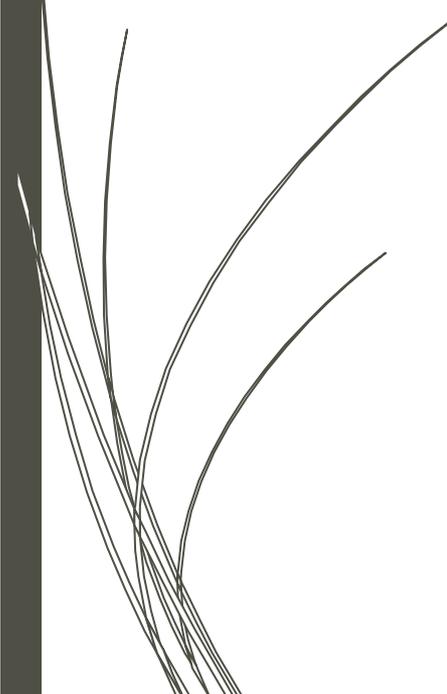


A vertical grey bar on the left side of the page. An orange arrow points to the right from the bar, containing the year 2024.

2024

A decorative illustration of a plant with several long, thin, curved leaves, rendered in a light grey line-art style.

Evaluación de la actividad antimicrobiana y citotóxica del extracto hidroalcohólico de Chiricaspí (*Brunfelsia grandiflora*) para el acné.

Jenniffer Cumanda Criollo Puma
UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

Firma del tutor/a: N/A

Tabla de contenido

1. Antecedentes	3
2. Planteamiento del problema a investigar	4
3. Justificación de la investigación	5
4. Preguntas de investigación.....	6
5. Hipótesis	6
6. Objetivos de la investigación	6
6.1 General	6
6.2 Específicos	6
7. Metodología.....	7
7.1 Obtención de material vegetal.....	7
7.2 Obtención de extractos hidroalcohólicos	7
7.3 Tamizaje fitoquímico de los extractos	7
7.4 Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos por el método de difusión en agar.....	7
7.5 Lectura de las placas e interpretación de resultados	8
7.6 Actividad antimicrobiana	8
7.8 Ensayo de hemólisis	8
7.9 Ensayo de cultivo celular.....	9
8. Cronograma de actividades.....	9
9. Presupuesto referencial	9
10. Referencias bibliográficas.	9

1. Antecedentes

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80% de la población mundial utiliza rutinariamente la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades primarias de atención médica y muchos tratamientos tradicionales implican el uso de extractos de plantas o sus ingredientes activos. Durante siglos, las plantas medicinales han desempeñado un papel crucial en la preservación de la salud humana, especialmente en regiones rurales y países en desarrollo que carecen de acceso a instalaciones médicas. Esta creciente dependencia de remedios a base de plantas ha generado un renovado interés en la exploración y evaluación de la seguridad, calidad, cantidad adecuada de uso y eficacia de estos recursos naturales (Mosquera & Noriega, 2012)

Chiricaspi (*Brunfelsia grandiflora*) es un árbol pequeño ornamental que alcanza los cinco metros de altura posee una corteza dura, hojas alternas, frondosas apicalmente o ramas floríferas, además presenta inflorescencia cimosa de color violeta, blanco (Mateos & Ramos, 2022). Se encuentra distribuido a 200 metros sobre nivel del mar en zonas altas y bajas de la amazonía se localiza en países como Perú, Colombia, Bolivia y Ecuador En la región amazónica del Ecuador es cultivada por sus propiedades medicinales y narcóticas según (Luzuriaga & Hernández, 2018). Existen pocas investigaciones con respecto a las propiedades farmacológicas de *Brunfelsia grandiflora*, pero el uso de la planta en la medicina tradicional en los grupos kiwchuas, realizan maceraciones de la raíz, hojas para aliviar ciertas enfermedades como artritis, sífilis dolores articulares, fatiga, la fiebre y el reumatismo. También realizan decocción de la corteza para la aplicación en quemaduras y cicatrizante en áreas afectadas por Leishmaniasis por los efectos narcóticos (Mateos & Ramos, 2022). Otros análisis fitoquímicos indican la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas esteroides, ácidos grasos, lactonas, cumerinas, escopoletina, ácido cafeico entre más compuestos de interés según (Meniqueti & Silva, 2017).

