



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“FORMULACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR A BASE DE**  
***Passiflora manicata* (Juss.) Pers.”.**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**  
**TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL**

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: AMPARO CELINA QUISNANCELA ROBLES**

**TUTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA, M.Sc.**

Riobamba - Ecuador  
2019

**©2019, Amparo Celina Quisnancela Robles**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo experimental:

**FORMULACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR A BASE DE *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.**, de responsabilidad de la Señorita Amparo Celina Quisnancela Robles, ha sido prolijamente revisado por los miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

BQF. Diego Renato Vinueza Tapia, M.Sc.

**DIRECTOR DE TRABAJO**

**DE TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla, M.Sc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Yo, Amparo Celina Quisnancela Robles, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de titulación, y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

---

Amparo Celina Quisnancela Robles

C.I. 060412997-3

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser la luz que guía mi vida, quien me ha brindado la sabiduría y vigor necesarios para alcanzar esta meta tan deseada.

A mis padres José Quisnancela y Nieves Robles quienes con sus consejos y enseñanzas lograron forjar en mí fortaleza y perseverancia para nunca darme por vencida, a mi hermana Fátima por siempre sacarme una sonrisa con sus ocurrencias, a mis amigos que han compartido buenos y malos momentos a lo largo de este camino, gracias a su amor, paciencia, apoyo y sobre todo por creer en mí.

A mi tutor BQF. Diego Vinueza quien con su ejemplo y conocimientos han hecho posible que se lleve a cabo el presente trabajo de titulación.

Amparito.

## **AGRADECIMIENTO**

Al Bqf. Diego Vinueza por su guía a lo largo del desarrollo de esta investigación, por sus sabios consejos recalcando que “a pesar de las adversidades se puede prosperar”. A la Bqf. Gisela Pilco por el apoyo, asesoría y recomendaciones para culminar este trabajo. A mi familia por su amor y comprensión, demostrando ser la fuente de inspiración de mi vida para seguir luchando por mis sueños. A mis amigas Majitos, Fari, Eli, Paito, Tefy, Cinty y Lesly por sus palabras de aliento y su apoyo incondicional en todo momento.

Amparito.

## ABREVIATURAS

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**FPS:** Factor de Protección Solar

**CCPC:** Comité Científico sobre Productos de Consumo

**FDA:** Food and Drug Administration

**IUV:** Índice de Radiación Ultravioleta

**HCl:** Ácido clorhídrico

**BCC:** Carcinoma de células basales

**SCC:** Carcinoma de células escamosas

**UV:** Ultravioleta

**GAE:** Equivalentes de ácido gálico

**EQ:** Equivalentes de quercetina

**HCl:** Ácido clorhídrico

**ml:** Mililitros

**nm:** Nanómetros

**rpm:** Revoluciones por minuto

**ppm:** Partes por millón

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	XV
SUMMARY .....	XVI
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Luz solar.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2. Radiación Ultravioleta.....</b>	<b>4</b>
<i>1.2.1. Factores que determinan la intensidad de la radiación UV .....</i>	<i>5</i>
<i>1.2.2. Índice de radiación ultravioleta (IUV) .....</i>	<i>5</i>
<i>1.2.3. Espectro de acción.....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.4. Efectos biológicos de la radiación UV.....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.4.1. Pigmentación de la piel.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.4.2. Estimulación de la queratogénesis.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.4.3. Formación del eritema.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.4.4. Fotoenvejecimiento .....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.4.5. Fotocarcinogénesis .....</i>	<i>8</i>
<b>1.3. La Piel .....</b>	<b>9</b>
<i>1.3.1. Estructura y función .....</i>	<i>9</i>
<i>1.3.1.1. Epidermis .....</i>	<i>9</i>
<i>1.3.1.2. Dermis.....</i>	<i>10</i>
<i>1.3.1.3. Hipodermis.....</i>	<i>10</i>
<b>1.3.2. Fotobiología cutánea .....</b>	<b>10</b>
<b>1.3.3. Biotipos cutáneos .....</b>	<b>11</b>
<i>1.3.3.1 Piel eudérmica o normal.....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.3.2. Piel grasa .....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.3.3. Piel seca .....</i>	<i>12</i>
<i>1.3.3.4. Piel mixta .....</i>	<i>12</i>
<i>1.3.3.5. Piel sensible .....</i>	<i>12</i>
<b>1.3.4. Fototipos Cutáneos.....</b>	<b>13</b>
<b>1.4. Cáncer de piel.....</b>	<b>13</b>
<i>1.4.1 Tipos de cáncer de piel.....</i>	<i>14</i>
<i>1.4.1.1 Carcinoma de células basales.....</i>	<i>14</i>
<i>1.4.1.2. Carcinoma de células escamosas.....</i>	<i>14</i>

1.4.1.3.	<i>Melanoma</i> .....	15
<b>1.5.</b>	<b>Fotoprotección</b> .....	<b>15</b>
1.5.1.	<i>Fotoprotección intrínseca de la piel</i> .....	15
1.5.2.	<i>Fotoprotección exógena</i> .....	15
1.5.3.	<i>Normas de fotoprotección</i> .....	16
<b>1.6.</b>	<b>Protectores solares</b> .....	<b>16</b>
1.6.1.	<i>Filtros solares</i> .....	16
1.6.2.	<i>Factor de protección solar</i> .....	17
1.6.3.	<i>Ingredientes perjudiciales de los protectores solares</i> .....	18
<b>1.7.</b>	<b><i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.</b> .....	<b>18</b>
1.7.1.	<i>Clasificación Taxonómica</i> .....	19
1.7.2.	<i>Descripción botánica</i> .....	19
1.7.3.	<i>Distribución geográfica</i> .....	19
1.7.4.	<i>Propiedades terapéuticas</i> .....	19
1.7.5.	<i>Actividad Fotoprotectora</i> .....	20

## CAPÍTULO II

<b>1.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>21</b>
2.1.	<b>Lugar de la investigación</b> .....	<b>21</b>
2.2.	<b>Recolección del material vegetal</b> .....	<b>21</b>
2.3.	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	<b>21</b>
2.3.1.	<i>Material vegetal</i> .....	21
2.3.2.	<i>Materiales de laboratorio</i> .....	21
2.3.3.	<i>Equipos</i> .....	22
2.3.4.	<i>Reactivos</i> .....	22
2.4.	<b>Técnicas y métodos</b> .....	<b>23</b>
2.4.1.	<b><i>Control de calidad de la droga cruda</i></b> .....	<b>23</b>
2.4.1.1.	<i>Determinación del contenido de Humedad</i> .....	23
2.4.1.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i> .....	24
2.4.1.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i> .....	24
2.4.1.4.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i> .....	25
2.4.2.	<b><i>Tamizaje fitoquímico</i></b> .....	<b>26</b>
2.4.3.	<b><i>Obtención del extracto seco de Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.</b> .....	<b>26</b>
2.4.4.	<b><i>Evaluación de los parámetros organolépticos del extracto seco de Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.</b> .....	<b>26</b>
2.4.5.	<b><i>Determinación de fenoles totales</i></b> .....	<b>27</b>
2.4.6.	<b><i>Determinación de flavonoides totales</i></b> .....	<b>27</b>

2.4.7.	<i>Determinación del factor de protección solar del extracto seco de Passiflora manicata (Juss.) Pers.</i> .....	28
2.4.8.	<i>Preparación de las formulaciones con extracto seco de Passiflora manicata (Juss.) Pers.</i> .....	29
2.4.9.	<i>Determinación del factor de protección solar in vitro de las formulaciones.</i> .....	29
2.4.10.	<i>Análisis Estadístico del FPS in vitro de las formulaciones</i> .....	30
2.4.11.	<i>Control de calidad de las formulaciones</i> .....	30
2.4.11.3.	<i>Determinación del signo de la emulsión</i> .....	31
2.4.12.	<i>Análisis Microbiológico de la mejor formulación</i> .....	31
2.4.13.	<i>Elaboración de la etiqueta del producto</i> .....	31

### CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS</b> .....	33
3.1.	<b>Análisis de la droga vegetal</b> .....	33
3.2.	<b>Tamizaje fitoquímico</b> .....	34
3.3.	<b>Rendimiento y eficiencia de la extracción</b> .....	35
3.4.	<b>Parámetros de calidad del extracto seco</b> .....	36
3.5.	<b>Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu</b> .....	36
3.6.	<b>Cuantificación de flavonoides totales</b> .....	37
3.8.	<b>Determinación del factor de protección solar <i>in vitro</i> de las formulaciones</b> .....	39
3.9.	<b>Análisis estadístico del FPS <i>in vitro</i> de las formulaciones</b> .....	40
3.10.	<b>Control de calidad de las formulaciones</b> .....	41
3.10.1.	<i>Análisis organoléptico</i> .....	41
3.10.2.	<i>Análisis Fisicoquímico</i> .....	42
3.10.3.	<i>Determinación de extensibilidad</i> .....	42
3.10.3.1.	<i>Determinación de pH</i> .....	42
3.10.4.	<i>Determinación del signo de la emulsión</i> .....	43
3.11.	<b>Mejor formulación de gel crema</b> .....	43
3.12.	<b>Análisis microbiológico de la mejor formulación</b> .....	44
3.13.	<b>Elaboración de la etiqueta del producto</b> .....	45
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	46
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	47

### BIBLIOGRAFÍA

### ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Clasificación del FPS según COLIPA.....	18
<b>Tabla 2-1:</b> Clasificación taxonómica de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.....	19
<b>Tabla 1-2:</b> Materiales utilizados.....	21
<b>Tabla 2-2:</b> Equipos.....	22
<b>Tabla 3-2:</b> Reactivos.....	22
<b>Tabla 4-2:</b> Formulaciones de gel cremas al 100%.....	29
<b>Tabla 1-3:</b> Control de calidad de la droga vegetal.....	33
<b>Tabla 2-3:</b> Tamizaje Fitoquímico de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de hojas de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.....	34
<b>Tabla 3-3:</b> Parámetros organolépticos del extracto seco de hojas de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.....	36
<b>Tabla 4-3:</b> Absorbancias del estándar de ácido gálico.....	36
<b>Tabla 5-3:</b> Resultados de la cuantificación de fenoles totales del extracto seco de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.....	37
<b>Tabla 6-3:</b> Absorbancias del estándar de quercetina.....	37
<b>Tabla 7-3:</b> Resultados de la cuantificación de flavonoides totales del extracto seco de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.....	38
<b>Tabla 8-3:</b> Resultados del FPS <i>in vitro</i> del extracto seco de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.....	39
<b>Tabla 9-3:</b> Resultados del FPS <i>in vitro</i> de las formulaciones.....	39
<b>Tabla 10-3:</b> Resultados del análisis organoléptico de las formulaciones.....	41
<b>Tabla 11-3:</b> Resultados de la determinación de extensibilidad de las formulaciones.....	42
<b>Tabla 12-3:</b> Resultados de la determinación de pH de las formulaciones.....	42
<b>Tabla 13-3:</b> Resultados de la determinación del signo de la emulsión de las formulaciones.....	43
<b>Tabla 14-3:</b> Composición de la formulación 1.....	44
<b>Tabla 15-3:</b> Resultados del análisis microbiológico de la formulación 1.....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Categorías de exposición a la radiación Ultravioleta.....	5
<b>Figura 2-1:</b> Sistema de protección solar recomendado, con mensajes sencillos y fáciles de recordar.....	6
<b>Figura 3-1:</b> Esquema de la epidermis.....	9
<b>Figura 4-1:</b> Longitud de onda UV y profundidad de penetración en la piel.....	10
<b>Figura 5-1:</b> Ingredientes perjudiciales de los protectores solares.....	18
<b>Figura 6-1:</b> <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.....	19
<b>Figura 1-3:</b> Etiqueta del protector solar FPS 42.....	45

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b> Curva de calibración de Ácido gálico .....	36
<b>Gráfico 2-3:</b> Curva de calibración de quercetina .....	38
<b>Gráfico 3-3:</b> Gráfica de intervalo de confianza de 95% de Tukey.....	40

## ÍNDICE DE ANEXOS

**Anexo A.** Material vegetal

**Anexo B.** Control de calidad del material vegetal

**Anexo C.** Obtención del extracto seco

**Anexo D.** Tamizaje fitoquímico

**Anexo E.** Cuantificación de fenoles totales

**Anexo F.** Cuantificación de flavonoides totales

**Anexo G.** Determinación del FPS *in vitro* del extracto seco *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

**Anexo H.** Formulación del gel crema

**Anexo I.** Determinación del FPS *in vitro* de las formulaciones

**Anexo J.** Control de calidad de las formulaciones

**Anexo K.** Producto final con la etiqueta

**Anexo L.** CONTRATO MARCO DE ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

**Anexo M.** Procedimiento normalizado para la determinación de extensibilidad

**Anexo N.** Procedimiento normalizado para la determinación de pH

**Anexo O.** Procedimiento normalizado para la determinación del signo de la emulsión

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de titulación fue formular un protector solar a base de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. Se realizó un tamizaje fitoquímico para la identificación cualitativa de los metabolitos presentes en el extracto. El extracto seco se obtuvo mediante maceración y posterior concentración en un rotavapor adecuado. La cuantificación de fenoles y flavonoides se realizó mediante métodos colorimétricos. Para la determinación del FPS se prepararon soluciones de 20, 100, 200, 500 y 1000 ppm del extracto seco y se procedió a la lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro en un rango de 290 a 320 nm con intervalos de 5 nm; posteriormente, se aplicó la ecuación de Mansur. Para las formulaciones se usaron únicamente ingredientes permitidos y bajo los límites establecidos por la FDA. A continuación, se realizó el control de calidad de las formulaciones, incluido el análisis microbiológico de la formulación con el mejor desempeño y se procedió a la elaboración de la etiqueta de acuerdo con la Norma NTE INEN 2867. En el tamizaje fitoquímico se identificaron metabolitos como triterpenos, esteroides, lactonas, cumarinas, azúcares reductores, compuestos fenólicos, flavonoides, entre otros. El contenido de fenoles totales en el extracto seco fue de  $240,00 \pm 10$  mg EAG/g extracto, mientras que de flavonoides se obtuvo  $259,68 \pm 3,69$  mg EQ/g extracto. La actividad fotoprotectora del extracto obtuvo valores significativos, donde se determinó que a 1000 ppm el FPS fue de 42. La formulación 1 presentó características óptimas y mantuvo el FPS de 42. Se estableció que, la mejor formulación a base de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. fue la 1, la misma que cumplió con los límites de aceptabilidad de los parámetros microbiológicos. Se recomienda realizar estudios de hipoalergenicidad, no comedogenicidad y toxicológicos con el fin de garantizar la seguridad del producto.

**Palabras clave:** <CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES>, <BIOQUÍMICA>, <EXTRACTO SECO>, <FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR>, <GEL CREMA>.

## SUMMARY

The objective of the present degree work was to formulate a sun protect based on *Passiflora Manicata* (Juss.) Pers. A phytochemical screening performed for the qualitative identification of the metabolites present in the extract. The dry extract obtained by maceration and subsequent concentration in a suitable rotavapor. The quantification of phenols and flavonoids was carried out employing colorimetric methods. For the determination of the SPF, solutions of 20, 100, 200, 500 and 1000ppm of the dry extract were prepared, and the absorbance in the spectrophotometer were read in a range of 290 to 32 nm with an interval of 5 nm; subsequently, the Mansur equation applied. For the formulations only allowed ingredients were used based on limits established by the FDA. Then, the quality control of the formulations was carried out, including the microbiological analysis of the formulation with the best performance and the label elaborated according to the NTE INEN 2867 Standard. In the phytochemical screening, they identified metabolites as triterpenes, steroids, lactones coumarins, reducing sugars, phenolic compounds, and flavonoids, among others. The content of total phenolic in the dry extract was 240.00 10mg EAC / g extract, whereas of flavonoids 259.68 3.69 mg EQ / g extract was obtained. Photo protective activity the extract obtained significant values, where determined that the FPS 1000 ppm was 42. Formulation 1 presented excellent characteristics keep the FPS 42. It was established that the best formulation based *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. it was the one, the same that comply with the limits of acceptability for microbiological parameters. It is recommended that studies hypoallergenic, no comedogenicity and toxicology to ensure product safety.

**KEY WORDS:** < EXACT AND NATURAL SCIENCES >, < BIOCHEMISTRY>, < DRY EXTRACT>, < PROTECTION SUN FACTOR>, < GEL CREAM>

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 15 años la capa de ozono se ha debilitado considerablemente, dando como resultado, que la radiación UV que llega a la superficie del territorio ecuatoriano exceda la escala permitida por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Meteorológica Mundial para la tolerancia humana. La radiación que llega a nuestro país es la más alta del planeta y representa una clara amenaza para los ecuatorianos, colombianos y peruanos, siendo la parte más afectada la subregión andina de estos países. Los efectos negativos de este fenómeno son el cáncer, ceguera, depresión inmunológica y mutaciones congénitas (Agencia Espacial Civil Ecuatoriana, 2008, p. 36).

El cáncer de piel es una de las principales consecuencias del deterioro de la capa de ozono, puesto que el ingreso de los rayos ultravioleta a las células daña el material genético (ADN) que se encuentra en su interior. Los daños a nivel del ADN pueden originar cambios en la morfología y fisiología de las células, alterando su ciclo normal permitiendo que estas crezcan y proliferen velozmente, pudiendo desencadenar la aparición de tumores benignos o malignos (Sordo y Gutiérrez ,2013, p. 2).

