

ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO COSMÉTICO PARA EL CUIDADO DE LA PIEL A  
BASE DE CÉLULAS MADRE DE *Matricaria recutita* OBTENIDAS A PARTIR DE  
PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

Laura S. Franco

Julián F. Martinez

UNIVERSIDAD ICESI

FACULTAD DE INGENIERÍA, DISEÑO Y CIENCIAS APLICADAS

PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA

Santiago de Cali

2024

ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO COSMÉTICO PARA EL CUIDADO DE LA PIEL A  
BASE DE CÉLULAS MADRE DE *Matricaria recutita* OBTENIDAS A PARTIR DE  
PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

Laura S. Franco

Julián F. Martinez

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

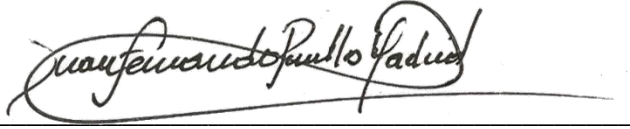
Tutor: Juan Fernando Pinillos PhD

Co-Tutor: Maria Eugenia Buitrago MsC

Santiago de Cali

2024

**Firma del Tutor:**



---

Juan Fernando Pinillos PhD

**Firma del Co-tutor:**



---

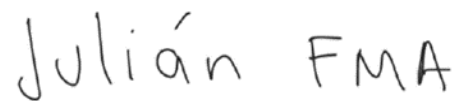
Maria Eugenia Buitrago MsC

**Firma de los estudiantes:**



---

Laura S. Franco



---

Julián F. Martínez

## 1. Resumen

La industria cosmética ha enfrentado altas demandas de productos más innovadores y efectivos. Con ello, los ingredientes activos naturales han ganado protagonismo como una alternativa sostenible para afrontar estos retos. En este contexto, la biotecnología ha emergido como herramienta clave para aprovechar estos activos naturales sin comprometer el medio ambiente. Por ello, en el presente proyecto, se desarrolló un prototipo cosmético a base de células madre de *Matricaria recutita*, obtenidas mediante procesos biotecnológicos, con el objetivo de mejorar la hidratación de la piel, así como mitigar el envejecimiento cutáneo gracias a las propiedades antioxidantes de esta planta. Para ello, se estandarizó el proceso de obtención de las células madre vegetales y se desarrolló un emulgel como matriz cosmética, en el que las células madre fueron vehiculizadas mediante emulsificación y estabilizadas mediante gelificación. Además, se evaluó la estabilización de las células en la formulación y la estabilidad fisicoquímica y térmica del producto final. Como resultado, se obtuvo un extracto de células madre, y un emulgel estable, con un tamaño de partícula promedio de 1.5µm, sin separación de fases ni deterioro de propiedades, confirmando la viabilidad de la matriz para vehiculizar células madre vegetales. Así, los hallazgos de esta investigación no solo aportan al avance científico sobre el uso de células madre vegetales en cosméticos, sino que también contribuyen al desarrollo de productos más sostenibles y respetuosos con la biodiversidad colombiana.

**Palabras clave:** *células madre vegetales, cosmético, biotecnología, estabilidad, vehiculización, formulación*

## 2. Introducción

Colombia se encuentra en una ubicación geográfica bastante favorable, lo que ha permitido que el país cuente con una biodiversidad abundante. En términos de flora, se tienen registros de aproximadamente 26.500 especies de plantas<sup>1</sup>, que permiten ubicar a Colombia como el segundo país más biodiverso<sup>2</sup>. De esta manera, el aprovechamiento de estos recursos naturales ha beneficiado diferentes sectores del país, en los que se encuentra la industria cosmética.

El sector cosmético con el paso del tiempo se ha vuelto mucho más competitivo y exigente, desde el requerimiento de productos más innovadores, hasta el uso de rutinas de *skincare* más rápidas y

efectivas. En respuesta, los activos naturales han surgido como una solución frente a los nuevos retos de la industria. No obstante, el uso de estos ingredientes también se convierte en un desafío, dado que debe equilibrarse el beneficio de su aplicación con el impacto ambiental que su extracción puede ocasionar. En este sentido, la biotecnología ofrece una alternativa sostenible, al posibilitar la producción en masa de ingredientes activos potenciales sin recurrir a la explotación excesiva de los recursos naturales<sup>3</sup>. Gracias a la optimización de los procesos, esta disciplina permite un desarrollo más sostenible y con costos más accesibles, al aprovechar la combinación de principios de biología, química y tecnología para manipular organismos vivos y sus componentes celulares con el fin de crear productos beneficiosos en campos como la salud, la agricultura y la industria<sup>4</sup>.

En el contexto del proyecto, la biotecnología permite obtener células madre de *Matricaria recutita* mediante técnicas de cultivo celular, eliminando la necesidad de recolectar grandes cantidades de plantas, lo que reduce el impacto ambiental y favorece un enfoque sostenible. Este método no solo contribuye a la creación de un cosmético innovador y efectivo para el cuidado de la piel, sino que también optimiza recursos y disminuye el desperdicio, haciendo el proceso más amigable con el entorno.

Ahora bien, uno de los principales enfoques de la industria cosmética son los productos destinados al cuidado de la piel, especialmente frente al proceso natural e inevitable del envejecimiento cutáneo, caracterizado por la pérdida de elasticidad, firmeza y humectación de la piel<sup>5</sup>. La mayoría de opciones cosméticas actuales se basan en ingredientes sintéticos, que suelen presentar una gran cantidad de efectos secundarios, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas más seguras y naturales. En este contexto, las células madre vegetales han emergido como una opción prometedora frente a los ingredientes sintéticos<sup>6</sup>. A pesar de los limitados estudios disponibles, se ha evidenciado que estas células poseen propiedades antioxidantes y beneficiosas para el cuidado y acondicionamiento de la piel<sup>7</sup>. De esta manera, se espera que el diseño de este producto contribuya a mejorar tanto la elasticidad como la hidratación de la piel, al tiempo que ayude a reducir el envejecimiento prematuro de sus células.

Las células madre vegetales se definen como células indiferenciadas con la capacidad de autorrenovarse y de transformarse en cualquier tipo de célula especializada, con potencial para

formar un organismo completo<sup>8</sup>. Estas células juegan un rol crucial en el crecimiento y regeneración de las plantas, ya que se encuentran principalmente en los meristemos, ubicados en los extremos de la planta<sup>9</sup>. En el campo de la biotecnología, el estudio de estas células ha ganado relevancia por su potencial en diversas aplicaciones, como la mejora genética de cultivos, la conservación de especies en peligro y su uso en productos farmacéuticos gracias a su capacidad de producir metabolitos específicos<sup>10</sup>. Asimismo, el uso de células madre vegetales ofrece beneficios importantes como la totipotencia, la capacidad de producir distintos metabolitos mediante la adición de fitohormonas y su facilidad de propagación<sup>11</sup>.

Entre las especies vegetales estudiadas por el potencial de sus células madre se encuentra la *Matricaria recutita*, comúnmente conocida como manzanilla. Esta planta medicinal ha sido empleada en la medicina tradicional en forma de extractos, aceites esenciales y tés, debido a sus conocidas propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes. Estas cualidades se deben principalmente a la presencia de metabolitos bioactivos, como los flavonoides (apigenina y luteolina), compuestos fenólicos (resveratrol y ácido fenólico) y terpenos (camazuleno y bisabolol), que aportan beneficios significativos tanto en este campo, como en el cuidado de la piel.<sup>12</sup>.

