

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Bioquímica y Farmacia

Ensayos preliminares para la preformulación de un fitofármaco a base de fracciones activas presentes en las hojas de *Desmodium molliculum*

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico


Autores:

Samantha Lizbeth Fernández Cambisaca

Tatiana Estefania Pillco Encalada

Director:

Nancy Mirian Cuzco Quizhpi

ORCID:  0000-0003-0356-6192

Cuenca, Ecuador

2023-11-06

Resumen

Los extractos de plantas son fundamentales en la medicina tradicional por sus propiedades farmacológicas; sin embargo, la información de la estabilidad del extracto de *Desmodium molliculum* en fitoterápicos es escasa. El objetivo de este estudio fue establecer ensayos preliminares para la preformulación de un fitofármaco oral estable a partir de fracciones activas presentes en las hojas de *Desmodium molliculum*. La investigación fue de tipo experimental, siendo la materia prima el extracto obtenido a partir de la percolación de las hojas secas, el cual luego de ser desengrasado y liofilizado se sometió a pruebas de solubilidad en agua y etanol para determinar el vehículo de los fitoterápicos, a los cuales se les evaluó la estabilidad física, química, microbiológica, además de la cuantificación de polifenoles totales a tiempo inicial, a los quince y treinta días en condiciones aceleradas ($40 \pm 2^\circ\text{C}$ y $75 \pm 5\%$). La cuantificación de los polifenoles totales se realizó mediante la técnica de Folin-Ciocalteu con una longitud de onda de 765 nm y en base a una curva de calibración de quercetina mediante la ecuación $y = 5,2068x + 0,0672$, con un coeficiente de correlación (R^2) 0,999. Se realizó la formulación de dos formas farmacéuticas líquidas orales no estériles jarabe y elixir en función de la solubilidad obtenida, cuyos resultados del control de calidad de los parámetros físico-químicos así como de la cuantificación de polifenoles de estas dos formulaciones reflejaron variabilidad significativa ($P < 0,05$) con respecto al tiempo al realizar el test ANOVA y tukey. Mientras que, los resultados de los parámetros microbiológicos en el jarabe y elixir no presentaron variabilidad ($P > 0,05$) y cumplieron con las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

Palabras clave: flavonoides, jarabe de hierba de infante, elixir de hierba de infante, compuestos fenólicos.



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

Plant extracts are essential in traditional medicine due to their pharmacological properties; However, information on the stability of *Desmodium molliculum* extract in phytotherapeutics is scarce. The objective of this study was to establish preliminary trials for the preformulation of a stable oral phytopharmaceutical from active fractions present in the leaves of *Desmodium molliculum*. The research was experimental, with the raw material being the extract obtained from the percolation of the dry leaves, which after being degreased and lyophilized, was subjected to solubility tests in water and ethanol to determine the vehicle of the phytotherapeutics. to which the physical, chemical, and microbiological stability was evaluated, in addition to the quantification of total polyphenols at the initial time, at fifteen and thirty days under accelerated conditions (40 ± 2 °C and $75 \pm 5\%$). The quantification of total polyphenols was carried out using the Folin-Ciocalteu technique with a wavelength of 765 nm and based on a quercetin calibration curve using the equation $y = 5.2068 x + 0.0672$, with a coefficient correlation (R^2) 0.999. The formulation of two non-sterile oral liquid pharmaceutical forms, syrup and elixir, was carried out based on the solubility obtained, whose results of the quality control of the physical-chemical parameters as well as the quantification of polyphenols of these two formulations reflected significant variability ($P < 0.05$) with respect to time when performing the ANOVA and Tukey tests. The results of the microbiological parameters in the syrup and elixir did not present variability ($P > 0.05$) and met the specifications of the Pharmacopoeia of the United Mexican States.

Keywords: flavonoids, Infant grass syrup, Infant grass elixir, phenolic compounds.



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

Introducción	11
Capítulo I	13
1. Marco teórico y estado del arte	13
1.1 <i>Desmodium molliculum</i> : distribución geográfica, características botánicas y usos tradicionales	13
1.2 Metabolitos secundarios presentes en el género <i>Desmodium</i> : propiedades y usos medicinales	14
1.3 Definición y características de las formas farmacéuticas	14
1.3.1 Jarabe	14
1.3.2 Elixir	16
1.4 Control de calidad	17
1.4.1 Especificaciones de calidad físico-químicos y microbiológicos	17
1.4.2 Medios de cultivo para el análisis microbiológico	18
1.4.3 Método de determinación de la actividad antioxidante: polifenoles totales	19
Capítulo II	20
2. Materiales y métodos	20
2.1 Tipo y diseño de investigación	20
2.2 Lugar donde se desarrolló la investigación	20
2.3 Materiales, reactivos y equipos	20
2.3.1 Materia prima	20
2.3.2 Materiales	20
2.3.3 Equipos	20
2.3.4 Reactivos	21
2.4 Obtención de la materia prima	21
2.4.1 Caracterización botánica	21
2.4.2 Recolección y selección del material vegetal	21
2.4.3 Lavado, secado y triturado	22
2.4.4 Cálculo de la humedad del material vegetal	22
2.4.5 Obtención del extracto metanólico	22
2.5 Preformulación de formas farmacéuticas	23
2.5.1 Prueba de solubilidad	23
2.5.2 Preparación de jarabe	23
2.5.3 Preparación del elixir	24

2.6. Control de calidad.....	24
2.6.1 Estabilidad acelerada.....	24
2.6.2 Evaluación de los parámetros organolépticos	25
2.6.3 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos	25
2.6.4 Evaluación de los parámetros microbiológicos.....	27
2.6.5 Cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteau	28
Capítulo III	30
3. Resultados y discusiones.....	30
Capítulo IV	39
4.1 Conclusiones.....	39
4.2 Recomendaciones	40
Referencias.....	41
Anexos.....	47

Índice de figuras

Figura 1. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu	19
---	----

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Método de Folin-Ciocalteu</i>	29
Tabla 2. <i>Parámetros organolépticos del jarabe y elixir de Desmodium molliculum</i>	31
Tabla 3. <i>Parámetros fisicoquímicos del jarabe y elixir de Desmodium molliculum</i>	32
Tabla 4. <i>Parámetros microbiológicos del jarabe y elixir de Desmodium molliculum</i>	35
Tabla 5. <i>Cuantificación de polifenoles totales del jarabe y elixir de Desmodium molliculum</i>	36
Tabla 6. <i>Resultados del valor P de la cuantificación de polifenoles totales</i>	37

Agradecimientos

Al finalizar con la presente investigación con la cual cumplimos uno de nuestros objetivos académicos es ineludible y un verdadero placer utilizar este espacio para agradecer a las personas que hicieron posible que este aporte y arduo trabajo llegue a su término.

En primer lugar, nuestro infinito agradecimiento a Dios por darnos la sabiduría, perseverancia y fortaleza que nos permitió culminar nuestros estudios.

De manera muy especial y sincera a nuestra directora de tesis, la Dra. Nancy Cuzco quién con su apoyo, paciencia, orientación, conocimientos y dedicación nos guió no solo en el desarrollo de este proyecto sino también en nuestra formación como buenos profesionales y como seres humanos.

De igual manera hacemos extensivo nuestro agradecimiento con mucho cariño al Dr. Fabián León, Bqf. Jéssica Calle Mgt y Bqf. Felipe Bustillos por su inmensa colaboración, motivación y valiosa ayuda durante el avance de este trabajo.

Agradecemos también a todos nuestros profesores por su constante dedicación y aporte de conocimientos durante nuestra instrucción, así mismo a todas las personas que de una u otra forma colaboraron con nuestra tesis y aprendizaje.

A nuestros padres, Marisol y Miguel; Sara y Jorge, quienes gracias a su ejemplo de esfuerzo y sacrificio nos impulsaron a nunca rendirnos y a cumplir los sueños que nos proponemos con responsabilidad y dedicación.

Finalmente, a nuestros hermanos Daniel y Johanna, amigos/as Nelly, Andrea, Mayra, Johanna, Liliana, Marisol, Michelle, Bryan, Fernando, Carlos, José, Genaro y demás familiares un inmenso agradecimiento, por sus palabras de aliento, amor e inspiración durante toda nuestra formación y crecimiento personal.

Samantha Fernández Cambisaca

Tatiana Pillco Encalada

Dedicatoria

Dedico este trabajo a:

Dios por ayudarme a nunca rendirme y guiarme a lo largo de toda mi formación académica. También a la Virgencita, a mi abuelita Rosa (+) y a mi tía Ana (+) por escuchar mis oraciones y permitirme cumplir esta gran meta profesional.

A mis padres Sara y Jorge que son mi pilar y mi fuerza para seguir adelante además de mi ejemplo de responsabilidad, dedicación, amor y honestidad, junto con mi hermana Johanna por sus palabras de aliento y consejos.

A mis abuelitos y a mi abuelita Carmen, quienes con su amor y cariño a lo largo de toda mi vida han sido mi refugio y mi apoyo en los momentos más difíciles.

A Tatiana, mi amiga y compañera de tesis, quien siempre ha estado conmigo en los buenos y malos momentos durante toda la carrera universitaria.

A mis perritos Luly, Leyla y Scott por acompañarme todas mis noches de desvelo durante mi carrera universitaria.

Samantha Fernández Cambisaca

Dedico este trabajo a:

Dios, por ser mi guía, fortaleza, brindarme salud y con ello la oportunidad de cumplir un objetivo más en mi vida, por acompañarme en cada etapa y ayudarme a crecer como persona y académicamente. Además, por haber puesto en mi camino a personas que siempre me han estado alentando a luchar por mis sueños y apoyándome durante todo este proceso estudiantil.

A mi madre y mi abuelita Marisol y Dolores, quienes fueron mi soporte y estuvieron apoyándome constantemente siendo mi ejemplo y enseñándome el valor del sacrificio, esfuerzo y trabajo, pero sobre todo por siempre estar presentes y brindarme sus consejos y cariño.

A mis hermanos/as Daniel, William, César, Iván, Gladys y Ana por acompañarme y enseñarme a ser perseverante y paciente durante toda mi vida universitaria, además que con sus ocurrencias siempre me ayudan a ver las dificultades con mente positiva.

A Miguel, que me ha enseñado a luchar por mis sueños y haberme tenido una interminable paciencia.

A Patricio, por su incondicional apoyo durante cada etapa de mi vida y por fomentar en mí el deseo de superación personal.

A mis amigos/as que estuvieron durante toda mi formación con los que hemos compartido desveladas, preocupaciones y felicidad, Carlos y Samantha.

A mis mascotas (Lucas, Anelys y Tayson) que con su compañía hacían más llevaderas todas mis noches de desvelo.

Tatiana Pillco Encalada

Introducción

Las especies vegetales han sido consideradas desde tiempos remotos como un pilar fundamental en la medicina tradicional por su uso terapéutico en el cuidado de la salud de millones de familias de diversas partes del mundo (Bermúdez et al., 2022), pues alrededor del 80% de la población mundial, especialmente los países en desarrollo utilizan plantas medicinales hasta la actualidad como una práctica tradicional curativa puesto que, sus sistemas de salud están sustentados en la falta de progreso, instituciones sanitarias y recursos humanos (Campos & Francisco, 2018; Gallegos, 2016), razón por la cual se han identificado a los países con mayor diversidad vegetal en el mundo, siendo diecisiete países los más representativos de los cuales ocho se encuentran en América Latina: Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, México, Perú y Venezuela (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2019) identificándose con una importante diversidad al género *Desmodium* perteneciente a la familia Fabaceae dado que está conformado por alrededor de 350 especies como: *Desmodium adscendens*, *D. molliculum*, *D. blandum*, *D. sericophyllum*, *D. canum*, *D. caudatum*, *D. gangeticum*, *D. gyrans*, *D. sambuense*, *D. triflorum*, *D. uncinatum* entre otras, las cuales se encuentran distribuidas en países tropicales y subtropicales en todo el mundo (Asanza & Gutierrez, 2022; Ma et al., 2011).