En el Ecuador, las ciudades con mayor incidencia de cáncer de piel se encuentran en la región Sierra, debido a que se ubican a una mayor altitud y por ende son susceptibles a una mayor exposición a la radiación UV, siendo el caso de Riobamba y Quito que están ubicadas a 2750 msnm y 2850 msnm, respectivamente. En Quito se ha registrado la tasa más alta de incidencia de cáncer de piel de todo el país, según el Registro Nacional de Tumores (RNT) de la Sociedad de Lucha contra el Cáncer (SOLCA) (Sociedad de Lucha Contra el Cáncer del Ecuador, 2017).

Según SOLCA, cada año se presentan aproximadamente 650 casos nuevos entre los residentes de Quito. En el hombre ocupa el segundo lugar en frecuencia por detrás del cáncer de próstata y en la mujer el tercer lugar luego del cáncer de mama y de tiroides (EL COMERCIO , 2017).

Por ello, actualmente se han propuesto estrategias para prevenir el cáncer de piel tomando en cuenta que el factor de riesgo más prevenible es la exposición al sol, entre ellas tenemos usar ropa protectora, buscar sombra cuando sea necesario, evitar las camas de bronceado, aplicar generosamente protección solar con un amplio espectro y resistente al agua con un factor de protección solar (SPF) de 30 o más en toda la piel expuesta (American Academy of Dermatology, 2018a).

Sin embargo, el uso de protectores solares podría resultar perjudicial para la salud ya que ciertos componentes tienen efectos tóxicos. Por ejemplo, el camphor, los benzofenones y oxibenzona son considerados disruptores hormonales y el PABA ha mostrado ser fotocancerígeno. Por otro lado, estos productos también son nocivos para el ecosistema marino, de acuerdo con un estudio del 2013 realizado en el Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados expuso que el intenso uso de los protectores solares es una fuente significativa de contaminantes químicos orgánicos e inorgánicos que pueden tener consecuencias ecológicas. Diversos experimentos demuestran que algunos de estos productos tienen efectos tóxicos sobre el fitoplancton marino, las algas y los peces (Coppini, 2018). En el caso específico de los corales, un estudio del 2015 aseguró que la oxibenzona, uno de los ingredientes más usados en los bloqueadores resulta peligrosa para estos organismos, donde se ha señalado que incluso una pequeña dosis de este compuesto es capaz de destruirlos (Danovaro, 2014, p. 2).

Actualmente, se fabrican protectores solares con ingredientes de origen biológico tales como los carotenoides, polifenoles, extractos de plantas, vitaminas, proteínas, ácidos grasos, etc. Estos compuestos poseen propiedades antioxidantes y antienvjecimiento, ya sea por vía oral o tópica. Muchos de estos productos no solo han demostrado su eficacia, sino también una seguridad apreciable y un alto valor como cosméticos (Guerra et al., 2018).

Por lo mencionado, la presente investigación se enfocó en la formulación de un protector solar a base de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers., especie conocida como flor de la pasión, la cual posee diferentes propiedades, donde se destaca su actividad fotoprotectora por su gran contenido de compuestos fenólicos y flavonoides. Se pretende lograr que el producto provea un factor de protección solar adecuado para el uso humano, garantizando que este sea seguro, eficaz y de calidad con bajo impacto ambiental por lo que se empleó excipientes no tóxicos para el ecosistema marino; también se llevó a cabo el respectivo control de calidad del material vegetal, del extracto seco y el producto terminado para así corroborar que cumple con los parámetros de calidad establecidos en las normas.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Formular un protector solar a base de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

### **Objetivos específicos**

- Determinar la cantidad de extracto seco que otorga un máximo factor de protección solar.
- Comparar el factor de protección solar obtenido en el extracto bruto y el presentado en las formulaciones.
- Controlar la calidad organoléptica y fisicoquímica de las formulaciones.
- Determinar la calidad microbiológica de la mejor formulación.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

### 1.1. Luz solar

Es la energía radiante electromagnética formada por el espectro de luz ultravioleta (100 a 400 nm), luz visible (400 a 760 nm) e infrarroja (760 a 1.800 nm), así como también longitudes de onda corta (ionizantes), y onda larga (microondas y radiofrecuencia) (Cabrera y López, 2006, p. 27).

### 1.2. Radiación Ultravioleta

Es una radiación electromagnética con una longitud de onda más corta que la luz visible azul o violeta comprendida entre 100 y 400 nm. En cantidades moderadas este tipo de radiaciones resultan favorables para la salud y desempeñan un papel primordial en la producción de vitamina D. No obstante, la exposición prolongada a ellas se asocia con diferentes tipos de cáncer cutáneo, quemaduras solares, envejecimiento acelerado de la piel, cataratas y otros trastornos oculares, e inhibición del sistema inmunitario (Organización Mundial de la Salud, 2018).

La radiación ultravioleta se divide en 3 regiones:

- **UV-A:** también conocida “luz negra” presenta una longitud de onda en el rango 315 a 400 nm, no es absorbida por la capa de ozono y se lo relaciona con el envejecimiento celular, la aparición de arrugas y algunos tipos de cáncer de piel (Bohórquez y Pérez, 2007, p. 98).
- **UV-B:** presenta una longitud de onda entre 280 a 315 nm, este tipo de radiación posee la energía suficiente para dañar el ADN de las células de la piel y constituye la causa principal de las quemaduras y los diferentes tipos de cáncer de piel. Es parcialmente absorbida por la capa de OZONO (Bohórquez y Pérez, 2007, p. 98).
- **UV-C:** presenta una longitud de onda entre 100 a 280 nm. Esta radiación se caracteriza por ser totalmente absorbida por el oxígeno y el ozono en la atmósfera (Bohórquez y Pérez, 2007, p. 98).

### 1.2.1. Factores que determinan la intensidad de la radiación UV

- Hora del día: la radiación UV es más intensa entre 10 a.m. y 4 p.m.
- Temporada del año: la radiación UV es más potente durante la primavera y el verano.
- Distancia desde el ecuador (latitud): la exposición a los rayos UV se reduce a medida que se aleja de la línea ecuatorial.
- Altitud: a mayor altitud menor atenuación de los rayos UV por la atmósfera, por tanto, la radiación UV resulta mayor que a nivel del mar.
- Formación nubosa: el efecto de la nubosidad puede variar, ya que en ciertos casos las nubes atenúan los rayos UV reduciendo su exposición, en cambio otros tipos de formaciones nubosas son capaces de reflejar los rayos UV e incluso incrementar su exposición.
- Reflejo de las superficies: la radiación UV puede ser reflejada en superficies tales como el agua, la nieve, la arena, el asfalto, o la hierba, lo que implica un aumento en la exposición a los rayos UV (American Cancer Society, 2017).

### 1.2.2. Índice de radiación ultravioleta (IUV)

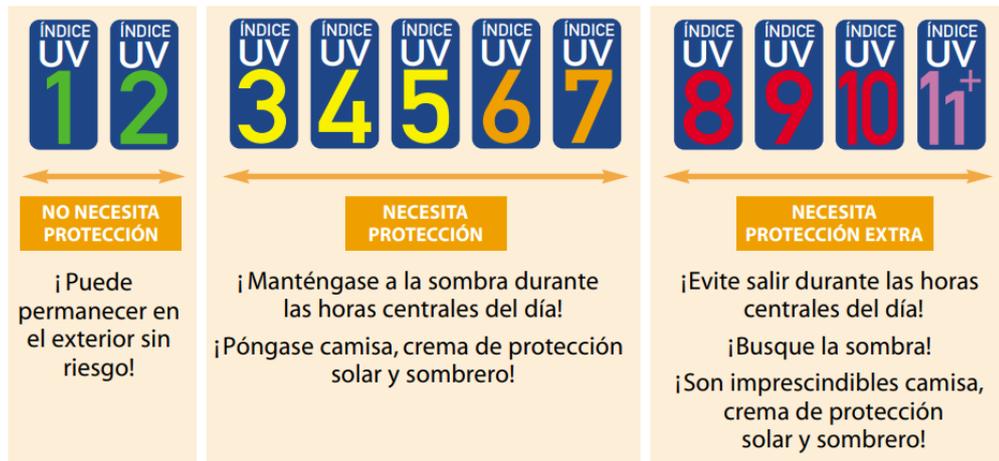
El IUV es una medida de la intensidad de la radiación UV sobre la superficie terrestre que tiene relación con los efectos sobre la piel humana, este debe presentarse como un valor único redondeado al número entero más próximo (OMS, 2003, p. 6).

Este índice se expresa como un valor superior a cero, cuanto más alto sea este, mayor será la probabilidad de lesiones cutáneas y oculares, las cuales tardan menos tiempo en aparecer. El IUV constituye una herramienta trascendental para aumentar la concienciación de la población sobre los riesgos de la exposición excesiva a la radiación UV y promover la adopción de medidas de protección. Al impulsar que la población disminuya su exposición al sol, se reducen tanto los efectos dañinos para la salud como los costos de la atención en los servicios de salud (OMS, 2003, p. 4).

CATEGORÍA DE EXPOSICIÓN	INTERVALO DE VALORES DEL IUV
<b>BAJA</b>	<b>&lt; 2</b>
<b>MODERADA</b>	<b>3 A 5</b>
<b>ALTA</b>	<b>6 A 7</b>
<b>MUY ALTA</b>	<b>8 A 10</b>
<b>EXTREMADAMENTE ALTA</b>	<b>11+</b>

**Figura 1-1:** Categorías de exposición a la radiación Ultravioleta

Fuente: (OMS,2003)



**Figura 2-1:** Sistema de protección solar recomendado, con mensajes sencillos y fáciles de recordar

Fuente: (OMS,2003)

### 1.2.3. *Espectro de acción*

Este describe la efectividad relativa de la radiación UV en producir una respuesta biológica determinada en una longitud de onda concreta. Para la piel, el espectro de acción más usado es la Dosis Eritematógena Mínima (MED), definido como la dosis efectiva de radiación ultravioleta que provoca enrojecimiento visible de la piel sin exposición previa. Los efectos perjudiciales de la radiación UV dependen de la dosis recibida y de la sensibilidad de la persona, y ende de los distintos fototipos cutáneos (Cortés et al., 2011, p. 324).

### 1.2.4. *Efectos biológicos de la radiación UV*

Los efectos biológicos de la radiación UV se asocian con su absorción por el ADN, donde se generan dímeros de pirimidina y sus productos, estos últimos son eliminados de manera eficiente a través de la reparación por escisión de nucleótidos o la reparación por escisión de bases, sin embargo los errores en estos procesos pueden dar lugar a mutaciones (Goldman et al., 2016, p. 86).

La radiación UV dependiendo de su intensidad puede provocar diferentes efectos biológicos en el ser humano como los rayos UVB que son genotóxicos, puesto que dañan al ADN, incrementan los niveles de estrés oxidativo e inducen la inflamación y la inmunosupresión (Ferreira et al., 2012, p. S136).

En cambio las exposiciones continuas a rayos UVA se relacionan con el daño celular oxidativo que incita al deterioro del ADN, alteraciones del tejido conectivo dérmico y epidérmico, y el

engrosamiento del estrato córneo, dichos factores se encuentran implicados en el proceso de fotoenvejecimiento y en los diferentes estadios de la carcinogénesis (Ferreira et al., 2012, p. S136).

#### *1.2.4.1. Pigmentación de la piel*

La epidermis posee un complejo mecanismo de protección contra la radiación del sol. Es común considerar a la melanina como el verdadero y único filtro para los rayos UV, no obstante, actualmente se le atribuye más importancia como filtrante solar a los queratinocitos, lípidos y proteínas epidérmicas (Capote et al., 2009, p. 161).

Los rayos UVA dan lugar a la pigmentación inmediata por fotooxidación de la melanina sin producir melanogénesis, dicho efecto es observable en la primera hora después de la exposición y a las 3 horas desaparece. Por otro lado la radiación UVA también realiza la transferencia inmediata de melanina, desde los melanosomas, hasta los queratinocitos (Capote et al., 2009, p. 161).

La radiación UVB es la responsable de la pigmentación verdadera, verdadero bronceado o melanogénesis, sin embargo, también origina una pigmentación directa por fotooxidación no enzimática, conocida como pigmentación retardada, con una aparición a las 24 h (máximo a las 100 h) y desaparición a las 160 h (Capote et al., 2009, p. 162).

#### *1.2.4.2. Estimulación de la queratogénesis*

Los rayos UVB inducen la mitosis de los queratinocitos y provocan engrosamiento del estrato córneo, que puede triplicarse a las 72 h de exposición solar y actúa como defensa frente a la radiación. A las 6 semanas de abandonar la exposición, el grosor de la epidermis vuelve a su nivel normal (Capote et al., 2009, p. 162).

#### *1.2.4.3. Formación del eritema*

Este proceso depende de varios factores:

- La absorción de fotones por parte de las proteínas de las células de la epidermis determina la aparición del eritema y su intensidad.
- Dicha absorción desencadena la desnaturalización de las proteínas.
- Después de varias horas, las células dañadas liberan vasodilatadores.

Los rayos UVB tienen mayor capacidad para producir un eritema que los UVA. No obstante debido a la gran cantidad de rayos UVA presentes en la radiación solar que llega a la tierra, de

modo que cerca del 15% de la capacidad del sol para producir eritema se debe a este tipo de radiación (Capote et al., 2009, pp. 162–163).

#### *1.2.4.4. Fotoenvejecimiento*

El fotoenvejecimiento es un proceso complejo que se caracteriza por cambios en apariencia y funciones de la piel como consecuencia de una exposición solar periódica, más que por el simple paso del tiempo. Este involucra la interacción de varios elementos, incluyendo metaloproteinasas, citocinas, especies reactivas de oxígeno (ROS) y otros mediadores de la inflamación sobre distintas estructuras celulares y extracelulares cutáneas (Gilaberte et al., 2003, pp. 272–273).

Aproximadamente el 90 % de los cambios en la piel asociados a la edad son resultado de la radiación UV crónicamente recibida, en particular por su acción sobre el ADN celular. La epidermis fotoenvejecida se caracteriza por cambios en su grosor, alternando áreas atróficas con hiperplásicas y, casi siempre, con algún grado de alteración nuclear en los queratinocitos; por parte existen evidentes modificaciones en el número, la distribución y la morfología de las células de Langerhans (Gilaberte et al., 2003, pp. 272–273).

Las alteraciones más significativas del fotoenvejecimiento se producen en la dermis, y se caracterizan por la presencia de material basófilo en la dermis media y superficial, fenómeno conocido como elastosis (Gilaberte et al., 2003, pp. 272–273).

#### *1.2.4.5. Fotocarcinogénesis*

La fotocarcinogénesis implica el desarrollo de cáncer de piel, como consecuencia de la interacción entre los rayos UV, la piel y el sistema inmunológico. La radiación UV a más de ser un completo carcinógeno que actúa como iniciador y promotor de tumores; también es inmunosupresor. Estas dos propiedades notables son clave para comprender el papel de los rayos UV en la carcinogénesis de la piel (Coelho et al., 2016, p. 4).

El desarrollo del cáncer de piel es un fenómeno complejo que involucra la acumulación gradual de cambios moleculares y celulares durante años o décadas. Este proceso consta de 3 etapas:

- Iniciación, paso esencialmente irreversible en el que ocurren alteraciones genéticas que finalmente conducen a la mutación del ADN.
- La promoción, que es la expansión clonal de las células iniciadas.
- Progresión, que es la transformación maligna (Coelho et al., 2016, p. 4).

### 1.3. La Piel

La piel es una estructura dinámica y compleja integrada por células, tejidos y elementos de la matriz extracelular que median una variedad de funciones: la piel constituye una barrera física de permeabilidad, protección contra los agentes infecciosos, termorregulación, sensaciones, protección contra la radiación UV, reparación de heridas y regeneración, y apariencia física externa (Fitzpatrick, 2009, p. 57).

#### 1.3.1. Estructura y función

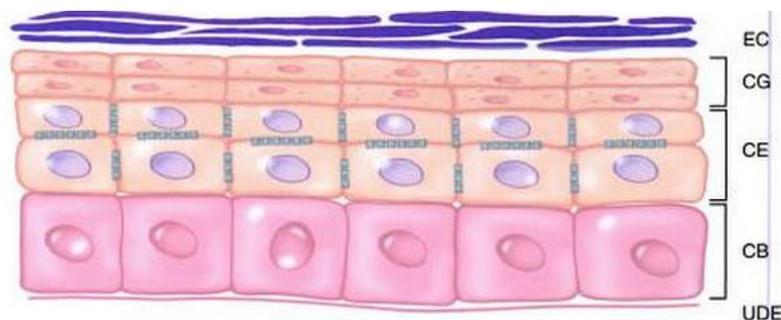
La piel está conformada por 3 regiones:

##### 1.3.1.1. Epidermis

Es la primera capa de la piel, se caracteriza por renovarse continuamente y da origen a los apéndices (uñas, unidades pilosebáceas y glándulas sudoríparas). Tiene un espesor de 0,4 mm a 1,5 mm. Constituye la barrera principal de permeabilidad, función inmunitaria innata, adhesión y protección contra la radiación UV (Fitzpatrick, 2009, p. 57).