De este modo, la biotecnología desempeña un papel importante en el desarrollo y las aplicaciones de las células madre vegetales, comenzando por las técnicas de obtención, extracción y purificación<sup>10</sup>. Una de las metodologías más empleadas es el cultivo de tejidos vegetales, que se realiza *in vitro* bajo condiciones controladas de luz, nutrientes, temperatura y hormonas, utilizando medios de cultivo diseñados específicamente para favorecer el crecimiento celular<sup>13</sup>. En cuanto al aislamiento de las células madre, se suele recurrir al proceso de embriogénesis a partir de callos, que son masas de células no diferenciadas obtenidas de tejidos cultivados con reguladores de crecimiento, como auxinas y citoquininas<sup>14</sup>.

Posteriormente, la separación y purificación de estas células se lleva a cabo mediante técnicas como la digestión enzimática, que permite descomponer los callos en células individuales y, a través de compuestos selectivos, separar las células madre de las diferenciadas<sup>15</sup>. Una vez purificadas, estas células pueden ser empleadas tanto en su forma original como en extractos, encontrando aplicaciones en diversos campos. En el área farmacéutica, se destacan especialmente

por la producción de compuestos bioactivos con propiedades medicinales, tales como alcaloides, flavonoides, terpenos y compuestos fenólicos, que poseen efectos antiinflamatorios, antimicrobianos y antioxidantes<sup>16</sup>. Sin embargo, sus aplicaciones cosméticas también han cobrado relevancia. De acuerdo con la FDA, un cosmético es cualquier artículo destinado a ser vertido, rociado, esparcido sobre o aplicado de cualquier otra manera al cuerpo humano, con el propósito de limpiar, embellecer, promover la atracción o alterar la apariencia<sup>17</sup>.

De la misma manera, las células madre vegetales, gracias a su contenido rico en compuestos bioactivos y su alta biocompatibilidad, han demostrado ser componentes innovadores dentro de la industria cosmética, ofreciendo beneficios únicos frente a los ingredientes activos tradicionales. Estos compuestos, como el resveratrol o el bisabolol presentes en plantas como la manzanilla, son sustancias químicas producidas naturalmente que generan efectos biológicos beneficiosos<sup>18</sup>, entre los que destacan sus propiedades antioxidantes. Al integrarse en productos cosméticos, las células madre vegetales no solo permiten aprovechar estas propiedades con fines estéticos, sino que también contribuyen al desarrollo de formulaciones capaces de mejorar la apariencia de la piel, aportando beneficios protectores que trascienden los efectos convencionales de mejora estética.

En adición a lo anterior, los cosméticos que cuentan con propiedades antioxidantes han ganado protagonismo dentro de las tendencias pro-aging, gracias a su capacidad para proteger las células y tejidos del daño causado por los radicales libres. Estas moléculas inestables y altamente reactivas, producidas por factores como la radiación UV y la contaminación ambiental, contribuyen al envejecimiento prematuro de la piel, favoreciendo la aparición de manchas, arrugas y otros signos de deterioro cutáneo<sup>19</sup>. Los antioxidantes actúan neutralizando los radicales libres, mitigando el estrés oxidativo y ayudando a retrasar los efectos visibles del envejecimiento. Por ello, suelen estar presentes en cremas faciales, sérums y mascarillas, productos diseñados para promover una piel de apariencia más joven y saludable<sup>20</sup>.

A partir de lo expuesto previamente, con el propósito de formular un producto cosmético a base de células madre de *Matricaria recutita*, obtenidas mediante técnicas biotecnológicas, esta investigación se enfocó en evaluar la incorporación y estabilización de dichas células en una matriz cosmética. El desarrollo de este producto no solo pretende beneficiar a los consumidores al ofrecer una alternativa natural e innovadora para el cuidado de la piel, sino también contribuir al

conocimiento de la comunidad científica sobre el uso y las funciones de las células madre vegetales, en particular las de *Matricaria recutita*<sup>21</sup>. Este proyecto busca destacar el alto potencial de las células madre vegetales, obtenidas biotecnológicamente, como ingredientes activos en formulaciones cosméticas, favoreciendo tanto el desarrollo de cosméticos naturales como el cuidado de la biodiversidad colombiana. Por ello, el objetivo de esta investigación fue desarrollar un prototipo cosmético que aprovechara estos componentes naturales, guiado por la pregunta: ¿Cuál es el desempeño de las células madre de *Matricaria recutita*, obtenidas mediante procesos biotecnológicos, en productos cosméticos para el cuidado de la piel?

### **3. Metodología**

#### **3.1. Estandarización del proceso de obtención del extracto de células madre vegetales de *Matricaria recutita* empleando herramientas biotecnológicas.**

Para estandarizar el proceso de obtención, se diseñó un protocolo detallado que incluyó cada paso realizado, junto con los requerimientos necesarios para garantizar la eficacia del procedimiento. Como primer paso, se llevó a cabo la preparación de los medios de cultivo iniciales. Para ello, se adaptaron dos protocolos<sup>13,14</sup>, ajustando la cantidad de nutrientes del medio de cultivo Murashige & Skoog 1962 (MS), e incorporando reactivos adicionales, como la sucralosa.

Una vez preparados los medios de cultivo, se procedió con la introducción de las semillas de manzanilla, previamente sometidas a un proceso de limpieza y desinfección. Este proceso incluyó el uso de hipoclorito al 2.5%, tween 20, alcohol al 70%, extran al 5% y agua destilada. Posteriormente, las semillas fueron esparcidas en cajas petri para iniciar su germinación.

Seguidamente, se prepararon medios de cultivo específicos para la organogénesis (denominados medios MS3). Estos se basaron en el medio MS, pero se enriquecieron con fitohormonas como ácido 2,4-diclorofenoxiacético y kinetina, con el objetivo de estimular la formación de brotes ricos en células madre. Los tallos de las plántulas obtenidas de la germinación de las semillas *in-vitro* con el medio MS inicial fueron destinadas para propagación en nuevos medios MS, mientras que las hojas de cada plántula se introdujeron en los medios MS3, permitiendo la obtención de brotes de *Matricaria recutita*. Es importante destacar que, la germinación de las semillas tomó entre 1 y 2 meses, por lo que, se evaluó periódicamente qué medios contenían la cantidad suficiente de

plántulas para iniciar la propagación. Por su parte, la aparición de brotes se produjo entre 2 y 3 semanas después de la transferencia a los medios MS3.

Ahora bien, el extracto de células madre se obtuvo mediante un proceso de maceración de los brotes con ayuda de una solución hidroalcohólica al 42%. En este paso, los brotes fueron pesados en tubos falcon, macerados y mezclados con 5mL de la solución hidroalcohólica. El extracto recolectado se almacenó en un tubo falcon para su posterior análisis. Asimismo, para determinar la concentración del extracto, se calculó la diferencia entre el peso inicial de los brotes y el peso del material vegetal remanente tras la extracción, dividiendo este valor por el volumen de la solución empleada (ver *Ecuación 1*).

$$[\text{Concentración extracto}] = \frac{\text{Peso inicial brotes(mg)} - \text{Peso remanente de material vegetal(mg)}}{5\text{mL}} \quad (1)$$

Es pertinente mencionar que, se buscó corroborar la presencia de las células madre en el extracto, por lo que, se observó una gota del extracto en un microscopio.

### **3.2. Evaluación del proceso de incorporación y estabilización de las células madre vegetales de *Matricaria recutita* en la matriz cosmética.**

#### ***3.2.1. Evaluación de la capacidad antioxidante de las células madre encapsuladas***

Para evaluar la capacidad antioxidante del extracto de células madre, fue necesario esterilizar la muestra y eliminar el alcohol presente en ella. Esto se logró mediante un proceso de ultrafiltración asistida con nitrógeno (filtración esterilizante), el cual permitió realizar ambos procedimientos simultáneamente.