Con respecto a Ecuador la mayor diversidad del género *Desmodium* predomina en la región Andina, así como en la Amazonía (Inga & Zavala, 2020; Zambrano et al., 2015) procediendo de diversas provincias del país como: Azuay, Bolívar, Cañar, Loja, Cotopaxi, Pichincha, Imbabura, Napo, Morona Santiago, Sucumbios en donde se han reportado especies como: *D. adscendens*, *D. molliculum*, *D. axillare*, *D. intortum*, *D. sericophyllum*, *D. uncinatum* *D. vargasianum*, entre otras (Asanza & Gutiérrez, 2022).

Siendo *D. molliculum* de interés para nuestro estudio, debido a que esta especie posee un gran potencial farmacológico utilizada tradicionalmente para curar o aliviar procesos inflamatorios de dolores musculares, ovarios, etc, (Gordillo et al., 2019) además de encontrarse al alcance de nuestro entorno de investigación, ya que, crece entre 1.500 a 3.500 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.) de aquí la importancia de evaluar la estabilidad de formas farmacéuticas orales elaboradas a base de *D. molliculum*, debido a que a partir de ello se podrían obtener formulaciones con el principio activo cuantificado que garanticen el cumplimiento de sus propiedades antiinflamatorias, pues se disponen escasos estudios acerca de la estabilidad de esta especie en fitoterápicos (Aguirre et al., 2019), a diferencia de otras especies como *Desmodium adscendens* que dispone de fitoterápicos como “Desmodens”, “Uniplant Desmodium”, “Vital 2000 Desmodium” y “Supramineral Desmodium”

(Vanaclocha & Cañigüeral, 2019), a su vez la Organización Mundial de la Salud define a los fitoterápicos como “Productos obtenidos a través de procesos tecnológicamente adecuados, utilizando exclusivamente materias primas vegetales, con finalidad profiláctica, curativa o paliativa, caracterizados por el conocimiento de su calidad, eficacia y los riesgos de su uso” (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2005). Es decir, los fitoterápicos adaptan los metabolitos farmacológicamente activos presentes en diversas partes de las plantas (hojas, raíces, etc.) a una forma farmacéutica estable, segura y eficaz (Avello & Cisternas, 2010).

En función a lo planteado, el presente trabajo tuvo como objetivo general establecer ensayos preliminares para la preformulación de un fitofármaco oral estable a partir de fracciones activas presentes en las hojas de *Desmodium molliculum*.

Capítulo I

1. Marco teórico y estado del arte

1.1 *Desmodium molliculum*: distribución geográfica, características botánicas y usos tradicionales.

Desmodium molliculum conocida comúnmente como “Pata de perro”, “Chancas de comida”, “Hierba de infante”, “Hierba del ángel” o “Hierba del dedo” es una planta andina perteneciente al orden Fabales, familia Fabaceae y género *Desmodium* (Olascuaga et al., 2020; Torre et al., 2008). Esta especie es nativa del Ecuador, crece en las provincias de Azuay, Bolívar, Cañar, Carchi, Loja, Cotopaxi, Pichincha, Imbabura, Napo, Morona Santiago, Sucumbios, entre otras. Es una hierba perenne con una humedad en fresco del 70-85% de acuerdo a las condiciones climáticas del lugar (Chávez, 2010), un tallo ligeramente ramificado de hasta 50 cm de altura. Sus hojas son compuestas, alternas, con base asimétrica y ligeramente acorazonada. Sus flores vistosas son de color blanco violáceo, brillantes, distribuidas formando en conjunto un racimo que puede estar ramificado. El fruto o lomento es una legumbre linear, dividida en 4 o 5 piezas llamadas artículos cada una con una semilla arriñonada de color café oscuro (Aguirre et al., 2019).

Esta especie crece como maleza en zonas agrícolas, terrenos abandonados y bosques donde soporta sequías prolongadas. Los agricultores utilizan esta planta como repelente de insectos y forraje para ovejas, vacas y cuyes (Quintana, 2013).

En la medicina tradicional *Desmodium molliculum* es bastante empleada para el tratamiento de los síntomas inflamatorios de varias enfermedades como respiratorias, asma y/o trastornos hepáticos, además de tener un gran poder antioxidante convirtiéndose esta planta en una importante candidata para la elaboración de fitoterápicos como recurso terapéutico con el fin de combatir enfermedades (Olascuaga et al., 2020).

Se usa comúnmente la planta entera, seguida de las hojas y raíz. El modo tradicional de preparación de las hojas es por infusión (50 g/l de agua) utilizada para su ingesta diaria; y, la cocción de las hojas y tallos (100 g/l de agua), empleada para aplicar en las partes del cuerpo afectadas (Aguirre et al., 2019).

1.2 Metabolitos secundarios presentes en el género *Desmodium*: propiedades y usos medicinales.

En el género *Desmodium* se han identificado más de 200 metabolitos secundarios que incluyen flavonoides, alcaloides, esteroides, terpenoides, fenilpropanoides, entre otros, pero sólo parte de ellos han sido evaluados para la actividad biológica (Ma et al., 2011), siendo la importancia de estos metabolitos atribuida a sus propiedades medicinales por ejemplo: los terpenos presentan propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, y antimicrobianas (Ávalos & Pérez, 2009; Ramos & Portal, 2017); los flavonoles (quercetina y kaempferol), flavonas (vitexina, apigenina) o isoflavonas (daidzeína, genisteína, 5-O-metil genisteína) poseen efectos antioxidantes y antiinflamatorios (Barreto & Bonilla, 2017; Baiocchi et al., 2013); los taninos poseen efectos astringentes con la consiguiente capacidad de proteger a las plantas de los ataques exteriores (Ávalos & Pérez, 2009); las saponinas (dehidrosoyasaponina I, soyasaponina I, soyasaponina II, soyasaponina III, entre otras saponinas triterpenoides) promueven los niveles normales de colesterol puesto que estas se unen a los ácidos biliares y ayudan a eliminarlos del cuerpo, evitando que el colesterol se reabsorba (Olascuaga et al., 2020) y los alcaloides (Beta-feniletildiamina) presentan efectos vasodilatadores, antiarrítmicos y analgésicos (Olascuaga et al., 2020).

1.3 Definición y características de las formas farmacéuticas

1.3.1 Jarabe

Soluciones acuosas orales, límpidas y de elevada viscosidad, que contiene un azúcar, generalmente sacarosa, dextrosa u otros, en concentración similar a la de saturación. Si el agente edulcorante es la sacarosa, la densidad del jarabe es 1,313 a 15-20°C; el punto de ebullición es 105°C, y el contenido en sacarosa es 64-65% (p/p), que corresponde aproximadamente a $\frac{2}{3}$ de sacarosa y $\frac{1}{3}$ de agua. Por tratarse de preparaciones acuosas, con sabor agradable y por no contener alcohol (o contenerlo en baja cantidad) tienen una amplia difusión en pediatría y geriatría además de ser apropiados para la administración de principios activos hidrosolubles. Por otra parte, el azúcar ejerce una acción conservante y viscosizante, es decir la alta concentración de azúcar le confiere al jarabe una elevada presión osmótica que impide el desarrollo fúngico y bacteriano (Vila, 2001).

Las principales alteraciones en los jarabes por una elaboración defectuosa son: la precipitación del azúcar que produce una masa visible en el fondo del envase, la caramelización del azúcar si se emplea una temperatura superior a 60 °C que puede producir

un sabor ligeramente amargo y la turbidez que puede ser indicio de que existe contaminación bacteriana o fúngica (Fernández et al., 2010).

Tipos de jarabes

1. **Jarabe simple:** no lleva principio activo y está compuesta por sacarosa (64%) y agua (36%), Esta alta concentración de sacarosa actúa como conservante, pero puede favorecer la aparición de precipitados cristalinos. Tiene acción demulcente sobre la mucosa orofaríngea y calma la tos irritativa debido a su alta concentración de sacarosa (Fernández et al., 2010).
2. **Jarabe medicado:** lleva uno o varios principios activos además de la sacarosa y el agua. Se puede preparar un jarabe simple y añadir los principios activos o preparar una disolución medicamentosa y añadir el azúcar (Fernández et al., 2010).
3. **Jarabe aromático:** consiste en un jarabe no medicado pero que contiene diversas sustancias aromáticas o de sabor agradable y suele utilizarse como vehículo o agente aromatizante, por ejemplo, jarabe de cereza, naranja, etc. (Vila, 2001).

Componentes básicos de un jarabe:

- **Azúcar:** suele utilizarse la sacarosa, aunque puede ser sustituida por fructosa, sorbitol u otros edulcorantes para que el preparado sea apto para diabéticos.
- **Agua purificada:** no debe contener sales para evitar precipitados indeseados.
- **Conservantes:** entre los preservantes comunes para jarabes medicinales están el ácido benzoico y benzoato de sodio 0,1-0,2 %. Los conservantes (Ácido Benzoico/Benzoato sódico) son uno de los más utilizados en formulación magistral (Sánchez, 1990).
- **Codisolventes:** se utilizan para facilitar la disolución de sustancias insolubles en concentraciones que pueden llegar al 50%. El más usado es la glicerina (Sánchez, 1990).
- **Colorantes:** los agentes de color se usan para dar al jarabe buena presentación, generalmente son hidrosolubles e inertes frente a los demás componentes de la formulación. Deben guardar relación con el sabor de la preparación, por ejemplo: verde esmeralda para sabor a menta, marrón para chocolate, etc. (Sánchez, 1990).
- **Saborizantes:** se emplean los productos autorizados en alimentación o sustancias naturales como la vainillina (Fernández et al., 2010).

Es importante mencionar que además ciertos polialcoholes como el sorbitol o la glicerina pueden estar presentes en las soluciones orales e inhibir la cristalización (alteración en la preparación por calor), modificar la solubilidad y otras propiedades del vehículo (Farmacopea Argentina, 2007).

1.3.2 Elixir

Solución hidroalcohólica oral de sustancias medicinales, edulcorada con azúcar, sacarina o glicerina y aromatizada, enmascarando el sabor y el olor de muchas drogas (Jinez et al., 2019). Su principal característica es el contenido alcohólico del 5 al 20%, además de su dulzura debida al azúcar u otro edulcorante como la sacarina. Por su contenido alcohólico no son recomendables en pacientes pediátricos ni en adultos en los que esté contraindicado el alcohol. Los elixires son menos dulces y viscosos que los jarabes puesto que contienen una menor proporción de azúcar y, en consecuencia, son menos efectivos a la hora de enmascarar el sabor desagradable que tienen algunos fármacos (Sánchez, 1990).

Componentes básicos de un elixir

Los componentes fundamentales son el agua y el alcohol, constituyendo por ello el medio de disolución de sustancias solubles en uno y otro componente. También se utilizan disolventes adicionales como glicerina, propilenglicol, sorbitol y jarabe simple. Algunos de estos actúan como agentes de viscosidad (Sánchez, 1990).

