ODORATISSIMUM, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no 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.

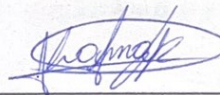
Las autoras como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

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.



PESANTEZ CHIRIBOGA KEIKO MILEDYS

0705548634



RAMON PONCE KARINA MARCELA

0705828143

## DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo va dedicado a:

Dios, fuente de sabiduría, quién ha sido mi guía y fortaleza en toda mi etapa académica.

A mis padres Edgar y Martha, quienes han sido mi mayor inspiración. Sus sacrificios y aliento han sido pilares fundamentales para mi perseverancia.

A mis hermanos Cristhian y Valentina, quienes estuvieron pendientes a mi formación profesional, brindándome su cariño y amor en momentos difíciles.

**Keiko Pesantez Chiriboga**

El presente trabajo investigativo va dedicado a:

A mis queridos padres, Moisés y Luisa, por su confianza en mí, sabiduría que ha alumbrado cada paso y cuyo amor incondicional y sacrificio han sido el cimiento sobre el cual he podido construir mis sueños.

A mi hermano Carlos, quien ha sido mi fuente de ánimo y apoyo con la realización de esta tesis.

Y con un corazón lleno de gratitud, elevo mi más sincero agradecimiento a Dios, por bendecirme con una familia que es mi refugio y fortaleza, y por iluminar mi camino hacia este logro.

**Karina Ramón Ponce**



## **AGRADECIMIENTOS**

Queremos comenzar expresando nuestro profundo agradecimiento a Dios, por brindarnos fortaleza, sabiduría y perseverancia necesaria para culminar nuestro viaje académico.

También deseamos agradecer de manera especial a nuestra tutora Dr. Viviana García Mir y a nuestra cotutora Dr. Dayse Romero Fernández por su inestimable orientación, apoyo y paciencia a lo largo de la investigación y redacción de esta tesis. Sus conocimientos y consejos fueron fundamentales en nuestro camino hacia la culminación de nuestro trabajo.

A nuestro compañero, Bqf. Gerson Palacios queremos expresar nuestra gratitud por su disposición para brindarnos valiosos consejos y aportes que resultaron de gran ayuda.

Agradecemos a nuestros compañeros, mejores amigos y futuros colegas Bryan Aguilar y Denise Criollo, quienes estuvieron apoyándonos día a día en nuestro recorrido académico, compartiendo con nosotras sus conocimientos y experiencias.

Por último y no menos importante, a nuestros queridos padres les agradecemos por su infinito apoyo incondicional; emocional y económico. Sin ellos, no habríamos logrado culminar esta investigación.

## RESUMEN

La planta *Pelargonium odoratissimum* conocida coloquialmente como “Malva olorosa” es considerada un potencial medicinal debido a que en su composición química presenta metabolitos como flavonoides, cumarinas, taninos y alcaloides los cuales proporcionan efectos terapéuticos en especial antimicrobianos. En base a esto se ha desarrollado cremas antimicrobianas con extractos hidroalcohólicos de la planta siguiendo la formulación original de Carnero Sigcha. Por ello, el objetivo del trabajo fue realizar estudios de pre-estabilidad a la crema. Se evaluó el control de calidad a la droga cruda mediante ensayos reportando valores de; humedad 10,17%, cenizas totales 4,49%, sustancias solubles en mezcla hidroalcohólica (50%) 67,52%. Por otro lado, en los análisis de control de calidad del extracto se obtuvieron valores de pH 5,83, sólidos totales 3,25 g, densidad relativa 0.94 g/mL, índice de refracción 1,36nD y flavonoides totales 43,75 mg QUE/g estando dentro de los rangos permitidos según la literatura. Al extracto hidroalcohólico se le midió la actividad antimicrobiana por medio del método de difusión en disco frente a cepas bacterianas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus áureos* y fúngicas como *Candida Albicans* donde se demostró sensibilidad con halos de inhibición de 19 mm y 18 mm. Se realizó un estudio previo de estabilidad a la crema antimicrobiana evaluando semanalmente las características organolépticas (color, olor y aspecto), extensibilidad y pH para determinar si no existe alguna alteración física en la crema, además de ensayos de viscosidad, centrifugación y test de congelación- descongelación. Para el control microbiológico de la crema se utilizó un agar Müller Hilton en donde hubo ausencia de crecimiento bacteriano y fúngico por lo que se constata que el producto está en óptimas condiciones.

**PALABRAS CLAVES:** *Pelargonium odoratissimum*, crema, antimicrobiana, pre-estabilidad, extracto, hidroalcohólico

## ABSTRACT

The plant *Pelargonium odoratissimum*, colloquially known as "Malva olorosa", is considered to have medicinal potential because its chemical composition contains metabolites such as flavonoids, coumarins, tannins and alkaloids, which have therapeutic effects, especially antimicrobial effects. Based on this, antimicrobial creams based on hydroalcoholic extracts of the plant have been developed following the original formulation of Carnero Sigcha. Therefore, the aim of the work was to carry out pre-stability studies on the cream. The quality control of the crude drug was evaluated by means of tests reporting values of; humidity 10.17%, total ash 4.49%, soluble substances in hydroalcoholic mixture (50%) 67.52%. On the other hand, in the quality control analysis of the extract, values of pH 5.83, total solids 3.25 g, relative density 0.94 g/mL, refractive index 1.36nD and total flavonoids 43.75 mg QUE/g were obtained, which are within the permitted ranges according to the literature. The antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract was measured using the disc diffusion method against bacterial strains such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and fungi such as *Candida albicans*, where sensitivity was demonstrated with inhibition halos of 19 mm and 18 mm. A previous stability study was carried out on the antimicrobial cream, evaluating weekly the organoleptic characteristics (colour, odour and appearance), extensibility and pH to determine if there is any physical alteration in the cream, in addition to viscosity, centrifugation and freeze-thaw tests. For the microbiological control of the cream, a Müller Hilton agar was used, where there was an absence of bacterial and fungal growth, thus confirming that the product is in optimum conditions.

**KEY WORDS:** *Pelargonium odoratissimum*, cream, antimicrobial, pre-stability, hydroalcoholic, extract.

## INDICE

INTRODUCCIÓN .....	12
Objetivos generales.....	13
Objetivos específicos .....	13
1. MARCO TEÓRICO .....	14
1.1 Pelargonium odoratissimum.....	14
1.2 Composición química.....	14
1.2.1 Flavonoides.....	15
1.3 Propiedades farmacológicas .....	15
1.4 Actividad antimicrobiana .....	15
1.5 Actividad antifúngica .....	16
1.6 Formas farmacéuticas semisólidas .....	16
1.6.1 Cremas.....	16
1.6.2 Excipientes.....	17
1.7 Estudio de estabilidad .....	17
1.8 Tipos de estudios de estabilidad .....	17
1.8.1 Estabilidad de estrés.....	17
1.8.2 Estabilidad acelerada.....	18
1.8.3 Estabilidad de tiempo de vida.....	18
1.9 Factor que influyen en la estabilidad .....	18
1.9.1 Factores físicos.....	18
1.9.2 Factores químicos.....	18
1.9.3 Análisis microbiológico.....	19
1.10 Métodos de evaluación de la actividad microbiológica.....	19
1.10.1 Kirby Bauer.....	19
1.10.2 E-Test.....	19
1.10.3 Dilución en caldo con microtitulación.....	20
1.10.4 Dilución en Agar.....	20

2	METODOLOGÍA.....	21
2.1	Tipo de investigación .....	21
2.2	Enfoque de la investigación .....	21
2.3	VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN.....	21
2.3.1	Variable Independiente.....	21
2.3.2	Variable Dependiente. ....	21
2.4	MÉTODOS Y TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO .....	21
2.4.1	Selección de la muestra.....	21
2.4.2	Características organolépticas.....	21
2.4.3	Preparación del material vegetal.....	21
2.4.4	Análisis Granulométrico. ....	22
2.4.5	Control de calidad de la droga cruda. ....	22
2.4.6	Obtención del extracto hidroalcohólico. ....	24
2.4.7	Control de calidad del extracto hidroalcohólico. ....	24
2.4.8	Cuantificación de flavonoides totales. ....	26
2.4.9	Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico. ....	26
2.4.10	Elaboración de la crema. ....	27
2.4.11	Evaluación de los parámetros físicos de la crema. ....	28
2.4.12	Ensayos de estabilidad preliminar.....	29
2.4.12	Análisis de datos.....	30
3	RESULTADOS Y DISCUSION .....	31
3.1	Control de calidad de la droga.....	31
3.1.1	Características organolépticas y morfológicas. ....	31
3.1.2	Análisis granulométrico de la droga seca.....	31
3.2	Parámetro fisicoquímico de la droga cruda .....	32
3.3	Parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico.....	34
3.4	Determinación de flavonoides totales.....	35
3.5	Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico.....	36

3.5.1 Actividad antimicrobiana frente Escherichia Coli.....	36
3.5.2 Staphylococcus Aureus. ....	37
3.5.3 Candida Albicans.....	37
3.6 Elaboración de la crema.....	38
3.7 Estudios de pre-estabilidad de la crema.....	39
3.7.1 Centrifugación. ....	39
3.7.2 Test de ciclo stress congelación- descongelación.....	40
3.9.1 Evaluación de las características físicas de las formulaciones en el tiempo. .....	40
3.8 Control microbiológico de la crema .....	41
4 CONCLUSIONES.....	43
5 RECOMENDACIONES.....	44
BIBLIOGRAFÍA .....	45
ANEXOS .....	52

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Medidas de hojas y tallos de <i>P. odoratissimum</i> (n=50) .....	31
Tabla 2 Parámetros fisicoquímicos de la droga (n=3).....	32
Tabla 3 Parámetros de calidad del extracto hidroalcohólico (n=3).....	34
Tabla 4 Cuantificación de flavonoides totales presente en el extracto hidroalcohólico (n=3) .....	35
Tabla 5 Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas y los tallos de la planta <i>Pelargonium Odoratissimum</i> frente a <i>Escherichia Coli</i> .....	37
Tabla 6 Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas y los tallos de la planta <i>Pelargonium odoratissimum</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	37
Tabla 7 Actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las hojas y los tallos de la planta <i>Pelargonium odoratissimum</i> frente a <i>Candida Albicans</i> .....	38
Tabla 8 Parámetros físicos a las 24 horas de haber elaborado la crema de <i>P. odoratissimum</i> ; (n=3) .....	38
Tabla 9 Ciclo de estrés (congelación / descongelación) (n=3).....	40
Tabla 10 Evaluación de pH, extensibilidad y viscosidad de los lotes (n=3).....	41
Tabla 11 Control microbiológico de lotes de la crema antimicrobiana a base del extracto de <i>Pelargonium odoratissimum</i> .....	42

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografía de la planta <i>Pelargonium odoratissimum</i> , de propia auditoria.....	14
Figura 2 Análisis granulométrico - Droga cruda de <i>P. odoratissimum</i> .....	32
Figura 3 Centrifugación de los tres lotes de crema.....	39
Figura 4 Separación en dos fases después de centrifugación en una réplica del lote #3 .....	39



## INTRODUCCIÓN

En la búsqueda continua de soluciones naturales y efectivas para combatir las infecciones causadas por microorganismos patógenos, se ha despertado un creciente interés en el estudio de plantas medicinales con propiedades antimicrobianas. En este contexto, la *Pelargonium odoratissimum* conocida coloquialmente como “Malva olorosa”, ha emergido como un potencial recurso prometedor debido a sus propiedades bioactivas. Esta planta pertenece a la familia de las geraniáceas, es perenne, auto fértil, originaria del sur y este de Sudáfrica por lo que se adaptan y crecen en una variedad de condiciones ambientales. En Ecuador, se puede encontrar en lugares con climas subtropicales, como en la parroquia Chantaco perteneciente a la provincia de Loja (Ebrahimzadeh et al., 2021).

