



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

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE UNA
CREMA A BASE DE *Oreocallis grandiflora* EN LA ESPECIE *Cavia
porcellus***

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: DANIELA STEFANIA GALLARDO RUIZ

DIRECTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA, MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

©2022, Daniela Stefania Gallardo Ruiz

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

Yo, DANIELA STEFANIA GALLARDO RUIZ, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 1 de noviembre de 2022

A handwritten signature in blue ink that reads "Daniela Gallardo Ruiz". The signature is written in a cursive style and is enclosed within a hand-drawn oval border.

Daniela Stefania Gallardo Ruiz

172230303-7

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

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE UNA CREMA A BASE DE *Oreocallis grandiflora* EN LA ESPECIE *Cavia porcellus***, realizado por la señorita: **DANIELA STEFANIA GALLARDO RUIZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Elizabeth del Rocío Escudero Vilema, Mgs. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-11-01
BQF. Diego Renato Vinueza Tapia, MSc. DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-11-01
BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla, MSc. ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2022-11-01

DEDICATORIA

A mis dos madres: Mayrita Ruiz y Zoilita Falconí, por ser quienes, a través de su amor y apoyo incondicional me impulsan a seguir cumpliendo mis metas.

A mis amados hermanos: Keevincito y Mayrita Gallardo, por ser el motor que me impulsa a seguir adelante. A ustedes hermanitos les quiero dedicar no solo este logro, sino todos los que la vida me permita tener.

A mi abuelito, Oswaldo Ruiz Chávez, quién fue ejemplo de valentía y perseverancia. A mis tíos: Oswaldito y Margarita Ruiz, quienes me han extendido la mano de manera incondicional.

A mis primos: José, Ivancito, Oswaldito y Dome, por ser quienes llenan de alegría mis días. Gracias a mi amada familia, esta tesis es por ustedes y para ustedes.

Daniela

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por darme vida y salud para poder ir cumpliendo mis sueños y propósitos. A mi mami Mayrita Ruiz, por darme la educación, ser ejemplo de superación y por entregar su vida al cuidado de mis hermanos y el mío. Gracias mamita por depositar toda tu confianza y amor en mí y en mis metas.

A mi abuelita Zoilita Falconí por todos los consejos que me han llevado a ser la persona que soy en este momento. Mamita Zoilita, le agradezco infinitamente por el amor puesto en cada una de sus palabras de aliento.

Gracias hermanitos Keevin y Mayrita Gallardo. A mis amigos: Daisy, Ricardo, Dennys y Alanis, por caminar junto a mí en mi desarrollo académico y formación personal. Gracias a Sebastián por el apoyo y cariño incondicional.

Gracias a mi Alma Mater, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y a todos mis maestros que me enriquecieron con su conocimiento.

A mi tutor BQF. Diego Vinueza y mi asesora BQF. Gisela Pilco, por guiarme en cada paso de este trabajo de investigación

Y gracias a la vida, que me ha dado tanto.

Daniela

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Especie vegetal.....	5
1.1.1. <i>Etimología</i>	5
1.1.2. <i>Taxonomía</i>	5
1.1.3. <i>Descripción histórica</i>	6
1.1.4. <i>Hábitat</i>	6
1.1.5. <i>Descripción botánica</i>	6
1.1.6. <i>Usos y potencialidades</i>	7
1.2. Radiación ultravioleta y sus efectos sobre la salud	7
1.2.1. <i>Radiación ultravioleta</i>	7
1.2.2. <i>Índice UV</i>	9
1.2.3. <i>Capas de la piel</i>	10
1.2.3.1. <i>Epidermis</i>	11
1.2.3.2. <i>Dermis</i>	12
1.2.3.3. <i>Hipodermis</i>	12
1.2.4. <i>Fototipos de piel</i>	13
1.2.5. <i>Efectos de la radiación UV sobre la salud</i>	14
1.2.5.1. <i>Quemaduras o eritema</i>	15
1.2.5.2. <i>Fotoenvejecimiento</i>	16
1.2.5.3. <i>Fotocarcinogénesis:</i>	17
1.2.5.4. <i>Dermatosis por fotoexposición</i>	18
1.3. Fotoprotección	18
1.3.1. <i>Protectores solares</i>	20
1.3.2. <i>Filtros solares</i>	20

1.3.2.1.	<i>Físicos o inorgánicos</i>	21
1.3.2.2.	<i>Químicos u orgánicos</i>	21
1.3.2.3.	<i>Biológicos</i>	22
1.3.2.4.	<i>Octilmetoxicinamato (OMC)</i>	23
1.3.3.	<i>Factor de protección solar</i>	23
1.4.	Metabolitos fotoprotectores en las plantas	25
1.4.1.	<i>Compuestos fenólicos</i>	26
1.4.2.	<i>Flavonoides</i>	26
1.5.	Ensayos clínicos cosméticos en animales	29
1.5.1.	<i>Ensayos realizados en cosmetología</i>	30
1.5.1.1.	<i>Test Draize</i>	30
1.5.1.2.	<i>Toxicidad aguda</i>	30
1.5.1.3.	<i>Corrosión e irritación de la piel</i>	30
1.5.1.4.	<i>Toxicocinética</i>	30
1.5.1.5.	<i>Carcinogenicidad</i>	31
1.5.1.6.	<i>Toxicidad reproductiva y del desarrollo</i>	31
1.5.2.	<i>Cobayo</i>	31
1.6.	Bioterio	32

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	34
2.1.	Tipo y diseño de investigación	34
2.2.	Diseño experimental	34
2.2.1.	<i>Población de estudio</i>	34
2.2.1.1.	<i>Material vegetal</i>	34
2.2.1.2.	<i>Modelo animal</i>	34
2.2.2.	<i>Tamaño de la muestra</i>	34
2.2.3.	<i>Método de muestreo</i>	35
2.2.3.1.	<i>Material vegetal</i>	35
2.2.3.2.	<i>Modelo animal</i>	35
2.2.4.	<i>Criterios de inclusión</i>	35
2.2.4.1.	<i>Material vegetal</i>	35
2.2.4.2.	<i>Modelo animal</i>	35
2.2.5.	<i>Criterios de exclusión</i>	36
2.2.5.1.	<i>Material vegetal</i>	36

2.2.5.2.	<i>Modelo animal</i>	36
2.2.6.	<i>Identificación de variables</i>	36
2.2.7.	<i>Procedimiento general</i>	37
2.2.8.	<i>Operacionalización de variables</i>	38
2.3.	Lugar de investigación	39
2.4.	Recolección del material vegetal	39
2.5.	Acondicionamiento del material vegetal	39
2.6.	Obtención del extracto seco de hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i>	41
2.7.	Formulación de la base de Beeler	42
2.8.	Preparación y acondicionamiento del bioterio	44
2.9.	Preparación de las jaulas	45
2.10.	Adquisición de la especie animal	45
2.11.	Crianza en el laboratorio	45
2.12.	Preparación del cobayo	46
2.12.1.	<i>Codificación de la población de estudio con respecto a las formulaciones</i>	47
2.13.	Definición del método de irradiación controlada	48
2.14.	Proceso de irradiación en el cobayo	49
2.15.	Determinación de Factor de Protección Solar entre la formulación al 0,4% y grupo placebo	53
2.16.	Análisis estadístico de datos	54

CAPÍTULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
3.1.	Extracto seco de hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i>	55
3.2.	Valores de diferencia eritémica	55
3.3.	Análisis de ANOVA	56
3.4.	Comparaciones de Dunnett	58
3.5.	Determinación del Factor de Protección Solar FPS entre en la formulación al 0,4% y grupo placebo	59
	CONCLUSIONES	62
	RECOMENDACIONES	63
	BIBLIOGRAFÍA	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Taxonomía de <i>Oreocallis grandiflora</i>	6
Tabla 2-1:	Fototipos cutáneos	14
Tabla 3-1:	Categorías de los filtros solares según la FDA.....	19
Tabla 4-1:	Lista de filtro UV orgánicos e inorgánicos permitidos en productos cosméticos .	22
Tabla 5-1:	Criterios de evaluación para la valoración de productos bloqueadores solares según los métodos FDA, DIN y COLIPA	25
Tabla 6-1:	Clasificación taxonómica <i>Cavia porcellus</i>	31
Tabla 2-2:	Materiales, equipos y reactivos.....	43
Tabla 3-2:	Codificación de ensayos.....	48
Tabla 1-3:	Valores de diferencia eritémica <i>Cavia porcellus</i> usado en el ensayo.....	57
Tabla 2-3:	ANOVA unidireccional: PLACEBO, CONTROL, 0.1, 0.2, 0.4 – MÉTODO	59
Tabla 3-3:	ANOVA unidireccional: ANÁLISIS DE VARIANZA.....	59
Tabla 4-3:	ANOVA unidireccional: MEDIAS.....	59
Tabla 5-3:	Agrupación utilizando el método de Dunnett con una confianza de 95%	60
Tabla 6-3:	Porcentaje de incremento eritémico para placebo.....	62
Tabla 7-3:	Promedio del porcentaje (en tres sujetos de experimentación) de incremento eritémico para formulación al 0,4% de <i>O. grandiflora</i>	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1:	<i>Oreocallis grandiflora</i>	5
Figura 2-1:	Clasificación de la radiación ultravioleta.....	8
Figura 3-1:	Índice UV solar	9
Figura 4-1:	Valores de índice UV para días de cielo claro en Guayaquil, Galápagos, Quito, Cuenca, Caracas y Recife.	10
Figura 5-1:	Capas de la piel	11
Figura 6-1:	Fototipos de piel y factor de protección solar	13
Figura 7-1:	Eritema.....	16
Figura 8-1:	Fotoenvejecimiento	17
Figura 9-1:	Melanoma maligno.....	17
Figura 10-1:	Dermatosis fotoagravada.....	18
Figura 11-1:	Estructura química del Octilmetoxicinamato.....	24
Figura 12-1:	Estructura básica de los flavonoides.....	28
Figura 13-1:	Estructura química de las isoflavonas.....	29
Figura 14-1:	Ensayos clínicos en cobayos	30
Figura 15-1:	Criaderos de Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.....	34
Figura 1-2:	Procedimientos generales	38
Figura 2-2:	Acondicionamiento de <i>O.grandiflora</i>	40
Figura 3-2:	Secado de hojas en estufa	41
Figura 4-2:	Obtención de la droga vegetal molida	42
Figura 5-2:	Obtención del extracto seco de hojas de <i>O. grandiflora</i>	43
Figura 6-2:	Preparación de la base de Beeler	44
Figura 7-2:	Formulaciones F ₁ , F ₂ , F ₃ , F ₄ y F ₅	45
Figura 8-2:	Cuyeras.	45
Figura 9-2:	Elaboración de jaulas.....	46
Figura 10-2:	Crianza de cobayos.....	47
Figura 11-2:	Preparación del cobayo	48
Figura 12-2:	Determinación del método de análisis	50
Figura 13-2:	Proceso de irradiación	51
Figura 14-2:	Irradiación controlada en grupo A.....	52
Figura 15-2:	Irradiación controlada en grupo B	52
Figura 16-2:	Irradiación controlada en grupo C.....	53
Figura 17-2:	Irradiación controlada en grupo D.....	53

Figura 18-2: Irradiación controlada en grupo E	54
Figura 19-2: Irradiación sucesiva para grupo placebo	55
Figura 20-2: Irradiación sucesiva para formulación al 0,4 % de <i>O. grandiflora</i>	55

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: ICs simultáneos de 95% de Dunnett	61
Gráfico 2-3: Desarrollo de eritema para el vehículo.....	62
Gráfico 3-3: Desarrollo de eritema para formulación.....	63

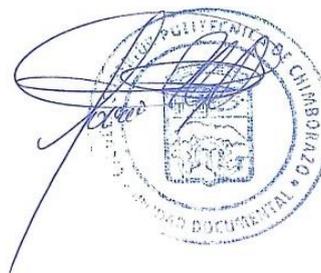
ÍNDICE DE ABREVIATURAS

UV	Ultra violeta
EXA	Agencia Espacial Civil Ecuatoriana
IUV	Índice de radiación ultravioleta
ADN	Ácido desoxirribonucleico
cm	Centímetros
mm	Milímetros
nm	Nanómetros
g	Gramos
m²	Metros cuadrados
mL	Mililitros
kg	Kilogramos
rpm	Revoluciones por minuto
P/V	Peso/Volumen
°C	Grados Centígrados
OMS	Organización Mundial de la Salud
ICNIRP	Comisión Internacional de Protección contra la Radiación No Ionizante
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
OMM	Organización Meteorológica Mundial
MSH	Hormona estimulante de melanocitos
MCR	Receptor de mineralcorticoides
DEM	Dosis Eritémica Mínima
FPS	Factor de Protección Solar
PA	Grado de protección UV-A
FDA	Food and Drug Administration
PABA	Ácido paraaminobenzoico
OMC	Octilmetoxicinamato
DIN	Deutsches Institut für Normung
COLIPA	Agrupación Europea de Productos de Cosmética y perfumería
REACH	Reglamento de registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias químicas

RESUMEN

El objetivo del proyecto fue evaluar la eficacia fotoprotectora de una formulación a base del extracto de *Oreocallis grandiflora*, mediante su aplicación *in vivo* en la especie *Cavia porcellus*, para lo cual se realizó la recolección, secado, molienda, maceración y filtración del material vegetal con el fin de concentrar compuestos fenólicos y alcanzar un principio activo más estable. Una vez obtenido el extracto seco se elaboraron 5 formulaciones tópicas de tipo base de Beeler: placebo, octilmetoxicinamato, con principio activo de *O. grandiflora* (al 0,1%; 0,2% y 0,4%), las mismas que fueron aplicadas directamente a la piel de 25 cobayos previamente rasurados. Para ello se establecieron 5 grupos de análisis, en cada grupo se expuso a los cobayos a radiación UV-B por un período de 10 minutos (a 300 nanómetros) y se registraron los niveles de eritema con un mexámetro. Los resultados para el análisis de diferencia eritémica fueron: AF1 (84, 51, 87, 72, 71); BF2 (0, 1, 1, 1, 1); CF3 (36, 35, 31, 26, 32); DF4 (12, 6, -8, 4, 4); EF5 (0, 1, 6, 2, 0). Para el análisis del Factor de Protección Solar (FPS) se tomaron lecturas cada 10 minutos durante 4 rondas de radiación consecutivas en el grupo placebo y la formulación con mayor rendimiento (0,4%) obteniéndose los siguientes resultados: Placebo (10 min: 11,39 ; 20 min: 18,21 ; 30 min: 25,66 y 40 min: 34,14), formulación de *O. grandiflora* 0,4% (10 min: 1,92 ; 20 min: 4,97 ; 30 min: 6,16 y 40 min: 8,28) y FPS: 4. Se concluyó que *Oreocallis grandiflora* posee actividad fotoprotectora, dicha cualidad le es concedida por su concentración de compuestos fenólicos y que, además, su eficiencia fue dos veces más alta que la formulación control. Finalmente, se recomendó el manejo de tiempos para evitar causar daño al cobayo.

Palabras clave: <FOTOPROTECCIÓN>, <COMPUESTOS FENÓLICOS>, <ERITEMA>, <RADIACIÓN UV-B>, <FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR (FPS)>, <BASE DE BEELER>.