Dado que las concentraciones altas de alcohol pueden producir un efecto farmacológico cuando son administradas oralmente los cosolventes (glicerina y propilenglicol) se utilizan para reducir al mínimo la cantidad de alcohol requerida (Jinez et al., 2019).

Un alto contenido alcohólico destaca los sabores salinos de las drogas, mientras que un alto contenido de glicerina retarda la absorción de las drogas, por esto se le sustituye por propilenglicol (Sánchez, 1990).

- **Vehículos de disolución:** agua y alcohol (5 al 20%) (Vila, 2001).
- **Edulcorantes:** suele ser un azúcar como la sacarosa (en cantidad inferior a la que presenta en jarabes, pero superior al 20%) o la glucosa. También es posible utilizar sorbitol, manitol, glicerina, jarabe simple, jarabes aromáticos o edulcorantes sintéticos (sacarina y aspartame). El aspartame es un edulcorante artificial poco soluble en agua y unas 200 veces más dulce que la sacarosa. En los elixires de elevado contenido alcohólico es aconsejable utilizar, en lugar de sacarosa, un edulcorante artificial como la sacarina debido a que aquella es poco soluble en alcohol y las cantidades necesarias para edulcorar serían difíciles de solubilizar en un sistema de elevada concentración alcohólica (Vila, 2001).
- **Aromatizantes:** los más representativos de los elixires son el de sabor frutal (esencia de naranja y limón) (Vila, 2001).

- **Colorantes:** la incorporación de colorantes acordes con el sabor y la aplicación terapéutica, mejoran el aspecto de la formulación y hacen más agradable la toma de la medicación (Vila, 2001).

Otras sustancias que pueden adicionarse son agentes conservantes antimicrobianos, antioxidantes y otros componentes responsables de la estabilidad y eficacia del elixir (Sánchez, 1990).

1.4 Control de calidad

El control de calidad de una forma farmacéutica incluye actividades relacionadas con el muestreo, análisis e informes de análisis físicos, químicos, microbiológicos y de estabilidad para asegurar el cumplimiento de las especificaciones de acuerdo a las características del producto (OMS, 2010).

Los controles de calidad que se exigen en los productos naturales de uso medicinal son los ensayos organolépticos, fisicoquímicos, químicos, microbiológicos y ensayos de estabilidad. Dentro de las características organolépticas los parámetros a evaluar son: apariencia o aspecto, color y olor. Los análisis físico-químicos mínimos que deberán realizarse a las formas líquidas son: pH, densidad, viscosidad, etc. según sea necesario de acuerdo a la formulación, además de la evaluación microbiológica con el fin de garantizar la seguridad y calidad en el producto terminado (Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria [ARCSA], 2021).

Por otra parte, los ensayos de estabilidad permiten conocer la capacidad que tiene un producto farmacéutico de mantener sus propiedades por un determinado tiempo dentro de sus especificaciones (International Conference of Harmonisation [ICH], 2009). Así pues, un programa preliminar de estabilidad en la fase de desarrollo de un producto es el estudio acelerado, el cual permite estimar el período de vida útil en el menor tiempo posible. Este estudio de estabilidad se realiza a una temperatura de 40 ± 2 °C y una humedad relativa de $75 \pm 5\%$, con una duración de seis meses y una frecuencia de análisis a tiempo inicial, noventa días y 180 días (ARCSA, 2021).

1.4.1 Especificaciones de calidad físico-químicos y microbiológicos

Los parámetros organolépticos que deben cumplir el jarabe y elixir son: sabor dulce, agradable al paladar (Farmacopea Brasileña, 2012), transparente y libre de partículas visibles (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos [FEUM], 2014); el color y olor va a depender

del principio activo, concentración a la que se encuentre y tipos de excipientes presentes en las dos formas farmacéuticas (Fernández et al., 2010).

Por otra parte, las especificaciones de los parámetros físico-químicos a cumplir son: viscosidad 190 cP a 20 °C para el jarabe (Vila, 2001); densidad 1,32-1,33 g/ml a 15-20 °C (Formulario Nacional, 2019) y 0,9707 - 1,053 g/ml (Guachalá, 2019) para el jarabe y elixir respectivamente; pH de 4 - 6 (Mellado & López, 2012) y de 4,5 - 6 (FEUM, 2014) para el jarabe y elixir respectivamente; y un contenido alcohólico que no debe exceder el 20% para el elixir (FEUM, 2014). Adicional a ello, la especificación para la cuantificación de polifenoles totales es de $1 \pm 0,15$ mg QE/ ml en las dos formas farmacéuticas (Farmacopea Argentina, 2012).

Finalmente, las especificaciones de los parámetros microbiológicos para productos líquidos no estériles de uso farmacéutico jarabes y elixires son los siguientes: 10^2 UFC / g o ml para organismos mesofílicos aerobios (OMA), 10^1 UFC / g o ml para el recuento de mohos y levaduras y ausencia de UFC / g o ml de *Escherichia coli* (FEUM, 2014).

1.4.2 Medios de cultivo para el análisis microbiológico

El medio para el recuento de aerobios mesófilos está conformado por el agar método estándar, en el cual la peptona de caseína proporciona los aminoácidos, el nitrógeno y otras sustancias necesarias para el crecimiento de los microorganismos y la dextrosa provee la fuente de carbohidratos. Además, contiene un indicador tetrazolio de color rojo que facilita la enumeración de las colonias, siendo la temperatura de incubación a 30°C durante 48 horas (Condalab,2019).

El medio para el recuento de mohos y levaduras contiene nutrientes de sabouraud complementados con antibióticos (cloranfenicol y clortetraciclina), un agente gelificante y un indicador de enzima fosfatasa que facilita la enumeración de mohos y levaduras. Las colonias de las levaduras se caracterizan por ser pequeñas, con límites definidos, de color rosa/tostado a azul/verde, mientras que las colonias de los mohos son planas y grandes, con límites difusos, color variable y suelen tener un centro oscuro. El tiempo de incubación es de 3 a 5 días y necesitan una temperatura de incubación de 25 a 27 °C (Scharlau, 2022).

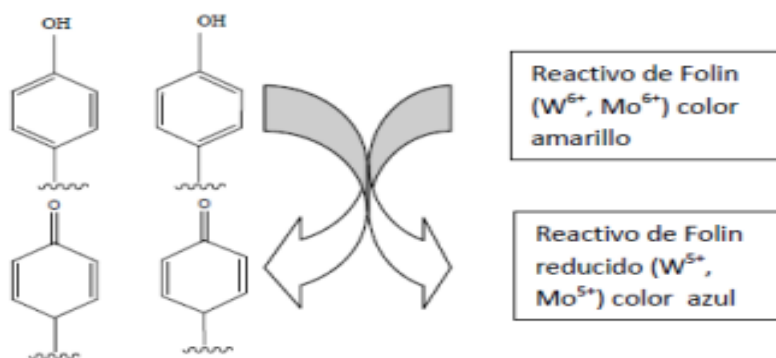
El medio para el recuento de *E.coli/coliformes* está conformado por el agar Bilis Rojo-Violeta (VRB) en el cual las sales biliares y el cristal violeta inhiben el desarrollo de la flora Gram positiva. Además, contiene dos indicadores, uno de acción de la glucuronidasa y otro de tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las bacterias *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez da lugar a una precipitación azul

asociada con la colonia. El resultado de *E.coli* son las colonias azules con gas y los coliformes totales son de color rojo más las azules con gas. La temperatura para su incubación es de 37 °C durante 24 a 48 horas (Britanialab, 2021).

1.4.3 Método de determinación de la actividad antioxidante: polifenoles totales

Esta técnica se basa en una reacción redox, considerado como un método de medida de la actividad antioxidante total. El fundamento de este ensayo es que los polifenoles presentes en la muestra a analizar se oxidan al reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu en medio básico, este reactivo consta de una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, por lo tanto el ácido fosfomolibdotúngstico formado, de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul, cuya intensidad es la que medimos espectrofotométricamente a 765 nm para evaluar el contenido en polifenoles la cual se cuantifica en base a una curva de calibración (García, Fernández & Fuentes, 2015). Se trata de un método preciso y sensible, que puede padecer numerosas variaciones, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes utilizados de la muestra a analizar, concentración de reactivos y tiempo de reacción (Cueva et al., 2010). En la Figura 1 se indica la reacción química.

Figura 1. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu (García, Fernández & Fuentes, 2015).



Capítulo II

2. Materiales y métodos

2.1 Tipo y diseño de investigación

Investigación experimental.

2.2 Lugar donde se desarrolló la investigación

El presente estudio de investigación se realizó en el proyecto de plantas medicinales y productos naturales del Departamento de Biociencias y en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la carrera de Bioquímica y Farmacia en la Universidad de Cuenca.

2.3 Materiales, reactivos y equipos

2.3.1 Materia prima

- Hojas secas trituradas de *Desmodium molliculum* (Hierba de infante).

2.3.2 Materiales

- Envases ámbar (PET Tereftalato de polietileno)
- Material de vidrio
- Mortero de porcelana
- Pinzas de Buretas
- Pipetas automáticas
- Placas de 96 pocillos
- Placas Petrifilm para Aerobios mesófilos, Mohos y levaduras y *Escherichia coli*
- Puntas plásticas amarillas y azules
- Soportes
- Tijeras de podar
- Tubos eppendorf

2.3.3 Equipos

- Alcoholímetro WINE & BEER, Ucrania
- Autoclave NSKI, USA
- Balanza analítica BOECO, Polonia
- Baño maría SHEL LAB, USA
- Cabina de flujo laminar BIOBASE, Colombia
- Estufa MEMMERT, Alemania

- Liofilizador Labconco, USA
- Microplate reader SENOVA, Uruguay
- Picnómetro ISOLAB, Alemania
- Potenciómetro HANNA, Argentina
- Refrigerador OSTER, España
- Rota-vapor LABOROTA 4000 efficient, Alemania
- Viscosímetro de Zahn, Chile
- Vortex HERMANN, Alemania

2.3.4 Reactivos

- Agua de Peptona
- Benzoato de sodio.
- Carbonato de sodio.
- Etanol Absoluto.
- Glicerina.
- Goma arábica.
- Metanol.
- N-hexano.
- Polietilenglicol 400
- Reactivo de Folin-Ciocalteu.
- Sacarosa.
- Solución amortiguadora pH 4.
- Solución antioxidante de referencia: Quercetina.

2.4 Obtención de la materia prima

2.4.1 Caracterización botánica

La especie *Desmodium molliculum* fue caracterizada botánicamente en el herbario de la Universidad del Azuay en donde reposa el respectivo voucher.

2.4.2 Recolección y selección del material vegetal

La recolección de la planta se llevó a cabo en el sector de Barabón a la altura de 2788 msnm perteneciente a la parroquia rural de San Joaquín en el cantón Cuenca de la provincia del Azuay en las siguientes coordenadas:

- **Latitud:** 2°53'50,666"
- **Longitud:** 79° 0'15,021"

Se realizó la recolección de la planta en un lugar libre de contaminación, considerando aquellas hojas que estén libres de parásitos y de hongos. La hora de recolección fue entre las 9:30 am y 11:00 am. Luego del cual se transportó en bolsas de papel al laboratorio para su procesamiento.

2.4.3 Lavado, secado y triturado

Previo al lavado se seleccionaron únicamente las hojas libres de materia orgánica e inorgánica contaminante. Se procedió a lavar el material vegetal con agua potable y se dejó reposar en agua destilada por 10 minutos. Transcurrido este tiempo se colocó la planta en la estufa a 37 grados centígrados por 24 horas, luego del cual se secó hasta obtener un peso constante. Posterior a ello, la droga seca se procedió a triturar según procedimiento normalizado de trabajo PNT OG 001 del laboratorio de fitoquímica del proyecto de plantas medicinales y productos naturales del Departamento de Biociencias.