Noles & Rueda (2019) mencionan en su investigación que el extracto hidroalcohólico de *Pelargonium odoratissimum*, contiene diversos metabolitos como flavonoides, alcaloides, cumarinas, taninos, saponinas y azúcares reductores. Los cuales poseen la capacidad para calmar la piel, reduce la inflamación y evita la proliferación de microorganismos. Debido a estas potenciales características medicinales se ha considerado una crema farmacéutica a base del extracto hidroalcohólico de *Pelargonium odoratissimum* (Rovella et al., 2021).

Las cremas son formas farmacéuticas semisólidas, que se aplican directamente sobre la piel. Pese a ser una de las presentaciones farmacéuticas más antiguas, son importantes en la medicina, especialmente en la dermatología, pero también en aplicaciones nasales, oftálmicas para tratar heridas. La aplicación tópica resulta atractiva puesto que posibilita la administración directa del principio activo en una zona específica del cuerpo sin exponer todo el organismo, lo que reduce los problemas de toxicidad y efectos secundarios (Herbig et al., 2023).

La estabilidad de medicamentos es importante en la industria farmacéutica, ya que ayuda a garantizar la calidad, seguridad y efectividad. En especial, las cremas puesto que son productos de uso cotidiano, por lo que actúan a nivel local y son de sencilla administración, haciendo énfasis en su comportamiento frente a factores de deterioro como humedad, temperatura, luz y condiciones de almacenamiento (Aashigari et al., 2019). Puesto que la falta de estudios de estabilidad en fitofármacos puede conllevar a modificaciones en su apariencia, textura, color, olor y degradación de los metabolitos presentes en la crema, lo que implica la reducción de la eficacia, presencia de

microorganismos y en algunos casos originan compuestos que pueden llegar a ser perjudiciales para la salud (Gelaleti et al., 2019).

El presente estudio tiene como objetivo abordar los estudios iniciales de la estabilidad de una crema con actividad antimicrobiana a base del extracto de *P. odoratissimum*, mediante una metodología de corte transversal, experimental y descriptivo. El cual mantiene al estudio con un enfoque investigativo cualitativo y cuantitativo.

### **Objetivos generales**

Evaluar la pre-estabilidad de una crema con actividad antimicrobiana a base del extracto de *Pelargonium odoratissimum*, mediante la determinación de sus propiedades fisicoquímicas en el tiempo para lograr la calidad del producto final.

### **Objetivos específicos**

- Evaluar los parámetros de calidad de la droga cruda y el extracto hidroalcohólico de *Pelargonium odoratissimum*.
- Determinar contenido de flavonoides totales presentes en el extracto hidroalcohólico.
- Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *P. Odoratissimum* por medio de estudios in vitro.
- Valorar de manera inicial la estabilidad física de la crema de *P. Odoratissimum*

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 *Pelargonium odoratissimum*

La *Pelargonium odoratissimum* es una planta perenne conocida coloquialmente como malva olorosa, geranio de manzana o malva blanca, la especie se destaca por ser autofértil o hermafrodita puesto que presenta órganos femeninos y masculino. Las hojas se encuentran presentes todo el año y florecen a mediados de mayo a julio (Ebrahimzadeh et al., 2021).

Esta planta puede crecer hasta 0.2 a 0.3 m de altura, sus hojas son verdes blandos con un aroma fuerte a manzana y menta; de aproximadamente 30 a 40 mm de diámetro, las flores son pequeñas con una coloración lila pálida con destellos blancos. Crece en hábitats con áreas sombreadas al este y sur de Sudáfrica en suelos arcillosos o arenosos con un pH que oscila entre ligeramente ácido, neutro y alcalino (Ospina et al., 2016).

*Figura 1. Fotografía de la planta Pelargonium odoratissimum, de propia auditoria*



### 1.2 Composición química

Según Orchard et al., (2017) mencionan que la planta *Pelargonium odoratissimum* contiene varios compuestos químicos en diferentes proporciones. Algunos de estos compuestos incluyen metileugenol en mayor cantidad, metiliseugenol, limoneno, fenchona,  $\alpha$ -tujona, isomentona y p-cimeno. Estos compuestos confieren a las plantas propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas. Además, también se encontró la presencia de fenilpropanoides en la fracción volátil del aceite esencial obtenido de la planta.

En base a los estudios realizados por Noles & Rueda (2019), donde se llevó a cabo un análisis fitoquímico en los extractos de hojas y tallos de *Pelargonium odoratissimum*, reveló la presencia de diversos compuestos metabólicos, tales como alcaloides, flavonoides, cumarinas, saponinas, taninos y azúcares reductores.

**1.2.1 Flavonoides.** Consisten de 15 átomos de carbono (C6-C3-C6) dispuestos de manera que dos anillos aromáticos se encuentran unidos por un puente de tres carbonos (Mehari et al., 2021). Para Roy et al., (2022), este tipo de compuestos presenta una estructura de 2-fenilcromano el cual es formado por la unión de un anillo bencénico con un anillo heterocíclico, mientras que en la posición 2 está unido a un anillo fenilo, de los cuales, los principales son los flavonoles, flavan-3-oles y antocianinas.

### **1.3 Propiedades farmacológicas**

De acuerdo con Yarboa et al., (2018) la planta *Pelargonium odoratissimum*, cuenta con diversas propiedades benéficas para la salud. Estas incluyen efectos anticancerígenos, antimicrobianos, antifúngicos, antioxidantes, antineuroinflamatorios y antigripales. Además, al ser consumida en forma de alimentos o té, la planta también brinda beneficios cardiovasculares, dentales y alivia trastornos gastrointestinales y tópicos.

El uso tópico del *Pelargonium odoratissimum* se emplea para tratar afecciones cutáneas, neuralgias e infecciones de garganta gracias a sus propiedades antimicrobianas. Además, su uso interno se recomienda para tratar la gastroenteritis, la debilidad y controlar hemorragias (Ospina et al., 2016).

### **1.4 Actividad antimicrobiana**

Diversas investigaciones han demostrado que el *P. odoratissimum* tiene propiedades que ayudan a combatir infecciones, tanto de bacterias gram positivas como gram negativas. Esto se debe a su alto contenido de geraniol y citronelol, así como a otros compuestos presentes en menor cantidad, como el linalol y el cariofileno (Ospina et al., 2016).

Además, según estudios realizados por Fernández et al. (2023), se ha encontrado que el *Pelargonium odoratissimum* contiene diversos compuestos químicos, como alcaloides, lignanos, flavonoides, estilbenos, polifenólicos, taninos, terpenos, quinonas y cumarinas. Estos compuestos también tienen propiedades antimicrobianas y la capacidad de afectar la biopelícula bacteriana y detectar el quórum bacteriano.

El quórum es un sistema de comunicación bacteriana que coordinan el comportamiento colectivo de las bacterias, como la formación de biofilms y la producción de enzimas. Al interferir con el quórum, estos compuestos impiden que las bacterias se comuniquen y coordinen sus actividades, lo que contribuye a su actividad antimicrobiana contra bacterias susceptibles y resistentes.

## **1.5 Actividad antifúngica**

La actividad antifúngica guarda una estrecha relación con la actividad antibacteriana, puesto que inhibe el crecimiento o desarrollo de agentes patógenos como hongos, levaduras y mohos. Estos agentes, originados y propagados por esporas presentes en el ambiente, los mismos que al ingresar al organismo causan infecciones, afectando gran parte del sistema respiratorio, circulatorio, piel y uñas (Su et al., 2022).

La gran parte de agentes antifúngicos son disruptores o inhibidores destinados a la biosíntesis del ergosterol fúngico, causando alteraciones en la permeabilidad y fluidez de la membrana celular del hongo, conllevando a que sea más susceptible a daños (Sanchez Armengol et al., 2021).

Mishra et al., (2020) señala que las plantas contienen en su composición química metabolitos secundarios bioactivos como alcaloides, flavonoides y cumarinas, los cuales tienen actividad antifúngica al inhibir el crecimiento de los hongos y levaduras. Por ende, la planta *P. odoratissimum* es una fuente de origen para diversos medicamentos antifúngicos.

## **1.6 Formas farmacéuticas semisólidas**

**1.6.1 Cremas.** Son productos con una consistencia viscosa y semisólida, cuya textura puede variar dependiendo de su proporción de aceite y agua presentes en su formulación. En término de su composición, las cremas pueden ser preparadas como emulsiones oleosas/acuosas o acuosas/oleosas, y tradicionalmente se han elaborado combinando agua como disolvente y excipientes junto con dos o más ingredientes adicionales (Khare et al., 2021).

La administración de la crema es de naturaleza tópica, lo que implica que el uso sea directamente en la piel para tratar trastornos, manifestaciones o heridas cutáneas relacionadas con una enfermedad específica (Chauhan & Gupta, 2020). Las cremas se pueden categorizar según su composición en dos tipos:

*1.6.1.1 Las formulaciones hidrófobas.* Son conocidas como agua en aceite (w/o), consisten en la presencia de pequeñas gotas de agua dispersas en una fase oleosa continua. Estas preparaciones tópicas son altamente hidratantes, ya que crean una barrera oleosa que ayuda a prevenir la pérdida de agua de la capa más externa de la piel, conocida como estrato córneo (Salehi et al., 2022).

*1.6.1.2 Las formulaciones hidrófilas.* También denominadas como aceite en agua (o/w), se caracterizan por contener diminutas gotas de aceite suspendidas en una fase acuosa. Estas preparaciones tópicas son útiles para la aplicación de medicamentos activos en las membranas mucosas o la capa interna de la piel (Anchal et al., 2021).

*1.6.2 Excipientes.* Los excipientes se emplean para mejorar la solubilidad, regular la liberación, aumentar la permeabilidad cutánea, garantizar la estabilidad de la formulación e impedir la proliferación de microorganismos. Los excipientes farmacéuticos adecuados para la elaboración y desarrollo de productos medicinales se encuentran detallados en las farmacopeas internacionales (Khare et al., 2021).

Varios excipientes utilizados en las preparaciones de las cremas incluyen: bases, humectantes, agente quelante, antioxidantes, emulsionante, preservativo, agente espesante y también para mejorar la permeabilidad (Herbig et al., 2023).

## **1.7 Estudio de estabilidad**

El objetivo de las pruebas de estabilidad en las cremas es asegurar que un producto recién desarrollado o modificado cumpla con los requisitos establecidos en cuanto a su calidad física, química y microbiológica. Además, se busca garantizar que el producto conserve tanto su funcionalidad como su aspecto estético durante el almacenamiento en condiciones adecuadas. Algunos de los parámetros a evaluar son ensayos de estabilidad acelerada, medida de viscosidad, propiedades organolépticas, pH y pruebas de actividad antimicrobiana in vitro (Sovová et al., 2023).

## **1.8 Tipos de estudios de estabilidad**

*1.8.1 Estabilidad de estrés.* La realización de ensayos de estrés tiene como objetivo identificar los posibles productos obtenidos durante la degradación de un compuesto, así como determinar el tiempo en que ocurre dicha degradación. Este proceso proporciona información valiosa para establecer las vías de degradación y evaluar la estabilidad intrínseca del compuesto (Guldiken et al., 2018).