Es un epitelio queratinizado y estratificado formada por 4 capas:

- Capa córnea o estrato córneo (EC): compuesta por células no viables, aquellas que han perdido su núcleo, dando lugar a una trama de proteínas y glucolípidos unidos mediante enlaces cruzados.
- Capa granulosa (CG): integrada por células nucleadas que contienen inclusiones citoplasmáticas denominadas gránulos queratohialinos.
- Capa espinosa (CE): formada por células espinosas caracterizadas por tener abundantes espigas desmosómicas.
- Capa Basal (CB): compuesta por células basales que descansan sobre la membrana basal de la unión dermoepidérmica (UDE).



**Figura 3-1:** Esquema de la epidermis.

Fuente: (Fitzpatrick,2009)

### 1.3.1.2. Dermis

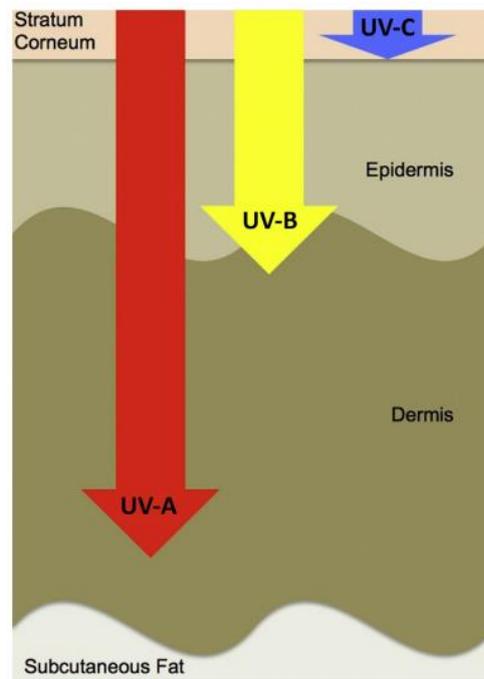
Capa formada por varios elementos fibrosos, filamentosos, difusos y celulares del tejido conjuntivo, donde se localizan redes vasculares, linfáticas y nerviosas, los apéndices derivados de la epidermis, además contiene diversos tipos células como fibroblastos, macrófagos, células mastoideas y células circulantes transitorias del sistema inmune (Fitzpatrick, 2009, p. 63).

### 1.3.1.3. Hipodermis

Es la capa más profunda de la piel encargada del aislamiento, integridad mecánica; su masa principal de células está compuesta por adipocitos, los cuales están organizados en lóbulos definidos por tabiques de tejido conjuntivo fibroso, dentro de estos se encuentra los nervios, vasos y linfáticos encargados de inervar, nutrir y drenar la región (Fitzpatrick, 2009, p. 66).

### 1.3.2. Fotobiología cutánea

La fotobiología cutánea está estrechamente relacionada con el espectro que abarca desde 290 nm a 800 nm y, este rango es el responsable del efecto fotobiológico que ayuda al fotodiagnóstico (Rodríguez, 2012, p. 34).



**Figura 4-1:** Longitud de onda UV y profundidad de penetración en la piel.

Fuente: (Baron and Suggs, 2014)

En este campo es trascendental comprender qué ocurre con los fotones cuando están en la superficie de la piel, estos pueden sufrir reflexión, dispersión o absorción. Según la ley de Grothus-Draper, la radiación puede dar lugar a un efecto biológico solo si se absorbe. Una vez que la radiación es absorbida por las moléculas en la piel (cromóforos), estas pasan de un estado transitorio a excitado, donde la energía se transfiere para originar calor o provocar reacciones fotoquímicas. Dando como resultado respuestas detectables a nivel celular y molecular que podrían conllevar a un problema clínico (Baron and Suggs, 2014, p. 2).

La profundidad de penetración de un fotón depende de la cantidad de elementos dispersos en la piel. La mayor dispersión ocurre en la dermis como resultado de la presencia de colágeno. La dispersión de la radiación depende de la longitud de onda; las más cortas se dispersan más, en tanto las más largas penetran más profundamente (Baron and Suggs, 2014, p. 3).

### ***1.3.3. Biotipos cutáneos***

Son los diferentes tipos de piel clasificados de acuerdo a su morfología y al contenido de secreciones lipídicas y acuosas que forman el manto hidrolipídico (Ferraro et al., 2016).

#### ***1.3.3.1 Piel eudérmica o normal***

Es la piel ideal caracterizada por tener un color uniforme y poros de tamaño normal, equilibrada en cuanto a la hidratación y a la oleosidad natural que debe tener, tipo aceite en agua, con superficie suave, lisa, fina y flexible. Posee una ligera capa de grasa que no llega a darle brillo aceitoso a la superficie. No presenta descamación y es muy difícil que presente espinillas o impurezas (Consejo Argentino de Ciencias Estéticas, n.d., p. 5).

#### ***1.3.3.2. Piel grasa***

Su apariencia es gruesa, los poros se observan dilatados y la secreción sebácea y sudorípara es abundante (hace que luzca húmeda y brillante). Su emulsión epicutánea es agua en aceite. Es más propensa a la aparición de espinillas y microquistes, no obstante, resiste mejor que las pieles normales y secas el desgaste provocado por el paso del tiempo (Grou, n.d., pp. 2–3).

Por sus condiciones, los dermatólogos distinguen tres tipos de pieles grasas:

- **Seborreica:** Tiene un brillo graso y con poros perceptibles a simple vista. Tolera muy bien los jabones y resiste los cambios de temperatura, excepto los muy extremos (Grou, n.d., pp. 2–3).

- Deshidratada: Posee una secreción sebácea modificada y disminuye la humedad retenida por la dermis, de modo que la piel a pesar de la grasa se vuelve opaca, se descama y es áspera al tacto. la piel se enrojece e irrita con facilidad y los poros son muy notorios (Grou, n.d., pp. 2–3).
- Asfíctica: Piel caracterizada por la presencia de quistes sebáceos y granitos, tiende a deshidratarse y requiere, esencialmente, humectantes. Su aspecto es marchito, principalmente en las zonas laterales del rostro y es muy sensible a los agentes astringentes (Grou, n.d., pp. 2–3).

#### 1.3.3.3. *Piel seca*

Se caracteriza por tener un espesor disminuido, escasa cantidad de grasa y secreción sudoral, por lo cual los poros son poco visibles. Posee una excesiva evaporación del agua, lo cual conlleva a una deficiente humectación de la piel con tendencia a la descamación. Además, presenta intolerancia a la intemperie e involución etaria precoz (Ferraro et al., 2016).

La dermatología la divide en dos categorías:

- Alípica: Tiene escasa secreción de grasa, con apariencia mate, delgada y suave al tacto. Sus poros son poco perceptibles, sin embargo, si no se cuida de forma adecuada tiende a agrietarse. En ella, las líneas de expresión y las arrugas se presentan con mayor facilidad y de manera prematura (Grou, n.d., pp. 2–3).
- Deshidratada: Posee una superficie árida, con tendencia a la descamación. Su aspecto es mate y generalmente ajado. Con apariencia áspera, su textura empeora con la edad. Se irrita con facilidad y es muy sensible a los cosméticos (Grou, n.d., pp. 2–3).

#### 1.3.3.4. *Piel mixta*

Se caracteriza generalmente por ser grasa en la zona de T (frente, nariz y mentón) y deshidratada o seca en los contornos. Posee tendencia a seca cuando es fina, presenta poros cerrados, escamas en las sienes y los pómulos. Tiene tendencia a grasa cuando muestra impurezas. Únicamente la zona de la cara que más grasa produce, conserva su naturaleza oleosa (Consejo Argentino de Ciencias Estéticas, n.d., p. 7).

#### 1.3.3.5. *Piel sensible*

Es aquella piel que es susceptible a las alergias e irritaciones, fácilmente enrojece y eleva su temperatura, está formada por muy finas fibras nerviosas que se mueven ante el mínimo estímulo o (contaminación, sol, cosméticos, etc.). La sensibilidad puede estar presente tanto en cutis graso como seco (Consejo Argentino de Ciencias Estéticas, n.d., p. 12).

#### **1.3.4. Fototipos Cutáneos**

El fototipo es la capacidad de adaptación al sol que tiene cada individuo desde su nacimiento, es decir, el conjunto de características que determinan si una piel se broncea o no, y en qué grado lo hace. Mientras más baja sea esta capacidad, menos se contrarrestarán los efectos de las radiaciones solares en la piel (Guavita, 2013, p. 31).

La clasificación de Fitzpatrick es una escala que categoriza la piel según su tez, color de cabello, propensión al bronceado y tolerancia a la radiación solar (Fernández y Gázquez, 2016, p. 102).

- *Fototipo I:* Piel rosada o muy blanca, cabello rubio, pelirrojo o castaño claro, ojos verdes o azules, suelen poseer muchas pecas, nunca se broncean siempre sufren quemaduras, su tiempo máximo de exposición es 10 minutos. Requieren protección máxima (FPS 50+) (Fernández y Gázquez, 2016, p. 102).
- *Fototipo II:* Piel clara, cabello rubio, pelirrojo o castaño claro, ojos verdes o azules, suelen presentar varias pecas, se broncean ligeramente siempre sufren quemaduras, su tiempo máximo de exposición es 20 minutos. Requieren protección máxima (FPS 50+) (Fernández y Gázquez, 2016, p. 102).
- *Fototipo III:* Piel clara ligeramente morena, cabello castaño, ojos grises, azules, posee escasas pecas, se broncean progresivamente sufren ligeramente quemaduras, su tiempo máximo de exposición es 30 minutos. Requieren protección alta (FPS 30 - 50) (Fernández y Gázquez, 2016, p. 102).
- *Fototipo IV:* Piel morena, cabello castaño o negro, ojos marrones, no presenta pecas, se broncea con tono intenso, rara vez sufre de quemaduras, su tiempo máximo de exposición es 40 minutos. Requieren protección moderada (FPS 30) (Fernández y Gázquez, 2016, p. 102).
- *Fototipo V:* Piel morena oscura, cabello y ojos oscuros, no tiene pecas, presenta un bronceado intenso nunca sufre quemaduras, su tiempo máximo de exposición es 50 minutos. Requieren protección mínima (FPS 15) (Fernández y Gázquez, 2016, p. 102).
- *Fototipo VI:* Piel, cabello y ojos oscuros, nunca sufre quemaduras su tiempo máximo de exposición es 60 minutos. Requieren protección mínima (FPS 15) (Fernández y Gázquez, 2016, p. 102).

#### **1.4. Cáncer de piel**

Es una enfermedad caracterizada por el crecimiento anormal y desordenado de células malignas en los tejidos de la piel, pudiendo generar metástasis y terminar con la vida del paciente (Muñoz et al., 2001, p. 92).

El cáncer de piel es una de las neoplasias más frecuentes, en algunos países ocupa el primer lugar en frecuencia. Su incidencia se ha elevado en los últimos años, por ello es importante un diagnóstico oportuno y un tratamiento adecuado (Castañeda y Eljure, 2016, p. 6).

El riesgo de un individuo de padecer este tipo cáncer depende de factores constitucionales y ambientales. Los factores constitucionales son: la historia familiar, cabello claro o rojo, múltiples nevos melanocíticos, sensibilidad a la exposición solar, etc. Mientras que el factor de riesgo ambiental más importante es la radiación UV (Castañeda y Eljure, 2016, p. 6).

### ***1.4.1 Tipos de cáncer de piel***

#### *1.4.1.1 Carcinoma de células basales*

Estos carcinomas son la neoplasia más frecuente de la piel y generalmente están relacionados con la exposición crónica y frecuente al sol. Dando lugar a células pluripotentes dentro del epitelio folicular con mutaciones dentro del gen p53. Otros surgen de la activación aberrante de la cascada de señalización originando una mutación en el gen PTCH1. Su crecimiento es lento, pero pueden ser agresivos a nivel local dependiendo de su subtipo. Raramente producen metástasis, y la morbilidad se debe principalmente a lesiones tratadas inadecuadamente. Los BCC suelen aparecer en pacientes mayores de 40 años (Craythorne y Al-Niami, 2017, p. 431).

Los BCC se observan como una protuberancia similar a una perla de color carne o una mancha de piel rosácea, se presentan con mayor frecuencia en individuos de piel blanca, aparecen usualmente a nivel de la cabeza, cuello y brazos, sin embargo, pueden aparecer en otras partes del cuerpo (American Academy of Dermatology, 2018b).

#### *1.4.1.2. Carcinoma de células escamosas*

Es un tumor maligno que nace de los queratinocitos escamosos en la epidermis cutánea o las membranas mucosas. Los SCC se observan frecuentemente en la piel blanca foto-dañada. Su potencial metastásico es del 3%; no obstante, en lesiones con factores de mal pronóstico adicionales, puede ser de hasta el 30%. Dichos factores incluyen el tamaño del tumor, diámetro superior a 2 cm y la profundidad de más de 4 mm, los sitios protegidos contra los rayos UV y las áreas de irradiación previa; paciente inmunodeprimidos; y el subtipo histológico del tumor (Craythorne y Al-Niami, 2017, p. 432).

El principal factor de riesgo para su desarrollo es la radiación UV; puesto que induce lesiones precursoras y se puede observar queratosis actínica o SCC in situ. Otros factores de riesgo incluyen la inmunosupresión crónica, afecciones cicatriciales crónicas, fumar, infección por el virus del papiloma humano (Craythorne y Al-Niami, 2017, p. 432).

El SCC se observa como una protuberancia roja y firme, un parche escamoso o una llaga que se cura y luego se vuelve a abrir, aparece generalmente en el borde de la oreja, la cara, el cuello, los brazos, el pecho y la espalda (American Academy of Dermatology, 2018b).

#### *1.4.1.3. Melanoma*

La incidencia anual de este tumor está aumentando dramáticamente. El melanoma es como una lesión pigmentada nueva o cambiante, que con frecuencia se encuentra en zonas expuestas al sol en individuos de piel clara; existen varios subtipos diferentes. Si se detecta y se trata temprano, el pronóstico es excelente, caso contrario aparecen lesiones más graves con gran rapidez (Craythorne y Al-Niami, 2017, p. 433).

### **1.5. Fotoprotección**

La fotoprotección tiene como objetivo prevenir el daño que ocurre en la piel como consecuencia de la exposición a las radiaciones ultravioletas (Agencia de Sanidad Ambiental y Consumo et al., 2009, p. 36).

#### *1.5.1. Fotoprotección intrínseca de la piel*

La piel cuenta mecanismos intrínsecos de defensa para su protección contra las radiaciones externas, entre ellos tenemos: el engrosamiento de la epidermis y dermis, la síntesis de melanina. Estos mecanismos varían de acuerdo con el fototipo, resultando insuficientes para prevenir el fotoenvejecimiento y la fotocarcinogénesis (Agencia de Sanidad Ambiental y Consumo et al., 2009, p. 36).

#### *1.5.2. Fotoprotección exógena*

Constituida por todas las estrategias encaminadas a reducir los efectos adversos de las radiaciones solares sobre la piel (Agencia de Sanidad Ambiental y Consumo et al., 2009, p. 36).

### **1.5.3. Normas de fotoprotección**

- Evitar la exposición directa de los rayos solares entre las 10 am y las 4 pm, siempre que sea posible.
- Buscar sombra para protegerse de la exposición directa de sol.
- Siempre que sea posible usar ropa, sombrero, gorra y gafas.
- Aplicar protector solar en toda la piel expuesta por lo menos 30 minutos antes de la exposición.
- Usar un protector con FPS de 30 o mayor.
- En caso de alta exposición, reaplicar el protector solar cada 2 o 3 horas (Bologna et al., 2018, p. 2317).

### **1.6. Protectores solares**

Son agentes exógenos que ayudan a prevenir que los rayos ultravioletas lleguen a la piel los mismos que varían su capacidad para proteger contra los rayos UVA y UVB. Actúan absorbiendo la radiación solar y transformándola en otro tipo de energía no perjudicial para la piel (Salazar, 2017, pp. 21–22).

#### **1.6.1. Filtros solares**

Constituyen el ingrediente principal de los protectores solares, su finalidad es reflejar o absorber de forma selectiva la radiación UV impidiendo que penetre en la piel y reducir el riesgo de desarrollar alguna patología como fotodermatosis, cáncer de piel, eritemas. Estos deben ser sustancias muy seguras que no provoquen reacciones adversas como alergias (Cmy, 2008, p. 14).

Los filtros solares se clasifican en:

- *Filtros físicos*: Son partículas minerales que reflejan o desvían la radiación del sol formando una barrera opaca que actúa a modo de pequeños espejos, requieren una gruesa capa de aplicación, pueden manchar la ropa, no obstante, actualmente se fabrican nuevas partículas microscópicas cosméticamente más aceptables. Su espectro acción es más amplio, proporcionan protección frente a los rayos UVA, UVB, luz visible e infrarrojos. Entre ellos tenemos el dióxido de titanio, el óxido de cinc, carbonato de calcio y magnesio, óxido de magnesio y el cloruro de hierro (Duro et al., 2003, p. 162).
- *Filtros químicos*: Son moléculas que absorben los fotones de la radiación solar modificando su estructura molecular, dichas modificaciones se traducen en cambios en su estructura química, por lo que a veces provocan dermatitis de contacto. Cada molécula presenta un espectro de

absorción óptimo que permite clasificarla en filtro UVA o filtro UVB. Son transparentes, no manchan la ropa y requieren una fina capa de aplicación, motivos por los cuales son más difundidos en el mercado y cosméticamente más aceptables. Entre ellos se destacan: PABA, salicilatos, ácido cinámico, alcanfor, y bencimidazoles como filtros UVB; benzofenonas, antranilatos y dibenzoilmetanos como filtros UVA (Duro et al., 2003, p. 162).