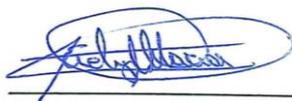


2196-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The objective of the project was to evaluate the photoprotective efficacy of a formulation based on the extract of *Oreocallis grandiflora*, through its *in vivo* application in the species *Cavia porcellus*. For which the collection of drying, grinding, maceration, and filtration of the plant material was carried out in order to concentrate phenolic compounds and achieve a more stable active principle. Once the dry extract was obtained, 5 topical formulations of the Beeler base type were prepared: placebo, octylmethoxycinnamate, with the active principle of *O. grandiflora* (0.1%, 0.2%, and 0.4%), the same ones that were applied directly to the skin of 25 previously shaved guinea pigs. For this, 5 group analyses were established, in each group, the guinea pigs were exposed to UV-B radiation for a period of 10 minutes (at 300 nanometers) and the erythema levels were recorded with a mexameter. The results for the erythemic difference analysis were: A) F1 (84, 51, 87, 72, 71); B) F2(0, 1, 1, 1, 1); C) F3(36, 35, 31, 26, 32); D) F4(12, 6, -8, 4, 4); E) F5 (0, 1, 6, 2, 0). For the analysis of the Sun Protection Factor (SPF) recordings were taken every 10 minutes during 4 consecutive rounds of radiation in the placebo group and the formulation with the highest performance (0.4%), obtaining the following results: Placebo (10 min: 11,39; 20 min: 18,21; 30 min: 25,66 y 40 min: 34,14), formulation of *O. grandiflora* 0,4% (10 min: 1,92; 20 min: 4,97; 30 min: 6,16 y 40 min: 8,28) and the SPF: 4. It was concluded that *Oreocallis grandiflora* has photoprotective activity, this quality is granted by its concentration of phenolic compounds, in addition, its efficiency was two times higher than the control formulation. Finally, time management was recommended in order to avoid causing harm to the guinea pig.

Keywords: <PHOTOPROTECTION>, <PHENOLIC COMPOUNDS>, <ERYTHEMA>, <UV-B RADIATION>, <SOLAR PROTECTION FACTOR (FPS)>, <BEELER BASE>.



Mgs. Evelyn Carolina Macias Silva

C.I 0603239070

INTRODUCCIÓN

En 1984 el meteorólogo Jonathan Shanklin descubrió un agujero en la capa de ozono sobre la Antártida, motivo por el cual se ha dado la pérdida de un tercio de su espesor en el lapso de una década, problema que se incrementa de manera incontrolable con el pasar de los años y, que ha traído como consecuencia la sobreexposición a la radiación ultravioleta (UV) (Benítez, 2022).

La radiación en cantidades normales es benéfica para la salud de la piel, pero su exposición excesiva puede tener efectos tanto agudos como crónicos en ojos, sistema inmunológico, piel y sus anexos. Esta radiación acumulativa aumenta el riesgo de presentar enfermedades cutáneas como la dermatosis, fotoenvejecimiento, queratosis actínicas y oculares como cataratas y, en el peor caso, cáncer melanómico (Castañeda et al., 2021).

A nivel nacional, la Agencia Espacial Civil Ecuatoriana (EXA) reporta que, en las ciudades de Guayaquil y Quito, al medio día el índice máximo de exposición solar ultravioleta oscila entre 14 a 24 IUV (Vinueza et al., 2018). El daño que presenta la capa de ozono es irreversible siendo un problema principalmente para la zona ecuatorial, debido a la incidencia directa de la radiación sobre los habitantes de esta región. Por tal motivo, se ha visto la necesidad de estudiar los mecanismos de protección ultravioleta tanto biológicos, químicos y físicos.

En este sentido, la protección biológica hace referencia a la melanina, considerada como un pigmento natural de la piel cuya función es ser la primera línea de defensa frente al daño ocasionado por la radiación UV, absorbiéndola y transformándola en calor. La radiación que no puede ser retenida por la atmósfera, puede producir daños en el ADN a través de la fragmentación por reacciones químicas induciendo ionización o formación de dímeros de pirimidina ciclobutano, generando alteraciones celulares y apoptosis (Sanz et al., 2021).

Por otra parte, la cosmetología al ser la rama de la Dermatología que se encarga de la belleza y sobre todo de mantener la salud en la piel y sus anexos, a través de la implementación de métodos de prevención y planes de cuidado. En su esfuerzo por tratar de minimizar los efectos nocivos causados por radiación UV, se han elaborado fórmulas fotoprotectoras con filtros UV cuya acción es la de interferir directamente con las radiaciones solares por medio de la absorción, reflexión o dispersión de energía (Castañeda et al., 2021).

En la actualidad la cosmetología suele incorporar en sus formulaciones productos naturales, a lo que se lo conoce como fitocosmética. Esta ciencia es casi tan antigua como el hombre ya que se han encontrado tratados de plantas en culturas tan antiguas como China, India, Egipto, Roma y

Grecia, siendo los papiros de Ebers los primeros registros escritos del uso de planas para el cuidado de la belleza (Ferraro et al., 2012, p.13).

La fitocosmética está basada en la aplicación de principios activos de origen vegetal que se obtienen de distintas partes de las plantas como tallos, hojas, flores, etc., los mismos que son seleccionados, purificados y tratados durante los procesos de elaboración. Una sustancia natural debe cumplir los siguientes requisitos:

- Origen natural
- Fuentes renovables
- Fabricación no agresiva para el medio ambiente
- Biodegradable
- Toxicológicamente apropiado
- Libre de pesticidas e hidrocarburos (Torres y Ruiz, 2014).

Gracias a condiciones de estrés, las plantas acumulan en diferentes compartimentos celulares pigmentos fotoprotectores como los compuestos fenólicos, alcaloides y carotenoides como respuesta adaptativa, haciéndolos capaces de repeler radiación UV, de esta manera evitan la alteración de su equilibrio al captar la energía luminosa necesaria y fotoinhibiendo el exceso de la misma.

A través de una investigación *a priori* se ha evidenciado que los metabolitos secundarios confieren características fotoprotectoras, sugiriendo su potencial aplicación en productos cosméticos. Por esta razón es posible plantear el uso del extracto de *O. grandiflora* con fines fotoprotectores de manera que se pueda aprovechar para formulaciones fitoterapéuticas, ya que estudios indican que esta especie vegetal posee altas concentraciones de compuestos fenólicos y sus derivados.

Para las industrias farmacéuticas es de vital importancia la prevención de cualquier efecto adverso grave en los medicamentos y otros preparados farmacológicos, por tal razón, se realizan de forma continua una serie de ensayos de calidad *in vitro* e *in vivo*, que garantizan la inocuidad y seguridad del producto sujeto a comercialización.

De la misma manera, los productos cosméticos necesitan pruebas biológicas para evaluar su seguridad antes de ser comercializados. A nivel de esta industria cosmetológica las especies animales más utilizadas son ratas, ratones, cobayos y conejos debido a su bajo coste, fácil

acceso y manipulación, pero sobre todo por la similitud dérmica que presenta respecto a la piel humana (Chorilli et al., 2009).

Es importante recalcar que todo procedimiento realizado *in vivo* debe llevarse a cabo bajo legislaciones para el uso y cuidado de animales de carácter experimental para que, de esta manera se garantice el bienestar del biomodelo y, también evitar la extinción de especies en peligro. Los procedimientos más comunes destinados a los animales de laboratorio se realizan principalmente en las membranas mucosas, ojos y piel.

Los tipos de pruebas más comunes son:

- Test Draize
- Toxicidad aguda
- Corrosión e irritación de la piel
- Sensibilidad de la piel
- Toxicocinética
- Carcinogenicidad
- Toxicidad productiva y del desarrollo (Ética Animal, 2021).

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la eficacia fotoprotectora de una formulación a base del extracto de *Oreocallis grandiflora* a través de su aplicación *in vivo* en la especie *Cavia porcellus*.

Objetivos específicos

- Extraer los principios activos presente en las hojas de la *Oreocallis grandiflora* mediante tratamientos fitoquímicos.
- Elaborar una formulación a base del extracto de *Oreocallis grandiflora* haciendo uso de la tecnología farmacéutica.
- Emitir radiación UV-B controlada a la especie *Cavia porcellus* para determinar la actividad fotoprotectora de la formulación magistral a base del extracto de *Oreocallis grandiflora*.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Especie vegetal

1.1.1. Etimología

En la Figura 1-1 se puede observar a la especie vegetal *Oreocallis grandiflora* o también conocida comúnmente como cucharilla cuyo nombre científico proviene del vocablo griego *oreos*, que significa “montaña” y *kalli* que significa “belleza”. Se encuentra localizada en los bosques andinos del sur de Ecuador y en los bosques del norte de Perú (Patil, 2018).



Figura 1-1: *Oreocallis grandiflora*

Fuente: Patil, 2018.

1.1.2. Taxonomía

Oreocallis grandiflora como se puede observar en la Tabla 1-1, pertenece al reino *Plantae*, división *Magnoliophyta*. Se encuentra dentro de la familia *Proteaceae*, cuyo orden y género son *Proteales* y *Oreocallis*, respectivamente.

Tabla 1-1: Taxonomía de *Oreocallis grandiflora*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Proteales
Familia	Proteaceae
Género	<i>Oreocallis</i>
Especie	<i>Oreocallis grandiflora</i> (Lam.) R.Br

Fuente: Mestanza, 2015.

Realizado por: Gallardo, Daniela. 2022

1.1.3. Descripción histórica

Originalmente fue descrito por el naturalista francés Jean-Baptiste Lamarck en 1786 como *Embothrium grandiflora*. Robert Brown lo usó como especie tipo para el género *Oreocallis* cuando circunscribió el género en 1810. Según lo previsto por Brown, el género incluía especies sudamericanas y australianas, pero en 1991 Peter Weston y Michael Crisp separaron la especie australiana de *Oreocallis*. y los colocó en un nuevo género, *Alloxylon* (Patil, 2018).

1.1.4. Hábitat

Oreocallis grandiflora o cucharilla se encuentra dentro de la familia *Proteaceae* y es la única especie del género *Oreocallis*. Son originarias de Ecuador presente en las provincias de Loja, Zamora, Bolívar y Chimborazo a 1000 y 4000 m, sobre el nivel del mar. Es una especie propia de bosques andinos (Vinueza et al., 2018).

1.1.5. Descripción botánica

Según Cárdenas et al. (2017), *O. grandiflora* crece como un arbusto o árbol que puede llegar a medir hasta 6 metros de altura. Sus hojas están dispuestas en un patrón en espiral a lo largo de las ramas con hojas simples en forma estrecha, larga y elíptica. Las hojas jóvenes están cubiertas por densos pelos rojizos, mientras que las hojas más viejas tienen una superficie lisa con pelos concentrados en las nervaduras, varían de 4,8 a 12,7 cm de largo y 1,6 a 3,4 cm de ancho.

Las inflorescencias presentan 7 a 17,5 cm de largo, dan flores que pueden ser de color blanco, rosa, amarillo o rojo. Los tépalos en su mayoría están fusionados a lo largo de su longitud, con solo las puntas de los tépalos sin fusionar.

1.1.6. Usos y potencialidades

- Dentro de sus funciones medicinales se encuentran: tratamiento de hernias, úlceras gástricas, astringente, afecciones renales, afecciones hepáticas, y quemaduras (Torres, 2008).
- En cuanto a su actividad biológica y fitoquímica se puede destacar en esta especie vegetal que es rica en flavonoides en las flores y mayormente en las hojas, resaltando el 3-O- β -glucurónido de quercetina y el 3-O- β -glucurónido de miricetina, compuestos que le confiere características antioxidantes y antiinflamatorias naturales (Vinueza et al., 2018).
- También posee altas cantidades de compuestos fenólicos como el ácido gálico y el trolox lo que le permite actuar como agentes reductores donadores de hidrógeno y electrones e inhibidores de oxígeno individual y en menores cantidades terpenos importante tanto para la biodiversidad vegetal como para los usos etnomédicos tradicionales (Espinosa et al., 2013).
- El 25% de los fármacos prescritos en la actualidad son de origen vegetal y forman parte de varias formulaciones cosméticas, perfumes, etc., (Mestanza Robles et al., 2015).

1.2. Radiación ultravioleta y sus efectos sobre la salud

1.2.1. Radiación ultravioleta

Pertenece a una parte del espectro electromagnético que gracias a los fenómenos de la dispersión, absorción, convección y turbulencia atmosférica llega a longitudes de onda prácticamente nulas sobre la superficie de la tierra al producir su atenuación total en el caso de UV-C y parcial en UV-B y UV-A (Bohórquez y Pérez, 2007).

Es tipo de radiación no ionizante emitida por fuentes tanto naturales como artificiales. El sol emite radiación UV en una cantidad aproximada del 7,2%. De dicho porcentaje 5,1% corresponde a UV-A, 1,3% a UV-B y 0,8% a UV-C como lo indica la Figura 2-1. Su clasificación se basa en la medida de su longitud de onda lo que define también qué tanto es responsable del daño causado en la piel, la misma que está representada en nanómetros (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2021).

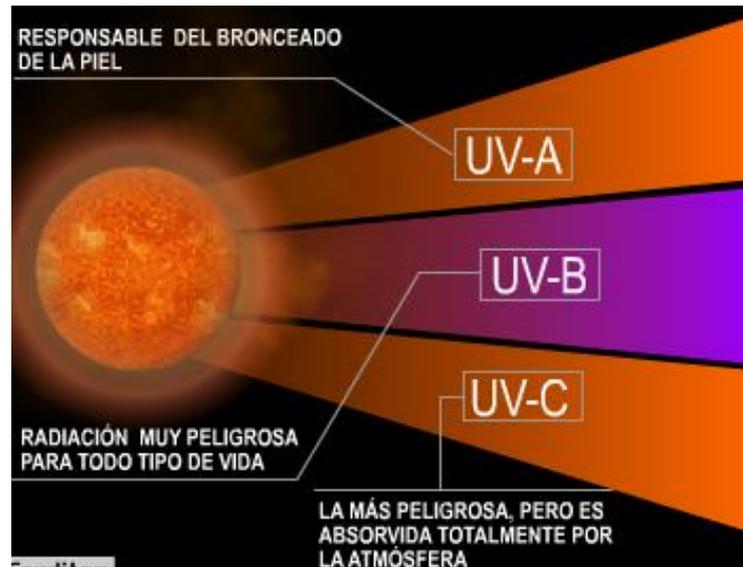


Figura 2-1: Clasificación de la radiación ultravioleta

Fuente: Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales, 2017.

- **UV-A:** Se caracteriza por presentar una longitud de onda que va desde 315 a 400 nm, conocida como luz negra. La radiación UV-A es la menos dañina para los seres humanos (Bohórquez y Pérez, 2007). Aproximadamente el 50% de esta radiación logra alcanzar una penetración más profunda en la epidermis a comparación de la radiación UV-B. Como resultado de su sobre exposición causa pigmentación directa por la fotooxidación de la melanina, fenómeno denominado “efecto Meirowsky”. Es el principal responsable del fotoenvejecimiento, fotosensibilidad y daño en la retina (Cañarte, 2010).
- **UV-B:** Se refiere a la longitud de onda que se encuentra entre 280 y 320 nm, la mayor parte de este tipo de radiación es absorbida por la atmósfera, y la cantidad de energía que logra atravesarla puede causar daños en ojos y piel. Esta radiación es absorbida en un 90% por la epidermis y, la sobreexposición puede producir envejecimiento prematuro y cáncer cutáneo (Navarra, 2022).
- **UV-C:** Presenta una longitud de onda entre 100 a 280 nm. UV-C es la forma más peligrosa de este tipo de radiación por su intensidad energética. Es absorbida por el oxígeno en la estratosfera, lo que bloquea por completo su paso a la superficie de la tierra (Bohórquez y Pérez, 2007).

1.2.2. Índice UV

Categoría de exposición	Índice UV	Protección recomendada	Factor de protección solar (FPS) recomendado	
			Piel clara	Piel oscura
BAJA	< 2,9	No necesita protección. Puede permanecer en el exterior sin riesgo.	15	8
MODERADA	3,0 A 5,9	Necesita protección: manténgase a la sombra, use camisa, sombrero, crema de protección solar y gafas con filtro solar. Evite permanecer tiempos prolongados (más de 30 minutos) expuesto a los rayos solares.	25	15
ALTA	6,0 A 7,9	Necesita protección: manténgase a la sombra entre las 9 a.m. y las 3 p.m., use sombrilla, camisa, sombrero, crema de protección solar y gafas con filtro solar. Evite permanecer tiempos prolongados (más de 20 minutos) expuesto a los rayos solares.	30	25
MUY ALTA	8,0 A 10,9	Necesita protección extra: Evite salir entre las 10 a.m. y las 2 p.m.; busque la sombra; son imprescindibles camisa de manga larga, sombrero, crema de protección solar; use sombrilla y gafas con filtro solar. Evite permanecer tiempos prolongados (más de 15 minutos) expuesto a los rayos solares.	50+	30
EXTREMADAMENTE ALTA	Mayor a 11	Necesita protección extra: Evite salir entre las 10 a.m. y las 2 p.m.; son imprescindibles camisa de manga larga, sombrero, crema de protección solar; use sombrilla y gafas con filtro solar. Evite permanecer tiempos prolongados (más de 10 minutos) expuesto a los rayos solares; busque la sombra.	50+	50+

Figura 3-1: Índice UV solar

Fuente: OMS, 2002.