Brunfelsia grandiflora según (Tello & Mosquera, 2022) la selección de esta especie medicinal no solo tiene fines curativos a ciertas enfermedades o dolencias, sino que también ayudan a mejora la calidad de la piel aparte de sus propiedades antiinflamatorias, antibacterianas frente al acné. Los productos obtenidos mejoran la elasticidad de la piel y el antienvjecimiento (Alayon & Echeverri, 2016). En la actualidad la industria cosmética diseña productos que contienen ingredientes activos provenientes de las plantas de elevada eficacia, amplio rango terapéutico y baja toxicidad denominados cosmeceúticos (González & Bravo, 2017).

Los métodos tradicionales para la obtención de esencias de las plantas son por destilación a vapor, hidrodestilación las cuales desestabilizan los compuestos termolábiles y extracción de solventes orgánicos deja residuos de solventes en la

esencia (Arranz et al., 2015). La extracción hidroalcohólica es la mezcla de agua y etanol para la extracción de compuestos de interés y son menos abrasivos con la obtención del extracto, el cual me permite obtener compuestos hidrosolubles como liposolubles y varios estudios plantean el uso de este método para extracción y análisis positivos de compuestos antioxidantes como los fenoles, flavonoides que evitan la formación de radicales libres y brindan la protección contra afecciones en la piel según (Cano et al., 2020)

Ahora la actividad antimicrobiana se refiere al proceso de eliminar o inhibir el crecimiento del microorganismo patógeno que puede ser antibacteriano, antifúngico y antiviral las cuales tienen diferente modo de acción de acuerdo con (Rodríguez & Alvarez, 2020) la actividad antimicrobiana es importante ya que determina la eficacia del extracto frente a patógenos. La evaluación *in vitro* garantiza la susceptibilidad de bacterias frente a agentes patógenos que utilizan principales métodos cualitativos existe el método de difusión en disco y diluciones en agar que están específicamente diseñadas para obtención de bacterias de crecimiento rápido como *Staphylococcus spp*, *Enterobacteriaceae* según (Herrera, 1999), mientras que para métodos cuantitativos se determina el efecto antimicrobiano por concentración mínima inhibitoria (CMI) del microorganismo de interés acoplado a una técnica de cromatografía de capa fina (Cássia & Colla, 2018). Ahora bien, para la aplicación dermatológica del extracto se requiere evaluar su seguridad de uso contra las células de la piel. Varios autores como (Nowak et al., 2022). Se realizan estudios *in vitro* que se basan en evaluar la actividad celular como el ensayo de MTT. Los ensayos de citotoxicidad tienen la capacidad de detectar mecanismos celulares y los efectos adversos de interferencia con estructura o propiedades para la supervivencia celular, empleando líneas celulares que son grupo de células usadas para investigación y aislar nuevos fitofármacos (Ávalos et al., 2014).

Como alternativa el uso de extractos con componentes bioactivos con gran variedad de productos botánicos en cosméticos que cumple dos funciones: el cuidado del cuerpo y como ingredientes para influir en las funciones biológicas de la piel, proporcionando los nutrientes para una piel saludable (Cano et al., 2020). Algunos estudios han evaluado la composición y el potencial antioxidante y antimicrobiano de los metabolitos secundarios según los autores (Blanco, 2021), siendo otra alternativa el uso de aceites esenciales de algunas especies vegetales que ayuda a inhibir el crecimiento de *P. acnes* que ha establecido enfoques fitoterapéuticos con alta actividad antibacteriana sin causar efectos secundarios (Zu & Yu, 2010).