- **Filtros Biológicos:** Son moléculas de origen biológico que poseen gran capacidad antioxidante y antienviejamiento, su acción radica en el secuestro de los radicales libres responsables del envejecimiento cutáneo y del cáncer fotoinducido. Suelen añadirse en las nuevas formulaciones solares, puesto que presentan una acción coadyuvante de la actividad fotoprotectora de los filtros físicos y químicos, mejoran el aspecto y elasticidad de la piel y potencian el subsistema inmunológico cutáneo. Entre ellos se destacan los carotenoides, polifenoles, extractos de plantas, vitaminas, proteínas, ácidos grasos y otros compuestos (Garrote y Bonet, 2008, p. 65).

### 1.6.2. Factor de protección solar

El FPS es la relación entre la dosis eritematogénica mínima en una piel protegida por un producto de protección solar y la dosis eritematogénica mínima en la misma piel sin proteger. Por lo tanto, este valor indica el tiempo que se puede permanecer expuesto al sol con la piel protegida en comparación con la piel sin protección, hasta la aparición del eritema (Garrote y Bonet, 2008, p. 66).

El valor numérico que aparece en el envase de un protector solar se refiere básicamente al efecto protector frente a la radiación UVB, que es la que genera eritema. Sin embargo, la protección solar tiene que ser efectiva frente a ambas radiaciones UVA y UVB: un mayor FPS debe ser proporcional a la protección que ofrece frente a UVA. En el etiquetado de estos productos se tiene que indicar la categoría de protección y FPS (Garrote y Bonet, 2008, p. 66).

Tabla 1-1: Clasificación del FPS según COLIPA

TIPO DE FOTOPROTECCIÓN	FPS
Baja	2-4-6
Media	8-10-12
Alta	15-20-25
Muy Alto	30-40-50
Ultra	50+

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

Fuente:(Garrote y Bonet, 2008)

### 1.6.3. Ingredientes perjudiciales de los protectores solares

De acuerdo con el Comité Científico sobre Productos de Consumo (CCPC) de la Unión Europea existen ciertos componentes de los protectores solares que resultan peligrosos, ejemplos claros se muestran en la Figura 5-1.

Componente	Ingrediente	Perjuicios que puede causar
Filtros químicos	Benzofenones, oxibenzona	Disruptores hormonales y alergénicas
	Cinamatos	No se biodegradan
	Alcamfor (camphor)	Disruptores hormonales
	PABA	Fotocancerígeno (prohibido en Estados Unidos)
Conservantes	Parabenes	Disruptores hormonales, quizás alergénicos
	Urea	Alergénico
Perfumes	Aceires esenciales y otras sustancias <sup>18</sup>	Alergénicos
Disolventes, ligantes	Siloxanos, ciclometicona	No se biodegradan y se bioacumulan. Quizás disruptores hormonales, nocivos para el sistema reproductor y cancerígenos
	EDTA ( <i>ethylene diamine tetraacetic acid</i> )	Facilita que los animales acuáticos ingieran los metales pesados

**Figura 5-1:** Ingredientes perjudiciales de los protectores solares

Fuente: (Cmy,2008)

### 1.7. *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.



**Figura 6-1:** *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

Fuente: Jard. Bot. Madrid: 2046

### 1.7.1. Clasificación Taxonómica

**Tabla 2-1:** Clasificación taxonómica de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Orden</b>	Malpighiales
<b>Familia</b>	Passifloraceae
<b>Género</b>	<i>Passiflora</i>
<b>Especie</b>	<i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.

**Realizado por:** Amparo Quisnancela, 2019

**Fuente:** (Free and Open Access to Biodiversity Data, 2013)

### 1.7.2. Descripción botánica

Planta semileñosa trepadora más o menos pubescente. Se caracteriza por:

- *Hojas:* trilobadas, de margen aserrado, glabras en la cara adaxial, a veces lustrosas. Estípulas reniformes, glanduloadaserradas. Pecíolos con 4-9 glándulas (Esquerre et al., 2014, p. 63).
- *Brácteas:* ovadas, libres o connadas en la base, enteras.
- *Flores:* erectas de hasta 9 cm de diámetro y 6 cm de largo. Hipanto conspicuo, cilíndrico-campanulado, verde. Sépalos rojos en su parte adaxial, verdosos en su parte abaxial, oblongos, aristados en su parte apical. Pétalos rojos, oblongos. Corona filamentosa con 3-5 series, púrpura oscura. Opérculo recurvado, de blanco a amarotado, liso, margen minutamente denticulado. Nectaroteca blanca. Limen lobulado. Androginóforo de verdoso a blanquecino. Ovario de glabro a puberulento, verde, ovoide (Esquerre et al., 2014, p. 63).
- *Fruto:* baya, de ovoide a ovoide-oblongo, de hasta 5,5 x 3,7 cm, verdoso. Nombre vernáculo local: “luquín”, “lluquín”, “granadilla” (Esquerre et al., 2014, p. 63).

### 1.7.3. Distribución geográfica

Está distribuida a lo largo de los Andes, desde Venezuela hasta el Norte del Perú, en valles áridos entre 1500 y 2900 metros sobre el nivel del mar, o sea en climas templados o moderadamente fríos (Esquerre et al., 2014, p. 63).

### 1.7.4. Propiedades terapéuticas

Sus frutos son tóxicos y alucinógenos, popularmente llamadas "el diablito" en los países del norte de los Andes. Además, las hojas de esta planta son reportadas como agente antimicrobiano y tienen resistencia a los ataques helmínticos (Da Silva et al., 2013, p. 46).

Además, posee capacidad antioxidante debido a su gran contenido de flavonoides en sus hojas tales como vitexina, isovitexina y orientina, los cuales cumplen un papel protector contra el estrés oxidativo (Da Silva et al., 2013, p. 46).

Por otro lado, se ha demostrado que puede ser utilizada como sedante debido a su acción depresora en el sistema nervioso, así como también es considerada como ansiolítico por elevar el ácido gamma-aminobutírico (GABA).

#### ***1.7.5. Actividad Fotoprotectora***

Según un estudio se ha demostrado que *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. está compuesta químicamente por lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, grasas, azúcares reductores, saponinas, fenoles, taninos, flavonoides y antocinidinas. Donde se destaca los compuestos fenólicos y flavonoides que poseen capacidad antioxidante y son los responsables de la actividad fotoprotectora de la planta (Santamaría, 2016, p. 71).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

#### 2.2. Recolección del material vegetal

Las hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. fueron recolectadas en la provincia de Chimborazo en la Comunidad Miraflores, de la Parroquia Cañi del Cantón Colta, a una altura de 2833 m.s.n.m en las coordenadas:

**Latitud:** 1°46'34'' Sur

**Longitud:** 78°59'04'' Oeste

#### 2.3. Materiales, equipos y reactivos

##### 2.3.1. Material vegetal

Las hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. fueron seleccionadas, lavadas y secadas en la estufa a 50 °C en un tiempo adecuado, posteriormente se las pulverizó en un molino y finalmente fueron almacenadas en una funda de papel para su óptima conservación.

##### 2.3.2. Materiales de laboratorio

**Tabla 1-2: Materiales utilizados**

<ul style="list-style-type: none"><li>• Guantes, cofia, mascarilla, mandil</li><li>• Fundas de papel selladas</li><li>• Frascos ámbar</li><li>• Papel aluminio</li><li>• Papel filtro</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Espátula</li><li>• Vidrio reloj</li><li>• Balón esmerilado de 1000ml.</li><li>• Embudo de vidrio</li><li>• Probetas de 25 ml y 50 ml</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Micropipetas automáticas de 100µL y 1000µL</li><li>• Vasos de precipitación de 250ml, 500ml y 1000 ml</li><li>• Pipetas de 1ml, 2ml, 5ml y 10ml</li></ul>
---	--	---

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Algodón</li> <li>• Papel milimetrado</li> <li>• Toallas desechables Absorbentes</li> <li>• Cápsulas de porcelana</li> <li>• Crisoles de porcelana</li> <li>• Pinzas para crisol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balones de aforo de 10ml, 25ml,100ml,250ml,500ml y 1000ml.</li> <li>• Tubos de ensayo</li> <li>• Gradilla</li> <li>• Puntas desechables azules y amarillas.</li> <li>• Pera de succión</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Varillas de agitación</li> <li>• Piseta</li> <li>• Placas de vidrio de 20 cm x 20 cm</li> <li>• Portaobjetos</li> <li>• Regla</li> <li>• Envases COLAPSIBLE 60 g</li> </ul>
---	--	--

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

### 2.3.3. Equipos

Tabla 2-2: Equipos

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estufa Memmert SNB 400</li> <li>• Molino Arthur H. Thomas C.O.</li> <li>• Reverbero</li> <li>• Mufla IVYMEN N 8</li> <li>• Incubadora agitadora</li> <li>• Rotavapor BUCHI R110</li> <li>• Baño de circulación</li> <li>• Bomba de vacío</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desecador</li> <li>• Termómetro Láser</li> <li>• Balanza analítica</li> <li>• Cámara de flujo laminar</li> <li>• pH-metro</li> <li>• Incubadora Thermo Scientific™</li> <li>• Espectrofotómetro GENESYS 10S UV-VIS,</li> </ul>
--	---

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

### 2.3.4. Reactivos

Tabla 3-2: Reactivos

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Propilenglicol</li> <li>• Etanol al 96% y 70%</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Reactivo de Mayer</li> <li>• Reactivo de Wagner</li> <li>• Reactivo de Dragendorff</li> <li>• Reactivo de Baljet</li> <li>• Reactivo de Lieberman Burchard</li> <li>• Reactivo de catequinas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reactivo de Resinas</li> <li>• Reactivo de Fehling</li> <li>• Reactivo de tricloruro férrico</li> <li>• Reactivo de antocianidinas</li> <li>• Reactivo de Borntrager</li> <li>• Cloruro de sodio</li> <li>• Reactivo de Shinoda</li> <li>• Magnesio metálico</li> <li>• Carbonato de sodio a 7,5%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reactivo de Folin Ciocalteu</li> <li>• Estándar de quercetina</li> <li>• Ácido gálico</li> <li>• Nitrito de Sodio al 5%</li> <li>• Tricloruro de aluminio 10%</li> <li>• Hidróxido de sodio 1M</li> <li>• Solución de Azul de metileno</li> <li>• Ácido clorhídrico al 10%</li> </ul>
---	---	--

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

## 2.4. Técnicas y métodos

### 2.4.1. Control de calidad de la droga cruda

El control de calidad de la droga cruda se realizó por triplicado para la identificación de los componentes presentes en la planta.

#### 2.4.1.1. Determinación del contenido de Humedad

Este ensayo se realizó a través del método gravimétrico, basado en la pérdida de masa de la droga vegetal por desecación.

#### Procedimiento:

- Se pesó  $2 \text{ g} \pm 0,5 \text{ mg}$  de la muestra de material vegetal seco y triturado
- Se colocó el material vegetal en una cápsula de porcelana previamente tarada.
- Se ubicó la cápsula en el interior de la estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  por 3 horas.
- Una vez cumplido el tiempo se dejó enfriar en el desecador a temperatura ambiente.
- Se pesó la cápsula y nuevamente se la volvió a poner en la estufa por 1 hora.
- Se repitió el proceso descrito anteriormente hasta alcanzar una masa constante.
- Finalmente se aplicó la siguiente fórmula:

$$Hg = \frac{M2 - M1}{M2 - M} * 100$$

#### Donde:

**Hg:** porcentaje de pérdida en peso por desecación

**M2:** masa de la cápsula con la muestra

**M1:** masa de la cápsula de la muestra desecada

**M:** masa de la cápsula vacía

**100:** factor matemático

(Miranda, 2001, pp. 34–35)

#### 2.4.1.2. *Determinación de cenizas totales*

Este ensayo se efectuó mediante incineración en la mufla.

##### **Procedimiento:**

- Se pesó 2 g de la muestra de material vegetal seco y triturado
- Se colocó el material vegetal en un crisol de porcelana previamente tarado.
- Se carbonizó la muestra en un reverbero.
- Se ubicó el crisol en la mufla a 700-750°C por 2 horas.
- Trascurrido el tiempo de incineración se dejó enfriar en el desecador a temperatura ambiente.
- Se pesó el crisol y nuevamente se repitió el proceso descrito hasta alcanzar una masa constante empleando intervalos de tiempo de calentamiento- pesado de 30 minutos.
- Finalmente se aplicó la siguiente fórmula:

$$C = \frac{M2 - M}{M1 - M} * 100$$

##### **Donde:**

**C:** porcentaje de cenizas totales

**M:** masa del crisol vacío

**M1:** masa del crisol con la muestra

**M2:** masa del crisol con la ceniza

**100:** factor matemático

(Miranda, 2001, pp. 32–33)

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

##### **Procedimiento:**

- Se añadió de 15 a 20 ml de agua a las cenizas totales previamente obtenidas, tapando con vidrio reloj.
- Se calentó en el reverbero y se dejó hervir por 5 minutos.
- La solución obtenida se filtró con papel filtro.
- Se transfirió el papel filtro junto con el residuo al crisol inicial y se carbonizó en un reverbero.
- Se ubicó el crisol en la mufla a 700°C por 2 horas.
- Trascurrido el tiempo de incineración se dejó enfriar en el desecador a temperatura ambiente.
- Se pesó el crisol y nuevamente se repitió el proceso descrito hasta alcanzar una masa constante.
- Finalmente se aplicó la siguiente fórmula:

$$Ca = \frac{M2 - Ma}{M1 - M} * 100$$

**Donde:**

**Ca:** porcentaje de cenizas solubles en agua

**M2:** masa del crisol con las cenizas totales

**Ma:** masa del crisol con las cenizas solubles en agua

**M1:** masa del crisol con la muestra

**M:** masa del crisol vacío

**100:** factor matemático

(Miranda, 2001, p. 33)

#### 2.4.1.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

**Procedimiento:**

- Se añadió de 2 a 3 ml de ácido clorhídrico al 10% a las cenizas totales previamente obtenidas, tapando con vidrio reloj.
- Se calentó a baño maría por 10 minutos y se lavó el vidrio reloj con 5 ml de agua caliente.
- La solución obtenida se filtró con papel filtro.
- El residuo obtenido fue lavado con agua caliente y se añadió unas gotas de nitrato de plata hasta que no se muestre la presencia de cloruros.
- Se transfirió el papel filtro junto con el residuo al crisol inicial se desecó previamente y luego se carbonizó en un reverbero.
- Se ubicó el crisol en la mufla a 700°C por 2 horas.
- Trascurrido el tiempo de incineración se dejó enfriar en el desecador a temperatura ambiente.
- Se pesó el crisol y nuevamente se repitió el proceso descrito hasta alcanzar una masa constante.
- Finalmente se aplicó la siguiente fórmula:

$$B = \frac{M2 - M}{M1 - M} * 100$$

**Donde:**

**B:** porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

**M:** masa del crisol vacío

**M1:** masa del crisol con la muestra

**M2:** masa del crisol con las cenizas totales

**100:** factor matemático

(Miranda, 2001, p. 33)

#### **2.4.2. Tamizaje fitoquímico**

El tamizaje o screening fitoquímico constituye una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite la determinación cualitativa de los principales de los metabolitos presentes en una especie vegetal a través de reacciones de coloración o precipitación (Sharapin, 2000, p. 198).

Para la obtención de los extractos se pesaron 30 g de las hojas secas y realizaron extracciones sucesivas con solventes de menor a mayor polaridad (éter etílico, etanol y agua).

A los extractos obtenidos (etéreo, alcohólico y acuoso), se les realizaron los ensayos correspondientes al tamizaje fitoquímico siguiendo la metodología propuesta por Migdalia Miranda en el Folleto de Farmacognosia y productos naturales.