*1.8.2 Estabilidad acelerada.* La determinación de la estabilidad acelerada consiste en exponer el medicamento a condiciones severas de temperatura y humedad, con el propósito de obtener datos sobre los aspectos cinéticos y termodinámicos relevantes, esto permite realizar una estimación de la duración máxima durante el cual el medicamento conservara su eficacia y seguridad (Kuhn et al., 2022).

*1.8.3 Estabilidad de tiempo de vida.* Se encarga de establecer la fecha de caducidad de un producto, la cual generalmente varía entre uno y cinco años y se establece de manera precautoria. Los estudios de estabilidad, que son llevados a cabo por los fabricantes farmacéuticos, son procesos que demandan inversión significativa de tiempo y recursos (Zilker et al., 2019).

Estas pruebas deben abarcar diferentes condiciones, como cambios bruscos de temperatura, susceptibilidad del fármaco a la hidrólisis a diferentes valores de pH, pruebas de fotoestabilidad y humedad. Todo esto resulta muy útil para determinar las rutas de degradación del compuesto y desarrollar y validar métodos analíticos apropiados (Tietje & Brouder, 2010).

## **1.9 Factor que influyen en la estabilidad**

*1.9.1 Factores físicos.* Tienen el potencial de inducir cambios en la composición química de una crema farmacéutica. Estos factores pueden incluir el mezclado inadecuado durante el proceso de fabricación, fluctuaciones de temperatura significativas, exposición a la luz, especialmente a la luz ultravioleta, lo que puede afectar a los componentes y principios activos; y la presencia de oxígeno, que puede producir reacciones de oxidación en los ingredientes (Mendonsa et al., 2019). Por lo tanto, en productos farmacéuticos como cremas, comprimidos, jarabes, etc. Estos factores pueden originar cambios en su apariencia física ya sea color, olor, textura, consistencia, homogeneidad, y la sensación inmediata al entrar en contacto con la piel (Gafour & Aly, 2020).

*1.9.2 Factores químicos.* Abarcan las reacciones e interacciones que sufren los ingredientes de las formulaciones, ya sea por la incompatibilidad con alguno de los aditivos, excipientes o con el material empleado para el envase. Así mismo el almacenamiento y acondicionamiento incorrecto de estos productos pueden desarrollar reacciones de óxido-reducción, hidrólisis por el contenido de humedad presente, pH, fotodegradación o fotólisis (Postles, 2018).

Por otro lado, los ingredientes al estar en contacto con la luz pueden desencadenar la producción de radicales libres, lo que propicia el inicio de una serie de reacciones en cadena. Conllevando a la alteración de las características organolépticas e incluso la disminución de la actividad farmacológica del principio activo.

**1.9.3 Análisis microbiológico.** La estabilidad microbiológica de los medicamentos se refiere a su resistencia a la contaminación y al crecimiento de microorganismos. Los agentes antimicrobianos utilizados en la formulación garantizan que el medicamento mantenga su eficacia dentro de los estándares establecidos. La falta de estabilidad microbiológica representa un riesgo para la calidad de los medicamentos estériles (Aashigari et al., 2019).

El análisis microbiológico del *Pelargonium odoratissimum* utilizan cepas bacterianas gram positivas como *Staphylococcus aureus*, así como dos bacterias gram negativas, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Para promover el crecimiento de estas cepas, se utilizan medios de cultivo como MacConkey, Chocolate y Luria-Bertani (Abdelbaky et al., 2022).

## **1.10 Métodos de evaluación de la actividad microbiológica**

**1.10.1 Kirby Bauer.** También llamado antibiograma disco-placa, se trata de una técnica por difusión en disco, donde se evalúa la sensibilidad a los antibióticos entre diferentes especies bacterianas. En este método se impregna un disco estándar con una concentración específica de antibiótico el cual se aplica en una placa Petri con agar inoculado del microorganismo, este disco se encarga de distribuirse a todo el medio de cultivo y tras un tiempo de incubación los discos se rodean de un halo de inhibición microbiana. Sin embargo, este método no permite la determinación directa de la concentración mínima inhibitoria (CMI). No obstante, es una herramienta útil para llevar a cabo la evaluación inicial de la actividad antimicrobiana de un nuevo extracto a estudiar.

**1.10.2 E-Test.** La prueba de epsilometría o también conocida como gradiente exponencial es una combinación de dos métodos; el de difusión en disco y dilución en agar. A diferencia del método Kirby Bauer esta técnica brinda resultados cuantitativos, es decir; si determina CMI en términos de microgramos por mililitros ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). El procedimiento se basa en la aplicación de una tira reactiva con una concentración de antibiótico en una placa Petri previamente inoculada con el microorganismo.



*1.10.3 Dilución en caldo con microtitulación.* Es un procedimiento que se utiliza para medir la concentración de una solución bacteriana de manera precisa, mediante el uso de muestras de bacterias diluidas y placas de microtitulación de fondo plano con tubos de caldo estériles. La técnica permite observar cualitativamente los cambios de color, que nos manifiesta el crecimiento bacteriano. Se emplea como técnica para el monitoreo de tratamiento de antimicrobiano, ya que permite calcular la concentración inicial de la muestra (Moreno et al., 2022).

*1.10.4 Dilución en Agar.* Se utiliza en la determinación de la concentración mínima inhibitoria de antibióticos, utilizando diferentes diluciones de la muestra en agares estériles, se realizan un conteo de colonias formadas en cada agar, lo que proporciona información sobre la cantidad de microorganismos presentes en la muestra (Soria-Segarra et al., 2020).

## 2 METODOLOGÍA

### 2.1 Tipo de investigación

Este proyecto de tesis es un estudio de corte transversal, experimental y descriptivo realizado en el año 2023, llevado a cabo en la Universidad Técnica de Machala en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica. El trabajo integra métodos cualitativos y cuantitativos, descriptivo ya que se especifica de manera detallada las características de la planta, los ensayos realizados desde el procesamiento hasta los resultados obtenidos. Exploratorio debido a que se evalúa la estabilidad inicial y las propiedades microbiológicas de la crema antimicrobiana.

### 2.2 Enfoque de la investigación

Esta investigación se basa en una metodología integral que aborda aspectos relacionados con la pre-estabilidad como estudios de control de calidad de la droga cruda, extracto hidroalcohólico y crema de la planta *Pelargonium odoratissimum*, aplicando diversos ensayos tanto fisicoquímicos como microbiológicos para comprobar la actividad terapéutica y la estabilidad inicial de la formulación.

### 2.3 Variables de la investigación

2.3.1 *Variable Independiente*. Crema a base de *Pelargonium odoratissimum*.

2.3.2 *Variable Dependiente*. Pre-estabilidad de la crema, actividad antimicrobiana y antifúngica.

### 2.4 Métodos y técnicas de procesamiento

2.4.1 *Selección de la muestra*. Se llevó a cabo la selección de las hojas y los tallos de la planta *Pelargonium odoratissimum*, eligiendo las que se encontraron en buen estado y desechando las partes de la planta que presentaron alteraciones, ya sea por falta o exceso de agua, luz o daños causados por insectos. De igual manera se desecharon las hojas y los tallos contaminados por tierra, arena, heces de animales o insectos.

2.4.2 *Características organolépticas*. Se evaluaron los parámetros: olor, color y textura de las hojas como de los tallos. Este análisis nos permitió obtener una información detallada de las propiedades sensoriales de la muestra, brindando datos esenciales acerca de su calidad y condición física.

2.4.3 *Preparación del material vegetal*. Luego de la selección de las hojas y los tallos de *Pelargonium odoratissimum*, se procedió a lavar con abundante agua potable y seguido

con agua destilada, para eliminar cualquier residuo o suciedad. Posteriormente, el material vegetal fue sometido a un proceso de secado, llevando las hojas y los tallos a un secador artesanal a temperatura ambiente por 48 horas y luego a la estufa marca Memmert a 40°C por un periodo de 72 horas. Finalmente, la droga seca se sometió a un proceso de molienda en un procesador de alimentos marca Hamilton Beach a máxima velocidad. El polvo obtenido se almacenó en fundas herméticas Ziploc Brand y se procedió a colocar en el desecador.

*2.4.4 Análisis Granulométrico.* Para este análisis se empleó el tamizador de la marca WS-Tyler mentor OH USA-2017 MODEL RX-99 SERIE 12535, en donde se utilizaron baterías de tamices de diferentes diámetros: 1.18 ; 1 ; 0,6 ; 0,425 ; 0,25 ; 0,125 mm, a una vibración de 7 Hz por cinco minutos, siguiendo la metodología establecida por Estevan et al., (2012).

El ensayo se realizó por triplicado, en donde se pesaron 50 gramos de la droga en la balanza analítica PIONEER OHAUS serie PX224, los cuales, se depositaron en el tamiz con la malla de mayor diámetro. Luego del tamizado, se pesó el contenido de cada uno de los tamices con la finalidad de establecer la masa de cada fracción granulométrica retenida en los distintos tamices.

Para el cálculo del diámetro medio de la masa de polvo se empleó la siguiente fórmula:

$$D = \frac{\sum d_i * m_i}{N} \quad ( 1 )$$

En donde:

**D:** diámetro medio de las partículas (mm)

**di:** diámetro medio entre el tamiz que lo retiene y el intermedio superior(mm)

**mi:** masa del rechazo retenido en cada tamiz (g)

**N:** masa total del cernido (g)

*2.4.5 Control de calidad de la droga cruda.* El control de calidad droga cruda (seca) se realizó siguiendo la metodología planteada por Miranda y Cuellar (2000) en el libro titulado "Farmacognosia y productos naturales". Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

*2.4.5.1 Contenido de humedad.* El ensayo se realizó vertiendo 0.5 g de la muestra en platillos de aluminio desechables con ayuda de una espátula. Posteriormente se

colocaron los platillos en la balanza termogravimétrica marca OHAUS serie MB 90/120 a una temperatura de 105°C. Los valores de porcentaje del contenido de humedad fueron arrojados por el equipo una vez concluido el proceso.

*2.4.5.2 Contenido de cenizas totales.* Se colocaron dos gramos de la droga cruda en un crisol de porcelana previamente tarado y luego se pesó. Posteriormente, se los crisoles con la droga se pusieron en una mufla (Nambertherm L-150 KICN) durante tres horas a una temperatura de 700°C, hasta lograr su incineración total. Para finalizar, las muestras incineradas se ubicaron en un desecador para su enfriamiento y poder seguir con el pesado de cada uno de los crisoles.

Los resultados se expresarán mediante la fórmula:

$$C = \frac{M2 - M}{M1 - M} \times 100 \quad ( 2 )$$

Dónde:

**C=** Porcentaje de cenizas totales en base hidratada (%)

**M=** Masa del crisol vacío (g)

**M1=** Masa de crisol con la porción de ensayo (g)

**M2=** Masa del crisol con la ceniza (g)

**100=** Factor matemático para los cálculos

*2.4.5.3 Determinación de sustancias solubles.* Se peso 2.5 g de la droga cruda y se colocó en un Erlenmeyer de 250 mL, en el cual se le adicionó 50 mL de disolvente. Se tapó con papel de aluminio y se llevó a la maquina agitadora de marca alemana Erweka por 6 horas, para posteriormente dejar reposar por 24 horas. Luego se volvió agitar por 30 minutos más y se procedió a filtrar (papel de filtro). Se tomaron 20 mililitros del líquido filtrado y se colocó en una cápsula de porcelana previamente tarada que se llevó a baño María hasta su completa evaporación.

Para finalizar, se colocó la cápsula en una estufa marca MEMMERT a 105°C por tres horas, se puso en un desecador para enfriar y luego se pesó.