2.4.4 Cálculo de la humedad del material vegetal

El porcentaje de humedad del material vegetal se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Materia seca} = \frac{P2 \cdot 100}{P1}$$
$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ Materia seca}$$

P1: Peso de la muestra

P2: Peso de la muestra desecada

(Cabrera & Peralta, 2018)

2.4.5 Obtención del extracto metanólico

Se obtuvo el extracto metanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* por el método de percolación a partir de 97.44 g de droga seca, extracto al que se le realizó el desengrasado con n-hexano y su posterior liofilización conforme a los procedimientos normalizados de trabajo PNT OG 005, OG 017 y OG 006 del laboratorio de fitoquímica del proyecto de plantas medicinales y productos naturales del Departamento de Biociencias. A partir de lo obtenido se calculó la relación entre la cantidad de droga vegetal (material de partida para la extracción) y la cantidad de extracto nativo (genuino) obtenido con ella (DER_{native}) mediante la siguiente fórmula:

$$DER_{\text{native}} = \frac{\text{Droga vegetal (kg)} \cdot 1}{\text{Cantidad de extracto obtenido (kg)}}$$

(Gaedeke et al., 2003)

2.5 Preformulación de formas farmacéuticas

2.5.1 Prueba de solubilidad

Se realizaron ensayos preliminares de solubilidad por duplicado en vehículos como agua y etanol absoluto con el fin de re-disolver el extracto liofilizado de *Desmodium molliculum*. Los resultados de los ensayos de solubilidad fueron la base de las pruebas para la preformulación de fitoterápicos como jarabe y elixir. Para ello:

En un tubo de ensayo se colocó 30 mg de extracto liofilizado, se agregó 1 ml del vehículo agua o etanol absoluto a probar gota a gota. Finalmente, se añadieron 0.5 ml adicionales del vehículo correspondiente al tubo de ensayo con extracto no disuelto y se registraron los resultados (Universidad Nacional Autónoma de México [UNAM], 2018).

2.5.2 Preparación de jarabe

Previo a la preparación del jarabe se elaboró una tintura al 20% en etanol de *Desmodium molliculum*.

2.5.2.1 Fórmula de manufactura

Componentes	Concentración
Goma arábica granular	24 g
Benzoato de sodio	0,24 g
Tintura de <i>Desmodium molliculum</i>	48 ml
Sacarosa	192 g
Agua destilada csp	240 ml

(Fullerton & Martin, 1953)

2.5.2.2 Proceso de manufactura

1. Se disolvió en baño maría a ebullición (92 °C) la sacarosa en 136 ml de agua destilada con agitación constante.
2. Se trituró la goma arábica en un mortero y se procedió a disolverlo con 25 ml de agua destilada a ebullición.
3. Se mezcló el jarabe simple, la goma arábica y el benzoato de sodio disuelto previamente en una alícuota de agua, se agitó constantemente hasta obtener una mezcla homogénea.
4. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se retiró la espuma.
5. Se agregó la tintura y se homogeneizó completamente hasta observar una solución límpida y transparente.

6. Posterior a ello, se acondicionaron en cuatro frascos ámbar (PET Tereftalato de polietileno) en volúmenes iguales y se etiquetaron como tiempo cero, uno, dos y tres.
7. Finalmente, los fitoterápicos se almacenaron a una temperatura de 40 ± 2 °C para el estudio de estabilidad acelerada.

2.5.3 Preparación del elixir

Previo a la preparación del elixir se elaboró una tintura al 20% en etanol de *Desmodium molliculum*.

2.5.3.1 Fórmula de manufactura

Componentes	Concentración
Tintura de <i>Desmodium m</i>	88 ml
Sacarosa.....	140.8 g
Glicerina.....	88 ml
Etanol Absoluto	158.4 ml
Agua destilada csp.....	440 ml
	(Vila, 2001)

2.5.3.2 Proceso de manufactura

1. Se disolvió la sacarosa en 105.6 ml de agua destilada.
2. Se agregó la tintura y se homogeneizó completamente hasta observar una solución límpida y transparente.
3. Se agregó la glicerina y se agitó vigorosamente, seguidamente se incorporó alcohol absoluto.
4. Se mezcló constantemente y se procedió a filtrar.
5. Posterior a ello, se acondicionaron en cuatro frascos ámbar (PET Tereftalato de polietileno) en volúmenes iguales y se etiquetaron como tiempo cero, uno, dos y tres.
6. Finalmente, los fitoterápicos se almacenaron a una temperatura de 40 ± 2 °C para el estudio de estabilidad acelerada.

2.6. Control de calidad

2.6.1 Estabilidad acelerada

El jarabe y elixir fueron distribuidos en cuatro frascos ámbar (PET Tereftalato de polietileno) etiquetados como tiempo cero, uno, dos y tres, almacenados a una temperatura de 40 ± 2 °C. Las pruebas de control de calidad a las que fueron sometidas las preformulaciones son:

organolépticos, físico-químicos, microbiológicos y determinación de polifenoles totales, las cuales se realizaron por duplicado el mismo día de su elaboración (tiempo cero), en quince días y en treinta días respectivamente, para determinar su calidad con respecto al tiempo.

2.6.2 Evaluación de los parámetros organolépticos

1. **Color y limpidez:** se tomó 5 ml de jarabe y elixir final en tubos de ensayo de vidrio previamente sanitizados, posterior a ello, se colocó frente en un fondo blanco en donde se observó a simple vista su color, así como la presencia o no de partículas extrañas y se registraron los resultados.
2. **Sabor:** se tomó 1 ml de jarabe y elixir final respectivamente, se examinó su sabor a través de las papilas gustativas de la lengua, registrando los resultados.
3. **Olor:** se tomó 2 ml de jarabe y elixir final en tubos de ensayo previamente sanitizados, percibiendo 2 veces y se registraron los resultados.

(Salazar, 2001).

2.6.3 Evaluación de los parámetros fisicoquímicos

2.6.3.1 Densidad relativa a 20°C

1. Se realizó la limpieza del picnómetro con agua destilada junto con su tapón.
2. Una vez completamente seco con sus componentes ensamblados se pesó en una balanza analítica.
3. Se llenó el picnómetro con agua destilada, inmediatamente se colocó el tapón dejando salir el exceso de agua.
4. Se verificó que no haya burbujas dentro del capilar ni del picnómetro.
5. Se colocó el picnómetro sin la tapa dentro de un baño de maría a una temperatura de 20 °C y se dejó que este alcance la temperatura indicada.
6. Finalmente se colocó la tapa del capilar y se retiró el picnómetro del baño, inmediatamente se procedió a secar el mismo con papel absorbente y se pesó en la balanza analítica.

Fórmula: $C = B - A$

C: masa del agua en gramos

B: masa del picnómetro lleno con agua en gramos

A: masa del picnómetro vacía en gramos.

7. Luego de que se aplicó la fórmula, se procedió de la misma manera desde el paso número uno, pero sustituyendo el agua por las muestras y realizando 2 réplicas por cada muestra.
8. Finalmente se calculó la densidad relativa de la muestra mediante la fórmula:

DR: D/C en donde;

DR: densidad relativa de la muestra

D: masa de la muestra en gramos

C: masa de agua en gramos.

(Farmacopea de los Estados Unidos de América [USP], 2014).

2.6.3.2 Potencial de hidrógeno (pH) a 20°C

1. Se encendió el equipo, se sanitizaron los electrodos y se dejó atemperar hasta alcanzar la temperatura requerida para la medición.
2. Se tomó la solución amortiguadora con pH conocido (pH 4).
3. Se colocó en un vaso de precipitación de 10 ml y se procedió a la lectura sumergiendo el electrodo y el termómetro en el vaso.
4. Finalmente se limpiaron los electrodos con agua destilada.
5. Se procedió de la misma manera desde el paso 3, pero sustituyendo la solución amortiguadora por las muestras y realizando 2 réplicas por cada muestra.
6. Se reportaron los resultados hasta centésimas de unidad.

(USP, 2014).

2.6.3.3 Viscosidad a 20°C

1. Se llenó la copa del viscosímetro de Zahn con Polietilenglicol 400 (sustancia de viscosidad conocida) hasta el borde superior, tapando el orificio inferior.
2. Se colocó una probeta de 100 mL debajo del viscosímetro.
3. Se preparó el cronómetro y se procedió a destapar el orificio inferior para cuantificar el tiempo en segundos en el que el líquido tuvo su flujo ininterrumpido.
4. Se procedió de la misma manera desde el paso 1, sustituyendo la sustancia de viscosidad conocida por el jarabe de *Desmodium molliculum* realizándose dos réplicas.
5. Finalmente se calculó la viscosidad de la muestra mediante la fórmula:

$$n = \frac{(d)(t)(nr)}{(dr)(tr)}$$

d: densidad de la muestra a una temperatura de 20 °C.

t: tiempo promedio de fluido de la muestra en segundos.

n: viscosidad de la muestra.

dr: densidad del fluido de referencia.

tr: tiempo promedio de fluido de la sustancia de referencia

nr: viscosidad del fluido de referencia.

(Vargas et al., 2016).

2.6.3.4 Contenido alcohólico

1. Se colocaron 300 ml de elixir de *Desmodium molliculum* en una probeta.
2. Se procedió a colocar el alcoholímetro a flote, sin soltar el mismo de manera brusca.
3. Posterior a ello, se procedió a dar una vuelta al alcoholímetro dentro la probeta con el líquido de muestra.
4. Se procedió a realizar la lectura en la escala del alcoholímetro desde la base del menisco, obteniendo así el porcentaje (%) de alcohol.
5. Finalmente se anotaron los resultados (Brannan, 2020).

2.6.4 Evaluación de los parámetros microbiológicos

Se evaluaron las preformulaciones de los fitoterápicos jarabes y elixires del tiempo cero, tiempo uno y tiempo dos, las muestras se trabajaron por duplicado y con una réplica.

2.6.4.1 Preparación de agua de peptona al 0,1%

Se preparó agua de peptona al 0,1% (0,1 g del polvo en 100 ml de agua destilada); para la elaboración de la solución madre del jarabe y elixir se necesitaron 0.18g en 180 ml de agua destilada y para la realización de las respectivas diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y sus correspondientes réplicas se utilizaron 0.216 g en 216 ml de agua destilada (FEUM, 2014).

2.6.4.2 Preparación de la solución madre

Los fitoterápicos elaborados se homogeneizaron y abrieron dentro de la cabina de flujo laminar, posterior a ello se pesó 10 ml de la muestra y se le añadió 90 ml de agua peptonada estéril 0,1% preparada en el punto anterior, finalmente se homogeneizó consiguiendo su disolución completa (FEUM, 2014).

2.6.4.3 Preparación de diluciones

1. Se colocó 1 ml de la solución madre preparada del jarabe y elixir en tubos que contienen 9 ml de agua de peptona estéril respectivamente y se homogeneizó (10^{-1}).
2. Luego se transfirió 1 ml de esta preparación en 9 ml de peptona estéril (10^{-2}) por duplicado para cada medio empleado (mohos y levaduras, aerobios mesófilos y *E. coli*) (FEUM, 2014).

2.6.4.4 Siembra en placas petrifilm

1. Se colocó 1 ml de cada dilución en el centro de las placas petrifilm correspondiente a cada medio empleado levantando la lámina semitransparente superior.
2. Luego se dejó caer la película superior sobre la siembra.