#### **2.4.3. Obtención del extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.**

- Se realizó una maceración por 72 horas del material vegetal seco y triturado en una solución de etanol - agua (70:10), con una relación planta-solvente (10:100) con el uso de la incubadora agitadora, posteriormente se filtró el extracto hidroalcohólico obtenido.
- Luego se colocó el extracto en un balón esmerilado limpio de peso conocido y se procedió a concentrar en el rotavapor a 210 rpm a 50°C hasta conseguir el extracto seco deseado.
- Finalmente se pesó el balón nuevamente junto con el extracto obtenido y se calculó el rendimiento de la extracción mediante la fórmula:

$$R = \frac{M_2}{M_1} \times 100\%$$

**Donde:**

**R** = % en g del extracto seco /100 g del material vegetal seco.

**M<sub>2</sub>** = Masa del extracto seco

**M<sub>1</sub>** = Masa del material vegetal seco molido sometido a extracción (g).

#### **2.4.4. Evaluación de los parámetros organolépticos del extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.**

- Determinación del olor, color, sabor y consistencia

#### **2.4.5. Determinación de fenoles totales**

- Se preparó soluciones estándar de ácido gálico de 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80ppm y 100 ppm.
- Se procedió a obtener la curva de calibración con las absorbancias obtenidas de las soluciones estándar de ácido gálico.
- Se preparó una solución madre de 1000 ppm (100 mg de extracto seco en 100 ml de agua destilada), a partir de la cual se obtuvo una solución de 200 ppm (5 ml de la solución de 1000 ppm en 25 ml de agua destilada), y se preparó una solución de 2 ppm (0,25 ml de la solución de 200 ppm en 25 ml de agua destilada).
- En balón aforado de 25 ml se colocó 250 µl de la solución de 2 ppm.
- Se agregó 15 ml de agua destilada y 1,25 ml del reactivo de Folin, se mezcló en un vortex por 30 segundos y se dejó en reposo por 8 minutos.
- Una vez cumplido el tiempo se añadió 3,75 ml de solución de carbonato de sodio a 7,5%, se aforó con agua destilada y se vortizó por 5 segundos.
- Se dejó en reposo en un lugar oscuro durante 2 horas.
- Trascurrido el tiempo se procedió a medir las absorbancias en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm.
- Se procedió a realizar los cálculos con las absorbancias obtenidas mediante la ecuación de la recta de la curva de calibración del estándar de ácido gálico.
- El contenido de fenoles totales del extracto seco se expresó como mg de equivalentes de quercetina por gramo de extracto seco de hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. (mg EAG/g).
- El ensayo se realizó por triplicado.

#### **2.4.6. Determinación de flavonoides totales**

- Se preparó soluciones estándar de quercetina de 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm y 100 ppm.
- Se procedió a obtener la curva de calibración con las absorbancias obtenidas de las soluciones estándar de quercetina.
- Se preparó una solución madre de 1000 ppm (100 mg de extracto seco en 100 ml de agua destilada), a partir de la cual se obtuvo una solución de 200 ppm (5 ml de la solución de 1000 ppm en 25 ml de agua destilada).
- En un tubo de ensayo se tomó 1ml de la solución de 200 ppm y se añadió 4 ml de agua destilada.
- Se adicionó 300 µl de solución de Nitrito de Sodio al 5%, luego se agito y se dejó en reposo durante 5 minutos a temperatura ambiente protegida de la luz.

- Una vez cumplido el tiempo se añadió 300 µl de solución de Cloruro de Aluminio al 10%, se vorterezó por 1 minuto y se dejó reposar por 5 minutos.
- Se colocó 2 ml de solución de Hidróxido de Sodio 1M, se volvió a vorterezar por 15 segundos y se dejó en reposar por 15 minutos en un lugar protegido de la luz a temperatura ambiente.
- Transcurrido el tiempo se procedió a medir la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm; el blanco usado se preparó de la misma manera que la solución a analizar con todos los reactivos excepto el extracto seco vegetal.
- Se procedió a realizar los cálculos con las absorbancias obtenidas mediante la ecuación de la recta de la curva de calibración del estándar de quercetina.
- El contenido de flavonoides totales del extracto seco se expresó como mg de equivalentes de quercetina por gramo de extracto seco de hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. (mg EQ / g).
- El ensayo se realizó por triplicado.

#### **2.4.7. Determinación del factor de protección solar del extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.**

- Se preparó una solución madre de 2000 ppm usando como disolvente agua destilada de la cual posteriormente se realizaron soluciones de 20 ppm, 200 ppm, 500 ppm y 1000 ppm.
- Se realizaron las lecturas de las absorbancias de cada una de las soluciones en el espectrofotómetro GENESYS 10S UV-VIS, empleando celdas de cuarzo de 1 cm en un rango de longitud de onda de 290-320 nm con intervalos de 5 nm (290 nm, 295 nm, 300 nm, 305 nm, 310 nm, 315 nm y 320 nm).
- Se calculó el FPS *in vitro* mediante la Ecuación de Mansur:

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

**Donde:**

**SPF:** Factor de Protección Solar.

**EE (λ):** espectro de acción eritemal.

**I (λ):** intensidad del espectro solar.

**Abs (λ):** absorbancia del producto.

**CF:** factor de corrección igual a 10, se determina mediante un filtro solar estándar que contiene 8% de homosalato con un FPS de 4

**2.4.8. Preparación de las formulaciones con extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.**

**Tabla 4-2:** Formulaciones de gel cremas al 100%

INGREDIENTES	FORMULACIONES								FDA%	
	1	2	3	4	5	6	7	8		
<b>FASE OLEOSA</b>										
Cera de abeja	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	3,5
Alcohol cetílico	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	12
Ácido esteárico	4	4	4	4	4	4	4	4	4	25
Trietanolamina	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,13
Dimeticona	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	5
Monoestearato de glicerilo	0,5	1	1,25	1,5	1,75	2	2,5	3	3	4
Lecitina de soya	3	2,5	2,25	2	1,75	1,5	1	0,5	0,5	N. A
Propilparabeno	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
<b>FASE ACUOSA</b>										
Carbopol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Propilenglicol	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3
Metilparabeno	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
Glicerina	2	2	2	2	2	2	2	2	2	6
Extracto vegetal	1	1	1	1	1	1	1	1	1	N.A
Fragancia	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	N. A
Agua destilada	csp 100g	csp 100g	csp 100g	csp 100g	csp 100g	csp 100g	csp 100g	csp 100g	csp 100g	N. A

**Realizado por:** Amparo Quisnancela, 2019

**Fuente:** (FDA,2018)

- Para la Fase Acuosa: se tomó una pequeña cantidad de agua en un recipiente seco, se calentó hasta 85°C y se añadió lentamente el carbopol con agitación constante hasta completa dispersión. Se retiró del calentamiento y se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 70-75°C, posteriormente se incorporó el extracto vegetal, el propilenglicol, la glicerina y el metilparabeno.
- Para la Fase Oleosa: en otro recipiente se fundieron todos los componentes grasos a 70-75°C.
- Se procedió a mezclar lentamente ambas fases hasta obtener una emulsión homogénea.
- Finalmente se dejó enfriar y se colocó en envases sépticos.

**2.4.9. Determinación del factor de protección solar in vitro de las formulaciones.**

- Las formulaciones se diluyeron en una solución de etanol-agua (60:40) hasta una concentración de 0,2 mg/ml.
- Se realizaron las lecturas de las absorbancias de cada una de las soluciones en el espectrofotómetro GENESYS 10S UV-VIS, empleando celdas de cuarzo de 1 cm en un rango de longitud de onda de 290-320 nm con intervalos de 5 nm (290 nm, 295 nm, 300 nm, 305 nm, 310 nm, 315 nm y 320 nm).
- Se calculó el FPS *in vitro* mediante la Ecuación de Mansur.

#### **2.4.10. Análisis Estadístico del FPS *in vitro* de las formulaciones**

Los valores obtenidos del FPS de las diferentes formulaciones se tabularon en el programa estadístico Minitab versión 18. Los resultados se analizaron con el test ANOVA y el post test Tukey considerando un nivel de significancia de  $p < 0,05$ .

Hipótesis nula: Todas las medias de FPS son iguales

Hipótesis alternativa: No todas las medias de FPS son iguales.

#### **2.4.11. Control de calidad de las formulaciones**

##### *2.4.11.1. Análisis organoléptico*

Se determinó el color, olor, aspecto y presencia de grumos de cada una de las formulaciones siguiendo la metodología descrita por Migdalia Miranda en el Folleto de Farmacognosia y productos naturales (Miranda, 2001, p. 56).

##### *2.4.11.2. Análisis Fisicoquímico*

###### \* Determinación de extensibilidad

- Se colocó la placa inferior de vidrio sobre una hoja de papel milimetrado.
- Se recuadró la placa y se trazaron las diagonales respectivas.
- Se colocó 1 g de muestra del gel crema sobre el punto de intersección.
- Se ubicó la placa superior sobre la inferior.
- Transcurrido 1 minuto se midió los diámetros y se determinó el diámetro medio.
- A partir de dicho valor se calculó la superficie del círculo formado.
- Se repitió el procedimiento con pesos sucesivos (50, 100, 200 y 500 g) colocándolos en el centro de la placa.
- Se representó la extensibilidad en mm<sup>2</sup> frente a los pesos empleados.

#### \* Determinación de pH

- Se calibró previamente el equipo con soluciones tampón de pH 4 ,7 y 10.
- Se lavó el electrodo con agua destilada y se secó con papel absorbente.
- En un vaso de precipitación de 50 ml se colocó 1 g de gel crema y se dispersó en 10 ml de agua destilada.
- Se introdujo el electrodo en la muestra y se midió el valor de pH a 20°C.

(García y Molinero, 2014, pp. 228–229)

#### *2.4.11.3. Determinación del signo de la emulsión*

- Se colocó una pequeña cantidad de gel crema en un portaobjetos.
- Se adicionó una gota de azul de metileno.
- Se observó el comportamiento del colorante: si el colorante se dispersa es una emulsión O/W y si la muestra repele el colorante y no se extiende es una emulsión W/O.

(García y Molinero, 2014, pp. 229–230)

#### *2.4.12. Análisis Microbiológico de la mejor formulación*

- Se procedió a la siembra en las cajas petri con los medios de cultivo respectivos para *Aerobios mesófilos*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mohos* y *levaduras* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- Se colocó las cajas petri en la incubadora durante el tiempo requerido para el crecimiento.
- Una vez cumplido el tiempo de incubación se realizó el conteo respectivo de las colonias y se reportó como UFC /g.

#### *2.4.13. Elaboración de la etiqueta del producto*

El diseño de la etiqueta para el gel crema la realizó el diseñador Jorge Barrera en el programa Adobe Illustrator, bajo la NTE INEN 2867: 2015 PRODUCTOS COSMÉTICOS.REQUISITOS.

La información colocada en la etiqueta deberá ser fácilmente legible y visible, y contener:

- Nombre y marca del producto
- Nombre o razón social del fabricante
- Nombre del país de origen

- El contenido nominal
- La lista de ingredientes precedida de la palabra “ingredientes” en nomenclatura INCI.
- Las precauciones particulares de empleo establecidas en las normas internacionales sobre ingredientes y las restricciones o condiciones de uso.
- El número de lote
- El número de Notificación sanitaria obligatoria

(Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2015, pp. 3–4)

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1. Análisis de la droga vegetal

**Tabla 1-3:** Control de calidad de la droga vegetal

Parámetros de calidad	Hojas de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers. %	Referencia USP 35-NF 30
<i>Humedad</i>	8,39% ± 0,11	≤ 10%
<i>Cenizas totales</i>	7,14% ± 0,27	≤ 12%
<i>Cenizas solubles en agua</i>	5,47% ± 0,19	≤ 7%
<i>Cenizas insolubles en Ácido Clorhídrico</i>	1,54% ± 0,09	≤ 5%

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

La determinación del contenido de humedad es transcendental para evitar el deterioro del material vegetal, valores elevados de este parámetro indican susceptibilidad microbiana, así como también hidrólisis de ciertos compuestos; el contenido de humedad fue de 8,39 %, encontrándose dentro de lo establecido en la USP 35-NF 30.

Las cenizas totales representan el contenido de elementos minerales (carbonatos, sulfatos, salicilatos, fosfatos) y materia extraña resultantes de la calcinación de una droga vegetal; el valor obtenido para este parámetro fue de 7,14 % y se encuentra dentro de lo señalado en la USP 35-NF30.

Las cenizas solubles en agua son una parte de las cenizas totales que representan los minerales propios del material vegetal, en cambio las cenizas insolubles en HCl representan la materia extraña como tierra o arena. El valor de cenizas solubles en agua fue de 5,47%, en tanto el resultado de las cenizas insolubles en ácido clorhídrico fue de 1,54%, dichos valores se encuentran dentro de las referencias de la USP 35-NF30.

De acuerdo con los resultados del control de calidad que se muestran en la Tabla 1-3, se comprobó que el material vegetal cumple con los parámetros de calidad demostrando que contiene una

cantidad poco significativa de impurezas y se encuentra en condiciones adecuadas para la investigación.

### 3.2. Tamizaje fitoquímico

**Tabla 2-3:** Tamizaje Fitoquímico de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

ENSAYOS	INDICADORES	TIPO DE EXTRACTO		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso
<b>SUDÁN</b> (Grasas/aceites)	<i>Color rojo (+)</i>	(++)	N/A	N/A
<b>DRAGENDORFF</b> (Alcaloides)	<i>Opalescencia (+)</i>	(-)	(-)	(-)
<b>MAYER</b> (Alcaloides)	<i>Turbidez (++)</i> <i>Precipitado (+++)</i>	(-)	(-)	(-)
<b>WAGNER</b> (Alcaloides)		(-)	(-)	(-)
<b>BALJET</b> (Lactonas-Cumarinas)	<i>Color rojo (++)</i> <i>Precipitado rojo (+++)</i>	(+)	(++)	N/A
<b>BORNTRAGER</b> (Quinonas)	<i>Color rosado (++)</i> <i>Color rojo (+++)</i>	N/A	(-)	N/A
<b>LIEBERMANN-BURCHARD</b> (triterpenos/esteroides)	<i>Rosado-azul</i> <i>Verde intenso visible</i> <i>Verde-oscuro-negro (+)</i>	(++)	(++)	N/A
<b>CATEQUINAS</b>	<i>Mancha verde carmelita (+)</i>	N/A	(-)	N/A
<b>RESINAS</b>	<i>Precipitado (+)</i>	N/A	(-)	N/A
<b>FEHLING</b> (Azúcares Reductores)	<i>Color rojo o precipitado rojo (+)</i>	N/A	(+++)	(+++)
<b>ESPUMA</b> (Saponinas)	<i>Espuma por más de 2 minutos (+)</i>	N/A	(-)	(+)
<b>CLORURO FÉRRICO</b> (Fenoles/Taninos)	<i>Rojo vino</i> <i>Verde intenso</i> <i>Azul</i> <i>Marrón presencia de ácidos alifáticos (+)</i>	N/A	(+++)	(+++)
<b>SHINODA</b> (Flavonoides)	<i>Amarillo, naranja y rojo intensos (presencia de alcohol amílico) (+)</i>	N/A	(+++)	(+++)
<b>ANTOCIANIDINAS</b> (Estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides)	<i>Color rojo a marrón en la fase amilica (+)</i>	N/A	(+++)	N/A

<b>MUCÍLAGOS</b> (Polisacáridos)	<i>Consistencia gelatinosa (+)</i>	N/A	N/A	(-)
<b>PRINCIPIOS</b>		N/A	N/A	(++)
<b>AMARGOS</b>				

---

Ausencia: (-). Evidencia baja: (+). Evidencia media: (++) . Evidencia alta: (+++)

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

A través de diferentes reacciones de coloración y precipitación se comprobó la presencia de diversos metabolitos.

En el extracto etéreo se identificó aceites y grasas a través del ensayo de Sudan. También se evidenció lactonas y cumarinas, triterpenos y esteroides mediante los ensayos de Baljet y Lieberman Buchard respectivamente, tanto en extracto etéreo como en el alcohólico. Mientras que en los extractos alcohólico y acuoso se logró la identificación de azúcares reductores, compuestos fenólicos y flavonoides por medio de los ensayos de Fehling, Tricloruro de hierro y Shinoda respectivamente. Y en lo que se refiere al ensayo de principios amargos realizado en el extracto acuoso se demostró que este posee un sabor ligeramente amargo y astringente.

De todos los compuestos identificados los de mayor interés, son los compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales poseen actividad antioxidante gracias a su capacidad de neutralizar radicales libres, razón por la cual son los responsables de la actividad fotoprotectora de la especie *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

Todos los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico fueron corroborados con un estudio anterior realizado por Santamaría. S en el 2016.

### 3.3. Rendimiento y eficiencia de la extracción

Se obtuvo 51,04 g de extracto seco a partir de 200 g de hojas secas y molidas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers., el rendimiento de la extracción fue 25,52% con una eficiencia de 4,25 %/h expresada como la razón del rendimiento y el tiempo necesario para alcanzar esa extracción (Bermejo et al., 2014, p. 673).

### 3.4. Parámetros de calidad del extracto seco

**Tabla 3-3:** Parámetros organolépticos del extracto seco de hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

Parámetros	Resultados
<i>Aspecto</i>	Sólido cristalino
<i>Color</i>	Rojo ladrillo
<i>Olor</i>	Característico de la planta
<i>Sabor</i>	Ligeramente amargo y astringente

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

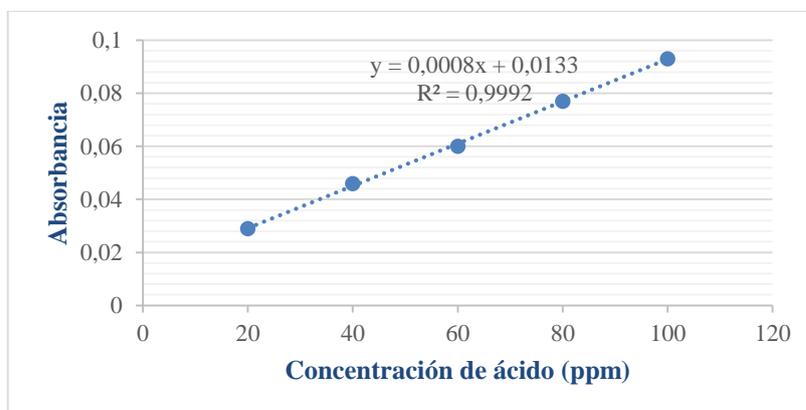
Se evaluaron las características organolépticas del extracto seco de las hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers., el cual presentó un aspecto sólido cristalino, color rojo ladrillo debido a la presencia significativa de taninos y flavonoides, olor característico a la planta y un sabor ligeramente amargo astringente, otorgado de igual forma a los taninos y antocianos (Ortiz et al., 2007, p. 305).