El índice UV es una medida que representa la intensidad de la radiación UV solar que pasa a la superficie terrestre y un indicador de su capacidad para producir lesiones cutáneas. Está expresado en una escala de 1 a >11, como se muestra en la Figura 3-1, y caracteriza la exposición UV en rangos que van desde baja hasta extremadamente alta (OMS, 2002).

El término IUV fue adoptado el 27 de mayo de 2004 por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en colaboración con la Comisión Internacional de Protección contra la Radiación No Ionizante (ICNIRP), el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y la Organización Meteorológica Mundial (OMM). Debido a su ubicación geográfica, Ecuador recibe grandes cantidades de radiación ultravioleta casi todo el año como se puede observar en la Figura 4-1 (Cañarte, 2010).

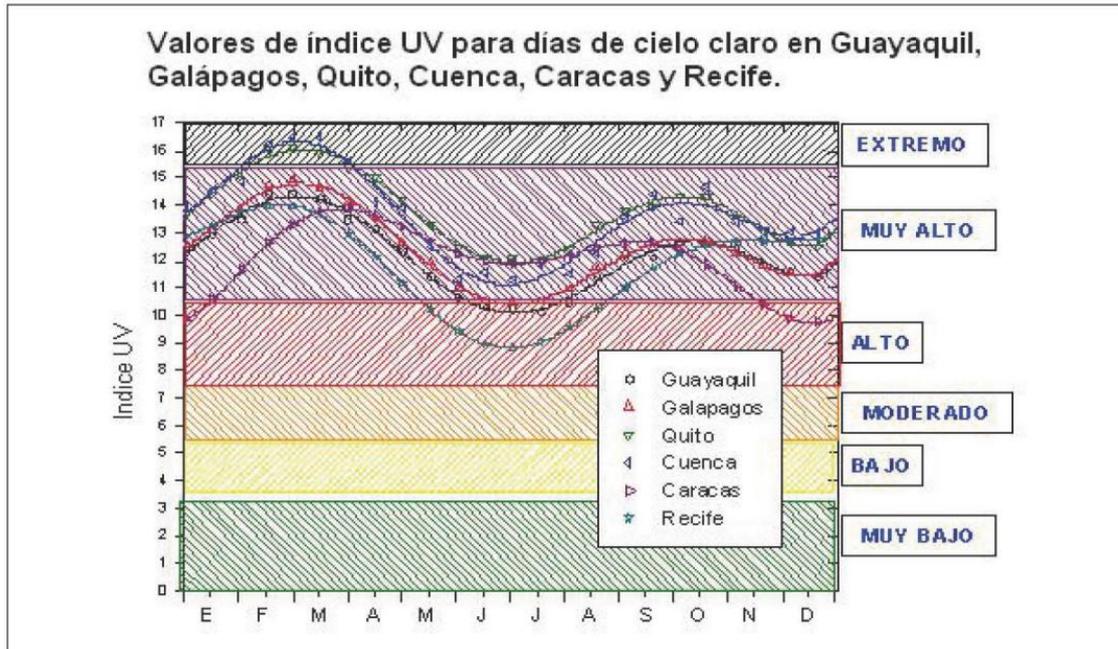


Figura 4-1: Valores de índice UV para días de cielo claro en Guayaquil, Galápagos, Quito, Cuenca, Caracas y Recife, en 2009.

Fuente: Cañarte, 2010.

1.2.3. Capas de la piel

La piel es el órgano más grande del cuerpo y conforma la cubierta externa del mismo, tiene como función principal construir una capa córnea con características protectora, semipermeable, que sea capaz de permitir la supervivencia en el medio de desarrollo. Este órgano es capaz de sintetizar proteínas y lípidos con el fin de facilitar el intercambio de fluidos sin permitir el paso de agentes nocivos. Presenta un grosor promedio de 0,03 a 0,14 mm (García y Alonso, 2021).

La piel está conformada por tres capas con origen embriológico muy diferentes. Epidermis (derivada del tejido ectodérmico), Dermis e Hipodermis (derivan del mesodermo), en cuanto a la cresta neural es la encargada de las terminaciones nerviosas sensoriales y de los melanocitos que emigran hacia la epidermis.

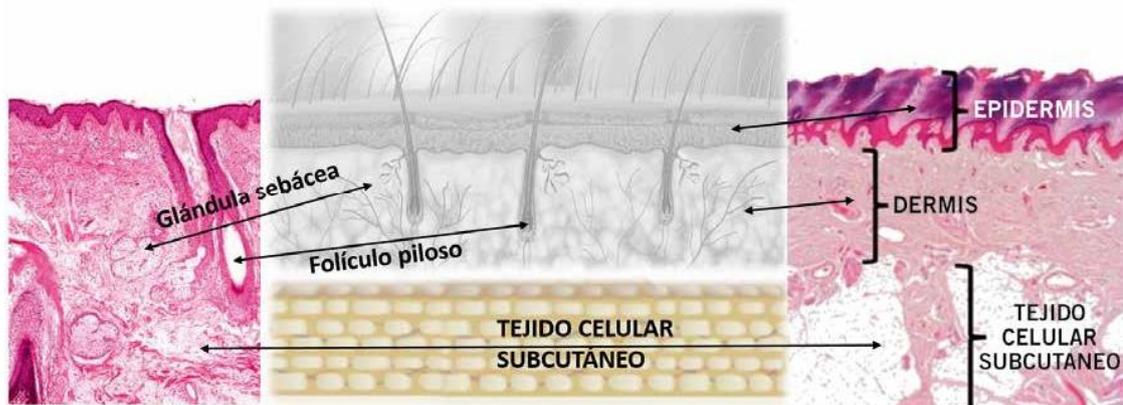


Figura 5-1: Capas de la piel

Fuente: García y Alonso, 2021.

1.2.3.1. Epidermis

Es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado que se encuentra cubriendo toda la superficie corporal, tiene un espesor promedio de 0,1 hasta 2 mm como en zonas como en las palmas de las manos. En la Figura 5-1 se puede observar las capas que dividen la dermis. Es la capa de la piel que presenta el mayor número de células (Merino y Noriega, 2014).

- **Queratinocitos:** Constituye el 80% de las células epidérmicas, cuya principal familia de proteínas que sintetizan son las queratinas. Tiene como función formar parte de la barrera entre el medio externo y el medio interno, proteger el organismo de daños mecánicos, luz ultravioleta, sustancias químicas y es muy activo en la reparación de heridas (Megías y Pombal, 2019).
- **Melanocitos:** Conforman un 5% de las células epidérmicas, derivan de la cresta neural y debido a su naturaleza dendrítica contribuyen activamente en las respuestas inmunitarias, además de dotar de protección contra los efectos dañinos de la radiación UV a través de la síntesis de melanina y poseen también la capacidad de producir citocinas y quimiocinas proinflamatorias (Cifuentes, y Victoria, 2019).

El color de la piel va en dependencia de la actividad de los melanocitos caracterizada por los melanosomas y la capacidad de los melanocitos de transferir el pigmento a los queratinocitos. Existen dos formas de melanina: la eumelanina que proporciona un color marrón parduzco y la feomelanina con un pigmento rojo amarillento. Se sintetiza por acción de la tirosina bajo la influencia de la unión de la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) a un receptor en la membrana de los melanocitos. El receptor MCR tiene 5 variantes y dependiendo de esta se va a

determinar la respuesta en la producción de melanina lo que a su vez va a caracterizar la respuesta del individuo a la luz solar (Alegre, 2021).

- **Células de Merkel:** Se encuentra a nivel de la capa basal y tiene función mecano – receptora por lo que se encuentra en los lugares con sensibilidad táctica intensa como mucosa oral y genital. A nivel de la epidermis se asocia con las terminaciones nerviosas intraepidérmicas. La queratina 20 es el marcador más eficaz de estas células (Alegre, 2021).

1.2.3.2. Dermis

Esta capa está conformada por tejido conjuntivo de origen mesenquimal, el mismo que contiene fibras de colágeno de tipo I y fibras elásticas. Entre las células que conforman la dermis están los fibroblastos, macrófagos, mastocitos y adipocitos los cuales presentan vasos sanguíneos, nervios, glándulas subcutáneas y folículos pilosos. Su grosor llega a un máximo de 5 mm, conecta con la epidermis a nivel de la membrana basal y está compuesta principalmente por fibro-elástica, conteniendo colágeno y fibras elásticas (Reiriz, 2014).

Dota de estructura, soporte, resistencia, elasticidad y además tiene la capacidad de adaptación a movimiento y cambios de volumen. La matriz extracelular contiene gran cantidad de glicosaminoglicanos como: ácido hialurónico, proteoglicanos y glicoproteínas (García y Alonso, 2021).

La dermis tiene como funciones principales asegurar la nutrición en la epidermis, amortiguar y proteger a los órganos que se encuentren adyacentes y también constituir la reserva de agua más importante de la piel. En esta capa se encuentran también los receptores del tacto que permiten sentir los cambios de temperatura, dolor, picor, etc. Gracias a esta capa se puede sintetizar la vitamina D necesaria para mantener la salud (Cantabria labs, 2021).

1.2.3.3. Hipodermis

Es la capa más profunda de la piel, está integrada por tejido adiposo, razón por la que se puede afirmar que cumple con funciones de reserva de grasa en todo el cuerpo. Forma la base de la epidermis y dermis, formada por tejido conjuntivo, lóbulos de grasa sueltos, vasos sanguíneos y nervios que suelen ser más grandes que aquellos que se encuentran en la dermis. Actúa como aislante y almacenamiento energético (García y Alonso, 2021).

1.2.4. Fototipos de piel



Figura 6-1: Fototipos de piel y factor de protección solar

Fuente: LASERTAM, 2017.

La melanina se produce acorde al tipo de piel de los individuos, a la cantidad de sangre que fluye por sus vasos sanguíneos entre otros factores biológicos. Todos los seres humanos poseemos la misma cantidad de melanocitos en el cuerpo (aproximadamente 5 millones), pero de acuerdo a la herencia o a la genética la producción de melanina va a variar. Las personas de raza negra o latinos producen más melanina, mientras que los individuos caucásicos producen menores cantidades de melanina (Guavita, 2015).

El fototipo se refiere al conjunto de características que determinan la afinidad que se tiene a la adaptación al sol, cuanto más baja sea esta capacidad, menos se contrarrestarán los efectos de la radiación solar sobre la piel. Se distinguen 6 tipos de piel, I y II presentan mayor riesgo de sufrir fotoenvejecimiento y fotocarinogénesis, en cambio V y VI presentan bajo riesgo de sufrir estos efectos adversos. En la Figura 6-1 se muestra los fototipos de piel con su factor de protección solar correspondiente. Debido a estas variaciones, es importante conocer los fototipos de piel para poder elegir un protector o filtro solar correcto (Cajamarca, 2016). Como se indica en la Tabla 2-1.

Tabla 2-1: Fototipos cutáneos

FOTOTIPO	ACCIÓN DEL SOL SOBRE LA PIEL NO PROTEGIDA	CARACTERÍSTICAS PIGMENTARIAS
I	Presenta intensas quemaduras solares, casi no se pigmenta nunca y se descama de forma ostensible	Individuos de piel muy clara, ojos azules, pelirrojos y con pecas en la piel. Su piel, habitualmente, no está expuesta al sol y es de color blanco-lechoso.
II	Se quema fácil e intensamente, pigmenta ligeramente y descama de forma notoria	Individuos de piel clara, pelo rubio, ojos azules y pecas, cuya piel, que no está expuesta habitualmente al sol, es blanca.
III	Se quema moderadamente y se pigmenta correctamente	Razas caucásicas (europeas) de piel blanca que no está expuesta habitualmente al sol
IV	Se quema moderada o mínimamente y pigmenta con bastante facilidad y de forma inmediata al exponerse al sol	Individuos de piel morena o ligeramente amarronada, con pelo y ojos oscuros (mediterráneos, mongólicos, orientales)
V	Raramente se quema, pigmenta con facilidad e intensidad (siempre presenta reacción de pigmentación inmediata)	Individuos de piel amarronada (amerindios, indostánicos, árabes e hispanos).
VI	No se quema nunca y pigmenta intensamente (siempre presentan reacción de pigmentación inmediata)	Razas negras

Fuente: Marín y del Pozo, 2005.

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022

1.2.5. Efectos de la radiación UV sobre la salud

La radiación ultravioleta contribuye a la producción de vitamina D en la piel de los seres humanos. Existen dos formas de vitamina D.

- Vitamina D₂: También llamada ergocalciferol, es sintetizada por plantas y hongos.
- Vitamina D₃: También llamada colecalciferol, es resultado de la irradiación del 7-dehidrocolesterol en la piel del ser humano y de otros mamíferos

Estas dos formas son igual de importantes en el mantenimiento del metabolismo del calcio. La producción de vitamina D en la piel consiste en dos etapas, la primera se presenta una reacción rápida inducida por la radiación UV, luego la ionización por calor, etapa que se caracteriza por ser muy lenta (Salum et al., 2008).

Entre algunas de las actividades benéficas que realiza la síntesis de dicha vitamina D en el cuerpo humano están:

- Fortalece a la función de barrera de la piel
- Mejora el estado de ánimo
- Eleva el sistema inmune
- Mantiene y mejora el crecimiento de los huesos
- Contribuye al mantenimiento de la función muscular normal
- Contribuye a la absorción de calcio y fósforo

La radiación UV es también uno de los agentes físicos causantes de mutaciones y, está directamente relacionado a los procesos de fotocarcinogénesis. Si la piel de un mamífero se somete a una exposición crónica de radiación UV, las consecuencias serían: eritemas, edema, quemaduras de las células, hiperplasia, inmunosupresión, daño en el ADN, fotoenvejecimiento y melanogénesis, alteraciones relacionadas al desarrollo de cáncer (González et al., 2009).

Se conoce como heliodermatitis a los cambios inflamatorios que se presentan en la piel sobreexpuesta al sol y se caracteriza por la presencia de mastocitos, melanófagos y un infiltrado linfocítico perivascular.

1.2.5.1. Quemaduras o eritema

Se presenta por la exposición aguda de 2 y 6 horas a radiación UV-A y UV-B, y manifiesta daños visibles en la piel como respuesta inflamatoria causando el eritema, edema, dolor y vesiculación por la necrosis de las células epidérmicas (Collantes, 2015). La Figura 7-1 indica la formación de un eritema en la piel característico por su coloración



Figura 7-1: Eritema

Fuente: Velazco, 2016.

1.2.5.2. Fotoenvejecimiento

Se refiere al proceso de deterioro progresivo e irreversible del colágeno, elastina y fibras que tienen como función principal dar estructura y mantenimiento a la piel. Es un proceso biológico, pero se puede ver acelerado por la exposición a las radiaciones solares en las áreas del cuerpo con más exposición solar y se manifiesta de las siguientes formas:

- Tacto seco
- Falta de elasticidad
- Arrugas y surcos
- Pigmento irregular
- Pequeños derrames capilares
- Elastosis (Maset, 2021).

Entre los factores que aceleran el proceso de fotoenvejecimiento están: deficiente consumo de agua, alta ingesta de grasas, baja ingesta de fibras y antioxidantes, deficiente fotoprotección, etc. En la Figura 8-1 se puede observar las comúnmente llamadas “manchas”, causadas por la sobreexposición a las radiaciones solares.



Figura 8-1: Fotoenvejecimiento

Fuente: González, 2019.