3. Se incubaron las placas petrifilm para aerobios mesófilos a 30 °C durante 48 horas; para *E.coli* a 37 °C durante 24 a 48 horas y para mohos y levaduras se incubó a 22 °C durante 3 a 5 días.
4. Se realizó la identificación y se procedió al recuento de las colonias presentes en cada medio.
5. Finalmente, se reportaron los resultados utilizando la fórmula correspondiente.
(3M, 2021)

2.6.5 Cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

Se analizaron las preformulaciones de fitoterápicos jarabes y elixires correspondientes al tiempo cero, uno y dos utilizando una solución patrón de quercetina, cabe mencionar que todas las determinaciones se trabajaron por triplicado y con dos réplicas.

2.6.5.1 Curva de calibración

Para la curva de calibración expuesta en el Anexo A se utilizó como sustancia de referencia la quercetina con concentraciones en metanol de 1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,15 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,05 mg/ml, 0,025 mg/ml, 0,0125 mg/ml y 0,00625 mg/ml. Respecto a la tendencia lineal el coeficiente de correlación (R^2) obtenido fue de 0,999.

2.6.5.2 Aplicación de la metodología de Folin-Ciocalteu

1. Se tomó 1000 µl de cada fitoterápico.
2. Se tomaron alícuotas y se preparó concentraciones en metanol de 0.05, 0.025, 0.0125 mg/ml.
3. Luego se procedió según el procedimiento normalizado de trabajo PNT AT 004 del laboratorio de fitoquímica del proyecto de plantas medicinales y productos naturales del Departamento de Biociencias de la siguiente manera:

Tabla 1. Método de Folin-Ciocalteu

	Blanco	Control/Quercetina	Muestra
Metanol	100 µl		
Folin- Ciocalteu al 10%*	200 µl	200 µl	200 µl
Fitoterápico/Patrón		100 µl	100 µl
Dejar reaccionar por 5 minutos.			
Na ₂ CO ₃ a 700 mM	800 µl	800 µl	800 µl
Incubar 1 hora en oscuridad y luego leer la absorbancia a 765 nm.			

* Prepararse antes de su uso.

Capítulo III

3. Resultados y discusiones

El resultado del proceso de recolección y selección del material vegetal fue de 422,03 gramos de hojas de *Desmodium molliculum* y tras el secado se obtuvo un peso de 175,96 gramos, valores con los cuales se calculó el porcentaje de humedad eliminada que corresponde al 58,31%; esta pérdida de humedad contribuye a la conservación de los componentes activos presentes en el material vegetal al minimizar las posibles reacciones enzimáticas que podrían llevarse a cabo en presencia del contenido residual de agua.

Luego, de la percolación utilizando metanol como solvente y de la liofilización se obtuvo la relación droga/extracto (DER_{native}) de 20:1 para *Desmodium molliculum*, siendo de gran importancia su determinación, puesto que esta relación varía dependiendo del tipo de planta y el solvente de extracción utilizado.

Posterior a ello, con el extracto liofilizado se realizó la prueba de solubilidad obteniéndose solubilidad en etanol absoluto en 30 mg/ml, mientras que en agua destilada fue insoluble en 30 mg/1,5 ml. Resultados que se corroboran con el estudio realizado por Rengifo (2017) en el que se desarrolló el ensayo de solubilidad de un extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum*, en donde se obtuvo solubilidad en solventes polares como metanol, etanol 96 %, etanol 70% y menor solubilidad en agua destilada. Además, esta solubilidad se podría atribuir a los flavonoides presentes en las hojas de la planta *D.molliculum*, pues según los estudios de Mendoza et al. (2015) & Sousa et al. (2021), indican que tienen gran solubilidad en etanol. En base a estos resultados de solubilidad el vehículo de disolución del extracto fue etanol en las dos formas farmacéuticas elaboradas jarabe y elixir, en los cuales se evaluó las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas en diferentes tiempos en condiciones aceleradas, resultados que se detallan en las tablas 2,3 y 4.

A continuación, en la tabla 2 se detallan los resultados de los parámetros organolépticos en las dos formas farmacéuticas:

Tabla 2. Parámetros organolépticos del jarabe y elixir de *Desmodium molliculum*.

Parámetros organolépticos						
Parámetro	Tiempo 0 05/06/2023	Tiempo 1 16/06/2023	Tiempo 2 05/07/2023	Especificaciones	Fuente	
Jarabe	Color y olor	Ámbar, extracto de <i>Desmodium m.</i>	Ámbar, extracto de <i>Desmodium m m.</i>	Ámbar, extracto de <i>Desmodium m m.</i>	Depende del principio activo, concentración y tipos de excipientes.	(Fernández et al., 2010)
	Sabor	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	(Farmacopea Brasileña, 2012)
	Aspecto	Límpido, transparente.	Límpido, transparente.	Límpido, transparente.	Transparente y libre de partículas visibles	(FEUM, 2014)
Elixir	Color y Olor	Verde-amarrillento, alcohólico, extracto de <i>Desmodium m.</i>	Verde-amarrillento, alcohólico, extracto de <i>Desmodium m m.</i>	Verde-amarrillento, alcohólico, extracto de <i>Desmodium m m.</i>	Depende del principio activo, concentración y tipos de excipientes.	(Fernández et al., 2010)
	Sabor	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	(Farmacopea Brasileña, 2012)

Aspecto	Límpido, transparente	Límpido, transparen te.	Límpido, transparen te.	Transparente y libre de partículas visibles	(FEUM, 2014)
----------------	--------------------------	-------------------------------	-------------------------------	--	-----------------

Estos resultados indican que los parámetros organolépticos del jarabe y elixir se mantienen constantes durante los 30 días de estudio. Según Fernández et al. (2010), el color de las preformulaciones va a depender del principio activo utilizado y los excipientes, razón por la cual el jarabe presenta un color ámbar atribuido a la mezcla del principio activo (tintura verdosa de *Desmodium molliculum*) y los excipientes utilizados principalmente la goma arábica de color pardo, mientras que el elixir presenta un color verde amarillento atribuido a la tintura verdosa. Por otra parte, el jarabe y el elixir presentan un sabor dulce debido a la presencia de sacarosa. Por lo tanto, los resultados obtenidos indican que los fitoterápicos cumplen con las especificaciones dadas por Fernández et al. (2010), FEUM (2014) & Farmacopea Brasileña (2012).

A continuación en la tabla 3 se detallan los resultados de los parámetros fisicoquímicos en las dos formas farmacéuticas:

Tabla 3. *Parámetros fisicoquímicos del jarabe y elixir de Desmodium molliculum*

Parámetros Físicoquímicos						
Parámetro	Tiempo 0 5/06/20 23	Tiempo 1 16/06/20 23	Tiempo 2 05/07/20 23	Valor P	Especificaciones	Fuente
Densidad relativa (g/ml)	1,29 ± 0,010	1,27 ± 0,001	1,17 ± 0,010	0,0013	1,32 -1,33 a 15-20 °C	(Formulario Nacional, 2019)
Jarabe						
pH	5,07 ± 0,00	5,07 ± 0,00	5,07 ± 0,00	-	4-6	(Mellado & López, 2012)

	Viscosidad (cP)	189,42 ± 0,637	187,08 ± 0,240	180,67 ± 0,652	0,001 1	190 cP a 20 °C	(Vila,2001)
	Densidad relativa (g/ml)	1,12 ± 0,005	1,11 ± 0,008	1,04 ± 0,001	0,001 2	0,9707-1,053	(Guachalá, 2019)
Elixir	pH	5,89 ± 0,014	5,78 ± 0,028	5,63 ± 0,035	0,005 4	4,5 – 6	(FEUM, 2014)
	Contenido alcohólico (%)	17 ± 0,00	17 ± 0,00	17 ± 0,00	-	No excede del 20%	(FEUM, 2014)

Al realizar el análisis de varianza de los resultados de la densidad del jarabe y elixir expuestos en esta tabla nos indica que estadísticamente existen diferencias significativas con respecto al tiempo cero, uno y dos ($P < 0,05$). Por otra parte, al realizar el método de tukey descrito en el Anexo G se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) para los grupos del tiempo cero con respecto al tiempo dos y para el tiempo uno con respecto al tiempo dos en el jarabe y elixir. Lo indicado refleja que los fitoterápicos no cumplen con las especificaciones de la densidad con respecto al tiempo, lo que se relaciona con la influencia de la temperatura, pues según González (2006) & Rojo (2022) cuando aumenta la temperatura, la vibración entre los átomos en un medio también aumenta y los separa reduciendo así el valor de la densidad. Con ello, se explica el descenso de la densidad del jarabe y elixir en el tiempo uno y dos almacenados a 40 ± 2 °C con respecto al tiempo cero donde la determinación de la densidad fue el día de la preformulación.

En cuanto al potencial de hidrógeno, según Vázquez & González (2018) es uno de los factores que más influyen en la estabilidad de una forma farmacéutica en solución acuosa, por lo que conocer el pH de máxima estabilidad de un principio activo es primordial para garantizar la calidad de la formulación elaborada, el cual debe mantenerse estable durante todo el periodo de validez y conservación establecidas. Los resultados del pH del elixir y el jarabe cumplen con las especificaciones descritas en la Tabla 3, no obstante al realizar el análisis de varianza del potencial de hidrógeno del elixir preformulado se determina que

existen diferencias estadísticamente significativas con respecto al tiempo cero, uno y dos ($P < 0,05$), además en el método de tukey descrito en el Anexo G se obtuvo diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) para los grupos del tiempo cero con respecto al tiempo dos y para el tiempo uno con respecto al tiempo dos, lo que indica variabilidad de datos con respecto a la media siendo los valores del pH del elixir heterogéneos en relación al tiempo a diferencia del jarabe en donde no hubo variación significativa ($P > 0,05$).

Con respecto a la viscosidad del jarabe, los resultados obtenidos no cumplen con las especificaciones descritas en la Tabla 3. Además, al realizar el análisis de varianza se determina que existen diferencias estadísticamente significativas con respecto al tiempo cero, uno y dos ($P < 0,05$), así como también en el método de tukey descrito en el Anexo G se obtuvo diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) para los grupos del tiempo cero con respecto al tiempo dos y para el tiempo uno con respecto al tiempo dos.

Otro parámetro evaluado fue el contenido de etanol del elixir, el cual según Ghosh & Gasti (2005) es el segundo solvente más utilizado en medicamentos líquidos orales y que se encuentra generalmente en preparaciones de fluidos a base de hierbas, así como en elixires. Al realizar el análisis de los resultados del contenido alcohólico se obtuvo un valor constante de 17% en el tiempo, el cual se encuentra dentro de las especificaciones descritas en la Tabla 3. Cabe recalcar, que el alcohol es un excelente solvente para la extracción de medicamentos a base de hierbas y contribuye a su estabilidad, ya que tiene la capacidad de formar una mezcla hidroalcohólica con el agua, por lo que va a disolver sustancias que sean solubles tanto en alcohol y agua (Schilcher et al., 2010).