El ensayo se realizó con tres tipos de disolventes: agua, etanol y mezclas hidroalcohólicas (50:50) y los resultados se expresaron mediante la fórmula:

$$Ss = \frac{R * 500 * 100}{M (100 - H)} \quad ( 3 )$$

Dónde:

**Ss** = Sustancias solubles

**H**= Humedad de la muestra en %

**500 y 100** = Factores matemáticos para los cálculos

**R**= Residuo de la muestra (g)

**M**= Masa de la muestra (g)

*2.4.6 Obtención del extracto hidroalcohólico.* La extracción se realizó por percolación a partir de la droga seca, utilizando como mensturo una mezcla hidroalcohólica 50:50 y siguiendo el procedimiento realizado por Carnero (2023).

Se procedió a pesar 20 gramos de la droga cruda, en una balanza analítica marca PIONEER OHAUS. Luego se humectó por 30 minutos con el disolvente (mezcla agua - etanol al 96%), se pasó el material al equipo de percolación y se procedió a colocar el papel filtro sobre la mezcla, agregando la cantidad de mensturo indispensable para lograr que cubra por encima de 5.0 cm de la muestra vegetal.

Por último, se dejó macerar en el percolador alrededor de 24 horas y se procedió a abrir la llave a 20 gotas por minuto. Los extractos resultantes de este proceso se colocaron en frascos ámbar y almacenados en temperatura ambiente para la posterior realización de análisis.

*2.4.7 Control de calidad del extracto hidroalcohólico.* El control de calidad del extracto hidroalcohólico se realizó según la normativa de la Organización Mundial de la Salud (2011) y a la metodología ya mencionada anteriormente de Miranda y Cuellar (2000). Cada ensayo se desarrolló con tres réplicas, mediante un análisis simple y preciso, con el objetivo de garantizar su calidad. Dentro de las determinaciones que se realizaron están: pH, sólidos totales, índice de refracción- grados brix, densidad.

*2.4.7.1 Determinación de la densidad relativa.* Se determinó por medio de picnometría, utilizando una balanza analítica marca PIONEER OHAUS de la serie PX224. Se procedió a pesar el picnómetro totalmente vacío, con agua y la cantidad de extracto necesaria en un picnómetro de 10 mL.

Los resultados se expresan en:

$$D = \frac{M_1 - M}{M_2 - M} \quad ( 4 )$$

Donde:

$M_1$ = Peso del picnómetro con la muestra (g)

$M_2$ = Peso del picnómetro con el agua (g)

$M$ = Peso del picnómetro vacío (g)

*2.4.7.2 Determinación de pH.* Se llevó a cabo la medición del nivel de acidez (pH) comenzando por la calibración del pH-metro digital de la marca BANTE con soluciones Buffer (Fisher Scientific USA LOT 190071). A continuación, se sumergió la sonda del medidor de pH en el extracto, siguiendo las instrucciones proporcionadas por la metodología.

*2.4.7.3 Determinación de índice de refracción y grado brix.* En primer lugar, se llevó a cabo la calibración del Refractómetro de la marca ANTON PARR utilizando una gota de agua destilada en el prisma de medición. Posteriormente, se añadió una gota del extracto y se cerró la tapa del termo. Este proceso se realizó por triplicado, siguiendo las indicaciones detalladas en la metodología.

*2.4.7.4 Determinación de sólidos totales.* Se tomaron 5.0 ml de extracto y se transfirieron a una cápsula previamente tarada. Luego, se colocó la cápsula en baño María marca Memmert hasta que todo el extracto se haya evaporado y solo quede un residuo seco. Posteriormente, la cápsula se puso en la estufa, marca Memmert, a 105 °C durante 3 horas. Una vez transcurrido ese tiempo, se retiró la cápsula y se dejó enfriar en un desecador hasta que alcanzó la temperatura ambiente. Este proceso de secado se realizó durante 60 minutos, hasta obtener una masa constante.

Los resultados se calcularon siguiendo la siguiente fórmula:

$$St = \frac{P_r - P}{V} \times 100 \quad ( 5 )$$

**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 (mL)

**100** = Factor matemático para el cálculo

**2.4.8 Cuantificación de flavonoides totales.** La determinación de flavonoides se realizó el método colorimétrico del tricloruro de aluminio de acuerdo a la metodología descrita por Campo et al., (2020). Para la elaboración de la curva de calibración se empleó como estándar quercetina (Sigma-Aldrich) en distintas concentraciones desde 3,1 hasta 50 µg/mL. A partir de las diluciones del estándar y de las muestras se tomó 2 mL de las mismas y se mezclan con 100 µL de tricloruro de aluminio al 10%, 100 µL de acetato de potasio a 1 M y 2,8 mL de agua destilada, y se deja reposar durante 40 min a temperatura ambiente. Las lecturas se realizaron utilizando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 415 nm en celdas de cuarzo. El contenido de flavonoides totales será expresado como miligramos equivalentes a quercetina/ gramo de especie (EQ (mg)/g muestra).

**2.4.9 Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico.** El presente trabajo se realizó con el direccionamiento de las normas del CLSI (Instituto de estándares para el laboratorio clínico) (2017)

**2.4.9.1 Preparación de las cepas de ensayo.** Utilizando cepas aisladas proporcionadas del laboratorio de microbiología del Hospital Especializado Gineco Obstétrico Angela Loayza de Ollage. Se aplicó técnicas de mantenimiento de los cultivos de las cepas; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Candida albicans*, de modo que los microorganismos sean viables y utilizados para la realización del estudio de sensibilidad microbiana.

**2.4.9.2 Microorganismos aerobios.** Se inoculó por separado cada una de las cepas bacterianas de ensayo en los medios específicos como agar Manitol salado, agar Macconkey, agar Cetrimide y agar Sabouraud (elaboradas por laboratorios MEDIBAC) a una temperatura de 4 a 8 °C.

**2.4.9.3 Preparación de soluciones de trabajo y discos con los extractos hidroalcohólicos.** Con el extracto concentrado se preparó diluciones 1:100 y 1:50. Para la preparación de los discos se utilizó papel Whatman Nro.1, con un diámetro de 6 mm y 0.6 mm de espesor, a los cuales se les agregó 20 µL de cada dilución con una concentración de 6.7% y 3.35%.

2.4.9.4 *Preparación de los cultivos bacterianos.* Se utilizaron 4 cepas aisladas que se considera como una batería mínima para los ensayos de susceptibilidad:

- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- *Pseudomona aeruginosa*
- *Cándida albicans*

De las cepas conservadas en refrigeración se realizaron siembras por estrías en medios de cultivo selectivos de acuerdo al tipo de bacteria, donde se incubó en una estufa de incubación marca Biobase por 24 horas a 37°C en aerobiosis. Se efectuó pases sucesivos, de tal manera que se asegure que la cepa se encuentre en la fase de crecimiento exponencial. El inóculo se preparó por suspensión de las cepas en solución salina estéril equivalente al tubo 5 de la escala de McFarland (108 UFC/ml).

2.4.9.5 *Evaluación de la actividad antimicrobiana.* Se utilizó un método cualitativo de difusión en agar con discos impregnados del extracto hidroalcohólico del *Pelargonium odoratissimum* basada en el método de Kirby-Bauer (2016) en disco y modificado.

2.4.9.6 *Método de difusión en Agar.* Se preparó placas Petri con agar Müller-Hinton en el caso de las bacterias y Agar Sabouraud Dextrosa en el caso del hongo, una vez gelificado con intervalo de 15 minutos se procedió a preparar el inóculo de cada microorganismo al patrón de turbidez McFarland N° 5 con un densitómetro DEN-1. Posteriormente se inoculó en la superficie del agar con un hisopo estéril impregnado en la solución microbiana. Luego de 15 minutos se colocó en la superficie del agar inoculado los discos de papel de filtro previamente impregnados con 20 µl de las concentraciones de los extractos, mencionadas anteriormente, con sus controles negativos (etanol al 70%) y controles positivos. Estos son los discos estándares de antibiótico de referencia para cada microorganismo en particular (ampicilina 10 µg; ciprofloxacino 5 µg, de la marca Liofilchem). Los medios de cultivos preparados se incubaron a 37°C durante 24 horas y posteriormente la lectura de los halos de inhibición a las 24 horas en bacterias y 48 horas en el microorganismo fúngico.

2.4.10 *Elaboración de la crema.* Se elaboraron tres lotes de crema, de 500 gramos envasadas en recipientes marca LOSCOCOS de 50 gramos, según el modelo de formulación propuesto por Carnero (2023), siguiendo los siguientes pasos:



- En un recipiente, se mezcló la fase acuosa, que incluye agua purificada, extracto hidroalcohólico de *Pelargonium odoratissimum* y benzoato de sodio.
- En otro recipiente, se mezcló la fase oleosa, que consiste en aceite mineral y cera autoemulsionante, luego se calienta hasta alcanzar una temperatura de 70-75°C.
- Se agrega el alcohol cetílico a la fase oleosa, asegurándose de mezclar bien.
- La fase oleosa y los emulsionantes se vierten sobre la fase acuosa y mezclamos a alta velocidad durante unos minutos hasta que se obtuvo una emulsión homogénea.
- Una vez que la crema esté fría, se envasó en un recipiente adecuado y se almacenó en un lugar fresco y seco.

Todos los componentes y excipientes empleados para la formulación de la crema fueron adquiridos del laboratorio Cevallos S.A. de Guayaquil; aceite mineral (MP-ALIMLIQ 0007); cera autoemulsionante (polawax NF/pastillas MP-COSMETP-OL 0096); alcohol cetílico (MP-TECPOL 0020), benzoato de sodio (MP-ALIMPOL 0091).

*2.4.11 Evaluación de los parámetros físicos de la crema.* Utilizando la metodología establecida por Salehi et al., (2022) se evaluó parámetros concretos como; propiedades organolépticas (consistencia, olor, color y textura), área de extensibilidad, pH en cada uno de los lotes.

*2.4.11.1 pH.* Las mediciones de pH se realizaron por triplicado, utilizando un medidor de pH digital sumergiendo el electrodo de vidrio en la crema.

*2.4.11.2 Viscosidad.* Se analizó la viscosidad de la crema mediante un viscosímetro Fungilab modelo ONEL 100220, manteniendo una temperatura constante de 25 °C. Se utilizó un husillo tipo L3 y se fijó una velocidad de rotación de 20 rpm. Cada muestra evaluada tenía un volumen de 250 mL. La medición de este parámetro se realizó 24 horas después de haber elaborado la crema inicial.

*2.4.11.3 Extensibilidad.* Se pesó 2 gramos de la crema en una placa de vidrio situada sobre un papel milimetrado, en el que se estableció un punto de referencia. Luego, se colocó otra placa de vidrio de 272 gramos sobre la crema, y se mantuvo durante 5 minutos. Por último, se procedió a medir la circunferencia formada. Este procedimiento se realizará por triplicado.

Los resultados se expresan en:

$$E = A = \frac{\pi (d1 \times d2)}{4} \quad ( 6 )$$

**Donde:**

**A=** área de circunferencia formada en (cm<sub>2</sub>)

**d1 y d2 =** Diámetros perpendiculares a la circunferencia formada (cm)

**E =** Extensibilidad del producto (cm<sub>2</sub>)

*2.4.12 Ensayos de estabilidad preliminar.*

*2.4.12.1 Centrifugación.* Se realizó el estudio en la centrífuga de la marca LWScientific Model E8. Se llevó a cabo en el momento de elaboración de la crema y tres días después, primero se pesó 10 gramos de muestra para luego colocarlos en los tubos de ensayo, centrifugándolos a 3000 rpm por 30 minutos a una temperatura de 25°C.