### 3.5. Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

**Tabla 4-3:** Absorbancias del estándar de ácido gálico

Concentración de ácido gálico (ppm)	Absorbancia
20	0,029
40	0,046
60	0,060
80	0,077
100	0,093

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019



**Gráfico 1-3:** Curva de calibración de Ácido gálico

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

A partir de la curva de calibración de ácido gálico, se obtuvo la siguiente ecuación de la recta:  $y = 0,0008x + 0,0133$  con  $R^2 = 0,9992$ ; en la cual se interpoló la absorbancia de la muestra para así obtener la concentración de fenoles totales, resultado que fue expresado como miligramos de ácido gálico por gramo de extracto seco, los resultados se observan en la Tabla 5-3.

**Tabla 5-3:** Resultados de la cuantificación de fenoles totales del extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

<b>Muestra</b>	<b>Fenoles totales expresados como mg EAG por g de extracto seco</b>	<b>Porcentaje</b>
Extracto seco de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.	240,00 ± 10	24 ± 1

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

El contenido de fenoles totales en el extracto seco de hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. fue de 240,00 mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco. Santamaría. S en el 2016 empleó diferentes subextractos de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. en donde obtuvo: 7,53 mg EAG/g en el subextracto hexánico; 8,45 mg EAG/g en el subextracto clorofórmico; 12,78 mg EAG/g en el subextracto de acetato de etilo y 14,21 mg EAG/en el subextracto etanólico. La diferencia entre los resultados podría deberse al lugar de recolección del material vegetal, ya que el contenido de metabolitos varía en función de la zona en la que se desarrolla la especie vegetal; así como también al empleo de un extracto más concentrado.

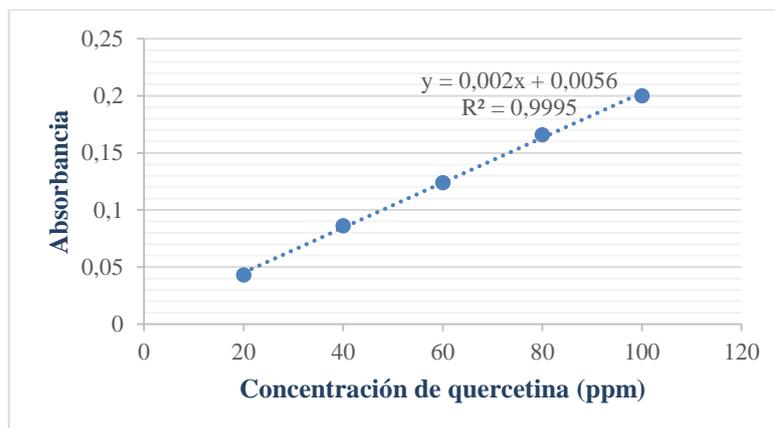
Gracias a este ensayo se demostró que esta especie vegetal contiene una cantidad significativa de compuestos fenólicos, los cuales están relacionados estrechamente con la actividad fotoprotectora y antioxidante.

### 3.6. Cuantificación de flavonoides totales

**Tabla 6-3:** Absorbancias del estándar de quercetina

<b>Concentración de quercetina (ppm)</b>	<b>Absorbancia</b>
20	0,043
40	0,086
60	0,124
80	0,166
100	0,200

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019



**Gráfico 2-3:** Curva de calibración de quercetina

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

A partir de la curva de calibración de quercetina, se obtuvo la siguiente ecuación de la recta:  $y = 0,0002x + 0,0056$  con  $R^2 = 0,9995$ ; en la cual se interpoló la absorbancia de la muestra para así obtener la concentración de flavonoides totales, resultado que fue expresado como miligramos de quercetina por gramo de extracto seco, los resultados se observan en la Tabla 7-3.

**Tabla 7-3:** Resultados de la cuantificación de flavonoides totales del extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

Muestra	Flavonoides totales expresados	
	como mg EQ por g de extracto seco	Porcentaje
Extracto seco de <i>Passiflora manicata</i> (Juss.) Pers.	259,68 ± 3,69	25,97±0,37

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

La cantidad de flavonoides encontrados en el extracto seco de hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. fue de 259,68 mg equivalentes de quercetina por gramo de extracto seco.

Santamaría. S 2016 encontró diferentes concentraciones de flavonoides en los subextractos de *Passiflora manicata* (Juss.): 5,24 mg EQ/g en el subextracto hexánico; 6,03 mg EQ/g en el subextracto clorofórmico; 9,67 mg EQ/g en el subextracto acetato de etilo y 11,96 mg EQ/g en el subextracto etanólico.

Da Silva. M, De Assis. A, Da Rocha. R, Gasparotto. J y Gazola. A evaluaron el extracto acuoso crudo de esta especie vegetal mediante un análisis en HPLC-DAD donde se identificaron los flavonoides isovitexina, vitexina e isoorientina relacionados con la actividad antioxidante, dado

que la capacidad del extracto para eliminar ROS y/o quelantes de metales parece estar ligada con la estructura química de los compuestos fenólicos (Da Silva et al., 2013, p. 47).

La diferencia en el contenido de flavonoides entre el resultado obtenido y los reportados en los estudios mencionado anteriormente, se debe a que en esta investigación se empleó un extracto concentrado y al lugar de recolección del material vegetal usado, puesto que el hábitat en el que crece la planta influye en el contenido de metabolitos.

Se demostró que la especie vegetal contiene una cantidad relevante de flavonoides, compuestos que actúan como antioxidantes y están vinculados con la actividad fotoprotectora.

### 3.7. Determinación del factor de protección solar *in vitro* del extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

**Tabla 8-3:** Resultados del FPS *in vitro* del extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

Concentración del extracto seco	FPS <i>in vitro</i>
20 ppm	1.3
200 ppm	10
500 ppm	27
1000 ppm	42

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

Se demostró la actividad fotoprotectora *in vitro* de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers., a una concentración de 1000 ppm presentando un FPS de 42 que corresponde a un nivel de protección muy alto. Por lo que se empleó esta concentración para la formulación del protector solar. Cabe recalcar que, esta concentración fue el límite en la lectura del espectrómetro debido a su escasa sensibilidad, de modo que no se pudo obtener las absorbancias de soluciones de mayor concentración del extracto seco.

### 3.8. Determinación del factor de protección solar *in vitro* de las formulaciones

**Tabla 9-3:** Resultados del FPS *in vitro* de las formulaciones

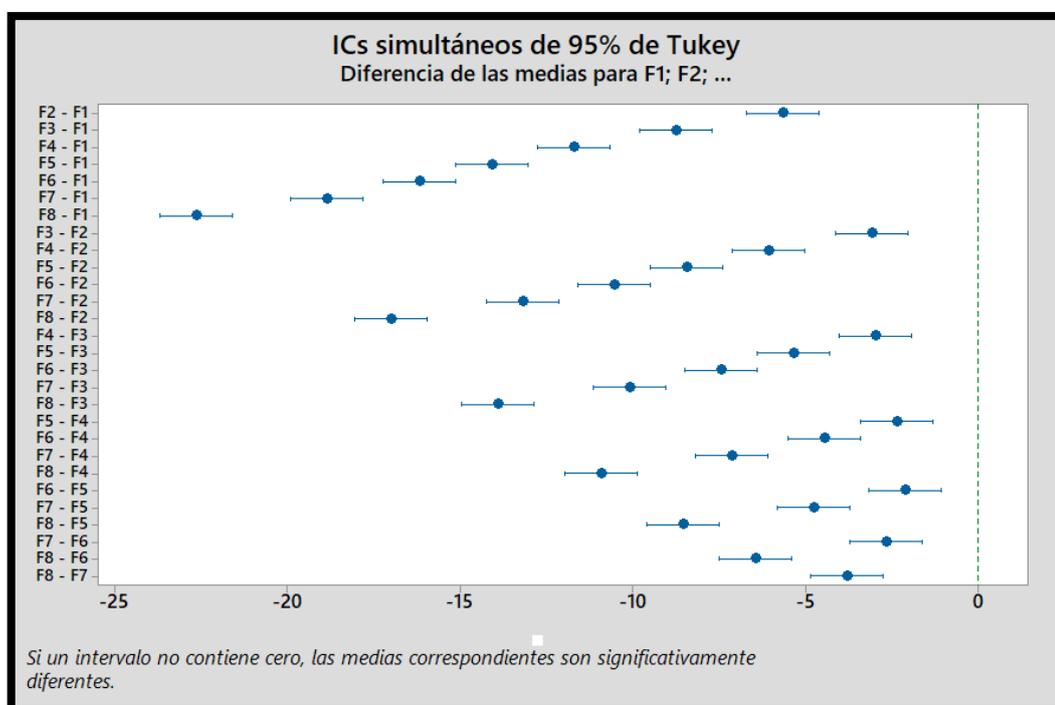
FORMULACIONES	FPS <i>in vitro</i>	NIVEL PROTECCIÓN SOLAR
F1	41,50 ± 0,44	Muy Alto
F2	35,84 ± 0,35	Muy Alto
F3	32,74 ± 0,32	Muy Alto

<i>F4</i>	29,97 ± 0,35	Alto
<i>F5</i>	27,40 ± 0,13	Alto
<i>F6</i>	25,30 ± 0,48	Alto
<i>F7</i>	22,64 ± 0,38	Alto
<i>F8</i>	18,84 ± 0,42	Alto

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

Las formulaciones F1, F2 y F3 presentaron un valor de FPS mayor que el del resto de formulaciones, y de acuerdo con lo establecido por COLIPA se considera que poseen un nivel de protección solar Muy Alto, a diferencia de las demás formulaciones que se ubican dentro del rango de nivel Alto. La formulación 1 presentó el valor de FPS más alto de 41,50.

### 3.9. Análisis estadístico del FPS *in vitro* de las formulaciones



**Gráfico 3-3: Gráfica de intervalo de confianza de 95% de Tukey**

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor dando como resultado  $p = 0,000$ ; por ende, se aceptó la hipótesis alternativa con  $p < 0,05$ ; lo cual indica que las medias son significativamente diferentes.

Además, se aplicó el test de Tukey, el resultado fue que los intervalos no contienen cero, por lo tanto, las medias correspondientes son significativamente diferentes. Por este motivo, todas las formulaciones de gel crema poseen valores de FPS promedio significativamente distintos. Esto indica que la variación en la cantidad de los emulsificantes influye en el valor del FPS *in vitro* de cada una de las formulaciones, puesto que aquellas formulaciones con mayor cantidad de

monoestearato de glicerilo y menor cantidad de lecitina presentaron un FPS menor que el del extracto seco, a diferencia de las formulaciones con mayor cantidad de lecitina y menor cantidad de monoestearato de glicerilo que mostraron un FPS cercano al del extracto.

Probablemente por una incompatibilidad principio activo - excipiente, debido a una posible interacción entre los grupos OH de los flavonoides C-glicósidos y los OH del monoestearato de glicerilo, produciendo una reacción de hidrolisis dando como resultado esteres de mayor masa molecular, los mismos que pueden ser insolubles e interferir en la determinación del FPS, provocando una disminución en su valor. No obstante, al no contar con el equipo necesario para realizar una calorimetría diferencial de barrido no se pudo determinar la fuente de dicha incompatibilidad.

Cabe recalcar actividad fotoprotectora es proporcional a la cantidad de extracto agregado a la formulación (Silva et al., 2016, p. 512).

### 3.10. Control de calidad de las formulaciones

#### 3.10.1. Análisis organoléptico

**Tabla 10-3:** Resultados del análisis organoléptico de las formulaciones

FORMULACIONES	PARÁMETRO			
	Color	Olor	Aspecto	Presencia de grumos
F1	Amarillo pastel	Mandarina	Homogéneo	No
F2	Amarillo pastel	Mandarina	Homogéneo	No
F3	Amarillo pastel	Mandarina	Homogéneo	No
F4	Amarillo pastel	Mandarina	Homogéneo	No
F5	Amarillo pastel	Mandarina	Homogéneo	No
F6	Amarillo pastel	Mandarina	Homogéneo	No
F7	Amarillo pastel	Mandarina	Homogéneo	No
F8	Amarillo pastel	Mandarina	Homogéneo	No

**Realizado por:** Amparo Quisnancela, 2019

Las ocho formulaciones de gel crema a base del extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. presentaron características organolépticas favorables, tales como un color amarillo pastel, aroma agradable a mandarina, así como también un aspecto homogéneo y libre de grumos.

### 3.10.2. Análisis Fisicoquímico

#### 3.10.2.1. Determinación de extensibilidad

**Tabla 11-3:** Resultados de la determinación de extensibilidad de las formulaciones

Formulaciones	EXTENSIBILIDAD (mm <sup>2</sup> )				
	0g	50 g	100 g	200g	500 g
F1	8012	10029	10936	11594	12667
F2	7581	9460	10522	11642	12473
F3	6809	8171	9676	10843	11834
F4	6793	8052	8700	9589	11122
F5	6540	7776	8577	9331	10342
F6	6433	7620	8454	8992	9374
F7	5775	6793	7659	8052	8992
F8	5708	6648	7276	7972	8454

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

Las formulaciones 6,7 y 8 presentaron una baja extensibilidad, la 3,4 y 5 mostraron una extensibilidad media, en tanto que la 1 y 2 manifestaron una mayor extensibilidad. Al no existir un valor de referencia para este parámetro se opta por las formulaciones con mayor extensibilidad, considerándolas que tienen mayor potencial debido a la facilidad de aplicación y sensación agradable al tacto.

#### 3.10.2.2. Determinación de pH

**Tabla 12-3:** Resultados de la determinación de pH de las formulaciones

FORMULACIONES	pH
F1	5,52
F2	5,60
F3	5,72
F4	5,68
F5	5,84
F6	5,77
F7	5,80
F8	5,75

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

Se debe considerar que, si el valor del pH de la piel se modifica con el uso del cosmético, puede ocasionar irritaciones cutáneas, por lo que es recomendable utilizar cosméticos con un pH similar al de la piel ya que resultan menos agresivos.

Los resultados de pH se encuentran dentro de un rango de 5,5 a 6; los cuales se asemejan al pH de la piel (5 y 6) (Vila y Miranda, 2012, p. 10). No obstante, la formulación 1 se consideró como la mejor, puesto que presentó un pH de 5,52, valor que corresponde a la acidez óptima del manto ácido de la piel (Pelta et al., 1997, p. 16).

### 3.10.3. Determinación del signo de la emulsión

**Tabla 13-3:** Resultados de la determinación del signo de la emulsión de las formulaciones

FORMULACIONES	SIGNO DE LA EMULSIÓN
<i>F1</i>	O/W
<i>F2</i>	O/W
<i>F3</i>	O/W
<i>F4</i>	O/W
<i>F5</i>	O/W
<i>F6</i>	O/W
<i>F7</i>	O/W
<i>F8</i>	O/W

Realizado por: Amparo Quisnancela, 2019

Las emulsiones constituyen el mejor vehículo para los protectores solares pues están constituidas por componentes tanto apolares como polares y pueden vehicular así sustancias fotoprotectoras de ambas polaridades.

La determinación del signo de la emulsión se realizó mediante un método de coloración empleando un colorante hidrófilo (azul de metileno), en todos los casos el colorante se dispersó, demostrando que todas las formulaciones de gel crema son emulsiones de tipo aceite en agua, es decir la fase dispersante es el agua y la fase dispersa es el aceite.

En general, las emulsiones O/W son las más utilizadas puesto que proporcionan sensación de frescor cuando se evapora el agua además de ser más agradables al aplicar (Badia y García, 2014, p. 170).

### 3.11. Mejor formulación de gel crema

La formulación 1 fue considerada la mejor como protector solar ya que presentó características organolépticas agradables, una extensibilidad apropiada, un pH de 5,52 y un FPS de 42, su composición se muestra en la Tabla 14-3.