Inicialmente, se tomó un volumen de 0,7mL del extracto, y se diluyó hasta 11.5mL con agua estéril tipo I. Luego, se filtró la muestra hasta reducir el volumen a aproximadamente 5mL. A continuación, se volvió a llevar a 30mL con agua estéril tipo I, y se repitió el proceso de filtración, obteniendo 10mL antes de ajustar nuevamente a 30mL. Este ciclo se repitió dos veces más, pero en la última filtración se ajustó a un volumen final de 6mL, que fue recolectado en un tubo falcon. Así, se obtuvo una muestra de extracto estéril y libre de alcohol. Para determinar la concentración, fue necesario determinar la concentración de esta muestra. Para determinar la concentración final del extracto estéril, se utilizó la concentración obtenida previamente en el literal 3.1, junto con el

volumen inicial de extracto sometido a esterilización y el volumen final de la muestra procesada (ver *Ecuación 2*).

$$[\text{Concentración mta estéril}] = \frac{[\text{Concentración inicial extracto}]}{\text{Volumen final del extracto}} * \text{Vol inicial extracto (2)}$$

Con lo anterior, fue posible proceder con las pruebas de actividad antioxidante. No obstante, este procedimiento sigue siendo estandarizado por otro grupo de investigación, dado que consiste en una evaluación directamente en células de la piel. Por lo tanto, este proyecto no abordará resultados relacionados con estas pruebas.

### 3.2.2. Vehiculización del extracto de células madre vegetales

Para vehiculizar el extracto sin comprometer la integridad de las células madre, se llevó a cabo un proceso de emulsificación y de gelificación, lo que permitió formar un emulgel. Esto, con el fin de que se pudiera obtener un tamaño de partícula que se encontrara en una escala entre 1–1000  $\mu\text{m}^2$ . Con ello, se establecieron los excipientes necesarios para la formulación y cumplir con el objetivo descrito previamente, al igual que las cantidades necesarias de cada uno (ver *Tabla 1*). En la tabla, la fase oleosa se representa en amarillo y la fase acuosa en azul.

*Tabla 1. Formulación emulgel para entrega del extracto de células madre.*

EMULGEL		
MATERIA PRIMA	PORCENTAJE (%)	CANTIDAD (g)
Glucate Do	0,67	4,0
Miglyol 8810	10,0	60
Extracto de Células Madre	0,13	0,8
Miristrato de isopropilo	2,00	12
Dimeticona	3,33	20
Fenoxietanol	0,33	2,0
Glicerol	3,33	20
Carbopol	0,67	4,0
Propilenglicol	2,00	12
Novemer	3,33	20
Agua	74,2	445,2
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>600</b>

El proceso consistió en mezclar los componentes de las fases oleosa y acuosa en dos beakers separados. Posteriormente, la fase oleosa fue añadida gradualmente a la fase acuosa. Por su parte,

el carbopol se disolvió en una porción adecuada de agua tomada de la cantidad total destinada a la formulación. Una vez obtenida esta solución, se incorporó al sistema después de mezclar las fases oleosa y acuosa. Todo el procedimiento se llevó a cabo utilizando un homogeneizador Ultraturrax para garantizar la correcta emulsificación y gelificación.

### ***3.2.3. Evaluación del proceso de estabilización***

Con las células madre de *Matricaria recutita* estabilizadas en la formulación, se evaluó la eficiencia del proceso mediante la determinación del tamaño de partícula alcanzado. Para ello, se utilizó el equipo ANALYSETTE, marca FRITSCH GmbH, modelo 22 Micro Tec PLUS, facilitado por la Universidad ICESI. Este permitió medir tanto el tamaño promedio de las partículas como la distribución dentro de la formulación.

## **3.3. Evaluar la estabilidad de la matriz cosmética que contiene células madre vegetales de *Matricaria recutita***

### ***3.3.1. Evaluación de la estabilidad fisicoquímica de la matriz cosmética***

Tras establecer la formulación definitiva de la matriz cosmética, se procedió a evaluar su estabilidad fisicoquímica mediante pruebas de separación de fases y análisis organolépticos. Para las pruebas de separación de fases, se realizaron inspecciones visuales periódicas durante un periodo de 1 mes, con el fin de identificar la presencia de múltiples fases en el producto.

Estas observaciones se complementaron con pruebas organolépticas, también realizadas por inspección visual, que permitieron evaluar características clave de la formulación. Entre estas se consideraron la homogeneidad del color azul, la consistencia cremosa, la capacidad de absorción rápida en la piel sin dejar sensación pegajosa, y el olor. Este conjunto de pruebas permitió verificar la estabilidad visual y sensorial del cosmético.

### ***3.3.2. Evaluación de la estabilidad térmica de la matriz cosmética***

La estabilidad térmica del prototipo cosmético se evaluó de acuerdo con los lineamientos establecidos en la Decisión 833 del 2018<sup>23</sup>. Para ello, la matriz cosmética fue almacenada en diferentes condiciones controladas: a 4 °C, a 30 °C con una humedad relativa (HR) de  $65 \pm 5$  %, y a 40 °C con una HR de  $75 \pm 5$  %. Para cada una de estas condiciones, se utilizaron recipientes

con 70 g de producto (uno para la condición de 4 °C y dos para las demás condiciones). Esto se realizó en una cámara de estabilidad CAMS de la marca GAE | Gaelta.

Durante el periodo de evaluación, que tuvo una duración aproximada de 1 mes, se monitorearon de manera simultánea los parámetros definidos previamente en el ítem 3.3.1, tales como cambios en el color, textura, homogeneidad, separación de fases y características organolépticas. Este análisis permitió verificar la estabilidad del prototipo frente a diferentes condiciones de almacenamiento y estrés térmico.

## **4. Resultados y discusión**

### **4.1. Estandarización del proceso de obtención del extracto de células madre vegetales de *Matricaria recutita* empleando herramientas biotecnológicas.**

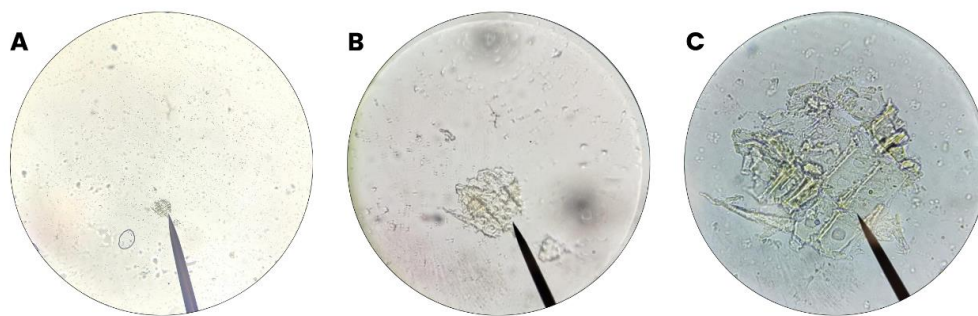
El protocolo desarrollado establece una metodología sistemática para obtener células madre vegetales a partir de semillas de manzanilla, comenzando con la preparación de dos medios de cultivo diferenciados. El medio MS se utilizó para la germinación de semillas, mientras que el medio MS3, enriquecido con fitohormonas específicas como 2,4-D y kinetina, se empleó para la inducción de brotes. Esta diferenciación en los medios de cultivo resulta crucial, ya que los reguladores de crecimiento presentes en el medio MS3 dirigieron el desarrollo celular hacia los resultados deseados.