2. Planteamiento del problema a investigar

La explotación de los recursos naturales de nuestro país es inestable pues en muchos casos se desconoce el potencial de muchas plantas medicinales que existen en nuestro territorio, actualmente la sociedad reclama más productos con baja concentración de factores sintéticos que pueden causar enfermedades, en este caso problemas en la piel por el uso de productos que resultan tóxicos para nuestra salud (Levin, 2016), es básico saber que hoy en día la piel es uno de los factores más expuestos a enfermedades del

medio ambiente, y el producto con el que lo cuidamos debe de ser lo más natural posible (Vallejo, 2015). Otro desafío importante es la complejidad de las interacciones entre los metabolitos secundarios de las plantas y los organismos que los consumen o utilizan en sus actividades biológicas. Muchos de estos compuestos interactúan de manera sinérgica o antagonista con otros, lo que dificulta la comprensión de sus efectos en los sistemas biológicos (Kloucek et al., 2005).

El acné es un trastorno multifactorial de las unidades pilosebáceas existen formas de acné que pueden afectar a todos los grupos de edad siendo lo más común en la adolescencia y etapa adulta con una frecuencia de hasta el 80% de la población. Los profesionales de la salud suelen desestimar las complicaciones psicosociales de los trastornos dermatológicos (Andaluz, 2019). Aunque el acné no es físicamente incapacitante, su impacto psicológico puede ser sorprendente, contribuyendo a una baja autoestima, la depresión y la ansiedad significativa, siendo el resultado terapias efectivas para combatir el acné (Barroso et al., 2020) (Saper & Capiro, 2015).

3. Justificación de la investigación

Como menciona el autor (Arroyo & Rodriguez, 2019) “los últimos tiempos la sociedad se inclina al consumo de la cosmética y presenta gran interés por el cuidado personal” y el empleo de extractos estandarizados a partir de plantas medicinales como materias primas en la industria farmacéutica, representa un área de franca expansión, que adquiere una importancia cada vez mayor, porque facilita una mejor caracterización analítica y permite que se cumplan de manera eficaz los requisitos de calidad, efectividad y seguridad exigidos para cualquier medicamento moderno (Hurtado & Jurado, 2015) incluso para uso cosmetológico. La actividad antimicrobiana revela la capacidad de los compuestos vegetales para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, lo que indica su potencial como agentes antibacterianos. El cultivo celular, por otro lado, implica exponer líneas celulares a extractos de plantas y observar los efectos sobre la viabilidad, proliferación y muerte celular. Esta evaluación proporciona información importante sobre la posible citotoxicidad de compuestos vegetales y sus efectos en los sistemas celulares. El estudio de los antimicrobianos y citotoxicidades presentes en la *Brunfelsia grandiflora*, abrirá un campo de estudio de interés farmacéutico, cosmetológico (Solís & Velasco, 2015).

Se menciona que el uso *Brunfelsia grandiflora* posee un sin número de propiedades medicinales por su alto contenido de compuestos activos, entre las cuales se destacan la actividad antioxidante, antitumorales, antiinflamatorias y anticonvulsivantes, por lo cual al evaluar la relación entre la actividad antimicrobiana (Tello & Mosquera, 2022) que tiene sobre el acné que aún no ha sido estudiada la cuál establecerá su potencial en la industria cosmética en cuanto al cuidado de la piel y prevención de afecciones cutáneas. Por la cual se utiliza el método de extracción hidroalcohólico que respeta la naturaleza química de los componentes que la planta produce y para este tipo de extracción se utiliza solventes orgánicos, siendo los de mayor incidencia el uso del agua

y etanol, ya que los metabolitos de interés son solubles en dichos solventes (Moreno, 2022) para interés comercial.

4. Preguntas de investigación

- ¿Qué efectos tiene el extracto de Chiricaspi (*Brunfelsia grandiflora*) en la viabilidad y la integridad de las células humanas?
- ¿Qué compuestos bioactivos están presentes en el extracto hidroalcohólico de *Brunfelsia grandiflora* que se correlacionan con su actividad antibacteriana?