A continuación, en la tabla 4 se detallan los resultados de los parámetros microbiológicos evaluados en las dos formas farmacéuticas:

Tabla 4. Parámetros microbiológicos del jarabe y elixir de *Desmodium molliculum*

Parámetros microbiológicos							
Parámetros	Tiempo	Tiempo	Tiempo	Valor	Especifica	Fuente	
	0	1	2	P	ciones		
	5/06/2023	16/06/2023	05/07/2023				
Jarabe	Aerobios mesófilos x 10 ¹ UFC/ml	4,5 ± 0,707	5 ± 1,414	5,50 ± 0,707	0,649	10 ² UFC / g o ml	
	Mohos y levaduras x 10 ¹ UFC/ml	< 1	< 1	< 1	-	10 ¹ UFC / g o ml	
	<i>Escherichia coli</i> UFC/ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	-	Ausencia de UFC / g o ml	
Elixir	Aerobios mesófilos x 10 ¹ UFC/ml	< 1	< 1	< 1	-	10 ² UFC / g o ml	(FEUM, 2014).
	Mohos y levaduras x 10 ¹ UFC/ml	< 1	< 1	< 1	-	10 ¹ UFC / g o ml	
	<i>Escherichia coli</i> UFC/ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia	-	Ausencia de UFC / g o ml	

Al realizar el análisis de varianza del recuento de aerobios mesófilos en el jarabe se determina que no existen diferencias estadísticamente significativas (P >0,05) a través del tiempo de estudio. Como se observa en la Tabla 4 los resultados microbiológicos de las formas farmacéuticas cumplen con las especificaciones establecidas lo que refleja que los fitoterápicos fueron elaborados con buenas prácticas de manufactura. Según Cañete et al. (2018), los jarabes contienen sacarosa en un 60-80% al que se le atribuye propiedades conservantes, debido a que la alta concentración de este excipiente le confiere al jarabe una

elevada presión osmótica que impide el desarrollo fúngico y bacteriano, puesto que según Medvedeff et al. (2006) estas sustancias azucaradas sustraen de los microorganismos por ósmosis el agua que estos necesitan para su desarrollo lo que crea condiciones críticas para la vida del microorganismo. Con respecto al elixir, según Rutuja et al. (2022), el contenido alcohólico que presenta es fundamental para que la preparación no necesite la adición de conservantes, puesto que establece que los elixires que contienen más del 10% al 12% de alcohol son denominados “auto conservantes”.

Finalmente, el último parámetro de control evaluado fue la cuantificación de polifenoles que según la ARCSA (2021) se debe realizar considerando el grupo principal de los componentes presentes en los extractos naturales que contribuyan a la actividad terapéutica, el cual se puede cuantificar como total expresado como flavonoides totales, aceites esenciales, alcaloides totales, etc; o se puede calcular utilizando una sustancia representativa que pertenece al grupo, así para flavonoides se puede expresar como quercetina o ácido gálico, siendo este último el criterio que se utilizó para la determinación de los polifenoles totales en la presente investigación. A continuación, se exponen los resultados de la cuantificación de polifenoles totales con respecto al tiempo en la tabla 5 y su valor P obtenido en la tabla 6.

Tabla 5. *Cuantificación de polifenoles totales del jarabe y elixir de Desmodium molliculum.*

Cuantificación de polifenoles totales		
Concentración final de polifenoles totales ± DE mg QE /mL		
	Elixir	Jarabe
Tiempo Cero	0,61 ± 0,01	1,06 ± 0,01
Tiempo Uno	1,15 ± 0,05	0,86 ± 0,02
Tiempo Dos	1,03 ± 0,03	0,91 ± 0,03

DE: desviación estándar ; **QE:** quercetina

Tabla 6. Resultados del valor P de la cuantificación de polifenoles totales.

Tiempos	Concentración final de polifenoles totales \pm DE mg QE /mL		Valor P	
	Elixir	Jarabe	Elixir	Jarabe
TC	0,61 \pm 0,01	1,06 \pm 0,01		
TU	1,15 \pm 0,05	0,86 \pm 0,02	0,008	0,0001
TD	1,03 \pm 0,03	0,91 \pm 0,03		

TC: tiempo cero, TU: tiempo uno, TD: tiempo dos

La cuantificación de polifenoles totales se realizó a partir de la curva de calibración de quercetina expuesta en el Anexo A, mediante la ecuación $y = 5,2068x + 0,0672$ con un coeficiente de correlación (R^2) = 0,999 a partir de la cual se calculó los mg de Quercetina/mL de fitoterápico. Los resultados expuestos en la Tabla 5 muestran que la concentración final de polifenoles totales para el elixir no cumple con la especificación establecida en el tiempo cero, a diferencia del jarabe en el cual la cuantificación de polifenoles obtenida se encuentra dentro de la especificación para los tres tiempos; sin embargo al realizar el análisis de varianza para las dos formas farmacéuticas se obtuvo diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) lo que indica que existe mucha variabilidad de datos con respecto a la media siendo la cuantificación de polifenoles totales heterogénea en relación al tiempo.

También, es importante mencionar que el jarabe presentó un signo de inestabilidad considerable en la última determinación de polifenoles (tiempo dos), ya que hubo precipitación de la muestra al realizar este ensayo con metanol, a diferencia del elixir el cual no presentó este problema. Esto lo podemos relacionar a la mayor capacidad de los elixires con respecto a los jarabes acuosos de mantener en solución tanto los componentes solubles en agua como los solubles en alcohol (Schilcher et al., 2010). Además, se debe considerar que existen diferentes factores que pueden alterar la estabilidad de las formulaciones: los intrínsecos como la estructura molecular del fármaco, la posible incompatibilidad fármaco/excipientes, etc y extrínsecos siendo los más importantes la temperatura, pH, humedad y microorganismos, factores que posiblemente influyeron en la estabilidad del jarabe y elixir (Colegio Oficial de Farmacéuticos de Granada, 2009).

Por otra parte, en un estudio realizado por Baiocchi et al. (2013) se ha demostrado que el género *Desmodium* está compuesto por un gran número de flavonoides del grupo de los

flavonoles dentro de los cuales se encuentran derivados de la quercetina como 7-O-ramnosil-quercetina, al igual que derivados del kaempferol. Por lo tanto, la importancia de expresar los resultados de polifenoles totales de los fitoterápicos en equivalentes de quercetina radica en que se cuantifica un metabolito secundario que se encuentra presente en este género vegetal y que posee diferentes beneficios para la salud, dado que la quercetina actúa como antioxidante mediante la neutralización de radicales libres como aniones superóxido, óxido nítrico y peroxinitritos, así como por su capacidad para inhibir enzimas como la xantina oxidasa, lipooxigenasa y NADPH oxidasa, impidiendo la muerte celular (Nijveldt et al., 2001; Vicente et al., 2013). Otro beneficio que ofrece este flavonol es la capacidad antiinflamatoria, debido a que la quercetina inhibe la actividad de la ciclooxigenasa y la lipoxigenasa, disminuyendo así la función de estas enzimas, por lo que se modifica la biosíntesis de eicosanoides. Así también, la quercetina protege a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación y con ello evita la formación de placas ateroscleróticas y promueve la relajación del músculo liso cardiovascular actuando como antihipertensivo y antiarrítmico (Nijveldt et al., 2001).

Por último, es importante mencionar que las limitaciones presentadas al momento de desarrollar el trabajo fueron: la insuficiente cantidad obtenida de extracto liofilizado con el cual se elaboró solo un jarabe y un elixir, a los que se les realizó la evaluación de los parámetros del control de calidad durante un mes en diferentes tiempos, por lo tanto los resultados obtenidos no son completamente fiables, debido a que el tamaño de muestra no fue representativa; encontrar investigaciones que hayan estudiado fitoterápicos a base de *Desmodium molliculum*, pues únicamente se encontraron publicaciones de *Desmodium adscendens*; no disponer de una normativa en la que se encuentren descritas las especificaciones de los fitoterápicos que sirvan de guía para los análisis realizados, además de que el tiempo para el desarrollo de la investigación fue limitado, por lo que no se pudo continuar con el estudio de la estabilidad de los fitoterápicos elaborados.

Capítulo IV

4.1 Conclusiones

- Con esta investigación se obtienen las bases para desarrollar fitoterápicos orales estables, cuya importancia farmacológica radica en proveer a la población de una forma farmacéutica a base de *Desmodium molliculum* que ofrezca propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.
- Se logró elaborar dos formas farmacéuticas orales jarabe y elixir cuyos controles de calidad reflejan que existe variabilidad con respecto al tiempo en los parámetros físico-químicos así como en la cuantificación de polifenoles, sin embargo, no se pueden considerar como estables o inestables siendo necesario la evaluación de estos parámetros de calidad en un número de muestras representativas.

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda obtener una mayor cantidad de extracto liofilizado de *Desmodium molliculum* con el fin de realizar análisis posteriores con un número mayor de fitoterápicos para obtener valores más confiables y reproducibles sobre la determinación de su estabilidad.

Referencias

- Aguirre, Z., Jaramillo, N., & Quizhpe, W. (2019). Hierba del infante. En Z. Aguirre, N. Jaramillo, & W. Quizhpe, *Arvenses asociadas a cultivos y pastizales del Ecuador* (págs. 109-110). Loja-Ecuador: EDILOJA Cía. Ltda.
- ARCSA. (2021). Requisitos para la inscripción, reinscripción y modificación del registro sanitario de productos naturales procesados de uso medicinal. 3-26.
- Asanza, M., & Gutiérrez, J. (2022). *Comparación de las gradientes cromatográficas de las principales especies de Desmodium*. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/38669/1/Trabajo%20de%20Titulo%20de%20Tesis%20de%20Tesis.pdf>
- Ávalos, G & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.*, 2(3): 119-145.
- Avello, M., Cisternas, I. (2010). Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile, *Revista Médica de Chile*; 138: 1288-1293.
- Baiocchi, C., Medana, C., Giancotti, V, Aigotti, R., Dal Bello, F., Massolino, C., Gastaldi, D & Grandi, M. (2013). Qualitative characterization of *Desmodium adscendens* constituents by highperformance liquid chromatography-diode array ultraviolet-electrospray ionization multistage mass spectrometry, *European Journal Of Mass Spectrometry*. 19, 1–15
- Barreto, D., & Bonilla, P. (2017). Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa). *Ciencia e Investigación*, 20(1), 3-8.
- Bermudez, A., Cárdenas, Á., & Neira, J. (2022). Uso tradicional de las plantas medicinales por la población del Cantón Salcedo, Cotopaxi, Ecuador. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 41(3), 208-215.
- Branan. (2020). *ALCOHOL HYDROMETER - WINE & BEER HYDROMETER*. Obtenido de <https://www.brannan.co.uk/wp-content/uploads/2020/12/Alcohol-hydrometer-SPH014-wine-beer-hydrometer-Brannan-product-data-sheet.pdf>
- Britanialab. (2021). *Violeta Rojo y Bilis Agar*. Obtenido de https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60709eae6caa7.pdf

- Cabrera, J., & Peralta, J. (2018). "ANÁLISIS BROMATOLÓGICO INTER-LABORATORIO DE HARINA DE CENTENO A SER UTILIZADO COMO PATRÓN SECUNDARIO DE ANÁLISIS". Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25098/1/trabajo%20de%20titulacion.pdf>
- Campos, A., & Francisco, J. (2018). USO DE PLANTAS MEDICINALES COMO ANALGÉSICO ANTIINFLAMATORIO EN LA PARROQUIA SALASACA-ECUADOR. *Salud, Arte y Cuidado*, 11(2), 83-88.
- Cañete, C., García, M., García, B., & Cabañas, M. (2018). Formulación magistral y excipientes en pediatría. *El Farmacéutico Hospitales* (213), 22-28.
- Chávez, M. (2010). *Definición de parámetros ideales para el almacenamiento y preservación de pacas de heno bajo condiciones naturales para la disponibilidad de un buen alimento para el ganado*. Escuela Politécnica Nacional, pp (73-75).
- Colegio Oficial de Farmacéuticos de Granada. (2009). *Formulación Magistral: Normas de Calidad y Legislación*.
- Condalab. (2019). *Agar Métodos para Estándar*. Obtenido de <https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/01/FICHA-TECNICA-AGAR-STANDARD-METHODS-PCA-MDM-CIENTIFICA-1056.pdf>
- Cueva, C., Medina, A., Urpi, M., Chiva, G., Rotches, M., Lamuela, R., Llorach, R., Kan, N & Zamora, R. (2010). "Phenolic Compounds: Chemistry and Occurrence in Fruits and Vegetables", en *Chemistry, Nutritional Value and Stability*. 1ra edición. Blackwell Publishing Iowa, USA.
- Farmacopea Argentina; 2007. *Soluciones*. Obtenido de: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_I/files/assets/basic-html/page415.html
- Farmacopea Argentina. (2012). Uniformidad de contenido. En *Farmacopea Argentina* (Octava Edición ed., Vol. 1, pág. 312).
- Farmacopea Brasileña*. (2012). *Jarabe y Elixir*. En *Formulario Nacional de la Farmacopea Brasileña* (Segunda ed., Vol. 1, págs. 16 - 21).