La elección del medio MS se basó en el artículo "*Micropropagation of Chamomilla recutita (L.) Rauschert: A shock treatment model with growth regulators*", donde se propone una metodología para el crecimiento in vitro de manzanilla utilizando este medio<sup>13</sup>. En dicho artículo, se incluyen diversas combinaciones de fitohormonas y reguladores de crecimiento que no se incorporaron en este proyecto debido a diferencias en los objetivos planteados. No obstante, el medio MS demostró ser eficaz para el crecimiento de manzanilla, ya que contiene micro y macronutrientes, además de vitaminas esenciales que promueven un desarrollo rápido y adecuado de las plantas a partir de semillas<sup>24</sup>. Aunque teóricamente no sería indispensable el uso del medio MS para obtener plántulas, su exclusión implicaría un crecimiento más lento. Debido a la limitación de tiempo para obtener resultados, no se llevó a cabo experimentación adicional para evaluar esta alternativa.

Los resultados obtenidos sugieren que los brotes se formaron a través de un proceso conocido

como organogénesis, una vía morfológica en la que las plantas se diferencian mediante la formación de estructuras con o sin una fase intermedia<sup>25</sup>. Este proceso suele inducirse con fitohormonas como citoquininas y auxinas<sup>26</sup>. Inicialmente, se propuso inducir embriogénesis somática indirecta para obtener una masa celular totipotente de la que se pudieran extraer compuestos de interés. Se planteó detener el proceso en la fase de callogénesis, pero, ante la ausencia de un protocolo específico para esta especie, se optó por un enfoque generalista. Para ello, se utilizaron medios de cultivo suplementados con kinetina y 2,4-D, favoreciendo la proliferación celular.

Las citoquininas se emplearon por su capacidad para reducir la dominancia del meristemo apical y promover la generación de brotes axilares o adventicios<sup>27</sup>. Por su parte, las auxinas jugaron un rol clave en la modulación del crecimiento y el desarrollo de los tejidos<sup>28</sup>. En este estudio, los brotes adventicios obtenidos se formaron en los segmentos internodales de los explantes, resultado de procesos de dediferenciación y rediferenciación celular<sup>29</sup>. Además, la combinación de auxinas y citoquininas demostró inducir tanto la división como el alargamiento celular, lo que posibilitó la formación de callos, embriones somáticos y brotes<sup>30</sup>. Considerando las limitaciones temporales, se decidió enfocar el cultivo exclusivamente en la obtención de brotes.



**Figura 1.** Microscopía del extracto de células madre: (A) Aumento en 10X; (B) Aumento en 40X; (C) Aumento en 100X.

En este sentido, la obtención de células madre mediante este protocolo se fundamenta en varios aspectos clave. Los brotes producidos contenían tejidos meristemáticos con células madre vegetales activas, las cuales, gracias al tratamiento con fitohormonas realizado al cultivo in vitro, mantienen la totipotencia celular.

Al obtener el extracto, se verificó la presencia de las células madre de *Matricaria recutita* mediante microscopía, como se evidencia en la **Figura 1**. En esta, se observa una célula madre en diferentes aumentos, lo que permitió corroborar la presencia de células madre en el extracto. Sin embargo, esta es una técnica bastante limitada. Al recorrer la muestra en el aumento de 10x solo se podía enfocar una célula madre en los diferentes cuadrantes, y aunque esto permitió corroborar que sí había más de una célula, sólo es posible indicar de manera cualitativa la presencia de estas por medio de esta técnica. De esta manera, se identificó que en la gota estudiada del extracto sí había presencia de células madre, pero se infiere que en concentraciones bajas. No obstante, al no tener seguridad de la cantidad exacta de células madre, se encontró la necesidad de abordar una técnica más sofisticada, como la citometría de flujo. Esta es una técnica que permite analizar las células, determinando la cantidad exacta, el porcentaje de células vivas, su tamaño, entre otras características<sup>31</sup>.

Con lo anterior, la concentración obtenida del extracto parte del material vegetal empleado, y su remanente, posterior al proceso de extracción, más no de una concentración de células madre únicamente. Así, se tuvo en cuenta que el peso inicial de los brotes fue de 15.229,1mg, y el peso de material vegetal remanente fue de 14.650,1mg. Además, el volumen empleado de solución hidroalcohólica fue de 5mL, por lo que, se obtuvo una concentración de células madre de 115,8mg/mL. La **Ecuación 3** refleja el procedimiento empleado para obtener dicho valor.

$$[\text{Concentración extracto}] = \frac{15.229,1\text{mg} - 14.650,1\text{mg}}{5\text{mL}} = 115,8\text{mg/mL} \quad (3)$$

Como consideraciones finales de este apartado, se debe mencionar que el protocolo presenta aspectos que podrían optimizarse, como por ejemplo incluir estudios de estabilidad del extracto, además de añadir pruebas de actividad biológica y desarrollar métodos analíticos más detallados para la caracterización del producto final, como la citometría de flujo. También, sería prudente repetir el proceso de organogénesis, y continuar con él hasta llegar a los callos, por diferentes razones.

En primer lugar, se empleó un tiempo considerable en el entrenamiento de los investigadores en las técnicas biotecnológicas. Al tener el conocimiento de estos procedimientos, es posible contar con mayor tiempo para realizar el proceso de obtención de los callos, para lograr concentraciones más altas de células madre, y con ello, un extracto más puro. En segundo lugar, es pertinente seguir

optimizando el protocolo, dado que, fue la primera vez trabajando con la *Matricaria recutita*, y al entender el comportamiento de la planta, se pueden hacer adecuaciones en la cantidad de semillas plantadas en cada caja petri, o las plántulas por cada lote en los procesos de propagación. Por último, se podrá tener un procedimiento más estandarizado, donde se pueda llevar un registro más exacto de las materias primas empleadas, así como de las plántulas que se van obteniendo en cada lote, entre otras consideraciones.

## **4.2. Evaluación del proceso de incorporación y estabilización de las células madre vegetales de *Matricaria recutita* en la matriz cosmética.**

### ***4.2.1. Evaluación de la capacidad antioxidante de las células madre encapsuladas***

La concentración final de la muestra estéril fue de 13,51mg/mL. Esto dado que, se partió de los 115,8mg/mL iniciales en los 0,7mL de muestra, y se consideró el volumen final de 6mL de extracto. Esto se logró acorde a lo expresado en la **Ecuación 4**. Conocer esta concentración es importante para la realización del estudio de capacidad antioxidante, dado que con esta se parte para establecer las concentraciones a emplear en las pruebas.

$$[\text{Concentración mta estéril}] = \frac{115,8\text{mg/mL}}{6\text{mL}} * 0,7\text{mL} = 13,51\text{mg/mL (4)}$$

Ahora bien, el procedimiento descrito en el numeral 3.2.1 fue necesario para la muestra dado que el estudio de la actividad antioxidante, como se mencionó anteriormente, se realizará en células de la piel, y debido a que el extracto contaba con una solución hidroalcohólica al 42%, empleada como solvente en el proceso de extracción, esta alta concentración de etanol podría matar estas células<sup>32</sup>. De esta manera, se utilizó un proceso de ultrafiltración asistida con nitrógeno (filtración esterilizante). La ultrafiltración es una técnica de separación basada en el uso de membranas semipermeables que permiten el paso selectivo de moléculas pequeñas, como el alcohol y el agua, mientras retienen compuestos de mayor tamaño<sup>33</sup>, como las células madre.

La presión generada por el flujo del nitrógeno permite el movimiento del extracto a través de la membrana, permitiendo la separación del alcohol sin someter al extracto a elevadas temperaturas que podrían afectar al extracto. Asimismo, aparte de eliminar el alcohol, el proceso de ultrafiltración permite esterilizar el extracto. Esto se logra gracias a la capacidad de las membranas de retener partículas grandes, como las células madre. Los microorganismos tienen tamaños más

pequeños, pasarán por el filtro, y con los diversos lavados se esteriliza el extracto. Lo anterior, representa una ventaja, pues a pesar de trabajar en cabinas de flujo laminar en todo el proceso de obtención del extracto, este paso garantiza que se encuentra libre de microorganismos que contaminen la muestra, y en un futuro, la matriz cosmética.