5. Hipótesis

Hipótesis verdadera: El extracto hidroalcohólico de *Brunfelsia grandiflora* tiene efecto antimicrobiano y citotóxico.

Hipótesis nula: El extracto hidroalcohólico de *Brunfelsia grandiflora* no tiene efecto antimicrobiano y citotóxico.

6. Objetivos de la investigación

6.1 General

Evaluar la actividad antimicrobiana y citotóxica del extracto hidroalcohólico de Chiricaspi (*Brunfelsia grandiflora*) para el acné.

6.2 Específicos

- Analizar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Brunfelsia grandiflora* frente a microorganismos asociados al acné.
- Determinar los posibles efectos citotóxicos y el potencial beneficioso del extracto hidroalcohólico de *Brunfelsia grandiflora* en líneas celulares específicas.

7.1 Obtención de material vegetal

Las hojas de chiricaspi (*Brunfelsia grandiflora*), se recogerá en la Provincia de Napo, cantón Tena, parroquia Archidona en comunidad de Amupakin. Las muestras de hojas limpias serán secadas en la estufa a 60°C durante 4 horas. Posteriormente el material vegetal será triturado manualmente y se mantendrá almacenado en fundas de polietileno oscuras a temperatura ambiente hasta su posterior uso (Rojas, 2018).

7.2 Obtención de extractos hidroalcohólicos

Se deberá pesar 10g del material vegetal *Brunfelsia grandiflora* que se preparan previamente y se colocará en un vaso precipitado de 100 ml luego se adicionará 50 ml de agua y 50 ml de etanol al 70°C. La extracción se realizará a distintas temperaturas 32°C, 40°C, 50°C, 60°C cada uno durante una hora con agitación continua. Posteriormente el extracto obtenido se filtrará y almacenará en frascos ámbar a 4°C (Rojas, 2018).

7.3 Tamizaje fitoquímico de los extractos

Se colocará por separado 1ml de cada uno de los extractos obtenidos en tubos de ensayo y se adicionarán 3 gotas de solución de cloruro férrico al 5% donde proporcionarán un cambio de color. Rojo= presencia de compuestos fenólicos; Verde = taninos pirocatecólicos y azul = taninos pirogalotánicos. Otro método conocido como reacción de Stiansy es colocando formol clorhídrico donde se colocará 4 gotas donde se obtendrá precipitados con copos rojos = taninos condensados. Para determinar flavonoides se realizar el ensayo de Shinoda donde se colocará por separado 1 ml del extracto y se adicionará 1ml de HCl concentrado y un pedazo de cinta de Mg metálico, se debe esperar 5 minutos y se colocará 1 ml de alcohol amílico donde se mezclarán las fases y tendrá que separarse. Si presenta un color amarillo, naranja o rojo intenso indicara la presencia de flavonoides (Morales, 2020).

7.4 Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos por el método de difusión en agar.

Con el asa estéril se tomarán de cuatro a cinco colonias de *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* aislado o puro se inoculará en tubos de ensayo con 5ml de caldo TSB esteril y se incubará en anaerobiosis durante 24 horas a 37°C. Después se centrifuga a 350 rpm por 20 min, y se eliminara el sobrenadante y se añadirá 4ml de solución fisiológica al 0.9% al pellet, se mezclará con vortex por 3 min hasta que las cepas se suspendan en el suero fisiológico la cual deberá diluirse hasta alcanzar una turbidez de 0.5 de la escala de McFarland. Después se tomará un hisopo esteril y se colocará dentro del cultivo la cual se deberá colocar en cajas petri con agar Mueller-Hinton y se dispersa en toda la caja sin dejar espacios para obtener el crecimiento de *P. acnes* y *S. aureus*. Posteriormente se colocará con una pinza esteril los antibióticos de tetraciclina y eritromicina como control positivo y control negativo será agua destilada esteril. En otra placa se colocará el extracto más los antibióticos y se dejará incubar dentro de la jarra anaeróbica a 37°C por 24 horas (Morales, 2020).