1.2.5.3. Fotocarcinogénesis:

En la Figura 9-1 se muestra la formación de un melanoma maligno producto de la radiación UV, es comúnmente conocida como cáncer de piel que causa mutaciones en el ADN celular y alteraciones en los mecanismos de reparación. En cuanto al sistema inmunológico, la radiación solar altera la función de presentación antigénica de las células de Langerhans, lo que inhibe la inmunidad celular (Páez, 2012).



Figura 9-1: Melanoma maligno

Fuente: Ministerio de educación de Perú, 2020.

La cantidad de radiación solar necesaria depende de varios factores geográficos (altitud, latitud, relieve) y demográficos (edad, sexo, nacionalidad), por tal motivo no se puede establecer con exactitud la cantidad de luz solar que pueda resultar favorable para los seres humanos. En consecuencia, cada exposición se valora con referencia al riesgo de eritema siendo la vitamina D por Dosis Eritémica Mínima (DEM) un factor constante (Salum et al., 2008).

1.2.5.4. Dermatitis por fotoexposición

Es una respuesta anómala de la piel a la radiación que resulta en una fotodermatitis primaria o idiopática (dermatitis, urticaria solar) y enfermedades fotoagravadas (lupus eritematoso, eritema multiforme). En la Figura 10-1 se muestra una dermatosis fotoagravada. Las alteraciones en la pigmentación son manifestaciones secundarias a causa de una quemadura solar, reacciones fototóxicas o fotoalérgicas. Visualmente se presentan manchas de varios tonos en zonas como manos, cara y dorso (Collantes, 2015).



Figura 10-1: Dermatitis

Fuente: Barnadas, 2004.

1.3. Fotoprotección

La barrera de protección natural frente a la luz solar está atribuida a la eumelanina que, en los fototipos de piel claros (I-III) no llega a ser suficiente, por tal motivo es importante que se complemente con protectores solares. Para determinar la efectividad de un filtro solar se pueden asumir dos parámetros: el factor de protección solar (FPS) y el grado de protección UV-A (PA). El parámetro más usado es el FPS que mide directamente la protección solar con respecto al eritema inducido por UV en la piel en condiciones estandarizadas. En el caso de personas que presenten fototipos de piel I necesitan alta protección, así como personas con albinismo y vitíligo. Fototipos IV a VI necesitarán una fotoprotección más baja (Salum et al., 2008).

La principal meta de la fotoprotección se enmarca en reducir el tiempo global de exposición al sol, en especial en aquellas horas donde su exposición es más severa (12:00 a 16:00 horas). La fotoprotección se puede presentar de forma intrínseca de la misma piel y también de manera exógena. Esta última incluye todos los métodos y estrategias destinadas a disminuir los efectos nocivos causados por la exposición solar sobre la piel. Los fotoprotectores deben presentar

características como: gran capacidad de absorber, reflejar o dispersar fotones para evitar la penetración cutánea (Gilaberte et al., 2003).

Los requisitos biofísicos que deben cumplir los fotoprotectores para generar una genuina atenuación de la radiación UV son:

- Absorción y filtración de la radiación UV tanto en la piel como en el estrato córneo
- Dispersión de la radiación
- Reflexión de la radiación
- Destrucción de radicales libres

Los ingredientes activos presentes en los protectores solares están regulados como cosméticos, pero en Estados Unidos, Canadá y Australia dichos productos son considerados como productos de venta libre. La entidad encargada de regular los ingredientes activos, métodos de prueba y requisitos de etiquetado de los productos cosméticos es la FDA. Actualmente se reconocen 16 filtros solares aprobados en Estados Unidos (Garnacho et al., 2020). En la Tabla 3-1 se puede observar los ingredientes activos según la FDA.

Tabla 3-1: Categorías de los filtros solares según la FDA

Categoría	Filtro solar
Categoría I	Óxido de zinc
	Óxido de titanio
Categoría II	Ácido paraaminobenzoico (PABA)
	Silicilato de trolamina
	Cinoxato
	Dioxibenzona
Categoría III	Ensulizol
	Homosalato
	Meradimato
	Octinoxato
	Oxibenzona

Fuente: Garnacho et al., 2020.

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022

1.3.1. Protectores solares

Es un producto comercial que en su composición posee uno o más filtros solares que pueden ser de naturaleza orgánicos o químicos, físicos o inorgánicos. Además, también contienen sustancias como emolientes, preservantes, emulsificantes, fragancias y colorantes. Estos productos tienen como objetivo proporcionar protección de la piel contra UV-A o UV-B o ambas (Sanz et al., 2021).

Los mecanismos fotoprotectores incluyen:

- Absorción directa de fotones
- Inhibición de la inflamación crónica
- Modulación de la inmunosupresión
- Inducción de apoptosis
- Actividad antioxidante directa e indirecta (Cajamarca, 2016).

Las familias de compuestos químicos orgánicos más usados en protectores solares tópicos son:

- Para UV-A: Benzofenonas, avobenzona, meradimato, bidisulizole disódico, dietil diaminohidroxi benzoilo hexilbenzoato y ecamsule).
- Para UV-B: Cinamatos, salicilatos, octocileno, ensulozole y etilexiltriazona.
- De amplio espectro (UV-A y UV-B): Ecamsule, silatriazol, bemotrizinol y bisoctrizol) (Sanz et al., 2021).

1.3.2. Filtros solares

Son compuestos específicos que tienen como función impedir el paso de la radiación UV a través de la absorción y diseminación controlada de dichos rayos. Los fotoprotectores pueden ser de dos tipos:

- Preparados antisolares: Bloquean por completo las radiaciones solares y, por consiguiente, el bronceado, lo que los hacen adecuados para fototipos de piel que presentan más sensibilidad a radiación UV.
- Preparados solares: Su acción es selectiva, absorben las radiaciones capaces de causar eritema, pero no aquellas que tienen acción bronceadora.

En ambos casos de fotoprotectores, en sus formulaciones se utilizan activos llamados filtros solares y dependiendo de su estructura física y concentración se presentará la actividad fotoprotectora (Marín y del Pozo, 2005). En base a su acción se pueden clasificar en:

1.3.2.1. Físicos o inorgánicos

En este caso el ingrediente activo es un compuesto de naturaleza inorgánica, cuya función es la de reflejar o dispersar la radiación solar. Son de amplio espectro, es decir, que actúan protegiendo contra la radiación UV-A y UV-B, además, son menos propensos a causar irritaciones lo que los hace más adecuados para pieles sensibles y los estudios de toxicidad en administración subcutánea e intravenosa demostraron una baja toxicidad general (Garnacho et al., 2020).

Este tipo de filtro, evita tanto la formación de eritema como el bronceado. Los pigmentos micronizados son un ejemplo de filtros físicos, tienen un tamaño de partícula de 10 y 50 nm adaptados a una formulación como crema o loción, así como también el dióxido de titanio al 25% y el Óxido de zinc al 25% (Marín y del Pozo, 2005).

1.3.2.2. Químicos u orgánicos

Se considera filtros químicos a los compuestos conformados por moléculas orgánicas que poseen grupos cromóforos en su estructura, lo que les confiere la capacidad de absorber la radiación UV. Los cromóforos son grupos aromáticos o grupos con dobles enlaces conjugados cuyos electrones tiene la capacidad de saltar de un nivel energético a otro. Su mecanismo de acción radica en captar la radiación UV y transformarla en forma de calor de tal manera que se vuelva inofensiva para la piel (Marcos, 2018).

Estos tipos de filtros por lo general incluyen cinoxato, dioxibenzona, ensulizol, homosalato, meradimato, octinoxato, octisalato, oxibenzona y avobenzona, en diversas combinaciones. La mayor desventaja que pueden presentar los filtros orgánicos son su alta posibilidad de producir reacciones alérgicas, cutáneas, neurotóxicas y hormonales. También se ha demostrado que representan cierto grado de peligro para el medio ambiente, en especial para organismos marinos, razón por la cual se han desarrollado nuevas compuesto y combinaciones para prevenir la fotodegradación como en el caso de la adición de octocrileno, compuesto que previene la degradación de la avobenzona (Garnacho et al., 2020).

En la Tabla 4-1 se muestra el listado de filtros solares orgánicos e inorgánicos aprobados en productos cosméticos.

1.3.2.3. Biológicos

Estos filtros son de tipo antioxidantes cuya función es la de evitar la formación de radicales libres potenciando el subsistema inmunológico cutáneo. Entre las más destacadas se encuentran las vitaminas A, C y D (Marín y del Pozo, 2005).

Estos filtros reaccionan de tres maneras diferentes al tener contacto con la radiación solar: liberan energía en forma de calor, producen cambios en su conformación molecular y emiten radiación a altas longitudes de onda. Suelen ser compuestos aromáticos que contienen en su estructura un grupo carbonilo como silicilatos, cinamatos y benzofenonas (Sanz et al., 2021).

Tabla 4-1:Lista de filtro UV orgánicos e inorgánicos permitidos en productos cosméticos

NOMBRE	RANGO	CONCENTRACIÓN MÁXIMA PERMITIDA (%)
Metosulfato de alcanfor benzalconio	UVB	6 %
Salicilato de homometil	UVB; UVA2	10 %
Butil metoxidibenzoilmetano	UVA1	5 %
Ácido benciliden alcanfor sulfónico	UVB	6 %
Alcafor poliacrilamidometil bencilideno	UVB	6 %
Metoxicinamato de etilhexilo	UVB	10 %
Etoxi etil 4-aminobenzoato	UVB	10 %
P-Metoxicinamato de isoamilo	UVB; UVA2	10 %
Etil hexil triazona	UVB; UVA2	5 %
Benzofenona-3	UVB; UVA2	6 %
Etilhexil dimetil PABA	UVB	8%

Fuente: Sanz et al., 2021.

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

1.3.2.4. Octilmetoxicinamato (OMC)

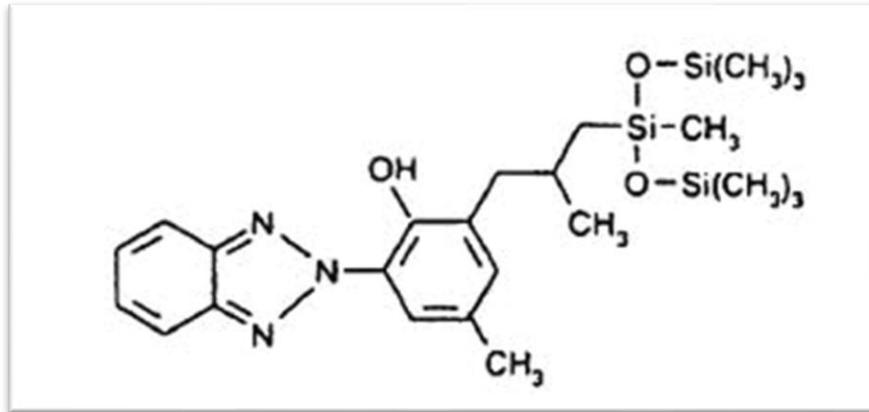


Figura 11-1: Estructura química del Octilmetoxicinamato

Fuente: Derma Info, 2011.

En la Figura 11-1 se muestra la estructura química del octilmetoxicinamato, este compuesto es un éster orgánico formado por metoxicinamato y 2-etilhexanol, es un líquido oleoso e incoloro que usualmente se utiliza en productos cosméticos o farmacéuticos con protección de rayos UV-B (280 – 320 nm).

La energía absorbida lleva a los electrones a adquirir un estado excitado y al volver al estado de reposo liberan la energía en forma de calor. Se puede encontrar en formulaciones comerciales como protector solar UMBRELLA y FILTROSOL y su concentración máxima va desde 7,5 a 10%. Tiene un pico de absorción de radiación de 311 nm de longitud de onda (Faria, 2016).

1.3.3. Factor de protección solar

El químico Franz Greiter introdujo por primera vez el concepto de FPS en la fotobiología en el año de 1962. El Factor de protección se refiere al número de veces que un determinado fotoprotector aumenta la capacidad de defensa natural de la piel en referencia al eritema que puede causar la quemadura. Es importante recalcar que FPS solamente hace referencia a la capacidad de protección frente al eritema del que es responsable la radiación UV-B, más no a otros efectos que puedan producir UV-A (Batlle, 2005).

Existen diferentes sistemas que ayudan a la determinación de FPS entre los cuales varían sus metodologías lo que causa que para mismos productos se puedan obtener distintos valores en función del método aplicado:

- FDA

- DIN alemán
- COLIPA

En 1994 creó el Sun Protection Factor Test Method (método de verificación del factor de protección solar), con el objetivo de establecer un método válido para todos los países de la Unión Europea, realizado por la Agrupación Europea de Fabricantes de Productos de Cosmética y perfumería (COLIPA) por lo que el método adoptó el mismo nombre y, además en 1997 el factor de protección UV-B se adaptó a los estándares de este método lo que permitió una clasificación según el nivel de protección (Batlle, 2005).

- Bajo: 2, 4, 6
- Medio. 8, 10, 12
- Alto: 15, 20, 25
- Muy alto: 30, 40, 50
- Ultra: >50

La técnica de referencia para la valoración de la eficiencia de los protectores solares contra el eritema provocado por la exposición a radiación solar UV-B es la establecida por la Food and Drug Administration (FDA) (Cajamarca, 2016). El valor numérico que se encuentra en los envases de un protector solar señala el efecto protector frente a UV-B. El FPS indica el tiempo de exposición al sol con la piel protegida.

Tabla 5-1: Criterios de evaluación para la valoración de productos bloqueadores solares según los métodos FDA, DIN y COLIPA

MÉTODOS	FDA (ESTÁNDAR DE ESTADOS UNIDOS)	DIN 67501 (BORRADOR 1995/1996)	COLIPA (MÉTODO EUROPEO)
Número de individuos valorados	20	Según el método estadístico, de 10 a máximo 20	Según el método estadístico, de 10 a máximo 20
Superficie irradiada y localización	30 cm ² de espalda	35 cm ² de espalda ≥	35 cm ² de espalda
Tipos de piel	I, II, III	I, II, III, IV	I, II, III, así como los tipos de piel con valores colorimétricos de CIE° ≥ 28°
Cantidad aplicada	2 mg/cm ²	2,0 ± 0,1 mg/cm ²	2,0 ± 0,04 mg/cm ²
Período de irradiación activa	15 min	15 ± 5 min	15 m
Inspección al cabo de...	16-24 h	20 ± 4 h	20 ± 4 h
Estándares SPF	<ul style="list-style-type: none"> • SPF bajo: 4,0 ± 0,7 • SPF alto: 9,8 ± 15,0 	<ul style="list-style-type: none"> • P1: estándar europeo igual al SPF 3,4-4,8 • P3: estándar europeo igual al SPF 11,0-18,0 	<ul style="list-style-type: none"> • P1: estándar bajo (SPF 4,0-4,4) • P2: estándar alto (SPF 11,5-13,9), si es necesario sustituir por P3 • P3: estándar alto (SPF 14,0-17,0)
Espectro del simulador solar	Continuo de tipo solar de 290 a 400 nm	Continuo de tipo solar de 290 a 400 nm	Continuo de tipo solar de 290 a 400 nm
Umbrales MED (duración de la irradiación)		≥ 15 s	20-180 s
Recomendación para el etiquetado del producto	<ul style="list-style-type: none"> • 2-4 mínimo • 5-7 moderado • 8-11 elevado • 12-20 muy elevado • ≥ 20 ultraelevado 	<ul style="list-style-type: none"> • 2-4 mínimo • 5-8 moderado • 9-14 elevado • > 15 muy elevado 	

Fuente: (Batlle, 2005).

FPS se calcula en base a la dosis eritematogena mínima (DEM) que indica la protección frente a los rayos UV-B únicamente. La DEM indica la cantidad mínima de rayos UV-B que tiene la capacidad de causar daño o enrojecimiento en la piel. El FPS se obtiene al dividir la DEM con la aplicación del filtro solar, con respecto a la DEM sin filtro solar (Bagazgoitia, 2017).

Cuanto más alto resulte FPS, más alta será la protección a la radiación UV-B. Un FPS 25 proporciona una protección del 92% de UV-B; FPS 30 protege contra más del 97,5% y FPS 50 repele hasta el 99% de la misma radiación. Un protector solar ideal debe tener al menos FPS 30+ con filtro UV-A adicionado (Cajamarca, 2016).