Se debe considerar que, con el extracto libre de alcohol y estéril, fue posible proceder con las pruebas antioxidantes. No obstante, como se citó previamente, estas pruebas siguen siendo estandarizadas, y no se tienen resultados concluyentes hasta la fecha. A pesar de ello, es necesario mencionar que estas pruebas son fundamentales para el prototipo cosmético. Por un lado, el claim del cosmético es su capacidad antioxidante gracias a la presencia de las células madre, por lo que, el resultado de la prueba permitirá realizar las mejoras pertinentes en el proceso de obtención del extracto. Por otro lado, al comprobar la capacidad antioxidante es posible ahondar en investigaciones relacionadas directamente con el mecanismo de acción de las células madre en los procesos antioxidantes, pues la literatura aún sigue definiendo cuales son las rutas exactas que emplean estas células, en especial, las de la manzanilla. Por lo anterior, se sigue a la espera de estos resultados, y darle continuidad a la presente investigación.

#### ***4.2.2. Vehiculización del extracto de células madre vegetales***

La vehiculización se refiere al proceso mediante el cual un principio activo, el extracto de células madre en este caso, es transportado de manera efectiva desde la formulación hacia su sitio de acción, en este caso las capas superficiales o internas de la piel<sup>34</sup>. Este proceso no solo implica el transporte del activo, sino también su liberación controlada desde la matriz de la formulación, la penetración en la barrera cutánea y su estabilidad durante el trayecto<sup>35</sup>. La vehiculización adecuada es fundamental para garantizar que el ingrediente activo alcance su destino en las concentraciones deseadas, sin degradarse ni perder efectividad.

Más aún, se debe considerar que los procesos de vehiculización se vuelven un factor fundamental a la hora de hablar de cosméticos para el cuidado de la piel, pues estos deben permitir el paso del ingrediente activo a través de las capas de la piel. En concordancia, se debe comprender que el envejecimiento es un “proceso fisiológico determinado por múltiples factores externos e internos”<sup>36</sup>. Si bien, a medida que pasa el tiempo, la piel envejece y cambia, pero se debe entender como un proceso normal en nuestra piel. Con ello, las nuevas tendencias de la industria

farmacéutica van dirigidas a la aceptación de estos procesos naturales, y emplear técnicas que los vuelvan procesos más amigables. De allí, surgen los cosméticos pro-aging, cuyo objetivo no es verse más joven, sino sentirse bien consigo mismo sin importar la edad que se tenga<sup>37</sup>. Por consiguiente, se emplean diferentes estrategias que permiten abordar esta tendencia, como cosméticos humectantes, hidratantes, antioxidantes, entre otros.

En relación con lo anterior, se ha estudiado que la piel puede perder su hidratación natural, y ciertos nutrientes, y por ende, se disminuye la producción de colágeno. Esto genera que la piel pierda elasticidad, es decir, se debilita y pierde firmeza, pues este cumple funciones en la unión entre la dermis y la epidermis, y al estar en menores concentraciones, dicha unión se debilita<sup>36</sup>. También, se puede atribuir a cambios en la disminución de la elastina, entre otros diversos factores. Es por esto que, el prototipo cosmético que se desarrolló busca tener dos principales propósitos, hidratación y un efecto antioxidante. En lo que respecta a la hidratación, su funcionalidad es brindar agua a la piel para brindarle más elasticidad, mientras que, su propiedad antioxidante busca competir con los radicales libres que hacen parte de ciertos procesos de formación de arrugas. De allí, surge la importancia de la vehiculización; se requiere una forma cosmética que permita cumplir con el claim del cosmético y pueda llegar a la dermis y epidermis, donde se forman las arrugas más profundas y las más superficiales, respectivamente<sup>38</sup>.

En este caso, el extracto de células madre fue vehiculizado por emulsificación, y estabilizado por un proceso de gelificación, el cual será explicado más adelante. En relación con el emulgel formulado, la vehiculización del extracto de células madre se logra mediante la interacción de diversos excipientes que trabajan en conjunto para garantizar su transporte hacia las capas más superficiales de la piel. Excipientes como el propilenglicol y el glicerol juegan un papel fundamental en este proceso. El propilenglicol actúa como un penetrador cutáneo al alterar de manera controlada la barrera lipídica del estrato córneo, facilitando la absorción del extracto<sup>39</sup>. Además, su capacidad como solvente asegura una dispersión homogénea del principio activo en el emulgel. Por su parte, el glicerol, al ser un potente humectante, aumenta la hidratación del estrato córneo, suavizando la barrera cutánea y favoreciendo la difusión del extracto<sup>40</sup>.

Otro excipiente clave es la dimeticona, la cual forma una película protectora sobre la piel<sup>41</sup>, prolongando el tiempo de residencia del emulgel y, por ende, del extracto en la superficie cutánea. Asimismo, el Carbopol juega un papel importante como gelificante, ya que proporciona una matriz

controlada que asegura la liberación sostenida del extracto de células madre<sup>42</sup>. Sin embargo, es crucial mantener su concentración dentro de un rango adecuado, ya que un exceso puede aumentar demasiado la viscosidad, dificultando la liberación del principio activo.

Los excipientes restantes complementan el sistema, al estabilizar la formulación y preservar su integridad. Por ejemplo, el Glucate DO actúa como emulsionante, estabilizando las fases acuosa y oleosa del emulgel<sup>43</sup>, mientras que el fenoxietanol previene la contaminación microbiana, protegiendo la estabilidad del extracto<sup>44</sup>. El Novemer, por su parte, más allá de ser el emulsificante más eficiente de la formulación, también mejora las propiedades reológicas del emulgel, asegurando una textura ideal para su aplicación tópica<sup>45</sup>.

En términos de procesos, la vehiculización del extracto involucra varias etapas: liberación del ingrediente activo desde la matriz, penetración cutánea facilitada por humectantes y solventes, distribución uniforme en la piel gracias a los emulsionantes, y absorción en las capas de la piel<sup>35</sup>. Adicionalmente, la caracterización físicoquímica del emulgel (viscosidad, homogeneidad) permite garantizar que el extracto está adecuadamente integrado en la formulación. El presente proyecto aborda dicha evaluación físicoquímica.

En relación con el emulgel, acorde a la **Tabla 1**, se observa gran cantidad de agua en la matriz cosmética. Esto se explica dado que, al momento de realizar el pesaje de las materias primas, se pesaron todos los excipientes de la fase acuosa en un beaker, y los de la fase oleosa en otro; no obstante, no se consideró que el Novemer es un emulsificante muy fuerte, e inmediatamente entró en contacto con los otros excipientes de la fase acuosa, empezó su proceso de emulsificación. A pesar de ello, se continuó con el proceso normal, y se logró llegar a la emulsión, pero no con las propiedades deseadas, pues tenía una contextura poco fluida. Se adicionó un poco más de agua, y se logró mejorar esta característica.

Posteriormente, se adicionó el carbopol, sin embargo, al homogeneizar se evidenció que la cantidad agregada era más de la necesaria. El exceso de Carbopol generó un emulgel con una viscosidad muy alta, por lo que se agregó más agua y se llegó a la textura deseada. La corrección mediante la adición de agua fue efectiva debido a que el agua actúa como medio diluyente, reduciendo la concentración del gelificante por unidad de volumen y brindando fluidez a la estructura de la matriz polimérica. Esto no solo disminuyó la rigidez del sistema, sino que también

mejoró la manejabilidad y la aplicabilidad del producto sin comprometer su estabilidad ni funcionalidad.