Farmacopea de los Estados Unidos de América. (2014). USP 37-NF 32 (Vol. 1). Estados Unidos de América.

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2014). En *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. (Undécima edición ed., pág. 2847). México.

Fernández, M., Jara, A., Merino, C., Gómez, B., & Ruiz, M. (2010). Controles de Calidad Organolépticos. En *Formulación magistral*. Madrid: Mc Graw Hill.

Formulario Nacional. (2019). JARABE SIMPLE. Madrid: Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social.

Fullerton, E., & Martin, W. (1953). *Preparación de Tinturas*. En E. Fullerton, & W. Martin, *Farmacia Práctica de Remington* (pág. 1194). México: UTEHA.

Gaedeke, F., Steinhoff, B., & Blasius, H. (2003). DER native. En *Herbal Medicinal Products* (pág. 10). Medpharm

Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-331. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>

García, E., Fernández, I & Fuentes, A. (2015). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu*. ETSIAMN. Universitat Politècnica de València. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>

González, J. (2006). *DENSIDAD RELATIVA = SPECIFIC GRAVITY, para instrumentistas y lingüistas*. Obtenido de: <http://www.tiemporeal.es/archivos/densidadrelativa.pdf>

Gordillo., et al (2019). Bioensayo de toxicidad aguda de *Desmodium molliculum* (H.B.K.). *Ciencia e Investigación*, 22, 31-34.

Ghosh, T & Gasti, B. (2005). *Theory and practice of contemporary pharmaceuticals* CRC Press, Boca Raton.

Guachalá, J. (2019). Estudio farmacognóstico de productos naturales procesados de uso medicinal comercializados en Quito a base de Boldo (*Peumus boldus*) y de su extracto

vegetal. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/19288/1/T-UCE-0008-CQU-149.pdf>

Inga,S & Zavala, A. (2020). Uso de plantas medicinales en mujeres de la Sierra Centro, Ecuador durante el posparto. *Revista de Salud*, 3 (9), 198-212.

International Conference of Harmonisation, (2009). Guía ICH Q1F. Stability testing of active pharmaceutical ingredients Zone III & IV. WHO Technical Report Series, No.953

Jinez, L., Sorroza, N., Jinez, H., Jinez, B., Méndez, I., & Álvarez, L. (2019). Formas líquidas por vía oral. En *FARMACOLOGÍA MÉDICA TEORÍA Y CONCEPTOS* (pág. 105). Quito: MawiL.

Ma, X., Zhenga, X., Hua, C., Rahmand, K & Qin, L. (2011). The genus *Desmodium* (Fabaceae)-traditional uses in Chinese medicine, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*.138:314-332.

Medvedeff, M., Galián, C., & Puchalki, C. (2006). Posibilidades de Producción de un agente fungicida empleando azúcar de caña. *Centro azúcar*, 33(1), 59-62.

Mellado, E., & López, M. (2012). Análisis comparativo entre jarabe de agave azul (Agave tequilana Weber var. azul) y otros jarabes naturales. *Agrociencia*, 47(3), 233-243

Mendoza,D., Roa, C., & Ahumada,C.(2015).The effects of soybean isoflavones over the bone health of adult and children, *Salud Uninorte*. Barranquilla (Col.) 2015; 31 (1): 138-152

Nijveldt, R., Nood, E., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K & Leeuwen, P. (2001). Flavonoides: una revisión de los probables mecanismos de acción y posibles aplicaciones. *The American Journal of Clinical Nutrition*;74:418–25.

Olascuaga, O., Rubio, S., Blanco, C., & Valdiviezo, J. (2020). *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (Fabaceae); Perfil etnobotánico, fitoquímico y farmacológico de una planta andina peruana. *Ethnobotany Research & Applications*, 19(9), 1-13.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2005). *Políticas y regulación; curso de gestión de calidad para Laboratorios*. Ginebra.

Organización Mundial de la Salud. (2010). *Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos*, Serie de Informes Técnicos de la OMS, No. 957

- Organización Panamericana de la Salud. (2019). Situación actual de las plantas medicinales. En *SITUACIÓN DE LAS PLANTAS MEDICINALES EN PERÚ* (págs. 1-13). Lima.
- Quintana, C. (2013). *Desmodium molliculum*. En *Plantas silvestres de los valles secos cercanos a Quito* (págs. 120-121). Quito: Herbario QCA.
- Ramos, K., & Portal, O. (2017). En *Metabolitos secundarios de las Plantas, una alternativa para el manejo de enfermedades en cultivos de interés económico*. Académica Española.
- Rengifo, D. (2017). ESTUDIO FITOQUÍMICO CUALITATIVO PRELIMINAR Y CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES Y TANINOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Desmodium vargasianum* Schubert. *Rev Soc Quím Perú*, 84(2), 175-179.
- Rojo, J. (2022). DENSIDAD Y SOLUBILIDAD. *DEPARTAMENTO DE FÍSICA Y QUÍMICA*, 1-3.
- Rutuja, P., Jeevan, P., Prachi, U., Tejashree, K., Suraj, J., & Santosh, P. (2022). FORMULATION AND EVALUATION OF HERBAL ELIXIR FOR HAEMOGLOBIN ENHANCER ACTIVITY. *International Journal of Novel Research and Development*, 7, 185-188.
- Salazar, R. (2001). Gestión de la calidad en el desarrollo y fabricación industrial de medicamentos: desarrollo farmacéutico. *Control de Calidad de formas líquidas orales*, tomo 1 pp(444-446).
- Sánchez, F. (1990). Elixir. En *Farmacotecnia* (págs. 41-43). Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Químicas.
- Scharlau. (2022). *Sabouraud Chloramphenicol Agar*.
- Schilcher H, Kammerer S & Wegener T. (2010). *Leitfaden Phytotherapie*. Múnich: Urban & Fischer.
- Sousa, A. P. de, Fernandez, D, Ferreira, M, Cordeiro, L., Souza, H., Souza, M., H. de L. F., Oliveira F, & Sá, R. (2021). Potencial bioactivo de los flavonoides vitexina, tilirosido y 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxi en el tratamiento de enfermedades crónicas y neoplasias del sistema gastrointestinal y excretivo. *ARCHIVOS DE INVESTIGACIÓN DE LA SALUD*, 10(3), 373–376.

Torre, L., Navarrete, P., Muriel, M & Balslev, H. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador & Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. Quito & Aarhus.

Universidad Nacional Autónoma de México. (2018). *Pruebas de solubilidad*.

Vanaclocha, B., & Cañigueral, S. (2019). *Fitoterapia Vademecum de prescripción (Quinta Edición ed., págs. 36-37, 260-264)*. España: ELSEVIER.

Vargas, L., Arroyo, G., Herrera, C., Pérez, A., García, M & Rodríguez, J. (2016). *Propiedades físicas del mucílago de nopal Acta Universitaria, vol. 26, núm. 1, pp. 8-11*. Universidad de Guanajuato Guanajuato, México.

Vázquez, S., & González, L. (2018). Determinación del pH como criterio de calidad en la elaboración de fórmulas magistrales orales líquidas. *Farmacia Hospitalaria*, 6(42), pp. 221-225.

Vicente, L., Prieto, M & Morales, A. (2013). Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. *Revista de Toxicología*, 30 (2), pp. 171-181 Asociación Española de Toxicología Pamplona, España.

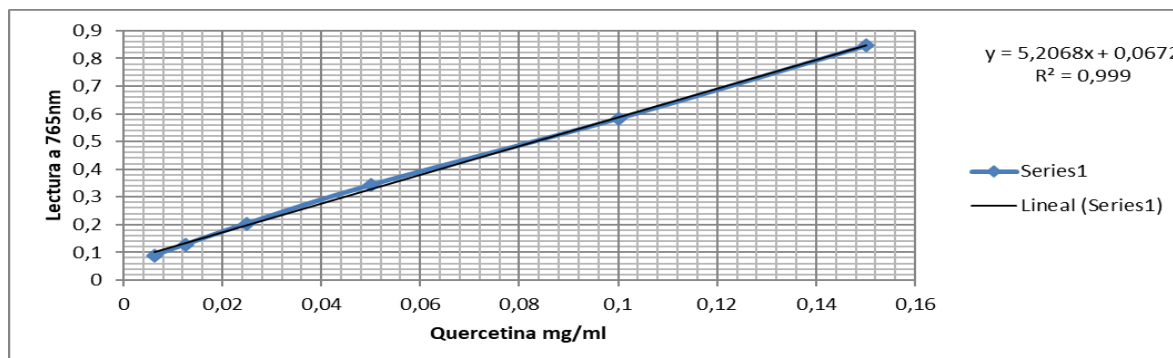
Vila, J. (2001). Formas líquidas orales. *Tecnología Farmacéutica: Formas Farmacéuticas (Vol. II)*. España: SÍNTESIS.S.A.

Zambrano, F., Buenaño M, Mancera, N., & Jiménez. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants used by rural inhabitants of the parish San Carlos Quevedo in Ecuador. *Revista Universidad y Salud*; 17(1).