*2.4.12.2 Test de ciclo stress congelación – descongelación.* Los lotes de las cremas fueron sometidas a varias temperaturas durante 24 horas, exponiéndolas a temperaturas extremas. En el primer día se partió de 0°C y segundo día se alcanzó a 25 °C, sosteniendo cada temperatura por un día completo.

Los parámetros físicos (pH, extensibilidad y propiedades organolépticas) de los tres lotes de cremas se evaluaron semanalmente durante dos meses.

*2.4.12.3 Control microbiológico.* Para el análisis microbiológico se siguieron los métodos establecidos por la USP (2014)

Previo al análisis microbiológico es importante inspeccionar cuidadosamente el aspecto que presenta la muestra (crema antimicrobiana). Antes de abrir el envase y tomar la muestra del producto para el análisis microbiológico, se debe desinfectar su superficie con Etanol 70%, acompañado de un Mechero Bunsen para garantizar el ambiente en el lugar de trabajo. Después se debe secar el envase con una gasa estéril bajo campana de flujo laminar marca BIOBASE, y procurar que todas las manipulaciones de la muestra sean asépticas. Posteriormente, se sembró una parte de la muestra con hisopado en medio Agar sangre. Para luego, Incubar por el lapso de 18-24 horas a 30-35<sup>a</sup>c, pasado el tiempo se observó la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano para realizar el conteo de colonias UFC del microorganismo.

2.4.12 *Análisis de datos.* Se llevó a cabo el procesamiento de todos los datos utilizando el software estadístico Jamovi versión 2.4.8.0. La descripción de las variables cuantitativas se expresó en términos de la media y la desviación estándar. Además, para las comparaciones estadísticas, se utilizó la prueba t de Student, Anova de un solo factor y Kuskal Wallis, previo se verificó los supuestos de normalidad y homocedasticidad por las pruebas Shapiro Wills y Levene. En la elaboración de la curva de calibración para la determinación de flavonoides se realizó un análisis de regresión lineal simple. En las pruebas realizadas se consideró un nivel de significancia  $\alpha=0,05$ .

### 3 RESULTADOS Y DISCUSION

Los hallazgos de investigaciones anteriores realizadas por Noles & Rueda (2019) respecto al extracto de la malva olorosa (*Pelargonium odoratissimum*) han sido consistentes y han demostrado la presencia de compuestos bioactivos, tales como flavonoides, cumarinas, taninos, etc., los cuales han revelado poseer beneficios en la aplicación a través de diferentes formas farmacéuticas. Por ello, Carnero (2023) enfocó su estudio en el diseño de una crema a partir de dicho extracto, con actividad antimicrobiana.

Por ende, a partir de la evidencia experimental obtenida en trabajos anteriores, el enfoque principal del actual estudio es el análisis de pre-estabilidad de la crema partiéndose de la evaluación de los parámetros de calidad tanto de la droga seca, extracto hidroalcohólico, y la actividad antimicrobiana del extracto, siguiendo la metodología desarrollada por los autores predecesores, asegurando la adherencia a procedimientos comprobados y fiables en la elaboración de fitomedicamentos.

#### 3.1 Control de calidad de la droga

3.1.1 *Características organolépticas y morfológicas.* La evaluación organoléptica de hojas y tallos de la planta *P. odoratissimum* se llevó a cabo mediante un estudio macroscópico en donde se evidenció que los tallos tienen una coloración verde con una textura lisa, mientras que las hojas presentaron una coloración verde con un tono más oscuro que el tallo y con una textura suave y aterciopelada (Marchioni et al., 2020).

Los valores obtenidos de la evaluación morfológica realizada en las hojas y tallos se especifican en la Tabla 1, los cuales son semejantes a lo establecido en la literatura de Christodoulakis et al., (2013) y los estudios de Noles y Rueda (2019).

Tabla 1 Medidas de hojas y tallos de *P. odoratissimum* (n=50)

<i>Pelargonium odoratissimum</i>	Media ± S	
	Longitud (cm)	Ancho (cm)
<b>Hojas</b>	4,65 ± 0,50	4,835 ± 0,42
<b>Tallos</b>	16,27 ± 0,47	0,045 ± 0,03

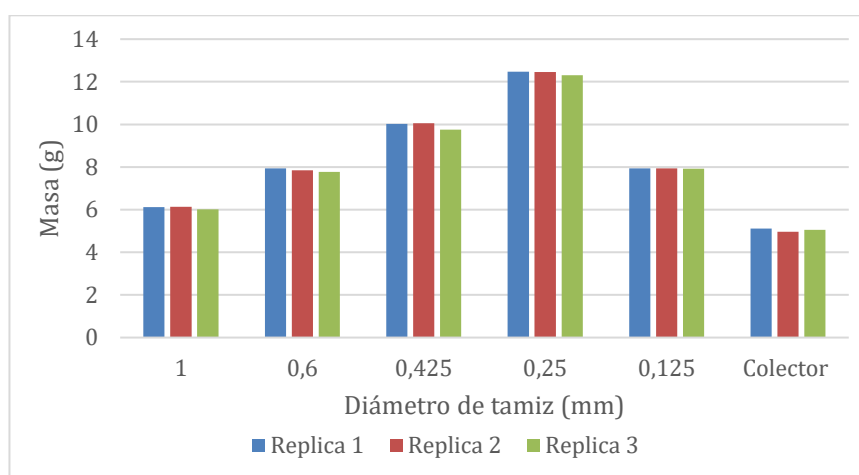


Leyenda: S (Desviación estándar)

3.1.2 *Análisis granulométrico de la droga seca.* El análisis granulométrico por tamizaje nos detalla la distribución de tamaños de partículas en la muestra, con el fin de elegir el

tamaño ideal que mejore las propiedades de la droga como la solubilidad con el menstuo. A menor tamaño de partícula el proceso de extracción es más efectivo. En nuestro estudio llevado a cabo mediante tres replicas, se observa que el tamiz con diámetro de 0,25 mm, muestra mayor volumen de partículas como se visualiza en la Figura 2. El tamaño medio de partícula obtenido fue de 0,48 mm, apropiado ya que en estudios anteriores de Noles & Rueda (2019) se observaron resultados positivos con valores similares.

Figura 2 Análisis granulométrico - Droga cruda de *P. odoratissimum*



### 3.2 Parámetro fisicoquímico de la droga cruda

En la Tabla 2 se visualizan detalladamente los resultados de los ensayos realizados a la droga cruda como: porcentaje de humedad, cenizas totales, sustancias solubles, etc. Los que nos permiten tener mayor certeza sobre la calidad, eficacia y seguridad de *P. odoratissimum*.

Tabla 2 Parámetros fisicoquímicos de la droga (n=3)

Parámetros		Media ± S
<b>Humedad (%)</b>		10,17 ± 0,67
<b>Cenizas totales (%)</b>		4,49 ± 0,39
<b>Sustancias solubles</b>	Agua	41,44 ± 2,04
	Alcohol 96%	17,15 ± 2,14
	Mezcla hidroalcohólica 50%	67,52 ± 5,78

Leyenda: S (Desviación estándar)

El método de secado de materia vegetal es crucial para garantizar la eficacia y la preservación de los componentes de la muestra, ya que algunos compuestos bioactivos tienden a degradarse fácilmente o contaminarse microbiológicamente. En nuestro estudio se siguieron las directrices propuestas por Noles & Rueda (2019), quienes deshidrataron las hojas y los tallos de *P. odoratissimum* en una estufa de recirculación de aire a una temperatura de 50°C, lo que resultó positivo debido a que la distribución uniforme de calor elimina el alto contenido de agua de manera rápida. Este procedimiento es respaldado por Carnero (2023) y Basurto et al. (2021) ya que sus resultados fueron consistentes, demostrando la validez y eficacia de este método.

El porcentaje de humedad está dentro del rango permitido, según la Norma INEN (2017), que establece un límite máximo del 12%. Al mismo tiempo, en la guía metodológica de investigación para el desarrollo de un fitomedicamento (Colectivo de autores; 2017) señala que el contenido de humedad debe variar entre 8% y 14%. Este parámetro es de suma importancia porque nos indica que, si existe un porcentaje de humedad mayor a lo permisible, propiciaría la contaminación y la proliferación de microorganismos.

Según los resultados de humedad detallados en la Tabla 2, se observan variaciones en comparación con otros autores, como Noles & Rueda (2019), que obtiene 7.59 % en dependencia del análisis en hojas y 10.15 % en tallos; y Carnero (2023) obtuvo un 7.83 %. Los resultados obtenidos discrepan de los dos autores por metodología y por dependencia del órgano de la planta, no obstante, los valores obtenidos no sobrepasan los límites permisibles.

Las cenizas totales representan el contenido de materia inorgánica presente en la planta como magnesio, sodio, calcio, fósforo, que en alguno de los casos estos minerales pueden expresar un valor nutricional esencial para el organismo humano (Campo-Fernández et al., 2020). Sin embargo, también evidencian el contenido de impurezas inorgánicas como silicatos y oxalatos (Majid et al., 2021).

En el caso de la muestra de *P. odoratissimum* contenía niveles de cenizas de  $4.49 \pm 0.39\%$ , es decir, están dentro del límite permisible según *Farmacopea Herbolaria de Los Estados Unidos Mexicanos* (2021) y *Farmacopeia European* (2022), que corresponde a un valor máximo de 5%. Los valores reportados por estudios anteriores de esta planta están dentro de los límites permisibles por las farmacopeas.

En el último parámetro de la Tabla 2, se observa que las concentraciones más altas de sustancias solubles se logran mediante la solución de mezcla hidroalcohólica (50:50),

estas concentraciones se reducen a medida que el agua disminuye. Los resultados concuerdan con las investigaciones previas realizadas por Noles & Rueda (2019) y Carnero (2023).

Como conclusión se puede decir que la droga cruda de *P. odoratissimum* cumple con los estándares de calidad establecidos.

### 3.3 Parámetros fisicoquímicos del extracto hidroalcohólico

Con base en los estudios previos de Noles & Rueda (2019) y Carnero (2023), se hizo una comparación del extracto hidroalcohólico 50% con respecto a los parámetros fisicoquímicos. Los resultados de pH, densidad relativa, propiedades organolépticas, índice de refracción, grados brix, y contenido de sólidos totales se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3 Parámetros de calidad del extracto hidroalcohólico (n=3)

Parámetros	Resultados (Media ± S)		
	Extracto hidroalcohólico (50%)	Carnero (2023)	Noles & Rueda (2019)
<b>pH</b>	5,83 ± 0,03	5,56 ± 0,22	5,92 ± 0,00
<b>Sólidos totales (g)</b>	3,25 ± 0,02	1,66 ± 0,01	2,40 ± 0,01
<b>Densidad relativa 25°C (g/mL)</b>	0,94 ± 0,00	0,98 ± 0,03	0,95 ± 0,01
<b>Índice de grado brix (%)</b>	19,18 ± 0,07	13,33 ± 0,02	19,63 ± 0,02
<b>Índice de refracción 40°C (nD)</b>	1,36 ± 0,00	1,35 ± 0,01	1,36 ± 0,01

Leyenda: S (Desviación estándar)

En la evaluación de las propiedades organolépticas se visualizó que el extracto tiene una coloración café oscuro con un olor fuerte característico de la planta (Ringuelet & Viña, 2013). El pH del extracto es ácido con valores de  $5.83 \pm 0.03$ . De la misma manera los valores reportados por Noles & Rueda (2019) son de 5.92 en hojas y 6.30 en tallos mientras que los de Carnero (2023) son de  $5.92 \pm 0.01$ . La comparación estadística realizada con la prueba Kruskal Wallis dio una  $p=0,027$ . Sin embargo, las comparaciones dos a dos por Dwass-Steel-Critchlow-Fligner solo mostró diferencias significativas entre los resultados de los trabajos anteriores. Los valores obtenidos de pH de los dos estudios a comparación del nuestro son semejantes.