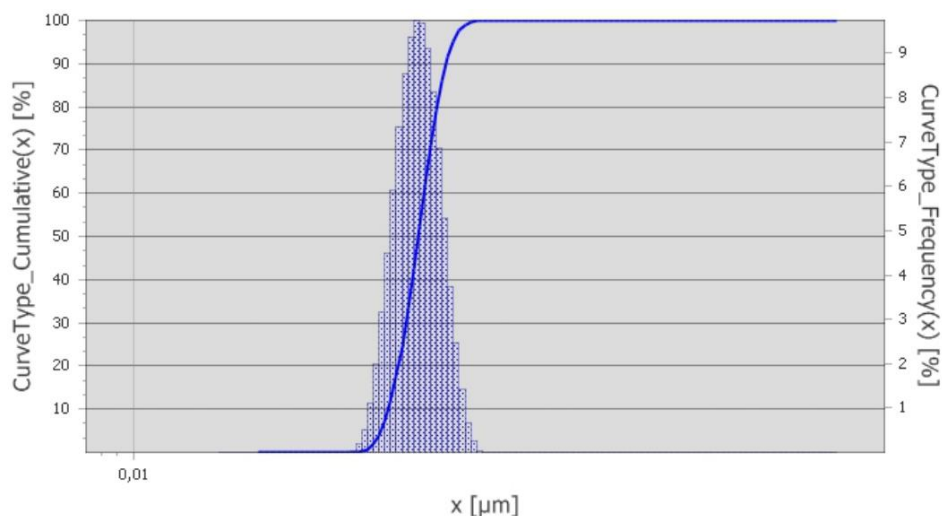
#### ***4.2.3. Evaluación del proceso de estabilización***

Al analizar los resultados arrojados por el ANALYSETTE, se evidenció la estabilidad de la formulación, lo que confirmó que las propiedades del emulgel sí le confirieron estabilidad al prototipo cosmético.

La distribución del tamaño de partícula del emulgel, representada en la **Figura 1**, evidencia una curva estrecha con forma de campana de Gauss, lo que refleja una distribución homogénea y controlada de las partículas en el sistema. Según los valores de d10 y d90 (ver **Tabla 2**), las partículas se encuentran predominantemente en el rango de 0,8 a 2,3  $\mu\text{m}$ , con un valor modal de 1,42  $\mu\text{m}$  y un diámetro promedio volumétrico (D[4,3]) de 1,5  $\mu\text{m}$ . Este rango estrecho, junto con un Span de 1,03, indica una dispersión uniforme y estable en la matriz del emulgel.

La homogeneidad en la distribución del tamaño de partícula es crucial para la estabilidad física de la formulación, ya que minimiza el riesgo de fenómenos como sedimentación, floculación o coalescencia que podrían comprometer sus propiedades. Estos resultados confirman que las partículas están adecuadamente dispersas en la matriz, sin presencia de tamaños extremos que puedan afectar negativamente el desempeño del sistema.

Por otro lado, la estabilidad de la formulación puede atribuirse a varios factores relacionados con su composición, principalmente al Carbopol; como agente gelificante, proporciona una matriz viscosa que mantiene las partículas suspendidas, reduciendo el riesgo de sedimentación. Además, el Glucate DO, como emulsionante, asegura una emulsificación eficiente de las fases acuosa y oleosa, contribuyendo a mantener las partículas en un rango uniforme de tamaño. Excipientes como el Miglyol 8810 y la dimeticona ayudan a disminuir la tensión interfacial entre las fases, lo que estabiliza aún más el sistema. Esta combinación de propiedades de los excipientes asegura que las partículas permanezcan homogéneamente distribuidas, lo que repercute directamente en la calidad final del producto.



**Figura 2.** Distribución de tamaño de partícula de la matriz cosmética.

**Tabla 2.** Resultados distribución de tamaño de partícula.

<b>Q3 ( X) in %</b>	<b>X in µm</b>
10	0.8
50	1.4
90	2.3
<b>Mode</b>	<b>1.42µm</b>
<b>Span*</b>	<b>1.03</b>
<b>D [4,3]</b>	<b>1.5 µm</b>

\* Span (d90-d10)/d50

Asimismo, la distribución uniforme del tamaño de partícula tiene un impacto directo en las propiedades sensoriales y funcionales del emulgel. Un sistema con partículas uniformes garantiza una textura suave, una aplicación agradable y una liberación controlada del ingrediente activo, en este caso, el extracto de células madre de *Matricaria recutita*. Además, un tamaño de partícula dentro de un rango óptimo favorece la penetración cutánea y la biodisponibilidad del activo, asegurando la eficacia del producto. La corrección inicial del contenido de agua, que permitió ajustar la viscosidad del emulgel al diluir la concentración de Carbopol, también contribuyó a la estabilidad final del sistema. Este ajuste evitó la formación de agregados, favoreciendo una matriz homogénea y una adecuada dispersión de las partículas.

Con respecto a lo anterior, se debe mencionar que, estos tamaños de partícula pequeños también contribuyen a permitir un paso más eficiente por el estrato córneo. Si bien, esta es la capa más externa de la piel, y proporciona una fuerte barrera para proteger al cuerpo de patógenos o

moléculas externas<sup>46</sup>, de igual modo se convierte en un reto a la hora de entregar los activos en los productos cosméticos. Este está formado por “células sin núcleo y una membrana celular regular, los corneocitos”<sup>46</sup>, encontrándose fuertemente conectadas, y formando una barrera bastante rígida. Es por ello que, en las formulaciones cosméticas se buscan tamaños de partícula pequeños para una mejor entrega del producto, dado que estas partículas pueden atravesar de manera más eficiente el estrato córneo, y llegar a las capas de la piel deseadas. Así, el prototipo cosmético fabricado puede describirse como un vehículo eficiente para la entrega de las células madre de manzanilla.

A partir de lo anterior, los resultados confirman que la formulación del emulgel es estable gracias a la homogeneidad en el tamaño de partícula y la funcionalidad de los excipientes seleccionados. Este análisis indica que las propiedades del emulgel, como su textura, capacidad de aplicación y vehiculización del extracto de células madre, pueden mantenerse óptimas durante su almacenamiento y uso, validando la eficacia del diseño de la formulación. Para este fin, los siguientes apartados evalúan los resultados obtenidos frente a la estabilidad de la matriz cosmética.

### **4.3. Evaluar la estabilidad de la matriz cosmética que contiene células madre vegetales de *Matricaria recutita***

#### ***4.3.1. Evaluación de la estabilidad fisicoquímica de la matriz cosmética***

La evaluación de la estabilidad fisicoquímica y térmica del producto se realizó en el mismo periodo de tiempo, del 9 de octubre de 2024 al 9 de noviembre de 2024. En lo que respecta a este apartado, para los 5 productos evaluados no se evidenció ningún fenómeno que indicara una separación de fases, como la cremación, por ejemplo. Esto se puede atribuir tanto a la reducción del tamaño de partícula, como a la presencia del Carbopol en la matriz.

Al reducir el tamaño de las partículas se mejora la estabilidad del sistema, pues previene la separación de fases debido a la menor tendencia de las gotas de la fase dispersa (fase oleosa) a fusionarse y/o ascender a la superficie. Esto se explica porque este tamaño reducido incrementa la energía requerida para que se produzcan estos fenómenos de inestabilidad, como la cremación o la coalescencia<sup>47</sup>. Además, este tamaño permite tener una distribución más homogénea de las gotas de aceite en la matriz acuosa, asegurando una mejor estabilidad estructural del emulgel.