3M. (2021). *Placa para recuento de bacterias aerobias*. Obtenido de 3M Company: <http://www.3m.com/foodsafety>

Anexos

Anexo A: curva de calibración de la quercetina



Anexo B: ficha de estabilidad del jarabe

Controles de calidad del jarabe

Resultados

Controles de calidad	Tiempo cero 5/06/2023	Tiempo uno 15 días 16/06/2023	Tiempo dos 30 días 5/07/2023	Valor P	Especificaciones
Parámetros Organolépticos	Ámbar, extracto de <i>Desmodium m.</i>	Ámbar, extracto de <i>Desmodium m.</i>	Ámbar, extracto de <i>Desmodium m.</i>	-	Color y olor: Depende del principio activo, concentración y tipos de excipientes (Fernández et al., 2010)
	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	-	Sabor: Dulce, agradable al paladar (Farmacopea Brasileña, 2012)
	Límpido, transparente	Límpido, transparente.	Límpido, transparente.	-	Aspecto: Transparente y libre de partículas visibles (FEUM, 2014)

Densidad relativa (g/ml)	1,29 ± 0,010	1,27 ± 0,001	1,17 ± 0,010	0,0013	1,32 - 1,33 a 15-20 °C (Formulario Nacional, 2019).
Identificación de fenoles totales	1,06 ± 0,01	0,86 ± 0,02	0,91 ± 0,03	0,0001	1 ± 0,15 mg QE/ ml (Farmacopea Argentina, 2012)
pH	5,07 ± 0,00	5,07 ± 0,00	5,07 ± 0,00	-	4-6 (Mellado & López, 2012)
Viscosidad	189,42 ± 0,637	187,08 ± 0,240	180,67 ± 0,652	0,0011	190 cP a 20 °C (Vila,2001).
	4,5 ± 0,707	5 ± 1,414	5,50 ± 0,707	-	Organismos Mesofílicos Aerobios (OMA) (UFC/ g o ml): 10 ² (FEUM, 2014)
Microbiológicos	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	-	Recuento de Hongos Filamentosos y Levaduras (UFC / g o ml): 10 ¹ (FEUM, 2014)
	Ausencia	Ausencia	Ausencia	-	Recuento de <i>Escherichia coli</i>: Ausencia por 1g o 1 mL de producto (FEUM, 2014)

Anexo C: ficha de estabilidad del elixir

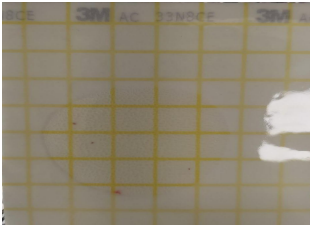
Controles de calidad del elixir					
Controles de Calidad	Resultado				Especificaciones
	Tiempo cero 5/06/2023	Tiempo uno 15 días 16/06/2023	Tiempo 30 días 5/07/23	Valor P	
Parámetros Organolépticos	Verde-amari llento,alcohólico, extracto de <i>Desmodium m.</i>	Verde-amari llento,alcohólico, extracto de <i>Desmodium m.</i>	Verde-amarillento ,alcohólico, extracto de <i>Desmodium m.</i>	-	Color y Olor: Depende del principio activo, concentración y tipos de excipientes (Fernández et al., 2010).
	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	Dulce, agradable al paladar.	-	Sabor: Dulce, agradable al paladar (Farmacopea Brasileña, 2012).
	Límpido, transparente.	Límpido, transparente.	Límpido, transparente.	-	Aspecto: Transparente y libre de partículas visibles (FEUM, 2014)
Densidad relativa	1,12 ± 0,005	1,11 ± 0,008	1,04 ± 0,001	0,0012	0,9707-1,0537 (Guachalá, 2019)

Identificación de fenoles totales	0,61 ± 0,01	1,15 ± 0,05	1,03 ± 0,03	0,008	1 ± 0,15 mg QE /ml (Farmacopea Argentina, 2012)
pH	5,89 ± 0,014	5,78 ± 0,028	5,63 ± 0,035	0,0054	4,5 – 6 (FEUM, 2014)
Determinación del contenido alcohólico	17 %	17 %	17 %	-	No excede del 20% (FEUM, 2014)
	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	-	Organismos Mesofílicos Aerobios (OMA) (UFC/ g o ml): 10 ² (FEUM, 2014)
Microbiológicos	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL	-	Recuento de Hongos Filamentosos y Levaduras (UFC / g o ml): 10 ¹ (FEUM, 2014)
	Ausencia	Ausencia	Ausencia	-	Recuento de <i>Escherichia coli</i>: Ausencia por 1g o 1 mL de producto. (FEUM, 2014)

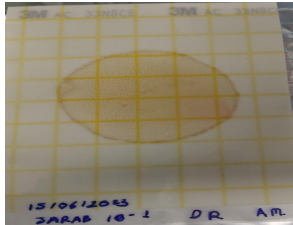
Anexo D: control microbiológico del jarabe

Aerobios mesófilos

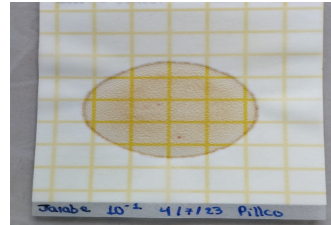
Tiempo cero



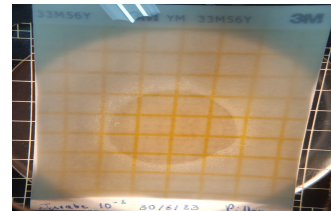
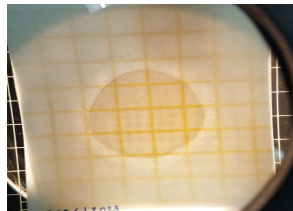
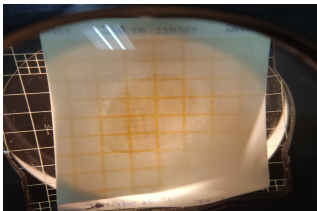
Tiempo uno



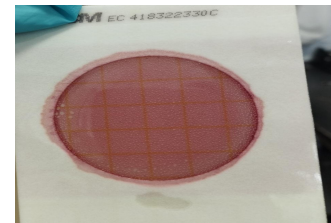
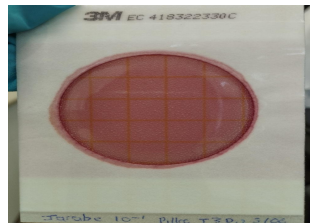
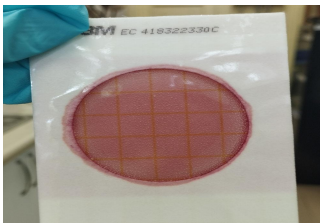
Tiempo dos



Mohos y levaduras



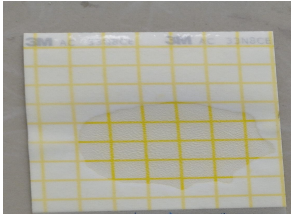
Escherichia coli



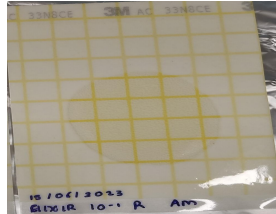
Anexo E: control microbiológico del elixir

Aerobios Mesófilos

Tiempo cero



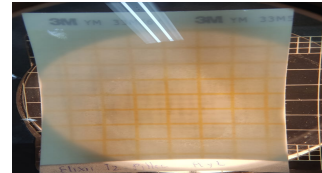
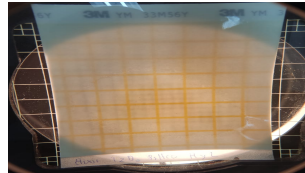
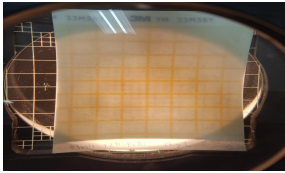
Tiempo uno



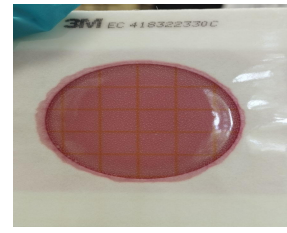
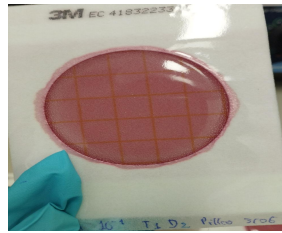
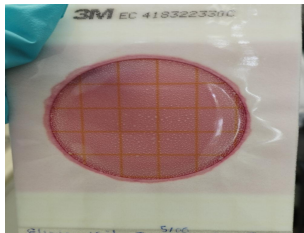
Tiempo dos



Mohos y levaduras



Escherichia coli



Anexo F: anova controles de calidad

Polifenoles totales del elixir

Resumen

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Tiempo uno	3	1,816	0,61	5,73333 E-05
Tiempo uno	3	3,455	1,15	0,002500333
Tiempo dos	3	3,09	1,03	0,000709

Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Probabilidad
Entre grupos	0,493624667	2	0,246812333	0,008
Dentro de los grupos	0,006533333	6	0,001088889	
Total	0,500158	8		

Viscosidad del jarabe

Resumen

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Tiempo cero	2	378,8462	189,4231	0,40536008
Tiempo uno	2	374,1638	187,0819	0,05773202
Tiempo dos	2	361,3424	180,6712	0,42485762

Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Probabilidad
Entre grupos	82,1160304	2	41,0580152	0,00110646
Dentro de los grupos	0,88794972	3	0,29598324	
Total	83,0039801	5		

Anexo G: tukey controles de calidad

Densidad del jarabe

Grupo 1	Grupo 2	Media	Valor P
Tiempo cero	Tiempo uno	0,01585	0,2641
Tiempo cero	Tiempo dos	0,11705	0,0014
Tiempo uno	Tiempo dos	0,1012	0,0022

Viscosidad del jarabe

Grupo 1	Grupo 2	Media	Valor P
Tiempo cero	Tiempo uno	2,3412	0,05
Tiempo cero	Tiempo dos	8,7519	0,0010
Tiempo uno	Tiempo dos	6,4107	0,0027

Densidad del elixir

Grupo 1	Grupo 2	Media	Valor P
Tiempo cero	Tiempo uno	0,0107	0,2701
Tiempo cero	Tiempo dos	0,0828	0,0013
Tiempo uno	Tiempo dos	0,0721	0,0020

pH del elixir

Grupo 1	Grupo 2	Media	Valor P
Tiempo cero	Tiempo uno	0,11	0,0553
Tiempo cero	Tiempo dos	0,155	0,0222
Tiempo uno	Tiempo dos	0,265	0,0048

Anexo H: etiqueta

Etiqueta del jarabe a tiempo cero

<p>Vía administración: Oral</p> <p>Indicaciones: Útil en el tratamiento de los síntomas inflamatorios.</p> <p>Precauciones de uso: Consultar con un profesional médico su uso en niños menores de 3 años, en caso de embarazo y en periodo de lactancia.</p> <p>Contraindicaciones: Hipersensibilidad al principio activo o a los excipientes.</p> <p>Elab:02/06/2023 Exp.: 02/12/2023 Lote: JD02062023</p>		<p>Composición: Tintura de <i>Desmodium molliculum</i> 12 mL Excipientes csp 70 mL.</p> <p>Posología y modo de empleo: Tomar 20 gotas (1 ml) con un poco de agua 3 veces al día.</p> <p>Conservación: Mantener perfectamente cerrado, protegido de luz y la humedad. Conservar a una temperatura no mayor a 30°C.</p> <p>Bioquímico responsable: Samantha Fernández y Tatiana Pillco</p> <p>Formulado y fabricado en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica</p>
--	--	---

Etiqueta del elixir a tiempo cero

<p>Vía administración: Oral</p> <p>Indicaciones: Solución hidroalcohólica útil en el tratamiento de los síntomas inflamatorios.</p> <p>Precauciones de uso: Use sólo por indicación y bajo supervisión médica. Consultar con un profesional su uso en niños menores de 3 años, en caso de embarazo y en periodo de lactancia.</p> <p>Contraindicación: Hipersensibilidad al principio activo o a los excipientes.</p> <p>Elab:02/06/2023 Exp.: 02/12/2023 Lote: ED020642023</p>		<p>Composición: Tintura de <i>Desmodium molliculum</i> 22 mL Excipientes csp 110 mL.</p> <p>Posología y modo de empleo: Tomar 20 gotas (1 ml) con un poco de agua 3 veces al día.</p> <p>Conservación: Mantener perfectamente cerrado, protegido de luz y la humedad. Conservar a una temperatura no mayor a 30°C.</p> <p>Bioquímico responsable: Samantha Fernández y Tatiana Pillco</p> <p>Formulado y fabricado en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica</p>
--	--	--