1.4. Metabolitos fotoprotectores en las plantas

Existen una gran gama de compuestos orgánicos que poseen la capacidad de absorber la radiación UV, entre los que destacan los compuestos fenólicos (flavonoides, resveratrol, picnogenol). Dichos compuestos poseen acción fotoprotectora, pero esta acción va en dependencia del número de anillos fenólicos y su interacción (Moya, 2018).

1.4.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que se sintetizan a partir de la ruta del ácido shikímico o de la ruta del acetato.

- Ruta del ácido shikímico: fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianos y taninos.
- Ruta del acetato: derivados fenólicos como atraquinonas y heterósidos antracénicos (Kuklinski, 1999: p.98).

Son compuestos orgánicos cuya estructura posee al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo hidroxilo. Suelen ser ácidos, son responsables de las coloraciones de flores, frutos y hojas, razón por la que participan en la polinización, actúan como protectores frente a las radiaciones ultravioletas y ejercen una eficaz actividad antioxidante (AEFA. 2021).

Según su estructura química se puede clasificar en:

No flavonoides: En este grupo se encuentran:

- Fenoles no carboxílicos
- Ácidos fenoles.

Flavonoides: Formados por dos grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado, dentro de este grupo se encuentran:

- Antocianos
- Flaconas, flavononas, flavonoles y flavononoles
- Flavanoles, taninos condensados y lignanos

1.4.2 Flavonoides

Son compuestos orgánicos de bajo peso molecular que están constituidos por dos anillos aromáticos bencénicos unidos a 3 átomos de carbono, cuya estructura general es C6-C3-C6, tal y como se muestra en la Figura 12-1. Estos metabolitos secundarios son pigmentos hidrosolubles que se encuentran en el citoplasma, vacuolas y membranas de células vegetales.

Son agentes preventivos contra enfermedades neurodegenerativas como cáncer, aterosclerosis y diabetes (Rocha, 2022).

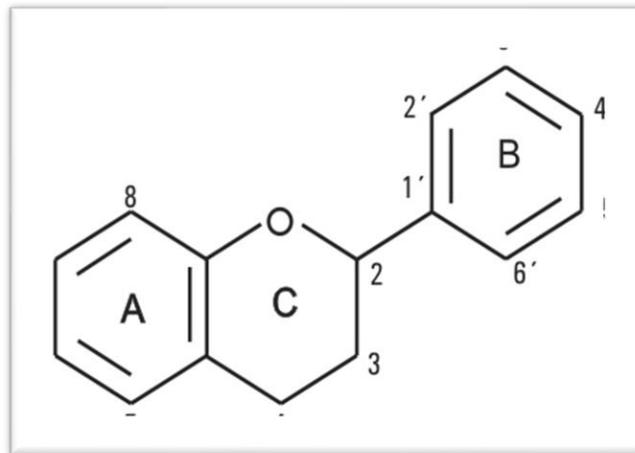


Figura 12-1: Estructura básica de los flavonoides

Fuente: Pérez, 2003

Generalmente están en combinación con azúcares en forma de glicósidos y también como agliconas libres. Los glucósidos debido a su conformación son más solubles en solventes polares como lo son el etanol, metanol, acetona etc., pero son también menos reactivos frente a radicales libres que su aglicona o flavonoide respectivo (Cajamarca, 2016). Como ya se ha mencionado, los flavonoides tienen la capacidad de absorber la radiación UV como mecanismo de defensa, poseen también actividad antioxidante directa e indirecta. Las isoflavonas que presentan características fotoprotectoras son:

- **Quercetina:** Es una isoflavona presente principalmente en frutas y vegetales, cuya estructura se muestra en la Figura 13-1. Presenta una diversa actividad biológica como: analgésicas, antiagregantes, vasodilatadoras, antiartríticas, antibacterianas, antigripales, antiinflamatorias, antiespasmódicas, etc. En algunas formulaciones tópicas se ha demostrado que la quercetina es capaz de inhibir el daño inducido por la radiación de tipo UV-B (Rincón, 2022).
- **Genisteína:** Es un fitoestrógeno isoflavónico que se derivan principalmente de la soja presenta y se encuentra mayormente en formas glicosiladas. Estudios indican que dicho compuesto tiene actividad anticancerígena ya que afecta al proceso de carcinogénesis, inhibe las metiltransferasas del ADN, reduce los niveles de hipermetilaciones en genes supresores de tumores e impide las formaciones de microvasos tumorales (Srivastava, 2018: p.19).

Un estudio realizado por Gilaberte et al., (2003), señala que la aplicación tópica de genisteína en animales de experimentación después de haber sido expuestas a radiación de tipo UV reduce la

inflamación, actúa frente a la fotoinmunosupresión e inhibe la aparición de tumores. Uno de los resultados obtenidos más relevantes muestra que la genisteína puede mantener su efecto protector ante el daño inducido por la luz solar, incluso al aplicarlo de 1 a 4 horas después de haberse sometido a radiación UV.

- **Silimarina:** Es básicamente una mezcla de tres flavonoides: silibinin, silidianin y silicristin, se caracteriza por modular efectos agudos y críticos producidos por la radiación UV en animales de experimentación, Protege del daño en el ADN y la fotoinmunosupresión. Tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias e inmunomoduladoras (Cajamarca, 2016).

En el caso de *O. grandiflora* los flavonoides presentes son: 3-O-glucorónido de quercentina (miquelianina) y 3-O-glucorónido de miricetina. Compuestos que le confieren características antioxidantes por su capacidad de alterar la tasa de LDL e impedir la formación de radicales libres.

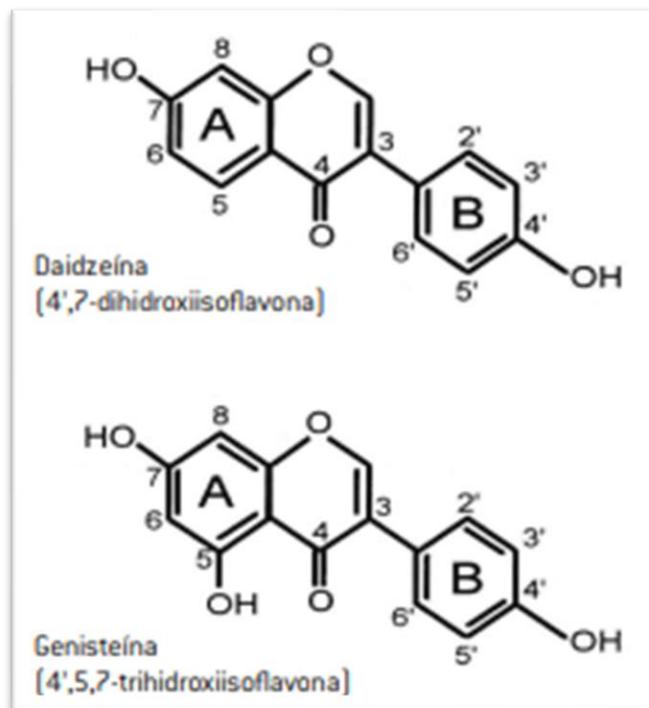


Figura 13-1: Estructura química de las isoflavonas

Fuente: Ludueña et al., 2007.

1.5. Ensayos clínicos cosméticos en animales



Figura 14-1: Ensayos clínicos en cobayos

Fuente: Chernetskaya, 2019.

Dentro de las ciencias médicas el uso de animales de experimentación ha sido fundamental para el progreso de los campos del desarrollo humano, pese a los grandes avances tecnológicos. Actualmente, el empleo de animales de experimentación se ha venido incrementando de manera progresiva para fines distintos relacionados con el campo de la biomedicina con el fin de garantizar la seguridad de los seres humanos como se indica en la Figura 14-1. Por dicho motivo la sociedad se ha visto envuelta en una polémica de posturas sobre la ética y la bioética relacionada a este tipo de entorno (Palacios et al., 2021).

Así como los medicamentos, los productos cosméticos pueden presentar reacciones adversas al no ser debidamente probados antes de su venta comercial, dichos efectos pueden deberse a factores individuales o por uso inadecuado, razón por la cual es importante realizar pruebas biológicas para poder evaluar la seguridad.

Las pruebas biológicas se realizan para detectar sensibilidad cutánea, irritación ocular, fototoxicidad y citotoxicidad, por lo que le corresponde al técnico – científico el realizar estas pruebas en la búsqueda de enfoques alternativos para evitar la muerte y el sufrimiento de los animales de experimentación. Entre los animales de laboratorio de uso experimental están ratas, ratones, cobayas y conejos. Las limitaciones que poseen estos animales de laboratorio es que su piel difiere de la piel humana en aspectos como cantidad de pelo, naturaleza del sebo, grosor y espesor, pero a pesar de esto son los modelos biológicos más utilizados por ser de bajo coste y de fácil acceso (Chorilli et al., 2009).

1.5.1. Ensayos realizados en cosmetología

1.5.1.1. Test Draize

Tiene como función determinar la toxicidad que posee una sustancia aplicándola en la piel o en los ojos del animal de laboratorio (usando pinzas para mantenerlos abiertos) por un período de hasta 14 días para obtener resultados reales. Si como resultado se obtiene daños irreversibles, el animal es sometido a eutanasia. Los resultados negativos de este test son presencia de úlceras, hemorragias, visión borrosa y ceguera (Ética Animal, 2021).

1.5.1.2. Toxicidad aguda

En estos tipos de ensayos se señalan los efectos adversos al someter al animal de experimentación a una única exposición de la sustancia administrada por vía oral, dérmica o inhalatoria. Los resultados negativos de esta prueba son convulsiones, ataques, parálisis y la muerte (de Lapuente et al., 2014).

1.5.1.3. Corrosión e irritación de la piel

Los animales de elección para este test son los conejos y los cobayos, para esto primero hay que inmovilizar al animal, afeitando parte de su pelo en la espalda y colocando el químico directamente en la piel, posteriormente se cubre el área con una gasa y se deja durante varias horas, finalmente se retira la gasa y se mide el daño o irritación en la piel. Este proceso puede continuar por 14 días, no se debe administrar ningún analgésico (Ética Animal, 2021).

1.5.1.4. Toxicocinética

Este test determina la velocidad con la que un químico de carácter tóxico se mueve o disemina a través del cuerpo. En algunos casos, el metabolismo de ciertos compuestos químicos tiene como resultado residuos más tóxicos. El químico puede ser administrado por ingestión forzada, por inhalación o inyección. Para su análisis se realizan tomas de sangre periódicamente. Una vez finalizado el procedimiento, se somete al animal a eutanasia (Ética Animal, 2021).

1.5.1.5. Carcinogenicidad

En esta prueba se utilizan sustancias que producen o aumentan el riesgo de crecimiento de células cancerígenas. Es un proceso a largo plazo que produce la conversión de células normales a tomorigénicas. Dicha sustancia se coloca en la piel del animal o por vía oral. En los modelos *in vivo* se necesita de largos períodos de observación, pero gracias a ello se puede validar estrategias preventivas (Okada et al., 2021).

1.5.1.6. Toxicidad reproductiva y del desarrollo

Tiene por objetivo evaluar los efectos tóxicos que se suscitan como resultado de una exposición a una sustancia sujeta a estudios en cualquiera de las fases del ciclo reproductivo de un mamífero incluyendo la fertilidad, comportamiento sexual, implantación embrionaria, desarrollo fetal, adaptación postnatal y desarrollo. Según la regulación REACH todo producto en cantidades superiores a 10 toneladas debe ser sometido a este test (de Lapuente et al., 2014).

1.5.2. Cobayo

El cobayo, cuyo nombre científico es *Cavia porcellus*, es originario de los Andes sudamericanos y se lo puede encontrar específicamente en la zona de Ecuador, Perú y Bolivia. Son pequeños, de aspecto rústico, se caracterizan por ser capaces de desarrollarse bajo condiciones adversas de clima y alimentación. Pertenece a la clase *Mamífera*, orden *Rodentia*, suborden *Hystricomorfos*, familia *Caviidae*, género *Cavia*, especie *porcellus* (Chauca, 1997).

En la Tabla 6-1 se puede observar dicha clasificación taxonómica.

Tabla 6-1: Clasificación taxonómica *Cavia porcellus*

Categoría	Taxón
Reino	Animal
Clase	Mamífero
Orden	Roedores
Suborden	<i>Hystricomorpha</i>
Familia	<i>Caviidae</i>
Género	<i>Cavia</i>
Especie	<i>Cavia porcellus</i>

Fuente: Chauca, 2021

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

La edad en la que este animal alcanza la pubertad se encuentra en dependencia del sexo, medio ambiente y fondo genético. En el caso de la hembra se presenta entre los 4 a 5 semanas de edad, en los machos entre las 8 a 10 semanas de edad. Bajo condiciones de laboratorio, los cobayos domésticos son poliéstricos, estacionales. Es importante basar el sistema de crianza de acuerdo al tipo de equipamiento que se disponga en el bioterio, alojamiento, personal disponible y propósito, además, se recomienda un macho cada 10 hembras por m². Los machos tienen a pelear entre ellos, por lo que se deben colocar en jaulas individuales, en el caso de las hembras no suelen presentar agresividad entre sí, ni con machos – hembra (Kunz, 2003).

El cobayo es un animal herbívoro monogástrico, la composición de la ración va a determinar su mayor o menor actividad digestiva. Su alimentación se basa en una combinación de diferentes nutrientes como proteínas, carbohidratos, minerales, vitaminas y agua, todo esto en dependencia de la edad, estado físico, genotipo y medio en el que se desarrolla el cobayo. Así pues, se distinguen tres tipos de sistemas de alimentación: a base de forraje, mixta y base concentrado. Los machos pueden vivir en colectividad junto con hembras. Su peso promedio al nacer es de 94,5 a 95,5 g . (Vivas y Carballo, 2009: p.34).

1.6. Bioterio

El bioterio que está ubicado dentro de las inmediaciones de la Facultad de Ciencias, en el segundo piso del edificio de Bioquímica y Farmacia, es un centro especializado en la crianza, docencia e investigación de especies menores como *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*. Dentro de las cuatro áreas se desarrollan macro y micro ambientes controlados con ventilación, temperatura e iluminación automatizada que cumple con parámetros establecidos dentro de protocolos afines a la crianza y mantenimiento de los sujetos experimentales.



Figura 15-1: Criaderos de Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Realizado por: Gallardo, Daniela. 2022

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Tipo y diseño de investigación

La investigación propuesta fue de tipo experimental, la cual se centró en determinar la actividad fotoprotectora del extracto de la planta *Oreocallis grandiflora* utilizando un método analítico, cuya finalidad fue establecer una relación de causalidad en donde los resultados fueron expresados de manera cuantitativa.

2.2. Diseño experimental

2.2.1. Población de estudio

2.2.1.1. Material vegetal

Hojas de *Oreocallis grandiflora* de las zonas altas de la provincia de Chimborazo.

2.2.1.2. Modelo animal

Especie *Cavia porcellus*, entre 3 y 4 meses de edad, acondicionados a crianza de bioterio.

2.2.2. Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra fue de 25 sujetos de experimentación, seleccionados de manera aleatoria entre machos y hembras, divididos en cinco grupos de análisis con cinco individuos cada uno:

- A – expuesto a radiación, con formulación placebo.
- B - expuesto a radiación, protegido con filtro solar comercial (octilmetoxicinamato).
- C - expuesto a radiación, protegido con la formulación farmacéutica a base de *O. grandiflora* con concentración de 0,1%.
- D- expuesto a radiación, protegido con la formulación farmacéutica a base de *O. grandiflora* con concentración de 0,2%.
- E - expuesto a radiación, protegido con la formulación farmacéutica a base de *O.*

grandiflora con concentración de 0,4%.

2.2.3. Método de muestreo

2.2.3.1. Material vegetal

La población de estudio fueron las hojas de *Oreocallis grandiflora*. La recolección del material vegetal se realizó en la provincia de Chimborazo, mediante un muestreo aleatorio simple para obtener aproximadamente 350 g de esta especie vegetal.