7.5 Lectura de las placas e interpretación de resultados

Una vez que se cumpla el tiempo de incubación se procede a examinar cada caja y se procederá a medir los halos de inhibición generados y anotar los resultados. Para el cálculo de porcentaje de inhibición se usará la siguiente fórmula:

$$\% \text{ efecto inhibitorio} = \frac{\text{diámetro de halo de inhibición del tratamiento}}{\text{diámetro de halo de control positivo}} \times 100$$

7.6 Actividad antimicrobiana

El microorganismo donde el inóculo se preparará mediante una escala de comparación 0,5 McFarland y se diluirá hasta alcanzar una concentración final de 5×10^5 UFC/ml. El extracto obtenido de las hojas de *Brunfelsia grandiflora* se obtendrá mediante el método de microdilución en microplacas que contendrá 96 pocillos por dilución seriada en caldo Mueller Hinton (MHB) según la CLSI, que será adaptado según el extracto vegetal donde cada pocillo contendrá 100 μ L de MHB, 10 μ L de inóculo y 100 μ L de extracto o solución. control. Los extractos se disolverán en una solución de dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% y las concentraciones finales de los extractos serán 250, 125, 62,5 y 31,25 mg/mL en MHB con inóculo. La concentración final de los controles será 0,12 μ g/mL de clindamicina, 0,8 μ g/mL de eritromicina y 50 μ L/mL de DMSO en MHB con inóculo. Los ensayos se realizarán por triplicado. La CMI se determinará después de 24 h de incubación a 35 ± 2 °C para bacterias. La concentración más pequeña de extracto sin crecimiento microbiano visible en el microscopio óptico se definirá como CMI (Clássia, 2018), (Morales, 2020)

7.8 Ensayo de hemólisis

Previo al ensayo de hemólisis se realizará la extracción de sangre periférica en tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Se harán los respectivos lavados con PBS 1X a 1000 rfc por 5 min. Se añadirá 200 μ l de la dilución correspondiente a cada concentración del extracto chiricaspí de 100 a 1000 μ g/mL con 200 μ l de la solución madre 4% RBC. Como controles negativos y positivos se tomarán el PBS Y Triton X-100 respectivamente. Se incubará por 2 horas a 37°C, se centrifugará todos los tubos a 1000 rpm por 5 minutos y se transferirá 200 μ l de cada sobrenadante a una microplaca de 96 pocillos para su posterior lectura de densidad óptica (OD) a 560 nm en el espectrofotómetro de microplacas. Para el cálculo del % de hemólisis se usará los datos obtenidos de lectura de microplacas. Se usará la fórmula que se muestra a continuación donde A es el promedio de las concentraciones, AO es la lectura del control negativo y AX es la lectura del control positivo (Proaño et al., 2019) (Elizondo et al., 2022).

$$\% \text{ Hemolisis} = \left(\frac{A - AO}{AX - AO} \right) * 100$$

7.9 Ensayo de cultivo celular

La línea celular humana se mantendrá en un medio de crecimiento completo de DMEM o RPMI complementado con suero fetal bovino (SBF), estreptomicina y penicilina. Las células se cultivarán en un incubador humidificado a 37 °C con un 5% de CO₂.

La proliferación celular (evaluada por actividad metabólica) se analizará mediante un método colorimétrico con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Brevemente, células por los pocillos se sembrarán en microplacas de 96 pocillos y se incubarán durante 24 y 48 horas en medio de cultivo con presencia de chircaspi (hidroalcohólico). Se añadirá MTT (0,5 mg/ml) 4 horas antes de completar todo el tiempo de incubación y controles negativos, positivos se usará el medio de cultivo y CoCl₂. Los datos de absorbancia se obtuvieron con un fotómetro de microplacas (Ziemlewska et al., 2021)

8. Cronograma de actividades

9. Presupuesto referencial

10. Referencias bibliográficas.

Alvarez, M., Rodríguez, E., & Ponce, R. (2016, junio). *¿Resistencia en el acné? Un metaanálisis a propósito de la controversia ¿Resistencia bacteriana en el acné? Un metaanálisis de la controversia.* ScienceDirect. <https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.08.005>