Con respecto a los valores obtenidos de sólidos totales, son de  $3.25 \pm 0.02$  lo que muestran que existe diferencias estadísticamente significativas con los resultados de los

estudios realizados por los investigadores ya antes mencionados. Estos valores oscilan entre 1,66 – 3,25, esto puede deberse a factores como la composición de la planta y fecha de recolección.

En relación con el resultado de los ensayos de densidad relativa e índice de refracción se evidenció que los valores son similares ( $p > 0,05$ ) a excepción del índice de grados brix que se mostró una diferencia con respecto a los resultados de Carnero (2023) ya que fue de  $13.33 \pm 0.02$ . Sin embargo, estos valores oscilan entre 1,66 hasta están dentro de los límites permisibles por lo que el extracto hidroalcohólico si cumple con los estándares de control de calidad (Shin et al., 2018).

### 3.4 Determinación de flavonoides totales

Los flavonoides son metabolitos secundarios del grupo de los polifenoles, que se distribuyen en matrices vegetales, tales como tallos, frutas, flores y hojas, en diversas concentraciones. La función principal es dar pigmentación y olor a algunas flores y frutos (Panche et al., 2016). El estudio de Ullah (2016), menciona que, a nivel de medicina natural, son ampliamente utilizados por su actividad terapéutica ya que tiene propiedades anticancerígenas, antioxidantes, antivirales y en esencial antimicrobianas.

Se conoce la presencia de flavonoides en la planta *Pelargonium odoratissimum* por el estudio de Noles & Rueda (2019) quien determinó cualitativamente la existencia de flavonoides a través de la prueba de Shinoda y por espectrofotometría UHPLC-PDA-MS. Mientras que Abdulmageed (2018) realizó la determinación mediante la reacción de amoníaco diluido y ácido sulfúrico concentrado, cuya decoloración del reactivo es indicativo de presencia de los flavonoides.

En la Tabla 4 se detallan los resultados del contenido de flavonoides, siendo para el extracto del tiempo 0 el de mayor contenido en comparación con el extracto del tiempo 8 semanas.

Tabla 4 Cuantificación de flavonoides totales presente en el extracto hidroalcohólico (n=3)

Extracto hidroalcohólico	Flavonoides totales (mg QUE/g)
Tiempo 0	$43,75 \pm 0,90$
Tiempo 8 semanas	$15,97 \pm 0,69$

Legenda: S (Desviación estándar)



En la tesis de grado de Colina Ramos (2016) se presenta un análisis fitoquímico donde se determinó de forma cuantitativa y cualitativa la presencia de flavonoides y taninos e informa que la concentración de flavonoides totales es de 1.70 mg QUE/ g  $\pm$  0,0746 en el extracto etanólico a base de hojas de *Muehlenbeckia hastulata* (J.E. Sm) I.M. Johnst. Así mismo, en las investigaciones realizadas por Domínguez Iparraguirre (2023), se indica que la presencia de flavonoides en el extracto a base de las hojas de *Bidens pilosa* L es de 15.01  $\pm$  1.34 mg QUE/g y 37.72  $\pm$  0.78 mg QUE/g, para el extracto a base de flores. A pesar de que ambas plantas no pertenecen a la misma familia que nuestra muestra vegetal, la cuantificación de flavonoides totales se realizó utilizando el mismo método y estándar de quercetina. Otra diferencia notable entre los estudios es el uso de diferentes solventes a concentraciones modificadas según los autores referenciados, estas diferencias en los resultados de sus investigaciones podrían explicar las disparidades entre sus estudios y el nuestro.

Como se puede observar en nuestros resultados, se obtienen una mayor concentración de flavonoides totales en comparación con los otros estudios, esto puede deberse al uso de solventes polares que ayudan a maximizar la extracción de metabolitos secundarios. No obstante, existe una degradación de flavonoides totales por la diferencia en el tiempo de análisis, que puede ser atribuida a fenómenos naturales, luz, temperatura y el tiempo de almacenamiento (Domínguez Iparraguirre, 2023; Ojeda et al., 2020).

### **3.5 Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico**

**3.5.1 Actividad antimicrobiana frente *Escherichia Coli*.** La lectura de la actividad antimicrobiana de las concentraciones de 100 y 50 % del extracto hidroalcohólico de *P. Odoratissimum* frente a *E. coli* se detallan en la Tabla 5, en donde se detectó perfil de sensibilidad en la primera concentración (100%) y resistencia bacteriana alrededor del disco en la segunda concentración (50%), lo que indica resistencia de la bacteria *E. coli* frente al extracto de menor concentración, mientras que, en el control positivo se observó que no hubo crecimiento bacteriano alrededor del disco, por otro lado, en el control negativo se presentó crecimiento bacteriano alrededor del disco.

No se realizó el CMI y CMB a causa de los resultados negativos obtenidos en la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *P. odoratissimum* frente al microorganismo *E. coli*.

Tabla 5 Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas y los tallos de la planta *Pelargonium Odoratissimum* frente a *Escherichia coli*

Concentraciones	Resultados	Control positivo (Ciprofloxacino 5ug)	Control negativo (etanol al 70%)
100%	19 mm	22 mm	-
50%	16 mm		

3.5.2 *Staphylococcus Aureus*. En la Tabla 6 se evidencian las lecturas de las concentraciones de 100 y 50 % del extracto hidroalcohólico de *P. Odoratissimum* frente a *S. aureus* donde se detectó perfil de sensibilidad en la primera concentración (100%) y en la segunda concentración (50%) se considera leve o intermedia sensibilidad, lo que se interpreta como resistencia de la bacteria *S. aureus* frente al extracto de menor concentración, Por otro lado, en el control positivo no mostró crecimiento bacteriano alrededor del disco, puesto que según las normas CLSI Menciona que la sensibilidad de ampicilina se manifiesta con el tamaño de halo de susceptibilidad de 22 mm.

En el estudio realizado por Noles & Rueda (2019) sus resultados obtenidos muestran que solo existe inhibición bacteriana en extractos etanólico de los tallos en diluciones de 1/2 y concentrado. Así mismo, Abdulmageed (2018) informa que los extractos metanólico han demostrado tener el mismo efecto con un halo de inhibición de 14mm, mientras que, nuestros resultados al ser comparados con los reportados por los dos autores evidencian un mayor halo de inhibición con el extracto hidroalcohólico.

Tabla 6 Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas y los tallos de la planta *Pelargonium odoratissimum* frente a *Staphylococcus aureus*

Concentraciones	Resultados	Control positivo (Ampicilina 10ug)	Control negativo (etanol al 70%)
100%	18 mm	22 mm	-
50%	7 mm		

3.5.3 *Candida Albicans*. La Tabla 7 revela las mediciones de las concentraciones al 100% y 50% del extracto hidroalcohólico de *P. Odoratissimum* frente a *Candida Albicans*. Se observó un perfil de sensibilidad en la primera concentración (100%), mientras que en la segunda (50%), se registró una sensibilidad considerada leve o intermedia. Esto indica una resistencia del hongo *C. Albicans* al extracto en menor

concentración. En contraste, en el control positivo no se observó crecimiento bacteriano alrededor del disco.

Tabla 7 Actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las hojas y los tallos de la planta *Pelargonium odoratissimum* frente a *Candida albicans*

Concentraciones	Resultados	Control positivo (fluconazol 25 ug)	Control negativo (etanol al 70%)
100%	18 mm	26 mm	-
50%	11 mm		

### 3.6 Elaboración de la crema

Para la elaboración de las cremas se siguió la formulación original de Carnero (2023), sin alteración del proceso de manufactura. La crema fue almacenada a temperatura ambiente. Además, se la resguardó de la luz solar ya que puede existir una degradación de los componentes de la crema.

Después de las 24 horas de haber elaborado las cremas se hizo una evaluación de las propiedades organolépticas, en donde se pudo observar una coloración blanca, de aspecto consistente homogéneo y olor característico de la hoja de malva olorosa. En la tabla 7 se muestran los parámetros de calidad después de haber elaborado los tres lotes.

Tabla 8 Parámetros físicos a las 24 horas de haber elaborado la crema de *P. odoratissimum*; (n=3)

	Características organolépticas	Media ± S		
		pH	Extensibilidad	Viscosidad
<b>Lote 1</b>	Color blanco,	6,30 ± 0,28	41,85 ± 1,53	5742,3
<b>Lote 2</b>	aspecto homogéneo,	6,42 ± 0,33	40,20 ± 1,90	5943,4
<b>Lote 3</b>	olor característico	6,15 ± 0,09	42,40 ± 0,01	5821,5

Leyenda: S (Desviación estándar)

La consistencia de las cremas depende tanto de los excipientes empleados como de su método de elaboración. Al evaluar la viscosidad, se fomenta la uniformidad del producto, asegurando su estabilidad estructural y la cohesión de sus elementos (Saptarini & Hadisoebroto, 2020).

En cuanto a los datos de viscosidad detallados en la Tabla 8, no se reveló cambios significativos entre sí, a comparación de los valores de viscosidad de Carnero (2023) los

cuales van en un rango de  $4136,68 \pm 3,18$  a  $4359,12 \pm 4,15$ , mientras que Palacios & Vargas (2023) obtuvo valores que oscilan entre 3569,97 a 4452,80 que, a pesar de no ser la misma muestra de estudio, está diseñada siguiendo la misma metodología.

Los resultados de sus estudios con respecto al nuestro indica que la crema es menos densa, lo que puede ser atribuible al tiempo de reposo ya que en nuestro estudio se midió la viscosidad a las 24 horas después de elaborada la crema. Sin embargo, los datos adquiridos están dentro del rango típico que van desde 4000 y 18000 cP. Por lo tanto, la crema tiene una buena viscosidad con consistencia adecuada lo cual proporciona una sensación agradable al tacto, facilita su aplicación y una distribución uniforme sobre la piel.

### 3.7 Estudios de pre-estabilidad de la crema

**3.7.1 Centrifugación.** La centrifugación de los tres lotes de crema nos permitió evaluar la eficacia de los agentes emulsionantes presentes en la formulación, con la finalidad de acelerar los procesos de inestabilidad o degradación de la crema y así predecir la probabilidad de separación de dos fases por factores como desestabilización de los emulsionantes, incompatibilidad de los ingredientes, problemas de formulación, etc. (Gandomkar et al., 2023).

A tiempo cero, las cremas mostraron una consistencia homogénea con apariencia brillante. En la Figura 3 se observa el comportamiento de las formulaciones tras el proceso de centrifugación, mientras que en la Figura 4 se muestra una ligera separación de fases en una réplica del lote #3. Esta pequeña variación puede deberse a la manipulación en el proceso de elaboración de ese lote.

Figura 3 Centrifugación de los tres lotes de crema



Figura 4 Separación en dos fases después de centrifugación en una réplica del lote #3



3.7.2 *Test de ciclo stress congelación- descongelación.* En el análisis de pre-estabilidad, los tres lotes examinados sufrieron fluctuaciones térmicas entre 0°C y 25°C, tal como se detalla en la Tabla 9. Se constató que dichos cambios de temperatura no afectaron el color ni el aroma de los productos, manteniendo así sus características organolépticas intactas.