**Tabla 14-3:** Composición de la formulación 1

<b>Ingredientes</b>	<b>Propiedad</b>	<b>Porcentaje %</b>	<b>Cantidad permitida por la FDA (%)</b>
<b>Fase Oleosa</b>			
Cera de abeja	Emoliente	0,9	3,5
Alcohol cetílico	Emoliente	2,3	12
Ácido esteárico	Emoliente	4	25
Trietanolamina	Emoliente/agente reticulante	0,1	0,13
Dimeticona	Emoliente/ humectante	0,5	5
Monoestearato de glicerilo	Emulsificante	0,5	4
Lecitina de soya	Emulsificante	3	N. A
Propilparabeno	Conservante	0,15	0,15
<b>Fase Acuosa</b>			
Carbopol	Agente espesante	0,2	1
Propilenglicol	Humectante	2	3
Metilparabeno	Conservante	0,1	0,2
Glicerina	Humectante	2	6
Extracto vegetal	Principio activo	1	N.A
Fragancia	Aromatizante	0,1	N. A
Agua destilada	Vehículo	csp 100g	N. A

**Realizado por:** Amparo Quisnancela, 2019

### 3.12. Análisis microbiológico de la mejor formulación

**Tabla 15-3:** Resultados del análisis microbiológico de la formulación 1

<b>PARÁMETRO</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>LÍMITES DE ACEPTABILIDAD</b>
<i>Aerobios mesófilos</i>	15 UFC/g	$\leq 5 \times 10^2$ UFC/g o ml
<i>Mohos y levaduras</i>	Ausencia	< 100 UFC/g o ml
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o ml

**Realizado por:** Amparo Quisnancela, 2019

El gel crema cumple con los límites de aceptabilidad de los parámetros microbiológicos para productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica establecidos en la Norma NTE INEN 2867: 2015 PRODUCTOS COSMÉTICOS.REQUISITOS, de acuerdo con estos

resultados se tiene que el producto fue elaborado en condiciones adecuadas y su aplicación en la piel es segura sin riesgo de infección por microorganismos patógenos.

### 3.13. Elaboración de la etiqueta del producto

La etiqueta cumple con los requisitos establecidos en la norma NTE INEN 2867: 2015 PRODUCTOS COSMÉTICOS.REQUISITOS, a excepción del número de notificación sanitaria obligatoria, puesto que el trámite se inicia una vez que se decide comercializar el producto, y en este caso el Protector solar fue elaborado solo con fines investigativos.

Por otro lado, la etiqueta fue colocada en el envase COLAPSIBLE 60 g, el cual fue elegido para contener el producto.



Figura 1-3: Etiqueta del protector solar FPS 42

## CONCLUSIONES

Se determinó que 0,1 g de extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. otorga un factor de protección solar de 42, categorizándolo con un nivel de protección solar Muy Alto.

Se comparó el valor del FPS del extracto bruto con las formulaciones, dando como resultado que el FPS varía notablemente en función de la cantidad de emulgentes que componen cada formulación, probablemente por una incompatibilidad principio activo - excipiente debido a una interacción entre los grupos OH de los flavonoides C-glicósidos y los OH del monoestereato de glicerilo, produciendo hidrolisis, dando como resultado esteres de mayor masa molecular, los cuales posiblemente sean la fuente de interferencia al momento de la determinación del FPS.

Se llevó a cabo el control de calidad organoléptico y fisicoquímico de las formulaciones, obteniéndose como resultado que todos los geles crema poseen características organolépticas aceptables, valores de pH dentro del rango de 5 a 6 (pH de la piel), sin embargo, presentaron diferente extensibilidad.

Se determinó la calidad microbiológica de la formulación 1, la cual fue elegida como la óptima, los resultados mostraron que el gel crema cumple con los límites de aceptabilidad establecidos en la Norma NTE INEN 2867: 2015 PRODUCTOS COSMÉTICOS.REQUISITOS, lo que significa que el producto fue elaborado en condiciones adecuadas y su aplicación en la piel es segura.

## **RECOMENDACIONES**

Es recomendable realizar la determinación del factor de protección solar del producto en un equipo especializado como el Labsphere UV2000S.

Se aconseja adquirir un espectrofotómetro de amplia gama que permita la lectura de mayores concentraciones del extracto seco

Se recomienda hacer estudios de hipoalergenicidad, no comedogenicidad así como también análisis toxicológicos, con el fin de garantizar la seguridad del producto.

Se propone llevar a cabo los estudios pertinentes de estabilidad para determinar el período de vida útil del gel crema.

## BIBLIOGRAFÍA

**Agencia de Sanidad Ambiental y Consumo, Asociación Lúpicos de Asturias y Juanes, J.** *Cómo prevenir los efectos nocivos del sol* [en línea]. 2009. Oviedo; Gijón: Agencia de Sanidad Ambiental y Consumo; Asociación Lúpicos de Asturias. ISBN 978-84-692-7716-4. Disponible en:

<https://www.astursalud.es/documents/31867/36183/Como+prevenir+efectos+sol.pdf/4d46f67f-b3fa-f204-16a5-d09b7ed75375>.

**Agencia Espacial Civil Ecuatoriana.** *EL INFORME HIPERIÓN* [en línea]. 2008. S.l.: s.n. Disponible en: [http://www.exa.ec/INFORME-HIPERION\\_files/INFORME-HIPERION.pdf](http://www.exa.ec/INFORME-HIPERION_files/INFORME-HIPERION.pdf).

**American Academy of Dermatology.** ¿Cómo puedo prevenir el cáncer de piel? [en línea]. 2018. [Consulta: 8 agosto 2018]. Disponible en: <https://www.aad.org/public/spot-skin-cancer/espanol/como-puedo-prevenir-el-cancer-de-piel>.

**American Academy of Dermatology.** Types of skin cancer. [en línea]. 2018. [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: <https://www.aad.org/public/spot-skin-cancer/learn-about-skin-cancer/types-of-skin-cancer>.

**American Cancer Society.** ¿Qué es la radiación ultravioleta (UV)? [en línea]. 2017. [Consulta: 29 diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel/prevencion-y-deteccion-temprana/que-es-la-radiacion-de-luz-ultravioleta.html>.

**Badia, M.A. y García, E.** *Actividades en cabina de estética*. 2014. S.l.: Ediciones Paraninfo, S.A. ISBN 978-84-9732-567-7.

**Baron, E.D. y Suggs, A.K.** Introduction to Photobiology. *Dermatologic Clinics*, 2014, vol. 32, no. 3, pp. 255-266. ISSN 07338635. DOI 10.1016/j.det.2014.03.002.

**Bermejo, A., et.al.** Determinación de parámetros químico- físico de las tinturas al 20% obtenidas de las hojas, tallos y frutos de *Melia azedarach L* (Pursiana). *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2014, vol. 13, no. 5, pp. 670-680.

**Bohórquez, J. y Pérez, J.** Vista de Radiación ultravioleta. [en línea]. 2007. [Consulta: 6 agosto 2018]. Disponible en: <https://revistas.lasalle.edu.co/index.php/sv/article/view/1520/1396>.

**Bologna, J.L., Schaffer, J.V. y Cerroni, L.** *Dermatología*. 2018. S.l.: Elsevier Health Sciences. ISBN 978-84-9113-463-3.

**Cabrera, C.M. y López, M.A.** Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel. *Oncología (Barcelona)* [en línea]. 2006, vol. 29, no. 7. [Consulta: 28 diciembre 2018]. ISSN 0378-4835. DOI 10.4321/S0378-48352006000700003. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-48352006000700003&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352006000700003&lng=en&nrm=iso&tlng=en).

**Capote, A., Bravo, T. y López, M.Y.** *Agentes físicos* [en línea]. La Habana:2009, Editorial Ciencias Médicas. ISBN 978-959-212-371-7. Disponible en: [https://www.paho.org/cub/index.php?option=com\\_docman&view=download&category\\_slug=منت&alias=892-agentes-fisicos-la-habana-2009&Itemid=226](https://www.paho.org/cub/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=منت&alias=892-agentes-fisicos-la-habana-2009&Itemid=226).

**Castañeda, P. y Eljure, J.**, El cáncer de piel, un problema actual. 2016, pp. 9.

**CMY, C.** Sol y protectores solares. 2008, pp. 16.

**Coelho, M.V., Matos, T.R. y Apetato, M.**, 2016. The dark side of the light: mechanisms of photocarcinogenesis. *Clinics in Dermatology*, vol. 34, no. 5, pp. 563-570. ISSN 0738081X. DOI 10.1016/j.clindermatol.2016.05.022.

**Consejo Argentino de Ciencias Estéticas.** Biotipos cutáneos. s.f. pp. 21.

**Coppini, M.V.** Los efectos del protector solar en el medio ambiente. *Territorio Geoinnova - SIG y Medio Ambiente* [en línea]. 2018. [Consulta: 8 agosto 2018]. Disponible en: <https://geoinnova.org/blog-territorio/medio-ambiente-e%e2%80%8bfectos-protector-solar-medio-ambiente/>.

**Cortés, A.J., et.al.** El índice ultravioleta en el ámbito laboral: un instrumento educativo. *Medicina y Seguridad del Trabajo*. 2011, vol. 57, no. 225, pp. 319-330. ISSN 0465-546X. DOI 10.4321/S0465-546X2011000400006.

**Craythorne, E. y Al-Niami, F.** Skin cancer. *Medicine*. 2017, vol. 45, no. 7, pp. 431-434. ISSN 13573039. DOI 10.1016/j.mpmed.2017.04.003.

**Da Silva, M., et.al.** *Passiflora manicata* (Juss.) Pers. aqueous leaf extract protects against reactive oxygen species and protein glycation in vitro and ex vivo models. *Food and Chemical Toxicology*.2013, vol. 60, pp. 45-51. ISSN 02786915. DOI 10.1016/j.fct.2013.07.028.

**Danovaro, R.** Sunscreens Cause Coral Bleaching by Promoting Viral Infections. [en línea]. 2014. [Consulta: 8 agosto 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2291018/>.

**Duro, E., Campillos, M.T. y Causín, S.** El sol y los filtros solares. *Medifam* [en línea].2003, vol. 13, no. 3. [Consulta: 14 enero 2019]. ISSN 1131-5768. DOI 10.4321/S1131-57682003000300005. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1131-57682003000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1131-57682003000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=en).

**Esquerre, B., et.al.** EL GÉNERO PASSIFLORA L. (PASSIFLORACEAE) EN EL DEPARTAMENTO DE LAMBAYEQUE, PERÚ. *Acta Botánica Malacitana*. 2014, pp. 16.

**Fernández, F.J.L. y Gázquez, A.E.** *Estructuras administrativas en el ámbito sanitario*.2016. S.l.: ACCI (Asoc. Cultural y Científica Iberoameric.). ISBN 978-84-16956-33-3.

**Ferraro, G.E., et.al.** *Fitocosmética: Fitoingredientes y otros productos naturales* [en línea]. 2016. S.l.: EUDEBA. ISBN 978-950-23-4620-5. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=9uBDDAAQBAJ&pg=PT1&dq=BIOTIPOS+CUT%C3%81NEOS&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiwr42npNPfAhWJm-AKHTHwAPwQ6AEIKDAA#v=onepage&q=BIOTIPOS%20CUT%C3%81NEOS&f=false>.

**Ferreira, T., Bazanella, F. y Catucci, J.** Considerations on photoprotection and skin disorders. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*.2012, vol. 139, pp. S135-S143. ISSN 01519638. DOI 10.1016/S0151-9638(12)70125-4.

**Fitzpatrick, T.B.** *Dermatología En Medicina General* [en línea]. 2009. S.l.: Ed. Médica Panamericana. ISBN 978-950-06-1700-0. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?id=7VUtAPt1FH0C&pg=PA57&dq=LA+PIEL+y+su+funcion&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwj\\_gZedrs7fAhXkdd8KHby6CZoQ6AEILTAB#v=onepage&q=LA%20PIEL%20y%20su%20funcion&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=7VUtAPt1FH0C&pg=PA57&dq=LA+PIEL+y+su+funcion&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwj_gZedrs7fAhXkdd8KHby6CZoQ6AEILTAB#v=onepage&q=LA%20PIEL%20y%20su%20funcion&f=false).

**García, M.L. y Molinero, M.J.** *Formulación magistral. Prácticas de laboratorio.* 2014. S.l.: Ediciones Paraninfo, S.A. ISBN 978-84-283-9941-8.

**Garrote, A. y Bonet, R.** Fotoprotección. Factores de protección y filtros solares. *Offarm.* 2008, vol. 27, no. 5, pp. 63-73. ISSN 0212-047X.

**Gilaberte, Y., et.al.** Fotoprotección. [en línea]. 2003, vol. 94, no. 5. Disponible en: <http://www.dermatologia.hc.edu.uy/images/stories/6.1%20fotoproteccin.pdf>.

**Goldman, L., Ausiello, D.A. y Schafer, A.I.** *Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna* [en línea]. 2016. S.l.: Elsevier España. ISBN 978-84-9113-044-4. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=SLQyDQAAQBAJ&pg=PA86&dq=EFFECTOS+BIOL% C3%93GICOS+DE+LA+RADIACI% C3%93N+UV&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi3jc2QlSbfAhVETd8KHQuDY0Q6AEIKDAA#v=onepage&q=EFFECTOS%20BIOL% C3%93GICOS%20DE%20LA%20RADIACI% C3%93N%20UV&f=false>.

**Grou, A.** *Tipos de piel* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: <https://www.locatel.com.ve/uploads/contenido/c4a5ad27070c7dd54850f7a8d1eb42082234e1e5.pdf>.

**Guavita, D.** *Fototipos cutáneos.* 2013. S.l.: s.n.

**Guerra, M.M., Alemán, A.D. y Román, Y.** Fotoprotección y fotodaño en la niñez y la adolescencia. *MEDISAN.* 2018, vol. 22, no. 8, pp. 804-815. ISSN 1029-3019.

**Miranda, M.** *Farmacognosia y productos naturales.* 2001. S.l.: Editorial Félix Varela. ISBN 978-959-258-129-6.

**Muñoz, O., et.al.** *Prevención de Enfermedades de la Piel.* 2001. S.l.: Universidad de Cuenca. ISBN 978-9978-14-075-8.

**Organización Mundial de la Salud.** *Índice UV solar mundial* [en línea]. 2003. S.l.: s.n. Disponible en: <https://www.who.int/uv/publications/en/uvispa.pdf>.

**Organización Mundial de la Salud.** OMS | Radiación ultravioleta. *WHO* [en línea]. 2018. [Consulta: 29 diciembre 2018]. Disponible en: [http://www.who.int/topics/ultraviolet\\_radiation/es/](http://www.who.int/topics/ultraviolet_radiation/es/).

**Ortiz, F.G., Ortiz, P.P.G. y Muela, M.G.** *Técnicas de servicio y atención al cliente.* 2007. S.l.: Editorial Paraninfo. ISBN 978-84-9732-583-7.

**Pelta, R., Fernández, R.P. y Rojo, E.V.** *Piel y alergia.* 1997. S.l.: Ediciones Díaz de Santos. ISBN 978-84-7978-298-6.

**Rodríguez, M.T.** *Eficacia terapéutica del baño-PUVA en psoriasis: primer estudio en la Comunidad Autónoma de Galicia.* [en línea]. 2012. S.l.: s.n. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en:  
[https://books.google.com/books/about/Eficacia\\_terep%C3%A9utica\\_del\\_ba%C3%B1o\\_PUVA\\_en.html?id=0g-WSXgpVwAC](https://books.google.com/books/about/Eficacia_terep%C3%A9utica_del_ba%C3%B1o_PUVA_en.html?id=0g-WSXgpVwAC).

**Salazar, M.** *SOL Y CÁNCER DE PIEL.* 2017 S.l.: 3Ciencias. ISBN 978-84-947803-6-3.

**Santamaría, S.** *EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA in vitro DE EXTRACTOS DE Passiflora manicata (Juss.) Pers.* [en línea]. 2016. S.l.: s.n. Disponible en:  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4873/1/56T00613%20UDCTFC.pdf>.

**Servicio Ecuatoriano de Normalización.** NTE INEN 2867 - Productos Cosméticos. Requisitos. *manualzz.com* [en línea]. 2015. [Consulta: 15 enero 2019]. Disponible en:  
<https://manualzz.com/doc/5580993/n-te-inen-2867---servicio-ecuadoriano-de-normalización>.

**Sharapin, N.** *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos.* 2000. S.l.: Convenio Andrés Bello. ISBN 978-958-698-001-2.

**Sociedad de Lucha Contra el Cáncer del Ecuador.** Cáncer de piel. *SOLCA* [en línea]. 2017. [Consulta: 8 agosto 2018]. Disponible en: <http://www.solcaquito.org.ec/index.php/en/el-cancer/tipos-de-cancer/cancer-de-piel>.

**Sordo, C. y Gutiérrez, C.** Cáncer de piel y radiación solar: experiencia peruana en la prevención y detección temprana del cáncer de piel y melanoma. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública.* 2013, vol. 30, no. 1, pp. 113-117. ISSN 1726-4634.

**Vila, M.A.B. y Miranda, E.G.** *Cosmetología aplicada a la estética decorativa.* 2012. S.l.: Editorial Paraninfo. ISBN 978-84-9732-101-3.

## ANEXOS

### Anexo A. Material vegetal



Hojas de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.



Secado del material vegetal.

### Anexo B. Control de calidad del material vegetal



Determinación de humedad.



Determinación de cenizas totales.



Determinación de cenizas solubles en agua y solubles en HCl.

### Anexo C. Obtención del extracto seco



Maceración en la incubadora  
agitadora.



Concentración del extracto en el rotavapor.



Extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

### Anexo D. Tamizaje fitoquímico



Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo.