Andaluz. (2019). *Tratamiento del acné: actualizado.* Andaluz. <http://dx.doi.org/10.11119/BTA2019-34-04>

Arroyo, M., & Rodríguez, K. (2019). *Potencial de exportación de crema hidratante facial de aceite de Sacha Inchi y aloe vera hacia mercado estadounidense.* UTP. https://repositorio.utp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12867/3928/Maria%20Arroyo_Katerine%20Rodriguez_Trabajo%20de%20Investigacion_Bachiller_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Arranz, E., Jaime, L., & López, M. (2015, mayo). *Supercritical fluid extraction as an alternative process to obtain essential oils with anti-inflammatory properties from marjoram and sweet basil.* Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.012>

Ávalos, J., Treviño, J., Verde, J., & Rivas, C. (2014, Diciembre 24). *Evaluación citotóxica*

de los extractos etanólicos de *Azadirachta indica* (A. Juss) sobre diferentes líneas celulares. Scielo. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000300004

Barroso, R., Navarro, R., & Tim, C. (2020, octubre 14). *Antimicrobial photodynamic therapy against Propionibacterium acnes biofilms using hypericin (Hypericum perforatum) photosensitizer: in vitro study*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s10103-020-03163-3>

Blanco, M. (2021, septiembre). *Efecto de la extracción acuoso e hidroalcohólica sobre la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de la vainas de Caesalpinia spinosa "Tara"*. Universidad Peruana Los Andes. https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/5416/T037_20089148_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Cano, C., Bonilla, P. y Valdivieso R. (2020). *Metabolitos secundarios y capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de Minthostachys mollis (muña)*. Ciencia e Investigación 2020 23(1):15-18. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/ci.v23i1.18718>

Clássia, L. (2018, septiembre). *Antioxidant and antimicrobial activity of Brunfelsia uniflora leaf extract. of. VHL Regional Portal*. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/e/biblio-986953>

Flores, G., & Molina, W. (2012). *Tratamiento del acné*. Revista médica de Costa Rica. <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/600/art17.pdf>

Galvan, J., Fernandez, R., & Laza, J. (2002, abril). *Resistencia antibiótica del Propionibacterium acnes en pacientes tratados por acné vulgar en Málaga*. Actas dermo. <https://www.actasdermo.org/es-resistencia-antibiotica-del-propionibacterium-acnes-articulo-13031286>

González, F., & Bravo, L. (2017). *Historia y actualidad de productos para la piel, cosmeticos y fragancias. Especialmente los derivados de las plantas*. ARS Pharmaceutica. <https://dx.doi.org/10.4321/s2340-98942017000100001>

Herrera, M. (1999). *Pruebas de sensibilidad antimicrobiana Metodología de laboratorio*. Scielo. [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010#:~:text=Para%20ello%20hay%20tres%20m%C3%A9todos,a%20esos%20antibi%C3%B3ticos\(9\)](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010#:~:text=Para%20ello%20hay%20tres%20m%C3%A9todos,a%20esos%20antibi%C3%B3ticos(9))

Hurtado, P., & Jurado, B. (2015, septiembre). *Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de Juglans Neotropica Diels (nogal peruano)*. Scielo. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2015000300010&script=sci_arttext&tIng=en

Levin, J. (2016, Abril). *The Relationship of Proper Skin Cleansing to Pathophysiology, Clinical Benefits, and the Concomitant Use of Prescription Topical Therapies in Patients*

Luzuriaga, C., & Hernández, M. (2018, agosto). *Chiricaspi (Brunfelsia grandiflora , Solanaceae), una planta farmacológicamente prometedora*. MDPI. <https://www.mdpi.com/2223-7747/7/3/67>

Mateos, R., & Ramos, N. (2022, octubre 2). *Identificación, cuantificación y caracterización de la fracción fenólica de Brunfelsia grandiflora : capacidad antioxidante in vitro*. MDPI. <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/19/6510>