Por su parte, el Carbopol forma una red tridimensional dentro de la fase acuosa, incrementa la viscosidad del sistema y actúa como una barrera física que restringe el movimiento de las gotas de la fase oleosa. Esta red gelificante evita que las gotas puedan desplazarse libremente, reduciendo aún más la posibilidad de separación de fases. Además, el Carbopol no solo mejora la estabilidad mecánica del emulgel, sino que también contribuye a su consistencia y textura, lo que garantiza que el producto mantenga su integridad durante el almacenamiento y uso.

En conjunto, tanto la reducción del tamaño de partícula como el efecto estabilizador del Carbopol, permiten que el emulgel conserve su estabilidad fisicoquímica. Esto asegura la calidad del producto final y la efectividad en la liberación del extracto de células madre de *Matricaria recutita*.

#### **4.3.2. Evaluación de la estabilidad térmica de la matriz cosmética**

Para esta sección, en las tres temperaturas evaluadas, se obtuvieron resultados bastante similares y satisfactorios. El análisis visual reveló que se mantuvo el color inicial de la formulación (azul claro) sin que hubiera aparición de zonas amarillas u oscuras. Tampoco se evidenció la aparición de exudados que dieran indicios de inestabilidad, después de someter la formulación a condiciones desafiantes durante el periodo de evaluación. La evaluación sensorial tampoco logró demostrar diferencias significativas en la textura del emulgel en condiciones tanto normales como aceleradas. Esto se explica por las razones expuestas en el apartado 4.3.1, pues ambos parámetros aportan a que se mantengan tanto la estabilidad fisicoquímica como la térmica.

Sin embargo, se deben tener consideraciones adicionales para este apartado. En primer lugar, el color azul, pese a que fue homogéneo a lo largo del estudio para cada pote, entre los potes el color azul realmente no era igual. Esto se debe a problemas en el desarrollo del prototipo cosmético, pues el colorante se adicionó cuando ya se había formado el emulgel, impidiendo una distribución homogénea en el color azul, por lo que se deben hacer mejoras en cuanto al momento en que se agrega este excipiente. En segundo lugar, al terminar el estudio de estabilidad se requería volver a realizar un análisis de tamaño de partícula para establecer si no hubo cambios en el tamaño de partícula de la formulación, pero no fue posible dado que el equipo se encontraba fuera de servicio; por lo que, sería pertinente realizar nuevamente la prueba para corroborar si realmente se mantuvo estable el cosmético.

Por último, dado a que se trabajaron con excipientes de origen vegetal, que contaban con ácidos grasos, entre otros excipientes propensos a oxidación, se debería seguir evaluando si el cosmético con el paso del tiempo no presenta algún tipo de oxidación, con el fin de mejorar la formulación y adicionar un antioxidante. A pesar de que se este trabajando con un ingrediente activo con propiedades antioxidantes, el porcentaje que representa en la formulación es bastante bajo y no podría ayudar de manera considerable en los procesos de oxidación, si se llegaron a presentar.



**Figura 3.** Emulgel al inicio del estudio de estabilidad térmica (día 0 - 9 de octubre de 2024). De izquierda a derecha. Formulación a 4°C, a 30°C con HR de  $65 \pm 5$  %, y a 40 °C con HR de  $75 \pm 5$  %.



**Figura 4.** Emulgel al final del estudio de estabilidad térmica (1 mes después - 9 de noviembre de 2024). De izquierda a derecha. Formulación a 4°C, a 30°C con HR de  $65 \pm 5 \%$ , y a 40 °C con HR de  $75 \pm 5 \%$ .

## 5. Conclusiones

En conclusión, se logró estandarizar el proceso de obtención del extracto de células madre vegetales de *Matricaria recutita* mediante herramientas biotecnológicas, sentando un precedente importante para la incorporación de ingredientes activos sostenibles en formulaciones cosméticas. Este proceso constituye una base sólida para futuras investigaciones, con el potencial de optimizar la pureza y funcionalidad del extracto. Además, se desarrolló satisfactoriamente un emulgel estable, en el que la emulsión sirvió como vehículo para las células madre y el gel proporcionó estabilidad estructural. La formulación presentó un tamaño de partícula homogéneo y óptimo, validando la eficacia del diseño de la matriz cosmética.

Asimismo, el emulgel mostró estabilidad fisicoquímica y térmica durante un mes, sin evidencia de separación de fases ni deterioro de propiedades, lo que confirma su viabilidad como sistema vehiculizador para productos cosméticos. A pesar de estos resultados positivos, es pertinente realizar ajustes en el protocolo de obtención del extracto, incluyendo estudios adicionales sobre su estabilidad, actividad antioxidante y caracterización detallada mediante métodos más avanzados. También se identificaron áreas de mejora en la formulación cosmética, como el momento de

incorporación de ciertos excipientes, por ejemplo, el colorante, y la adición de antioxidantes que puedan proteger los componentes sensibles de la oxidación a largo plazo. Con lo anterior, al realizar los ajustes necesarios, se puede considerar empezar a hacer un estudio *in-vivo* para evaluar el claim del cosmético y la percepción de las personas frente a este.

Por último, se recomienda continuar la investigación para fortalecer los resultados obtenidos, abordar las limitaciones identificadas y explorar nuevas aplicaciones de esta tecnología, contribuyendo así al desarrollo de productos cosméticos innovadores, sostenibles y respetuosos con la biodiversidad.

## **6. Agradecimientos**

Queremos empezar dando gracias a nuestras familias por el apoyo que nos han brindado durante este tiempo, por no permitir que nos rindiéramos, y recordarnos que siempre podremos lograr nuestros propósitos. Asimismo, a nuestros tutores, Juan Fernando Pinillos Madrid y María Eugenia Buitrago, por su dedicación, acompañamiento, y constante guía durante el desarrollo del proyecto. También, a nuestro equipo de trabajo, por su colaboración, apoyo y ánimo brindado. Por último, queremos extender nuestro agradecimiento a la Universidad ICESI por brindarnos todos los recursos e instalaciones necesarias para la realización del proyecto.

## **7. Referencias**

1. Rangel-Ch., J. O. La biodiversidad de Colombia: significado y distribución regional. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exactas Físicas Nat.* **39**, 176–200 (2015).
2. López Marín, D. M. L. La industria cosmética colombiana, orígenes, evolución y retos. (2022).
3. Cátia de Fátima Pires Gomes *et al.* Biotechnology Applied to Cosmetics and Aesthetic Medicines. *Cosmetics* **7**, 33 (2020).
4. Godbey, W. T. An introduction to biotechnology. in *Biotechnology and its Applications* 3–9 (Elsevier, 2022). doi:10.1016/B978-0-12-817726-6.00001-0.
5. Sun Hye Shin, Yoon Hwan Lee, Nark-Kyoung Rho, & Kui Young Park. Skin aging from mechanisms to interventions: focusing on dermal aging. *Front. Physiol.* **14**, (2023).