Con respecto a la consistencia, que incluye la textura y la capacidad de extenderse, no se detectaron alteraciones. Sin embargo, es relevante destacar que, a temperatura ambiente, la extensibilidad de la crema mejoró ligeramente, lo que podría señalar una preferencia de uso a dicha temperatura. En cuanto al pH, se observaron variaciones menores, permaneciendo dentro de los parámetros de aceptación.

Tabla 9 Ciclo de estrés (congelación / descongelación) (n=3)

Lotes	Resultado Media $\pm$ S			
	Temperatura 0°C		Temperatura 25°C	
	pH	Extensibilidad	pH	Extensibilidad
1	6,50 $\pm$ 0,31	33,87 $\pm$ 0,59	6,49 $\pm$ 0,37	34,23 $\pm$ 1,88
2	6,62 $\pm$ 0,29	32,01 $\pm$ 2,02	6,27 $\pm$ 0,16	33,52 $\pm$ 3,11
3	6,49 $\pm$ 0,30	33,19 $\pm$ 1,34	6,49 $\pm$ 0,31	35,29 $\pm$ 2,92

Leyenda: S (Desviación estándar)

Mediante la prueba de T Student para muestras pareada; se obtuvo un pH con valor de  $p = 0.637$  y en extensibilidad una  $p = 0.529$ . Por tanto, no existe diferencias estadísticas significativas con relación a la crema que fue expuesta en las dos condiciones de temperatura.

3.9.1 *Evaluación de las características físicas de las formulaciones en el tiempo.* La evaluación de las características físicas de las cremas se llevó a cabo a lo largo de 8 semanas, realizando mediciones y observaciones periódicas para detectar cualquier alteración lo que puede incluir; separación de fases, cambio de color y olor, formulación de grumos, etc. No obstante, en el transcurrir de las 8 semanas la crema mantuvo su olor, color blanquecino y su aspecto homogéneo conservando las características que se evidencian en la Tabla 8.

3.9.1.1 *Evaluación de pH y extensibilidad.* El pH es un factor importante dentro de las formas farmacéuticas semisólidas en especial de las cremas, ya que son preparaciones de uso tópico, por lo tanto, las cremas deben tener un pH similar al de la piel humana,

con la finalidad de evitar irritaciones o alguna lesión cutánea (Nurman et al., 2019). Según estudios realizados por Lambers et al. (2006) & Proksch (2018), informa valores variables de pH los cuales oscilan en un rango de 4,0 a 7,0 estableciendo que un pH ácido ayuda a evitar la proliferación de microorganismos en la piel.

Los resultados de esta prueba se visualizan en la Tabla 10, donde se muestra que el pH de los tres lotes oscila entre 5,79 a 6,39 en el transcurrir de las semanas, lo que significa que estos valores todavía se encuentran en el rango del pH de la piel humana.

Tabla 10 Evaluación de pH, extensibilidad los lotes (n=3)

Sem	Media ± S					
	pH			Extensibilidad		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
1	6,39±0,31	6,24±0,34	6,18±0,14	35,81±0,47	34,40±1,10	35,80±1,90
2	6,22±0,23	6,63±0,27	5,79±0,13	34,27±4,09	34,60±2,40	35,00±3,11
3	6,29±0,23	6,39±0,29	6,08±0,34	34,02±2,42	35,10±1,60	35,30±2,90
4	6,32±0,34	6,09±0,09	6,18±0,20	34,25±3,11	34,90±2,10	34,90±2,40
5	6,16±0,29	6,06±0,09	6,25±0,07	35,06±3,56	34,50±1,60	34,80±3,10
6	3,33±0,37	6,18±0,20	6,27±0,26	35,07±1,19	34,40±3,80	35,10±2,20
7	6,17±0,22	6,12±0,27	6,39±0,37	35,60±2,42	34,70±0,50	35,20±0,90
8	6,12±0,11	6,15±0,20	6,27±0,32	35,12±3,18	34,40±2,2	34,60±1,80

Legenda: Sem (semanas); S (desviación estándar)

En el estudio realizado por Méndez et al. (2023), sobre la creación de un cosmético ecoamigable con bromelina de residuos de piña como ingrediente activo, se destacó que una extensibilidad de 20-40 cm es óptima, ya que una mayor extensibilidad resultó en una consistencia menor y, por ende, en una aplicación del producto más fácil. En contraste, los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la extensibilidad de los tres lotes se mantiene dentro de los parámetros esperados a lo largo de las siete semanas de evaluación, como se muestra en la Tabla 10.

Además, al aplicar la prueba de T Student para muestras pareadas, se obtuvo un valor de p para el pH fue de 0,739, y el valor de p para la extensibilidad fue de 0,788. En base a estos resultados, se concluye que no se observan diferencias significativas durante el período de las ocho semanas.

### 3.8 Control microbiológico de la crema

En la Tabla 11 se detallan los resultados de los ensayos microbiológicos a los que fue sometido la crema de *P. odoratissimum*. En donde se constató que el producto está en

condiciones óptimas, ya que no se evidencia el crecimiento bacteriano o fúngico durante el periodo de incubación que va de 24, 48 y 72 horas, esto confirma la excelente calidad y pureza microbiológica de la crema, garantizando su seguridad y el cumplimiento con los estándares de control de calidad.

*Tabla 11 Control microbiológico de lotes de la crema antimicrobiana a base del extracto de Pelargonium odoratissimum*

<b>Análisis microbiológico</b>	<b>Lote 1</b>	<b>Lote 2</b>	<b>Lote 3</b>	<b>Rango de referencia</b>
Microorganismos aerobios	-	-	-	≤ 100
<i>Candida Albicans</i>	-	-	-	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	Ausencia
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	Ausencia

Leyenda: Ausencia de microorganismo (-); presencia de microorganismo (+)  
 \* rango de referencia obtenido de las normas del CLSI (2017)

#### 4 CONCLUSIONES

- Se lograron obtener resultados que cumplen con los parámetros de calidad tanto de la droga cruda como del extracto hidroalcohólico de *Pelargonium odoratissimum* tras un monitoreo continuo de 8 semanas, lo que representa una validación exitosa de su calidad.
- Se identificó el contenido de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico, confirmando que estos metabolitos son responsables de las propiedades antimicrobianas del extracto.
- Se evaluó la estabilidad física de la crema a base del extracto de *P. Odoratissimum*, lo que nos proporcionó información sobre su comportamiento a lo largo del tiempo, determinando que no existe cambios significativos ni presencia de microorganismos en la formulación, lo que ayudará a su seguridad y eficacia durante su período de vida útil.
- Se realizó la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *P. Odoratissimum*, proporcionándonos conocimientos relevantes sobre su efecto antibacteriano.



## 5 RECOMENDACIONES

- Realizar más ensayos de cuantificación de metabolitos secundarios presentes en la planta *P. odoratissimum*.
- El estudio realizado al extracto hidroalcohólico presenta actividad antimicrobiana con cepas aisladas, para estudios posteriores se recomienda utilizar cepas certificadas o controles (ATCC).
- Continuar los estudios de estabilidad acelerada y a largo plazo de la crema propuesta, para determinar la vida útil.
- Evaluar la efectividad antimicrobiana de la crema por medio de pruebas *in vitro* e *in vivo*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aashigari, S., G. R., S. S., Vykuntam, U., & Potnuri, N. (2019). STABILITY STUDIES OF PHARMACEUTICAL PRODUCTS. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 8, 479-492. <https://doi.org/10.20959/wjpr20191-13872>
- Abdelbaky, A. S., Abd El-Mageed, T. A., Babalghith, A. O., Selim, S., & Mohamed, A. M. H. A. (2022). Green Synthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles Using *Pelargonium odoratissimum* (L.) Aqueous Leaf Extract and Their Antioxidant, Antibacterial and Anti-inflammatory Activities. *Antioxidants*, 11(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/antiox11081444>
- Abdulmageed Yarboa, L., Ahmad Belgasem, I., & Wedad Melad, A.-A. (2018). Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Mentha Piperita*, *Artemisa Compestris* L and *Pelargonium Adoraitissimum* Leaves Extracts from North Libya. *Biomedical Statistics and Informatics*, 3(3), Article 3. <https://doi.org/10.11648/j.bsi.20180303.12>
- Anchal, S., Pandey, S., Arpita, S., Aqil, S., & Nitish, P. (2021). *CREAM: A TOPICAL DRUG DELIVERY SYSTEM(TDDS)*.
- Basurto, E. K., Garcia, V., Noles, K. P., & Rueda, E. A. (2021). Elaboración de una Crema Cosmética a Partir de Extractos de *Coriandrum Sativum*. *Revista Bases de la Ciencia*, 6(2), Article 2. [https://doi.org/10.33936/rev\\_bas\\_de\\_la\\_ciencia.v6i2.3481](https://doi.org/10.33936/rev_bas_de_la_ciencia.v6i2.3481)
- Campo-Fernández, M., Cruz-Alvia, C., Cunalata-Cueva, G., & Matute-Castro, N. (2020). Infusiones de *Moringa oleifera* (moringa) combinada con *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Lippia alba* (mastranto). *CIENCIA UNEMI*, 13(34), Article 34. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol13iss34.2020pp114-126p>
- Carnero Sigcha, S. M. (2023). *Diseño de una crema antimicrobiana a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de malva olorosa (pelargonium odoratissimum)*. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/22306>
- Chauhan, L., & Gupta, S. (2020). Creams: A Review on Classification, Preparation Methods, Evaluation and its Applications. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(5-s), Article 5-s. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i5-s.4430>
- Christodoulakis, N. S., Gargeraki, K., & Fasseas, C. (2013). Leaf Structure of *Pelargonium odoratissimum* (Soland.), an Aromatic Species Widely Used in Herbal

Remedies and Confectionery. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 19(2), 132-143. <https://doi.org/10.1080/10496475.2012.755943>

Colectivo de autores. (2017). *Guía metodológica de investigación para el desarrollo de un fitomedicamento*. Ciencias Medicas. [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/02/1050975/guia-metodologica-de-investigacion-para-el-desarrollo-de-un-fi\\_bkoyAgO.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/02/1050975/guia-metodologica-de-investigacion-para-el-desarrollo-de-un-fi_bkoyAgO.pdf)

Colina Ramos, A. C. (2016). Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnst" de la zona de Yucay (Cusco). *Repositorio de Tesis - UNMSM*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/7121>

Cuadrado, M. E. (2016). *IMPORTANCIA DE LA CALIBRACIÓN EN LOS LABORATORIOS DE QUÍMICA ANALÍTICA*.

Dominguez Iparraguirre, M. J. (2023). *Cuantificación de flavonoides totales del extracto Metanólico de hojas y Flores de Bidens pilosa L."Cadillo"*. <https://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/32180>

Ebrahimzadeh, A., Fathollahzadeh, M., Hassanpouraghdam, M. B., & Mavaloo, M. A. A. (2021). Micropropagation of Pelargonium odoratissimum (L.) L'Her. Through petioles and leaves. *Revista de La Facultad de Agronomía de La Universidad Del Zulia*, 38(2), Article 2.

Estevan, M. a C. L., Díaz, M. C., & Díaz, D. C. (2012). *Manual de tecnología farmacéutica + StudentConsult en español*. Elsevier España.

*Farmacopea Herbolaria de Los Estados Unidos Mexicanos* (Tercera ed). (2021).

*Farmacopeia European*. (2022).