2.2.3.2. Modelo animal

Se eligieron cobayos entre machos y hembras de cuatro meses de edad, acondicionados al bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Para la recolección tanto del material vegetal como modelo animal se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

2.2.4. Criterios de inclusión

2.2.4.1. Material vegetal

Las especies vegetales que presentaron hojas intactas, sin insectos, de aspecto fresco, sin presencia de plagas, sin tierra ni ningún otro material extraño ajeno a la droga vegetal.

2.2.4.2. Modelo animal

Animales con buena respuesta adaptativa, es decir, que no denoten agresividad ni con otros individuos ni con quienes los manipulan, con una talla de 30 cm y peso de 1,2 kg, aproximadamente. Cobayos que se encuentren dentro de los cuatro meses de edad, que no presenten golpes o heridas abiertas en la piel.

2.2.5. Criterios de exclusión

2.2.5.1. Material vegetal

Plantas que presentaron daño por acción de insectos o animales, deterioro por agentes químicos y ambientales, plantas en proceso de descomposición o contaminación microbiológica.

2.2.5.2. Modelo animal

Aquellos animales de experimentación que presentaron mala respuesta adaptativa y las condiciones de ambientalización, con desviaciones significativas a las características promedio de talla y peso, con algún tipo de enfermedad, que presentaron conflictos intraespecie y agresividad.

2.2.6. Identificación de variables

- **Variable dependiente:** Actividad fotoprotectora
- **Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de *Oreocallis grandiflora*

2.2.7. Procedimiento general

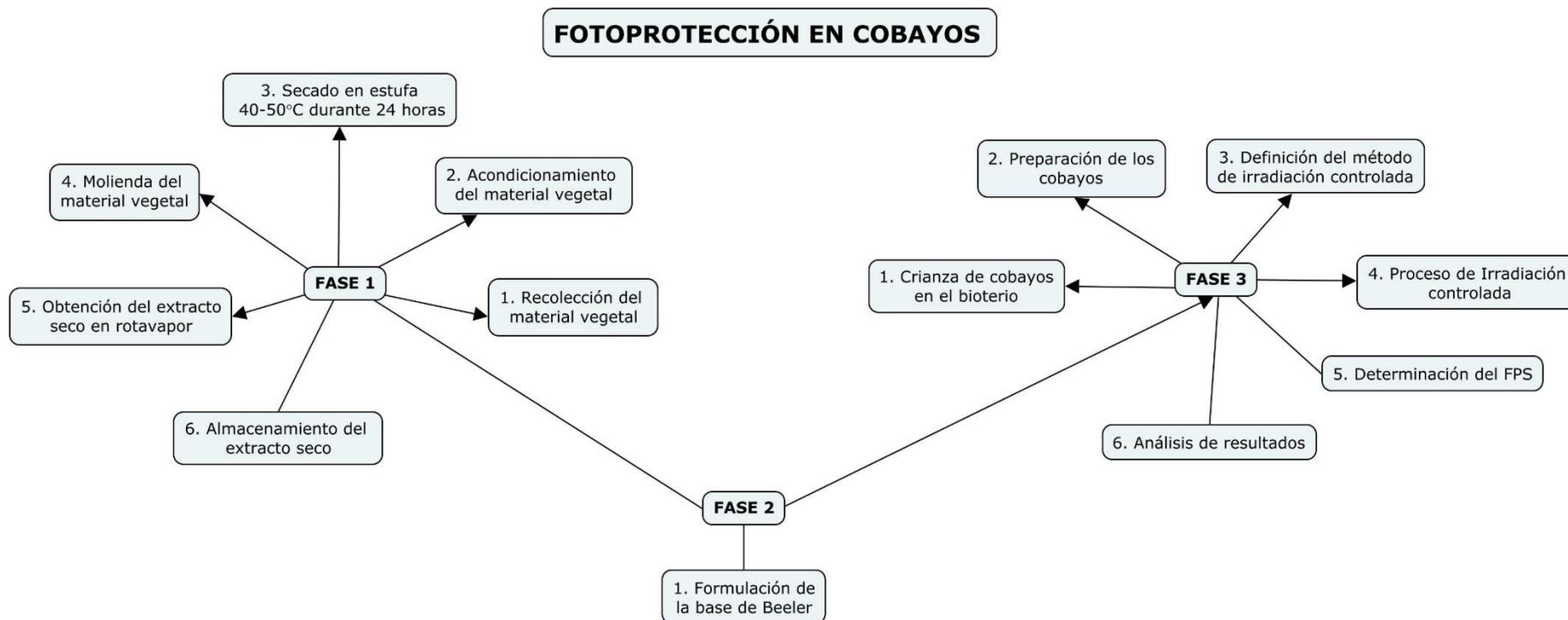


Figura 1-2: Procedimientos generales

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

2.2.8. Operacionalización de variables

Tabla 1-2: Operacionalización de variables

VARIABLES	CONCEPTO	INDICADORES	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN
<u>Variable Dependiente:</u> Actividad fotoprotectora del extracto de <i>O. grandiflora</i> .	La actividad fotoprotectora es la característica que poseen ciertas sustancias para prevenir el daño causado en la piel y sus anexos como resultado de la exposición prolongada a la radiación UV.	Prueba de determinación de FPS, a través de la irradiación controlada en la especie <i>Cavia porcellus</i> con la aplicación de la formulación farmacéutica.	- Cámara UV - Radiómetro - Aplicación de ANOVA - Mexámetro
<u>Variable Independiente:</u> Extracto de <i>O. grandiflora</i>	El extracto hidroalcohólico es el resultado de una maceración con alcohol etílico para obtener los principios activos presentes en la planta <i>Oreocallis grandiflora</i> como compuestos fenólicos.	- Tipo de extracto - Concentración del extracto - Composición del extracto	• Rotavapor • Estufa • Desecador

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

2.3. Lugar de investigación

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Tecnología Farmacéutica, Productos Naturales y Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia ubicada en la Facultad de Ciencias pertenecientes a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, localizada en el cantón Riobamba de la Provincia de Chimborazo.

2.4. Recolección del material vegetal

Oreocallis grandiflora se recolectó en Ecuador, en el cantón Alausí perteneciente a la provincia de Chimborazo, ubicada a 2832 m.s.n.m. con los siguientes puntos geográficos:

- 02°12'S 078°55'W

2.5. Acondicionamiento del material vegetal



Figura 2-2: Acondicionamiento de *O. grandiflora*

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

Después de haber realizado la recolección de la droga vegetal, se procedió a seleccionar aquellas hojas que se encuentren en mejor estado, es decir, sin afecciones de plagas, marchitas y que contengan cualquier tipo de material extraño, se lavó con agua potable para eliminar todo tipo impurezas. Posteriormente, las hojas fueron colocadas sobre papel periódico hasta eliminar el exceso de agua y se colocó en la estufa a temperatura entre 40 - 50°C por un período de 24 horas. En la Figura 3-2 se presenta el proceso de secado en estufa.



Figura 3-2: Secado de hojas en estufa

Realizado por: Gallardo, Daniela.2022

Una vez obtenidas las hojas secas, se colocaron en un molino de cuchillas giratorias marca Arthur H, Tomas C.O, obteniéndose 230 g de la droga vegetal molida como se observa en la Figura 4-2. Posteriormente se colocó en bolsas plásticas tipo ziploc en un lugar seco y fresco, con el fin de evitar cualquier tipo de contaminación por humedad, dichos pasos se resumen en la Figura 2-2.



Figura 4-2: Obtención de la droga vegetal molida

Realizado por: Gallardo, Daniela.2022

2.6. Obtención del extracto seco de hojas de *Oreocallis grandiflora*

En un frasco de vidrio transparente Duran se colocó 20 g del material vegetal y 80 mL de alcohol al 70% (obtenido a través de la dilución de un alcohol al 97%) estableciendo una relación 1:4 P/V, se agitó vigorosamente y se dejó reposar en un sitio seco y fuera del alcance de la luz, durante 7 días aproximadamente.

Después se procedió a la filtración del extracto hidroalcohólico en embudo simple con papel filtro y algodón, hasta haber obtenido extracto suficiente y libre de impurezas, el mismo que se colocó en un rota vapor de la marca Heidolph a 220 – 280 rpm y 57°C durante aproximadamente 2 horas como se indica en la Figura 5-2. Se extrajo el balón de aforo del equipo y se colocó dentro del desecador durante dos horas y finalmente, con una espátula se raspó el material seco y se lo colocó en un envase estéril y bien sellado.



Figura 5-2: Obtención del extracto seco de hojas de *O. grandiflora*

Realizado por: Gallardo, Daniela.2022

2.7. Formulación de la base de Beeler

Se realizaron 5 cremas con la formulación de la base de Beeler para lo cual se necesitaron los siguientes equipos, materiales y reactivos indicados en la Tabla 2-2.

Tabla 2-2: Materiales, equipos y reactivos

Materiales y equipos	Reactivos y sustancias
Balanza analítica	Alcohol cetílico 75 g
Baño maría	Cera de abeja 5 g
Vidrio reloj	Metil parabeno 1 g
Espátula	Lauril sulfato 10 g
Varilla de agitación	Propilenglicol 50 g
Cinco vasos de precipitación de 150 mL	Extracto seco de <i>Oreocallis grandiflora</i> 1 g
Cinco envases para crema	Agua destilada 375 g

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

Para cada una de las formulaciones se colocó en un primer vaso de precipitación la fase oleosa: 15 g de alcohol cetílico y 1 g de cera, se llevó a baño maría a una temperatura entre 60 a 65 °C, por 10 minutos aproximadamente hasta que ambos componentes se fundieran, como se indica en la Figura 6-2.

En un segundo vaso de precipitación se colocó la fase acuosa: propilenglicol 10 g, metil parabeno 0,2 g, agua 75 g y lauril sulfato de sodio 10g (para las formulaciones con principio activo integrado en esta fase se añadió el mismo y se agitó hasta que esté totalmente disuelto), se mantuvo en baño maría hasta que todos sus componentes se encuentren perfectamente integrados. Posteriormente se vertió la fase oleosa sobre la acuosa y se batió vigorosamente hasta obtener la consistencia deseada, se dejó enfriar y finalmente se colocó en un envase con tapa.



Figura 6-2: Preparación de la base de Beeler

Realizado por: Gallardo, Daniela.2022

La primera formulación (F_1) fue una crema placebo que no llevó ningún tipo de principio activo, la segunda formulación (F_2), con 0,2g de octilmetoxicinamato como principio activo, la tercera formulación (F_3), con 0,1g del principio activo de *O. grandiflora*, la cuarta formulación (F_4), llevó 0,2 g del principio activo *O. grandiflora* y finalmente la quinta formulación (F_5) llevó integrado 0,4g del principio activo de *O. grandiflora* en su composición. Dichos preparados se presentan en la Figura 7-2.



Figura 7-2: Formulaciones F₁, F₂, F₃, F₄ y F₅

Realizado por: Gallardo, Daniela.2022

2.8. Preparación y acondicionamiento del bioterio

El bioterio está constituido por 3 áreas conjuntas: área de laboratorios, área de tesis y el área de crianza de animales de experimentación. Como tal, existe una subdivisión dentro de esta última área de acuerdo a la especialización aplicada.

La especie *Cavia porcellus* fue ubicada en el criadero 3 en donde fueron instaladas 5 jaulas con las siguientes dimensiones: largo de 43 cm, ancho de 50 cm y alto de 46 cm. En cada jaula se colocaron 5 cobayos (3 hembras y 2 machos) los mismos que fueron previamente aislados durante 5 días antes de ser correctamente ubicados según las especificaciones anteriores.



Figura 8-2: Cuyeras.

Realizado por: Gallardo, Daniela.202

2.9. Preparación de las jaulas

La elaboración de las jaulas se basó en el diseño convencional de las cuyeras de campo, la estructura fue a base de madera de pino, bordeada con dos tipos de reja estándar de 1cm y reja para jaulas de pollos, ajustadas con clavo, tornillos y grapas industriales. El espacio de separación entre jaulas fue de 10 cm, con bandejas inclinadas de plástico impermeable debajo de ellas para la recolección de desechos, el producto final se muestra en la Figura 9-2.



Figura 9-2: Elaboración de jaulas

Realizado por: Gallardo, Daniela.2022

2.10. Adquisición de la especie animal

Los cobayos fueron adquiridos en la Provincia de Chimborazo, en la Parroquia de Flores, en las siguientes coordenadas WGS 84: X: 0760915 Y: 9797622.

2.11. Crianza en el laboratorio

Se colocó 5 cobayos en cada jaula (3 hembras y 2 machos) como se muestra en la Figura 10-2, a cada uno de ellos se les colocó 0,1 g de Ivermectina por vía intradérmica para desparasitarlos y

su alimentación fue a base de balanceado y hievas principalmente. La crianza en el bioterio se llevó a cabo por un período de dos meses antes de que los cobayos fueran intervenidos.

Para el mantenimiento de los animales de laboratorio, las limpiezas programadas en el criadero 3 fueron pasando un día, para evitar la acumulación de desechos y evitar cualquier tipo de enfermedad.



Figura 10-21 Crianza de cobayos

Realizado por: Gallardo, Daniela.2022

2.12. Preparación del cobayo

Se excluyeron aquellos cobayos que presentaron cualquier tipo de daño en la piel como mordidas, laceraciones, golpes, irritación etc. Se colocó al animal sobre una mesa, como se muestra en la Figura 11-2 y se procedió a quitar el pelaje en la parte del lomo con una rasuradora eléctrica y posteriormente con una afeitadora, tratando de no ocasionar daños en la piel.

Para evitar errores en las mediciones, este proceso se realizó el día previo al ensayo. Se tomó cinco cobayos por cada uno de los ensayos realizados y se los colocó en un cepo diseñado para inmovilizar y proteger al animal, permitiendo también que la irradiación se centralice.



Figura 11-2: Preparación del cobayo

Realizado por: Gallardo, Daniela.2022

2.12.1. Codificación de la población de estudio con respecto a las formulaciones

Tabla 3-2: Codificación de ensayos

CÓDIGO	DESCRIPCIÓN	No. DE COBAYOS USADOS
AF1	Cobayos expuestos a radiación con la aplicación de crema placebo	5
BF2	Cobayos expuestos a radiación con la aplicación de crema control al 0,2%	5
CF3	Cobayos expuestos a radiación con la aplicación de crema de <i>O. grandiflora</i> al 0,1%	5
DF4	Cobayos expuestos a radiación con la aplicación de crema de <i>O. grandiflora</i> al 0,2%	5
EF5	Cobayos expuestos a radiación con la aplicación de crema de <i>O. grandiflora</i> al 0,4%	5

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

2.13. Definición del método de irradiación controlada

Bibliografía indica que la irradiación en animales de experimentación se debe medir según el nivel de eritema causado, ya que el daño o la ausencia del mismo es el parámetro principal que se debe evaluar para demostrar la eficacia de un preparado fotoprotector.

En este caso, en primera instancia se utilizó una cámara de flujo laminar con UV incluido de la marca Thermo Scientific para emitir la radiación y para el control se utilizó un radiómetro. La cámara de flujo laminar presenta una amplia superficie ocasionando que la radiación se disemine y no se pueda obtener resultados.

Posteriormente, se optó por utilizar una cámara UV de la marca UTRA-VIOLET PRODUCTS, INC., que además de tener una superficie de contacto más pequeña, indicaba la longitud de onda con la que se quería irradiar, por lo que este equipo fue seleccionado para llevar a cabo el experimento.

Antes de empezar con el registro de resultados, se utilizó un animal de prueba, se lo colocó en un cepo para evitar cualquier tipo de movimiento que, además tenía una abertura que indicaba el sitio específico donde iba a recibir la radiación y donde se debía tomar las lecturas. Primero se sometió al animal a una longitud de onda de 300 nm durante 5 minutos y se obtuvieron resultados aceptables para el blanco, principio activo, pero no para el placebo.

Finalmente, se decidió aplicar una longitud de onda de 300 nm por un lapso preciso de 10 minutos y de esta manera, se podía observar un nivel bajo de eritema y las lecturas fueron aceptables tanto para el blanco, principio activo, placebo y filtro solar comercial. Dicho proceso se encuentra resumido en la Figura 12-2.