Meniqueti, A., & Silva, R. (2017, agosto 17). *Antioxidant activity and chemical composition of oleoresin from leaves and flowers of Brunfelsia uniflora*. GMR. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039714>

Morales, A. (2020). *Evaluación In vitro de la actividad antimicrobiana de los extractos etanolicos y acuoso de la cascara de platano (Musa paradisiaca), frente a Propionibacterium acne para uso en la elaboración de un gel antiacne*. Universidad Politécnica Salesiana. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18804/4/UPS-CT008782.pdf>

Mosquera, T., & Noriega, P. (2012). *Evaluación de la eficacia cosmética de cremas elaboradas con aceites extraídos de especies vegetales Amazónicas: Mauritia Flexuosa (Morete), Plukenetia Volubilis (Sacha Inchi) y Oenocarpus Bataua (Ungurahua)*. ResearchGate.

https://www.researchgate.net/publication/318390402_Evaluacion_de_la_eficacia_cosmetica_de_cremas_elaboradas_con_aceites_extraidos_de_especies_vegetales_Amazonicas_Mauritia_Flexuosa_Morete_Plukenetia_Volubilis_Sacha_Inchi_y_Oenocarpus_Bataua_Ungurahua

Moreno, M. (2022). *Elaboración de una crema orgánica con actividad antiinflamatoria a base de productos naturales*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17382/1/56T01086.pdf>

Nowak, A., Zielonka-Brzezicka, J., Perużyńska, M., & Klimowicz, A. (2022). *Epilobium angustifolium L. as a Potential Herbal Component of Topical Products for Skin Care and Treatment—A Review*. *Molecules*, 27(11), 3536. <https://doi.org/10.3390/molecules27113536>

Rodríguez, R., & Alvarez, N. (2020, agosto 23). *Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Calendula officinalis L.* Universidad Industrial de Santander. <https://doi.org/10.18273/revion.v34n1-2021008>

Rojas, M. (2018). *Evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales en extractos de las hojas de tres especies de plantas medicinales de Campo Verde, Ucayali*. UNIVERSIDAD NACIONAL INTERCULTURAL DE LA AMAZONÍA. <https://api-repositorio.unia.edu.pe/server/api/core/bitstreams/ea382faa-54f8-447f-ab19->

Saper, D., & Capiro, N. (2015, enero 18). *Management of Propionibacterium acnes infection after shoulder surgery.* Pubmed. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4596189/#:~:text=Penicillin%20and%20cephalosporins%20are%20effective,the%20clinical%20efficacy%20of%20treatment.>

Solís, M., & Velasco, N. (2015). *ESTUDIO SOBRE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DEL Propionibacterium acnes Y Staphylococcus epidermidis EN PACIENTES CON ACNE VULGARIS, ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE DERMATOLOGÍA EN EL HOSPITAL GENERAL ENRIQUE GARCÉS, EN EL PERIODO COMPRENDIDO.* PUCE. <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10088/ESTUDIO%20SOBRE%20LA%20SUSCEPTIBILIDAD%20ANTIMICROBIANA%20DEL%20Propionibacterium%20acnes%20Y%20Staphylococcus%20epid.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Tello, C., & Mosquera, T. (2022). *El uso de la medicina tradicional em Ecuador en el cuidado de la piel.* Scielo. . <https://doi.org/10.7476/9789978108260.0007>.

Vallejo, A. (2015). *OBTENCIÓN JABÓN A PARTIR DE ACEITES DE Elaeis guineensis (PALMA ACEITERA), Helianthus annuus (GIRASOL), Plukenetia volúbilis linneo (ACEITE SACHA INCHI), Y LA ADICIÓN DE Scoparia dulsis (TEATINA) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO.* UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/606/1/T-UTEQ-0039.pdf>

Zu, Y., & Yu, H. (2010, Abril 30). *Activities of Ten Essential Oils towards Propionibacterium acnes and PC-3, A-549 and MCF-7 Cancer Cells.* National Library of Medicine. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6263286/>