Fernandez-Soto, P., Celi, D., Tejera, E., Alvarez-Suarez, J. M., & Machado, A. (2023). Cinnamomum sp. and Pelargonium odoratissimum as the Main Contributors to the Antibacterial Activity of the Medicinal Drink Horchata: A Study Based on the Antibacterial and Chemical Analysis of 21 Plants. *Molecules*, 28(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/molecules28020693>

Gafour, W., & Aly, E. (2020). Organoleptic, textural and whipping properties of whipped cream with different stabilizer blends. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 19(4), 425-433. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.0784>

Gelaleti, D., Galvão, I. S., Batista, M. M. L., Santos, V., Felix, M., Jardim, M., Oliveira, C. R., & Antunes, V. M. de S. (2019). Estabilidade de Formulação Dermocósmética contendo extrato de *Pelargonium Graveolens*. *Brazilian Journal of Natural Sciences*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i1.31>

Guldiken, B., Ozkan, G., Catalkaya, G., Ceylan, F. D., Ekin Yalcinkaya, I., & Capanoglu, E. (2018). Phytochemicals of herbs and spices: Health versus toxicological effects. *Food and Chemical Toxicology*, 119, 37-49. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.050>

Herbig, M. E., Evers, D.-H., Gorissen, S., & Köllmer, M. (2023). Rational Design of Topical Semi-Solid Dosage Forms-How Far Are We? *Pharmaceutics*, 15(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071822>

Hindler, J. A., Schuetz, A. N., Clinic, M., Abbott, A., Antonara, S., Bobenchik, A., Castanheira, M., Laboratories, J., Charnot-Katsikas, A., Galas, M., Humphries, R., Rekasius, V., Scangarella-Oman, N., & Westblade, L. (2017). *CLSI Subcomité de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (AST) CLSI Boletín de noticias*.

Jan, H. (2016). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. ASM.Org. <https://asm.org:443/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>

Khare, S., Abhyankar, S., Kuchekar, A., & Gawade, A. (2021). A Mini Review—Pharmaceutical Creams. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, 10(4), 60-62. <https://doi.org/10.36347/sajp.2021.v10i04.001>

Kuhn, F., Santos Dorneles, M., & Pelayo Zapata Noreña, C. (2022). Accelerated stability testing and simulated gastrointestinal release of encapsulated betacyanins and phenolic compounds from *Bougainvillea glabra* bracts extract. *Food Chemistry*, 393, 133391. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133391>

Lambers, H., Piessens, S., Bloem, A., Pronk, H., & Finkel, P. (2006). Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International Journal of Cosmetic Science*, 28(5), 359-370. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.2006.00344.x>

- Majid, N., Nissar, S., Raja, W. Y., Nawchoo, I. A., & Bhat, Z. A. (2021). Pharmacognostic standardization of *Aralia cachemirica*: A comparative study. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00181-y>
- Marchioni, I., Pistelli, L., Ferri, B., Copetta, A., Ruffoni, B., Pistelli, L., & Najar, B. (2020). Phytonutritional Content and Aroma Profile Changes During Postharvest Storage of Edible Flowers. *Frontiers in Plant Science*, 11, 590968. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.590968>
- Mehari, B., Chandravanshi, B. S., Redi-Abshiro, M., Combrinck, S., McCrindle, R., & Atlabachew, M. (2021). Polyphenol contents of green coffee beans from different regions of Ethiopia. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 17-27. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1858866>
- Méndez, G. L., Alarcón, M. T., Méndez, D. L., & Angarita, S. D. L. E. (2023). Diseño de un cosmético ecoamigable usando como activo bromelina de residuos de piña (ananas comosus) y celulosa de colillas de cigarrillo como excipiente. *Encuentro Internacional de Educación en Ingeniería*. <https://doi.org/10.26507/paper.3414>
- Mendonça, N. S., Pradhan, A., Sharma, P., Prado, R. M. B., Murthy, S. N., Kundu, S., & Repka, M. A. (2019). A quality by design approach to develop topical creams via hot-melt extrusion technology. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 136, 104948. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.06.002>
- Miranda, M., & Cuellar, A. (2000). *Manual de prácticas de laboratorio: Farmacognosia y productos naturales*. [https://scholar.google.ca/scholar?cluster=16205474415404003538&hl=en&as\\_sdt=0,5&scioldt=0,5](https://scholar.google.ca/scholar?cluster=16205474415404003538&hl=en&as_sdt=0,5&scioldt=0,5)
- Moreno, X., Ventura, M., Panizo, M. M., & Garcés, M. F. (2022). Evaluación de la formación de biopelículas en aislamientos bacterianos y fúngicos por el método semicuantitativo de microtitulación con cristal violeta y el cualitativo de agar con rojo Congo. *Biomédica*, 43(Sp. 1), 77-88. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6732>
- Noles, K. P., & Rueda, E. A. (2019). *Evaluación de la composición química y actividad antibacteriana de los extractos de hojas y tallos de malva olorosa (pelargonium odoratissimum)*. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/15181>

Norma INEN. (2017). *Norma INEN 2392:2017-04*. <https://docplayer.es/228695985-Nte-inen-2392-segunda-revision.html>

Nurman, S., Yulia, R., Irmayanti, Noor, E., & Candra Sunarti, T. (2019). The Optimization of Gel Preparations Using the Active Compounds of Arabica Coffee Ground Nanoparticles. *Scientia Pharmaceutica*, 87(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/scipharm87040032>

Ojeda, C. M., Ramos, D. A., & Núñez, I. C. (2020). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en un extracto blando de flores de *Calendula officinalis* Linn. *Orange Journal*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2020.3.02>

Orchard, A., Sandasi, M., Kamatou, G., Viljoen, A., & van Vuuren, S. (2017). The in vitro Antimicrobial Activity and Chemometric Modelling of 59 Commercial Essential Oils against Pathogens of Dermatological Relevance. *Chemistry & Biodiversity*, 14(1), e1600218. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600218>

Ospina, L. M. P., Peláez, J. A. M., Borrego-Muñoz, P., Cardona, W. F. C., & Villamizar, L. B. (2016). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Pelargonium odoratissimum* (L) L'her (geraniaceae). *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.18359/rfcb.1856>

Palacios Velepucha, G. J., & Vargas Gonzalez, K. E. (2023). *Diseño de una crema fitocosmética a partir de un extracto hidroalcohólico de las cáscaras de *nephelium lappaceum* L (achotillo)*. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/22339>

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>

Pharmacopoeia of the United States of America. (2014). *USP37 PHARMACOPOEIA OF THE UNITED STATES OF AMERICA* (NF 32, Vol. 1).

Postles, A. (2018). *Factors affecting the measurement of stability and safety of cosmetic products*.

[http://eprints.bournemouth.ac.uk/32141/1/POSTLES,%20Andrew\\_Ph.D.\\_2018.pdf](http://eprints.bournemouth.ac.uk/32141/1/POSTLES,%20Andrew_Ph.D._2018.pdf)

Proksch, E. (2018). pH in nature, humans and skin. *The Journal of Dermatology*, 45(9), 1044-1052. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.14489>

Ringuelet, J., & Viña, S. (2013). Productos Naturales Vegetales. *La Plata: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.*, 7-17.

Rovella, L., Notejane, M., Speranza, N., Vomero, A., Rovella, L., Notejane, M., Speranza, N., & Vomero, A. (2021). Fitomedicamentos de uso en pediatría. Pelargonium sidoides en el tratamiento de las infecciones respiratorias. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 92(NSPE2). <https://doi.org/10.31134/ap.92.s2.6>

Roy, A., Khan, A., Ahmad, I., Alghamdi, S., Rajab, B. S., Babalghith, A. O., Alshahrani, M. Y., Islam, S., & Islam, Md. R. (2022). Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications. *BioMed Research International*, 2022, 5445291. <https://doi.org/10.1155/2022/5445291>

Salehi, N., Mortazavi, S. M., & Moghimi, H. (2022). Investigating the Changes in Cream Properties Following Topical Application and Their Influence on the Product Efficiency. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 21(1), e123946. <https://doi.org/10.5812/ijpr.123946>

Sanchez Armengol, E., Harmanci, M., & Laffleur, F. (2021). Current strategies to determine antifungal and antimicrobial activity of natural compounds. *Microbiological Research*, 252, 126867. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126867>

Saptarini, N. M., & Hadisoebroto, G. (2020). FORMULATION AND EVALUATION OF LOTION AND CREAM OF NANOSIZED CHITOSAN-MANGOSTEEN (*Garcinia mangostana* L.) PERICARP EXTRACT. *Rasayan Journal of Chemistry*, 13(02), 789-795. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1325533>

Shin, H. J., Choi, S.-W., & Ok, G. (2018). Qualitative identification of food materials by complex refractive index mapping in the terahertz range. *Food Chemistry*, 245, 282-288. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.056>

Soria-Segarra, C., Berrezueta, M. de L., Calderón, J., Villacís, J. E., Soria-Segarra, C., Quiñones, D., Soria-Segarra, C., Berrezueta, M. de L., Calderón, J., Villacís, J. E., Soria-Segarra, C., & Quiñones, D. (2020). Comparación de dos métodos comerciales para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de meropenem en *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 72(3). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0375-07602020000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0375-07602020000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Sovová, S., Megyesi, Š. L., Mudroňová, D., Mudroň, P., Harvanová, J., Rendošová, M., Goga, M., Tkáčiková, L., & Vargová, Z. (2023). Antibacterial activity, quality and stability study of creams with new potential silver(I) complexes and in vivo case report. *Acta*

*Pharmaceutica (Zagreb, Croatia)*, 73(2), 311-323. <https://doi.org/10.2478/acph-2023-0011>

Su, S., Yan, H., Min, L., Wang, H., Chen, X., Shi, J., & Sun, S. (2022). The antifungal activity of caspofungin in combination with antifungals or non-antifungals against *Candida* species in vitro and in clinical therapy. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 20(2), 161-178. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1941868>

Tietje, C., & Brouder, A. (Eds.). (2010). International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. In *Handbook of Transnational Economic Governance Regimes* (pp. 1041-1053). Brill | Nijhoff. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897>

Yarboa, L. A., Ibrahim, A. B., & Al-Adiwish, W. M. (2018). Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Menthe Piperita, Artemisa Compestris L and Pelargonium Adoraitissimum Leaves Extracts from North Libya. *Biomedical Statistics and Informatics*, 3(3), Article 3. <https://doi.org/10.11648/j.bsi.20180303.12>

Zilker, M., Sörgel, F., & Holzgrabe, U. (2019). A systematic review of the stability of finished pharmaceutical products and drug substances beyond their labeled expiry dates. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 166, 222-235. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.01.016>



## ANEXOS



**Anexo 1** Drogas secas; hojas y tallos de la planta



**Anexo 2** Determinación de humedad en la droga seca



**Anexo 3** Obtención del extracto hidroalcohólico por medio de percolación



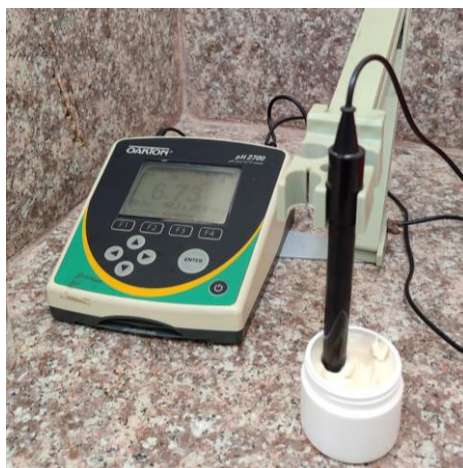
**Anexo 4** Determinación de flavonoides en el extracto hidroalcohólico



**Anexo 5** Actividad anti microbiológica frente a *Escherichia coli*



**Anexo 6** Actividad anti microbiológica frente a *Staphylococcus aureus*



**Anexo 7** Determinación de pH en la crema antimicrobiana



**Anexo 8** Ensayo de viscosidad en la crema