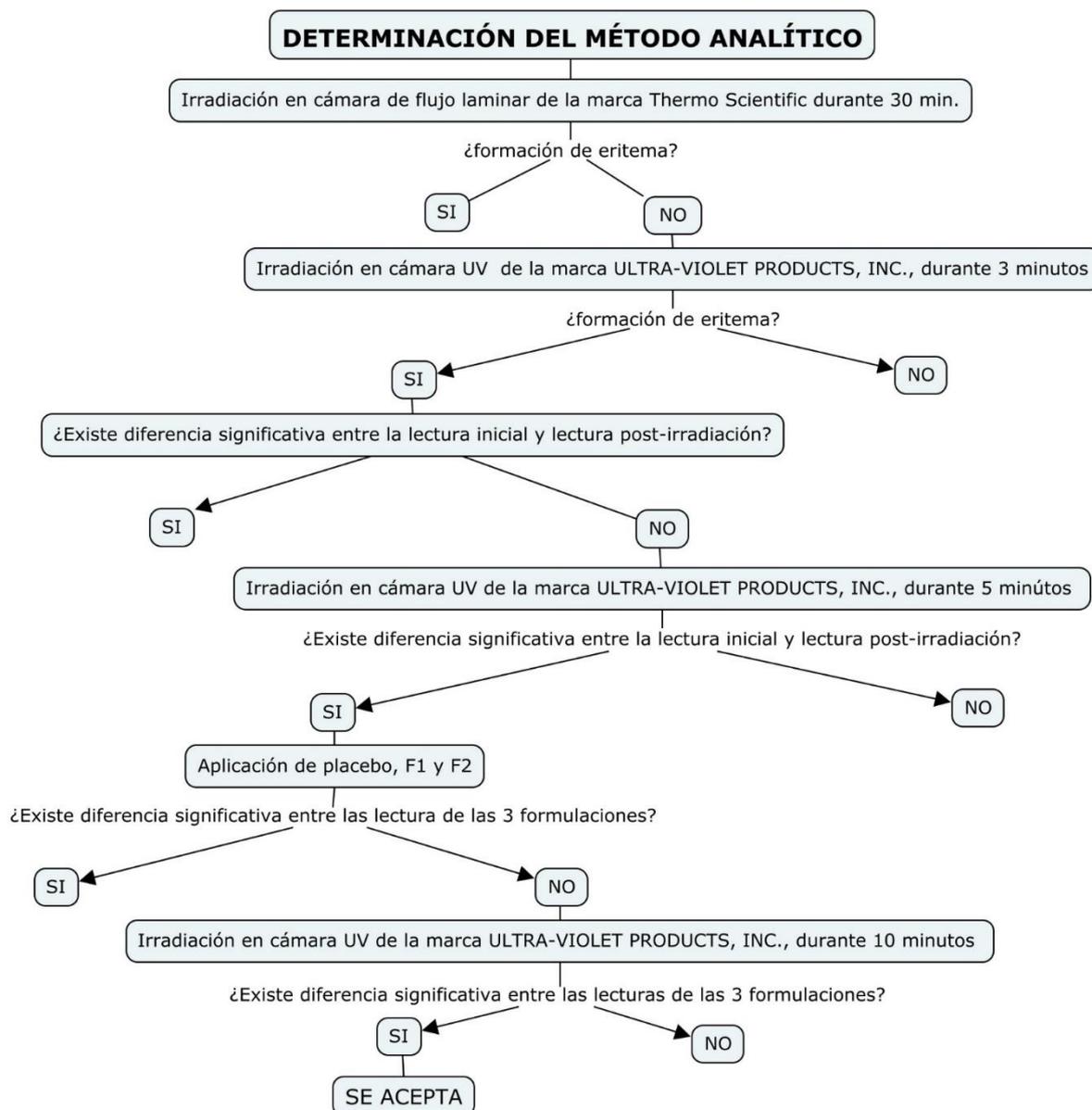


Figura 12-2: Determinación del método de análisis

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022

2.14. Proceso de irradiación en el cobayo

Para llevar a cabo este procedimiento se requirió de un cepo que pueda acoplarse a la anatomía del animal, garantizando la inmovilidad del mismo. Una vez ubicado en el cepo, se lo colocó en la cámara UV de la marca ULTRA-VIOLET PRODUCTS, INC., a una longitud de onda de 300 nm, durante 10 minutos exactos. Posteriormente, se tomó lectura de la zona irradiada con la ayuda de un mexámetro de la marca Mexameter MX18 y finalmente se registró las lecturas realizadas por en los cinco animales. El ensayo para el grupo placebo en la Figura 14-2, el ensayo control en la Figura 15-2, el ensayo con formulación al 0,1 en la Figura 16-2, el ensayo

con formulación al 0,2 en la Figura 17-2 y finalmente el ensayo con formulación al 0,4% en la Figura 18-2.



Figura 13-2: Proceso de irradiación

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022

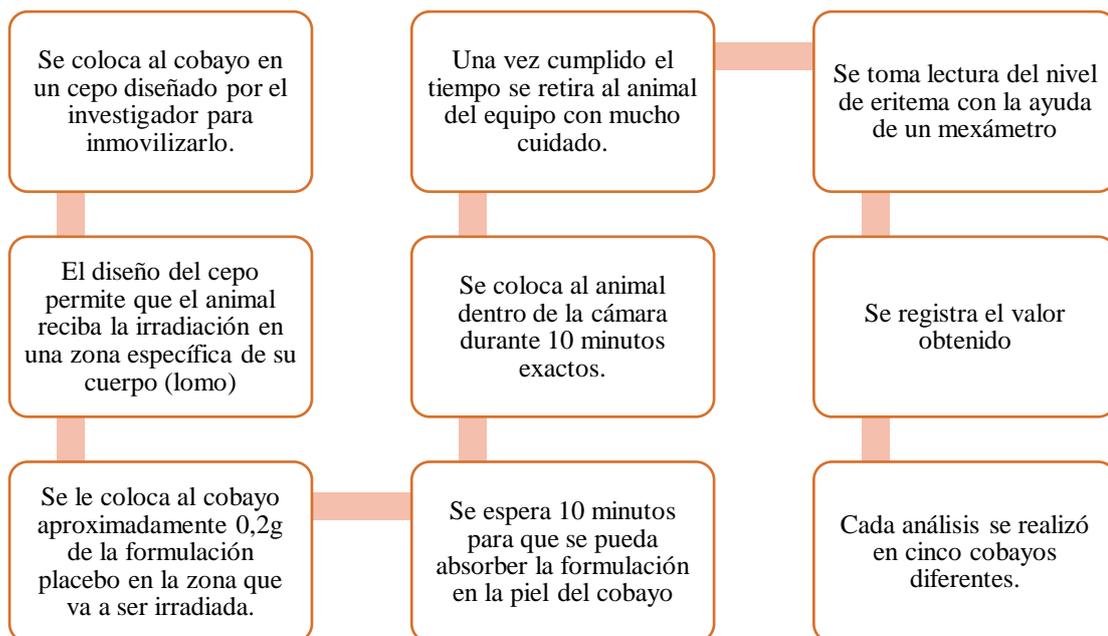


Figura 14-2: Irradiación controlada en grupo A

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

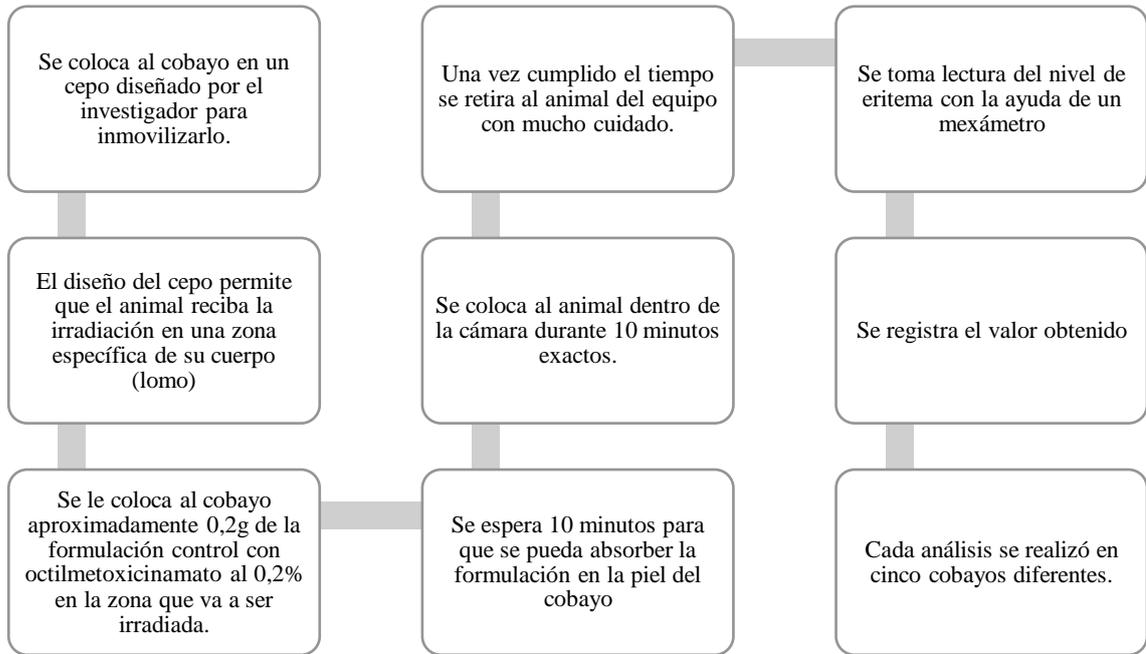


Figura 15-2: Irradiación controlada en grupo B

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

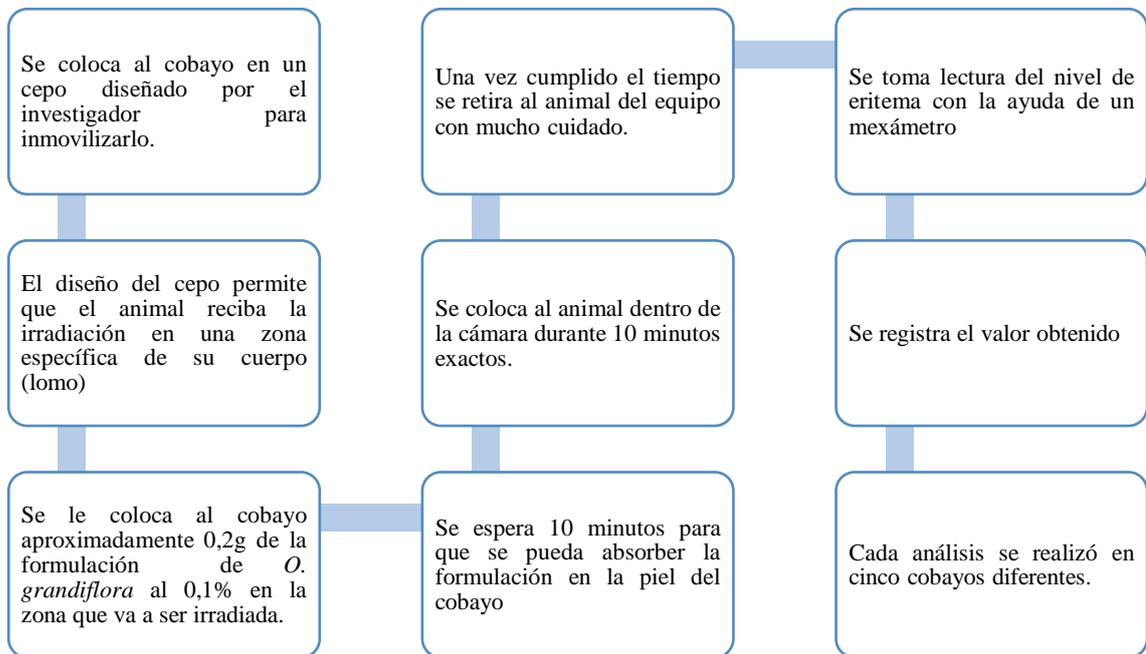


Figura 16-2: Irradiación controlada en grupo C

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

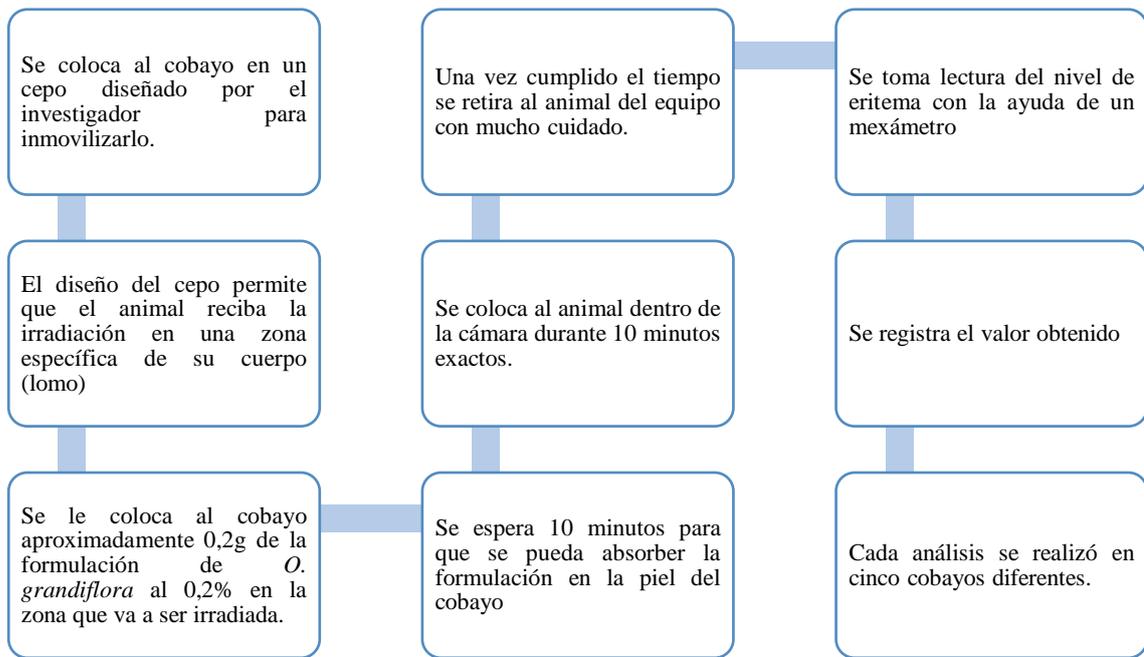


Figura 17-2: Irradiación controlada en grupo D

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

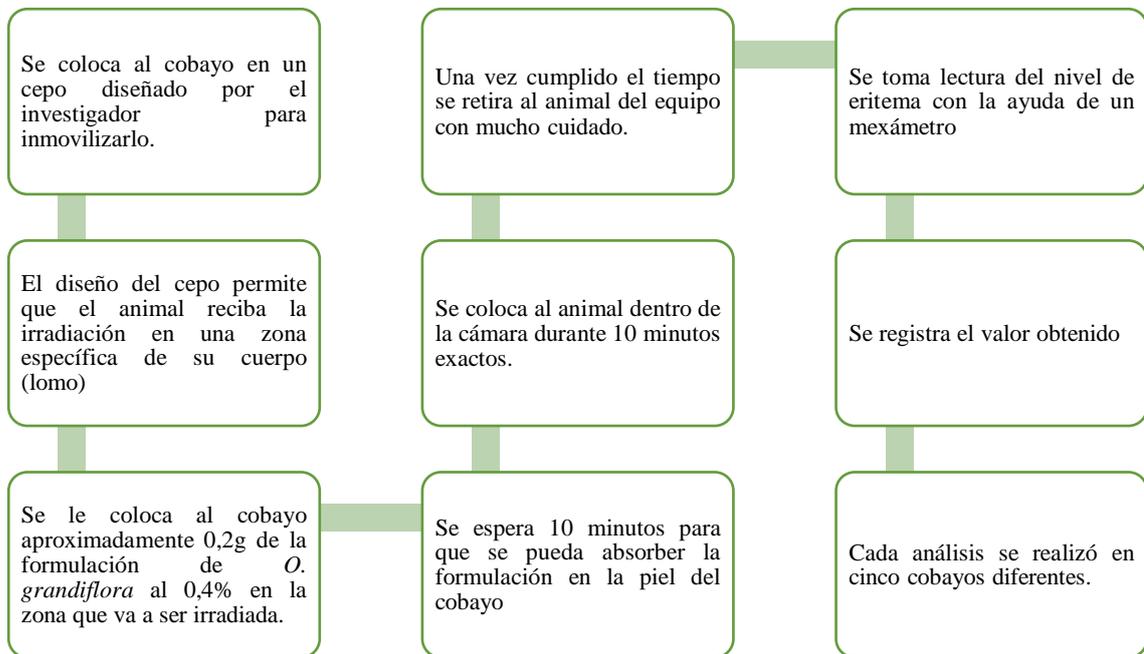


Figura 18-2: Irradiación controlada en grupo E

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

2.15. Determinación de Factor de Protección Solar entre la formulación al 0,4% y grupo placebo

Se tomó la formulación de *Oreocallis grandiflora* al 0,4 % por ser la que presentó mayor actividad fotoprotectora en los ensayos de irradiación. Para esta determinación se establecieron 2 grupos: placebo (Figura 19-2) y formulación al 0,4 de *O. grandiflora* (Figura 20-2), se usaron 4 cobayos, los mismos que fueron expuestos a radiación UV-B controlada con una longitud de onda de 300 nm, en 4 series de 10 minutos, teniendo un total de 40 minutos de radiación sucesiva por cobayo.