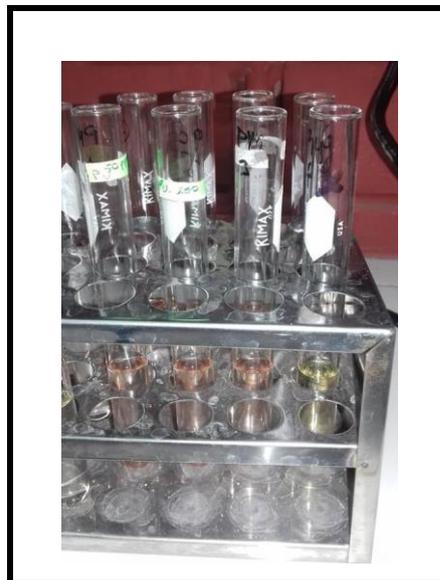
Tamizaje fitoquímico del extracto  
alcohólico.



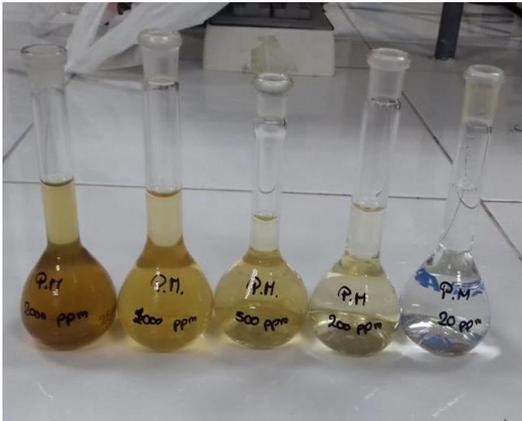
**Anexo E.** Cuantificación de fenoles totales



**Anexo F.** Cuantificación de flavonoides totales



**Anexo G.** Determinación del FPS *in vitro* del extracto seco *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.



Soluciones de 20ppm,200pp,500ppm y 1000ppm del extracto seco.

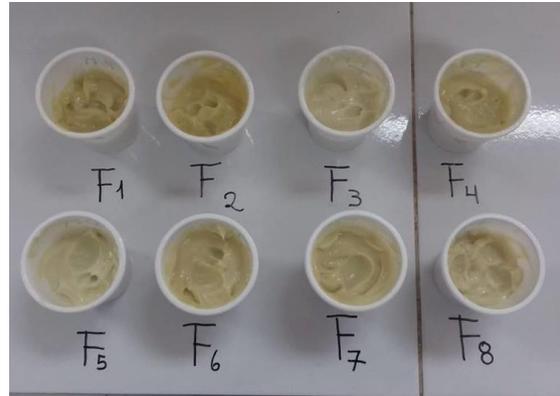


Lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro.

**Anexo H.** Formulación del gel crema.



Crema base.



Formulaciones con el extracto seco de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.



Mejor formulación: F1

**Anexo I.** Determinación del FPS *in vitro* de las formulaciones.

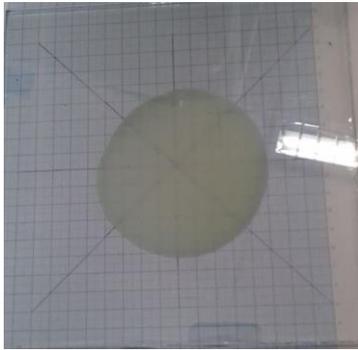


Diluciones de las formulaciones.

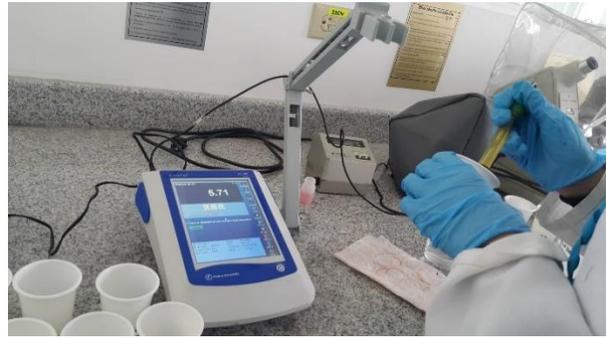


Lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro.

## Anexo J. Control de calidad de las formulaciones



Determinación de extensibilidad.



Determinación de pH.



Determinación del signo de la emulsión.

## Anexo K. Producto final con la etiqueta.



Protector solar a base de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers.

**Anexo L. CONTRATO MARCO DE ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA.**

 SECRETARIA GENERAL  
Ministerio del Ambiente  
FECHA REG 14 SEP 2018

 REGISTRO 6367  
FOLIO 402 MINISTERIO DEL AMBIENTE   EL GOBIERNO DE TODOS

**CONTRATO MARCO DE ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DENOMINADO: “ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD EN EL ECUADOR, ECOLOGÍA, CONSERVACIÓN Y SU POTENCIAL USO SOSTENIBLE” CELEBRADO ENTRE EL MINISTERIO DEL AMBIENTE, A TRAVÉS DE LA SUBSECRETARÍA DE PATRIMONIO NATURAL Y LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.**

MAE-DNB-CM-2018-0086

**COMPARECIENTES:**

A la suscripción del presente Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos del Programa de Investigación Científica Denominado: “ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD EN EL ECUADOR, ECOLOGÍA, CONSERVACIÓN Y SU POTENCIAL USO SOSTENIBLE” comparecen, por una parte el MINISTERIO DEL AMBIENTE, a través de la Subsecretaría de Patrimonio Natural, legalmente representado por el LCDO. LÓPEZ MORA ALFREDO DANILO, en su calidad de Subsecretario de Patrimonio Natural, conforme se desprende de la Acción de Personal Nro. 0945 de 02 de mayo de 2018, delegado de la máxima autoridad mediante Acuerdo Ministerial Nro. 024 de 09 de marzo de 2016, publicado en el Registro Oficial Nro. 725 de 04 de abril de 2016, a quien en adelante se le denominará “MAE”; y, por otra parte, la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, debidamente representada por el Ing. BYRON ERNESTO VACA BARAHONA PhD., en su calidad de Rector, conforme consta del certificado emitido por el Ab. Carlos de la Cadena, Secretario General, documento que se agrega como habilitante y a quien en adelante se denomina “ESPOCH”.

Las partes convienen en celebrar, el presente Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos respecto de la solicitud del programa de investigación científica denominado “ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD EN EL ECUADOR, ECOLOGÍA, CONSERVACIÓN Y SU POTENCIAL USO SOSTENIBLE” contenido y estipulado en las siguientes cláusulas:

**PRIMERA. ANTECEDENTES.-**

1. La Constitución de la República del Ecuador, en los artículos 3 numeral 7 establece que son deberes primordiales del Estado “(...)7. Proteger el patrimonio natural y cultural del país. (...)” y 83 numerales 6 y 13 establece como deberes y responsabilidades de las ecuatorianas y los ecuatorianos “(...) 6. Respetar los derechos de la naturaleza, preservar un ambiente sano y utilizar los recursos naturales de modo racional, sustentable y sostenible (...)” 13. Conservar el patrimonio cultural y natural del país, y cuidar y mantener los bienes públicos (...)”;
2. El artículo 14 de la Norma Suprema determina que: “...Se reconoce el derecho de la 

Calle Madrid 1159 y Andalucía Código Postal: 170517 / Quito – Ecuador. Teléfono: 593-2 398-7600

1

**Anexo M.** Procedimiento normalizado para la determinación de extensibilidad.

Datos de la Farmacia

PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS

<b>PROCEDIMIENTO de CONTROLES de PRODCUTOS</b>	
<b>Código: PN/L/CP/003/00</b>	<b>Página 1 de 6</b>
<b>Sustituye a:</b>	<b>Fecha de aprobación:</b>

**DETERMINACIÓN DE EXTENSIBILIDAD**

**Índice**

1. Objetivo
2. Responsabilidad de aplicación y alcance
3. Definiciones
4. Descripción
  - 4.1. Material y equipos
  - 4.2. Entorno
  - 4.3. Método
5. Registros
6. Control de cambios
7. Anexos
  - Anexo I – Control de copias

<b>Redactado por:</b>	<b>Revisado por:</b>	<b>Aprobado por:</b>

<b>Determinación de extensibilidad</b>	<b>PN/L/CP/003/00</b>
	<b>Página 2 de 6</b>

**Procedimientos generales relacionados:**

### **1. OBJETIVO**

Definir el procedimiento para la determinación de la extensibilidad de preparaciones semisólidas.

### **2. RESPONSABILIDAD DE APLICACIÓN Y ALCANCE**

La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae sobre todo el personal (técnico y/o auxiliar) que proceda al control de extensibilidad de preparaciones semisólidas.

### **3. DEFINICIONES**

- **Preparaciones semisólidas:** son preparaciones constituidas por una base, simple o compuesta, en la cual habitualmente están disueltos o dispersos, uno o más principios activos. Las bases utilizadas pueden ser de origen natural ó sintético y estar constituidas por un sistema de una o varias fases. De acuerdo con la naturaleza de la base, la preparación puede tener propiedades hidrófilas o lipófilas.

Se pueden distinguir varias categorías de preparaciones semisólidas:

- Pomadas.
- Cremas.
- Geles.
- Pastas.
- Cataplasmas.

(RFE Mon. N° 0132)

### **4. DESCRIPCIÓN**

Este control es una manera de verificar que la elaboración de una determinada preparación ha sido correctamente reproducida. No existen valores de referencia para comparar, es la propia oficina de farmacia quien crea los suyos propios y sus márgenes de tolerancia.

<b>Determinación de extensibilidad</b>	<b>PN/L/CP/003/00</b>
	<b>Página 3 de 6</b>

<b>Procedimientos generales relacionados:</b>
---

Para que el ensayo sea útil se deben reproducir siempre las mismas condiciones de temperatura, humedad relativa, cantidad de preparado, pesos soportados, tiempo de espera de lectura de resultados..., que serán establecidos internamente.

#### **4.1 Material y equipo.**

Placas de cristal (por ejemplo de 20 x 20 cm).

Papel milimetrado.

#### **4.2. Entorno.**

Debido a la variabilidad de los resultados de esta prueba en función de la temperatura, se aconseja que la variación de temperatura sea de  $\pm 0,5$  °C, por ejemplo  $25 \pm 0,5$  °C.

#### **4.3. Método.**

Por este método se valora el índice de extensibilidad, basándose en el aumento de la superficie de una determinada cantidad de muestra al ser sometida, progresivamente, a presiones crecientes a iguales intervalos de tiempo.

Se representa la extensibilidad sobre un eje de coordenadas, tomando en abscisas los pesos empleados (en gramos), en ordenadas los valores de las áreas medidas (en mm<sup>2</sup>). Como el área del preparado no es circular, sino más bien elíptica, se determina el área media.

Para realizar este ensayo utilizamos dos placas de cristal entre las cuales se coloca, por ejemplo, 4 g del preparado.

1. Colocar la placa inferior de cristal sobre una hoja de papel milimetrado. Se recuadra la placa y se trazan las diagonales.
2. Colocar la muestra del preparado sobre el punto de intersección.
3. Se pesa la placa superior y se sitúa sobre la inferior. Pasado 1 minuto, por ejemplo, y por efecto de la presión, la preparación se habrá extendido de forma aproximadamente circular.
4. Se anotan los valores de los dos diámetros y se calcula el diámetro medio y a partir de éste, la superficie del círculo formado.

<b>Determinación de extensibilidad</b>	<b>PN/L/CP/003/00</b>
	<b>Página 4 de 6</b>

<b>Procedimientos generales relacionados:</b>
---

5. Se repite esta operación con sucesivos pesos (por ejemplo, 50,100,200 y 500g) colocados en el centro de la placa.

Se representa la extensibilidad en  $\text{mm}^2$  frente a los pesos empleados.

## **5. REGISTROS**

No aplica

## Anexo N. Procedimiento normalizado para la determinación de pH.

Datos de la Farmacia

PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS

PROCEDIMIENTO de CONTROLES de PRODUCTOS	
Código: PN/L/CP/001/00	Página 1 de 5
Sustituye a:	Fecha de aprobación:

### MEDICIÓN DE pH

#### Índice

1. Objetivo
2. Responsabilidad de aplicación y alcance
3. Definiciones
4. Descripción
  - 4.1 Material y equipo
  - 4.2 Determinación con tiras reactivas
  - 4.3 Determinación potenciométrica del pH
5. Registros
6. Control de cambios
7. Anexos
  - Anexo I – Control de copias

Redactado por:	Revisado por:	Aprobado por:

Medición de pH	PN/L/CP/001/00
	Página 2 de 5

**Procedimientos relacionados:**

### **1. OBJETIVO**

Definir el procedimiento para la medición del pH.

### **2. RESPONSABILIDAD DE APLICACIÓN Y ALCANCE**

La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae sobre todo el personal (técnico y/o auxiliar) que proceda a determinar los valores de pH de diferentes muestras.

### **3. DEFINICIONES**

No aplica.

### **4. DESCRIPCIÓN**

#### **4.1 Material y equipo**

Sistema de medida de pH

Papel que no libere fibras

Agua desionizada

#### **4.2 Determinación con tiras reactivas:**

Las tiras reactivas, se utilizarán cuando la determinación del pH no requiera gran exactitud.

Estas tiras reactivas serán capaces de determinar intervalos de pH lo más estrechos posibles.

1. Preparación de la muestra. Salvo excepciones y en cuyo caso se especificará en la correspondiente monografía, la lectura del pH se realizará sobre la muestra problema sin previo tratamiento.
2. Introducir una varilla de vidrio en la muestra problema.
3. Humedecer la tira reactiva de pH.
4. Esperar el tiempo indicado en las instrucciones del fabricante y comparar el color de la tira reactiva, con los estándares de la caja de tiras.
5. Anotar el resultado en la correspondiente guía de elaboración y control de registro.

<b>Medición de pH</b>	<b>PN/L/CP/001/00</b>
	<b>Página 3 de 5</b>

**Procedimientos relacionados:**

**4.3 Determinación potenciométrica del pH.**

Seguir el método analítico 2.2.3. descrito en la Real Farmacopea Española.

**5. REGISTROS**

No aplica

**Anexo O.** Procedimiento normalizado para la determinación del signo de la emulsión.

Datos de la Farmacia

PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS

<b>PROCEDIMIENTO de CONTROLES de PRODUCTOS</b>	
<b>Código: PN/L/CP/002/00</b>	<b>Página 1 de 5</b>
<b>Sustituye a:</b>	<b>Fecha de aprobación:</b>

**DETERMINACIÓN DEL SIGNO DE LA EMULSIÓN**

**Índice**

1. Objetivo
2. Responsabilidad de aplicación y alcance
3. Definiciones
4. Descripción
  - 4.1 Conductividad
  - 4.2 Coloración
  - 4.3 Dilución
5. Registros
6. Control de cambios
7. Anexos
  - Anexo I – Control de copias

<b>Redactado por:</b>	<b>Revisado por:</b>	<b>Aprobado por:</b>

<b>Determinación del signo de la emulsión.</b>	<b>PN/ L/CP/002/00</b>
	<b>Página 2 de 5</b>

<b>Procedimientos relacionados:</b>
-------------------------------------

### **1. OBJETIVO**

Definir el procedimiento para comprobar el signo de la emulsión preparada, ya que puede haber inversiones de fase que alteren las características y la estabilidad de la emulsión.

### **2. RESPONSABILIDAD DE APLICACIÓN Y ALCANCE**

La responsabilidad de aplicación y alcance de este procedimiento recae sobre todo el personal (técnico y/o auxiliar) que proceda al control del signo de las emulsiones preparadas.

### **3. DEFINICIONES**

- **Signo de la emulsión:** naturaleza de la fase externa.

Las emulsiones oleo-acuosas (O/A) son aquellas cuya fase interna es oleosa (aceite mineral o vegetal) y la fase externa es acuosa (agua).

Las emulsiones acuo-oleosas (A/O) son aquellas cuya fase interna es acuosa y la externa es oleosa.

### **4. DESCRIPCION**

El signo de la emulsión se puede determinar por varios métodos:

#### **4.1 Conductividad**

- Determinar la conductividad del preparado, siguiendo el método analítico 2.2.38 descrito en la Real Farmacopea Española.
  - Si la fase externa es oleosa, no conduce la electricidad.

Este método puede conducir a conclusiones erróneas debido a que algunas emulsiones O/A tienen baja conductividad, mientras la conductividad de emulsiones A/O aumenta con la concentración de la fase dispersada.

<b>Determinación del signo de la emulsión.</b>	<b>PN/ L/CP/002/00</b>
	<b>Página 3 de 5</b>

**Procedimientos relacionados:**

#### **4.2 Coloración**

Se utiliza un colorante hidrosoluble (ej. : azul de metileno). Si la emulsión es de tipo O/A el colorante se dispersa; pero si la emulsión es del tipo A/O el colorante no se extiende, lo repele.

- En un porta se deposita una pequeña cantidad de la emulsión problema. A continuación se añade una gota de azul de metileno, sin mezclar.
  - Si la emulsión es O/A el colorante se dispersa.
  - Si la emulsión es A/O el colorante no se extiende, lo repele.

#### **4.3 Dilución**

Las emulsiones de fase externa acuosa pueden diluirse con agua, pero si la fase externa es oleosa la emulsión no se diluye.

- En una probeta con agua se añade una pequeña cantidad de emulsión, sin agitar.
  - Si es de fase externa acuosa el agua se enturbia.
  - Si es de fase externa oleosa el agua permanece inalterada, no se enturbia.

### **5. REGISTROS**

No aplica.