6. Martyna Moruś *et al.* Plant stem cells as innovation in cosmetics. *Acta Pol. Pharm.* **71**, 701–707 (2014).
7. Małgorzata Miastkowska, Miastkowska, M., Elżbieta Sikora & Sikora, E. Anti-Aging Properties of Plant Stem Cell Extracts. *Cosmetics* **5**, 55 (2018).
8. Kazmierski, Ł. & Roszkowski, S. Plant stem cells culture — a new tool for skin protection and regeneration. *Med. Res. J.* **4**, 52–57 (2019).
9. Liudmila Korkina *et al.* Meristem Plant Cells as a Sustainable Source of Redox Actives for Skin Rejuvenation. *Biomolecules* **7**, 40 (2017).
10. Sang, Y. L., Cheng, Z. J. & Zhang, X. S. Plant stem cells and novo organogenesis. *New Phytol.* **218**, 1334–1339 (2018).
11. Warghat, A. R., Thakur, K. & Sood, A. Plant stem cells: what we know and what is anticipated. *Mol. Biol. Rep.* **45**, 2897–2905 (2018).
12. Sah, A. *et al.* A Comprehensive Study of Therapeutic Applications of Chamomile. *Pharmaceuticals* **15**, 1284 (2022).
13. Sato, A., de Lima, S. S., Affonso, V. R., Esquibel, M. A. & Lage, C. L. S. Micropropagation of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert: A shock treatment model with growth regulators. *Sci. Hortic.* **109**, 160–164 (2006).
14. Moreira Palacios, M. O., Cabrera Henry, A. R. & Cueva-Agila, A. Germinación y multiplicación in vitro de *Matricaria recutita* L.: los fenoles totales determinan su germinación. *Rev. Colomb. Biotecnol.* **21**, 6–11 (2019).
15. Murthy, B. N. S. & Saxena, P. K. Somatic embryogenesis and plant regeneration of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). *Plant Cell Rep.* **17**, 469–475 (1998).
16. Nembo, E. N., Hescheler, J. & Nguemo, F. Stem cells in natural product and medicinal

- plant drug discovery—An overview of new screening approaches. *Biomed. Pharmacother.* **131**, 110730 (2020).
17. Tengli, A. & Srinivasan, S. H. An Exploratory Study to Identify the Gender-Based Purchase Behavior of Consumers of Natural Cosmetics. *Cosmetics* **9**, 101 (2022).
  18. Espinosa-Leal, C. A., Puente-Garza, C. A. & García-Lara, S. In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds. *Planta* **248**, 1–18 (2018).
  19. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. & Chandra, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* **4**, 118–126 (2010).
  20. Roger L. McMullen & Giorgio Dell'Acqua. History of Natural Ingredients in Cosmetics. *Cosmetics* **10**, 71–71 (2023).
  21. Ibtesam Y. Aljaafreh *et al.* Study the antioxidant of *Matricaria chamomilla* (Chamomile) powder: In vitro and vivo. *Bionatura* **8**, 1–5 (2023).
  22. Silva, R. Y. P. da, Menezes, D. L. B. de, Oliveira, V. da S., Converti, A. & Lima, Á. A. N. de. Microparticles in the Development and Improvement of Pharmaceutical Formulations: An Analysis of In Vitro and In Vivo Studies. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, (2023).
  23. Comisión de la Comunidad Andina. Decisión 833: Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos. (2018).
  24. Kaladharan, S., Mariappan, M. & Thiruppathi, S. K. An effective in vitro propagation of *Coelogyne mossiae* Rolfe: An endangered endemic orchid of Western Ghats, India. *South Afr. J. Bot.* **173**, 217–224 (2024).
  25. Pérez-Bernal, M., Delgado, M., Hernández, C. A. & Armas, R. Organogénesis indirecta a partir de meristemas apicales caulinares de la variedad cubana de arroz Reforma. *Cultrop* **29**, 23–28 (2008).

26. Martín, R., Chong-Pérez, B. & Pérez-Alonso, N. Organogénesis in vitro en el género *Digitalis*. *Biotecnología Vegetal* **15**, 195–206 (2015).
27. Ngomuo, M., Mneney, E. & Ndakidemi, P. The Effects of Auxins and Cytokinin on Growth and Development of (*Musa* sp.) Var. “Yangambi” Explants in Tissue Culture. *Am. J. Plant Sci.* **4**, 2174–2180 (2013).
28. WOODWARD, A. W. & BARTEL, B. Auxin: Regulation, Action, and Interaction. *Ann. Bot.* **95**, 707–735 (2005).
29. Moshtaghi, N. Chapter 14 - Tissue and cell culture of saffron. in *Saffron. Science, Technology and Health* (eds. Koocheki, A. & Khajeh-Hosseini, M.) 229–246 (Woodhead Publishing, 2020). doi:10.1016/B978-0-12-818638-1.00014-9.
30. Großkinsky, D. K. & Petrášek, J. Auxins and cytokinins – the dynamic duo of growth-regulating phytohormones heading for new shores. *New Phytol.* **221**, 1187–1190 (2019).
31. Loureiro, J. Aplicación de la citometría de flujo en el estudio del genoma vegetal. *Ecosistemas* **18**, 103–108 (2009).
32. Neuman, M. G. *et al.* Ethanol signals for apoptosis in cultured skin cells. *Alcohol* **26**, 179–190 (2002).
33. Lutz, H. Membranes. in *Ultrafiltration for Bioprocessing* 7–30 (Elsevier, 2015). doi:10.1016/B978-1-907568-46-6.00002-1.
34. Alegre-Sánchez, A., Jiménez-Gómez, N. & Boixeda, P. Vehiculización de fármacos asistida por láser. *Actas Dermo-Sifiliográficas* **109**, 858–867 (2018).
35. Barnes, T. M., Mijaljica, D., Townley, J. P., Spada, F. & Harrison, I. P. Vehicles for Drug Delivery and Cosmetic Moisturizers: Review and Comparison. *Pharmaceutics* **13**, 2012 (2021).
36. Lozada, S. M. & Rueda, R. Envejecimiento cutáneo. *Rev Asoc Colomb Dermatol* **18**, 10–

- 17 (2010).
37. Pro-Aging Metabolic Reprogramming: A Unified Theory of Aging. *Engineering* (2024)  
doi:10.1016/j.eng.2024.09.010.
  38. Matsumoto, T., Ikuta, N., Mori, M. & Nagayama, K. Mechanics of wrinkle formation: micromechanical analysis of skin deformation during wrinkle formation in ultraviolet-irradiated mice. *Skin Res. Technol.* **16**, 179–189 (2010).
  39. Fiume, M. M. *et al.* Safety Assessment of Propylene Glycol, Tripropylene Glycol, and PPGs as Used in Cosmetics. *Int. J. Toxicol.* **31**, 245S-260S (2012).
  40. Fluhr, J. W., Darlenski, R. & Surber, C. Glycerol and the skin: holistic approach to its origin and functions. *Br. J. Dermatol.* **159**, 23–34 (2008).
  41. Cosmetic Ingredient Review. Safety Assessment of Dimethicone, Methicone, and SubstitutedMethicone Polymers, as Used in Cosmetics. (2019).
  42. Merclin, N., Bramer, T. & Edsman, K. Iontophoretic delivery of 5-aminolevulinic acid and its methyl ester using a carbopol gel as vehicle. *J. Controlled Release* **98**, 57–65 (2004).
  43. Lubrizol. Glucate™ DO Emulsifier. *The Lubrizol Corporation*  
<https://espanol.lubrizol.com/Personal-Care/Products/Product-Finder/Products-Data/Glucate-DO-emulsifier>.
  44. Dréno, B., Zuberbier, T., Gelmetti, C., Gontijo, G. & Marinovich, M. Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **33**, 15–24 (2019).
  45. Lubrizol. Novemer™ EC-1 Polymer: Multifunctional Liquid Polymer for Skin and Sun Care in O/W Emulsions. *The Lubrizol Corporation* <https://www.lubrizol.com/-/media/Lubrizol/Personal-Care/Documents/Literature/CP-30-Novemer-EC-1-Quick-Start->

Guide.pdf (2005).

46. Mechanisms of penetration and diffusion of drugs and cosmetic actives across the human Stratum corneum. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **202**, 114394 (2024).
47. Noboa, G., Márquez, L. & López, J. C. Tamaño de gota: Factor determinante sobre la velocidad de clarificación de una emulsión o/w. (2017).