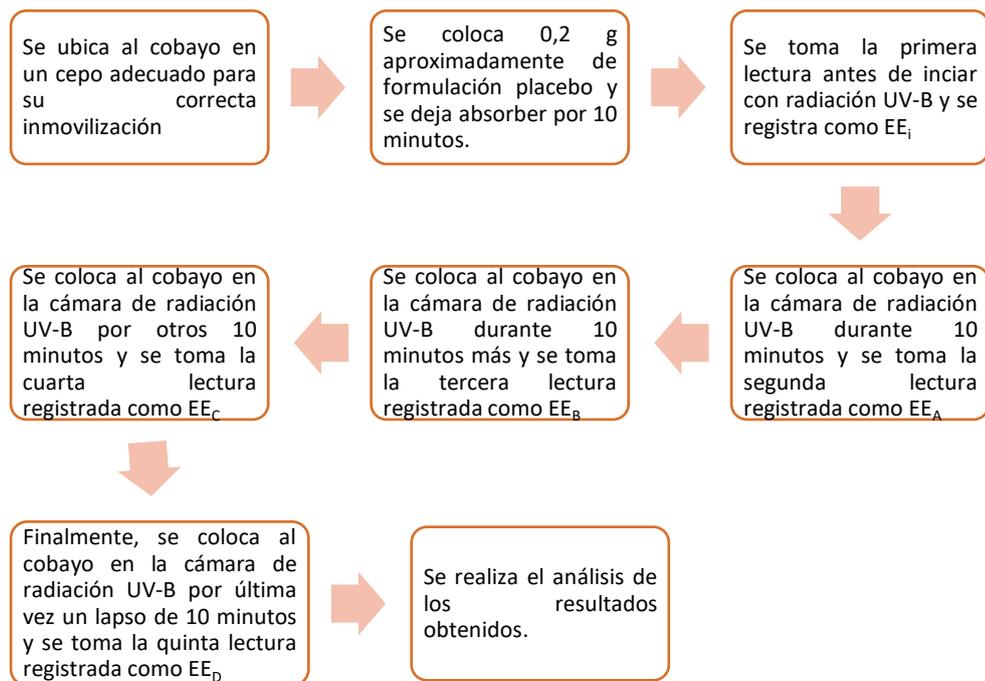


Figura 19-2: Irradiación sucesiva para grupo placebo

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

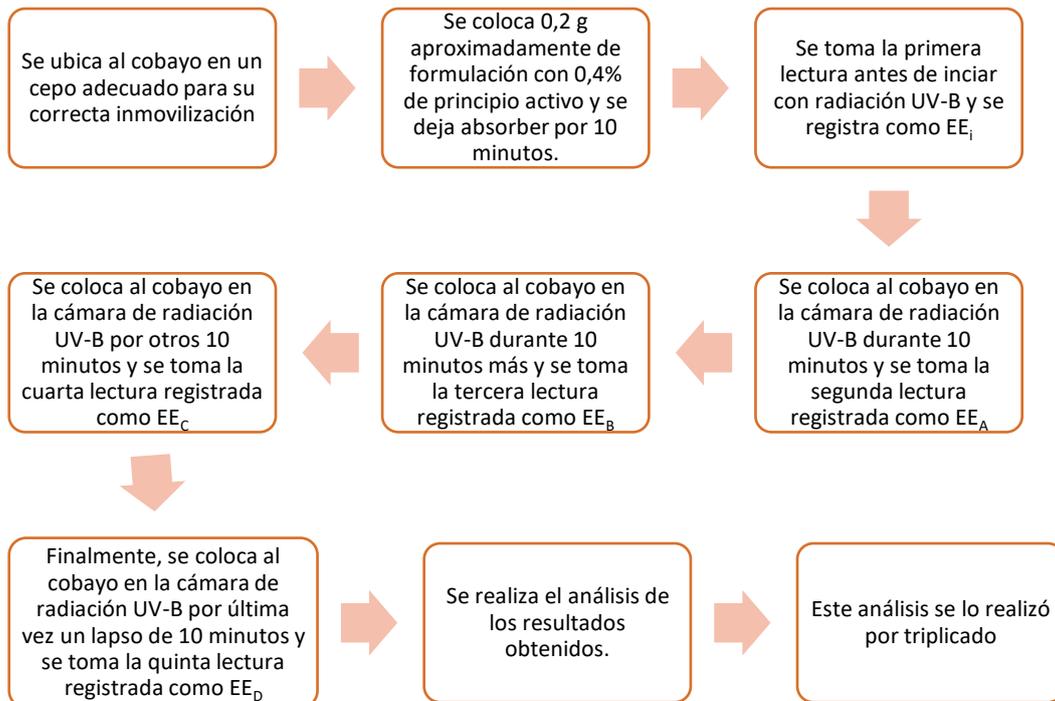


Figura 20-2: Irradiación sucesiva para formulación al 0,4 % de *O. grandiflora*

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

2.16. Análisis estadístico de datos

Para el análisis de datos se aplicó el método estadístico tipo ANOVA y un post-test DUNNET ya que se espera que las desviaciones en los datos obtenidos tras la experimentación no tengan un valor representativo con respecto a F_2 , es decir, que los coeficientes entre cada grupo de ensayo sean menores a 1 para poder comprobar la hipótesis investigativa de la experimentación, y de esta manera demostrar que la formulación con acciones fotoprotectoras frente a la radiación UV-B es eficaz.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Extracto seco de hojas de *Oreocallis grandiflora*

Después de haber obtenido el extracto alcohólico de las hojas de *Oreocallis grandiflora*, se eliminó el etanol en rotavapor hasta la obtención del extracto seco con mayor estabilidad. A partir de 100 g de droga vegetal molida en forma de polvo fino homogéneo, se obtuvo 4,3 g de extracto seco, del que se utilizó 0,7 g para las formulaciones fotoprotectoras.

3.2. Valores de diferencia eritémica

Una vez realizadas todas las lecturas de los ensayos propuestos se procedió a la tabulación para obtener los valores de diferencia eritémica entre la primera medida (antes de la exposición a radiación UV-B) y la medición resultante (después de la exposición a radiación UV-B), arrojando los datos que se señalan en la Tabla 1-3.

Tabla 1-3: Valores de diferencia eritémica *Cavia porcellus* usado en el ensayo

(AF1)	(BF2)	<i>Oreocallis grandiflora</i> (extracto hidroalcohólico vehiculizado en base de Beeler), %		
		(CF3)	(DF4)	(EF5)
84	0	36	12	0
51	1	35	6	1
87	1	31	-8	6
72	1	26	4	2
71	1	32	4	0

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

El grupo AF1 (placebo) no contiene principio activo en la formulación, presentó una diferencia eritémica elevada lo que indica que, al someter al cobayo a radiación UV-B durante 10 minutos, a una longitud de onda de 300 nm, no presentó actividad fotoprotectora, en contraste con las diferencias observadas de las preparaciones con el principio activo.

El grupo BF2, elaborado a base de octilmetoxicinamato arrojó una diferencia baja respecto a su valor inicial, señalando que dicho principio activo presenta actividad frente a la radiación UV-B. El análisis de este grupo es de suma importancia ya que, en base a este principio activo

(utilizado en la mayoría de los protectores solares comerciales) se evaluó la eficacia de la formulación de *Oreocallis grandiflora*.

La formulación CF3 se preparó con extracto de *Oreocallis grandiflora* al 0,1%, vehiculizado en una base de Beeler. Los valores de diferencia eritémica disminuyeron en un 56% con respecto a los valores obtenidos en la población placebo AF1, acercándose así a los valores resultantes en la población control BF2.

Para la formulación DF4 de *Oreocallis grandiflora* al 0,2%, vehiculizado en una base de Beeler, de los resultados de la diferencia eritémica disminuyeron en un 95% con respecto a las cifras obtenidas en el grupo placebo BF1, acercándose aún más a los valores de la población control BF2.

Para el grupo EF5 de *Oreocallis grandiflora* al 0,4%, vehiculizada en una base de Beeler, los resultados obtenidos en diferencia eritémica, disminuyeron en un 98% con respecto al grupo placebo AF1, siendo casi similar a los valores obtenidos en la población control BF2.

Al analizar los resultados de cada grupo de estudio se puede observar que, la eficacia de las formulaciones con principio activo de *Oreocallis grandiflora* aumenta de forma proporcional con la concentración usada, siendo así la concentración al 0,4% aquella que presentó mayor eficiencia y similitud respecto al grupo control a base de octilmetoxicinamato.

Finalmente, se puede concluir que, *Oreocallis grandiflora* posee actividad fotoprotectora frente a la radiación de tipo UV-B y además también denota actividad antiinflamatoria, características que le confieren los compuestos fenólicos, haciéndola eficaz para formulaciones fitocosméticas para el cuidado y mantenimiento de la piel.

3.3. Análisis de ANOVA

Tabla 2-3: ANOVA unidireccional: PLACEBO, CONTROL, 0.1, 0.2, 0.4 - MÉTODO

Método	
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	Por lo menos una media es diferente
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

Información del factor

Factor Niveles Valores

Factor 5 PLACEBO, CONTROL, 0.1, 0.2, 0.4

Tabla 3-3: ANOVA unidireccional: análisis de varianza

Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	19484	4870.94	88.18	0.000
Error	20	1105	55.24		
Total	24	20589			

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

Tabla 4-3: ANOVA unidireccional: medias

Medias				
Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
PLACEBO	5	73.00	14.20	(66.07, 79.93)
CONTROL	5	0.800	0.447	(-6.133, 7.733)
0.1	5	32.00	3.94	(25.07, 38.93)
0.2	5	3.60	7.27	(-3.33, 10.53)
0.4	5	1.80	2.49	(-5.13, 8.73)

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

Desv.Est. agrupada = 7.43236

A las medias de las diferencias de eritema se aplicó el análisis estadístico (ANOVA), obteniendo un valor $P < 1$, con lo cual se rechaza la hipótesis nula y se puede concluir con un nivel de significancia del 95% que, al menos una de las medias de los datos obtenidos es diferente, resultado que se puede contrastar con los datos de desviaciones estándar, los cuales varían de acuerdo con los distintos tipos de concentración de principio activo presente en la base de Beeler. El mayor valor de desviación estándar se presentó en la formulación con 0,2% de *O. grandiflora* siendo el resultado de 7,27 y el menor en la concentración con 0,4% de *O. grandiflora* con un valor de 2,49.

3.4. Comparaciones de Dunnett

Tabla 5-3: Agrupación utilizando el método de Dunnett con una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
CONTROL (control)	5	0.800	A
PLACEBO	5	73.00	
0.1	5	32.00	
0.2	5	3.60	A
0.4	5	1.80	A

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

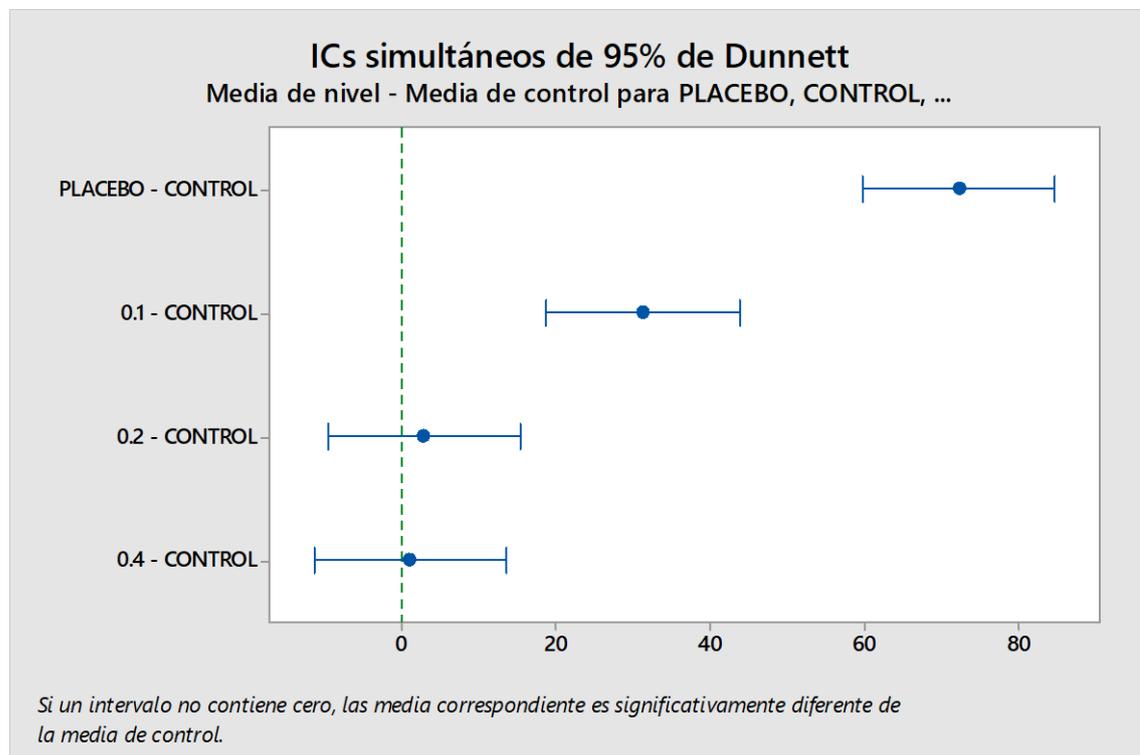


Gráfico 1-3: ICs simultáneos de 95% de Dunnett

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

En el análisis estadístico de Dunnett se obtuvo que la formulación a base de *O. grandiflora* con concentraciones 0,2 y 0,4 % son significativamente iguales al resultado de la media del grupo control con un nivel de significancia de 95%. Por tanto, la media obtenida en la base de Beeler de concentración 0,1% no es significativamente igual a la del grupo control, tal como se muestra en la gráfica.

3.5. Determinación del Factor de Protección Solar FPS entre en la formulación al 0,4% y grupo placebo

Para el análisis correlacional entre la formulación placebo y el grupo con principio activo de *O. grandiflora* al 0,4% vehiculizado en una base de Beeler, se estableció el porcentaje del incremento eritémico para cada grupo (relación entre el valor inicial, es decir, sin exposición a radiación hasta después de 40 minutos de haber sometido al cobayo a radiación). Cabe recalcar, que las tomas de lecturas se realizaron cada 10 min. Estos valores se pueden observar en Tabla 6-3 y 7-3.

Tabla 6-3: Porcentaje de incremento eritémico para placebo

TIEMPO EN MINUTOS	% ERITÉMICO
10	11,39
20	18,21
30	25,66
40	34,14

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

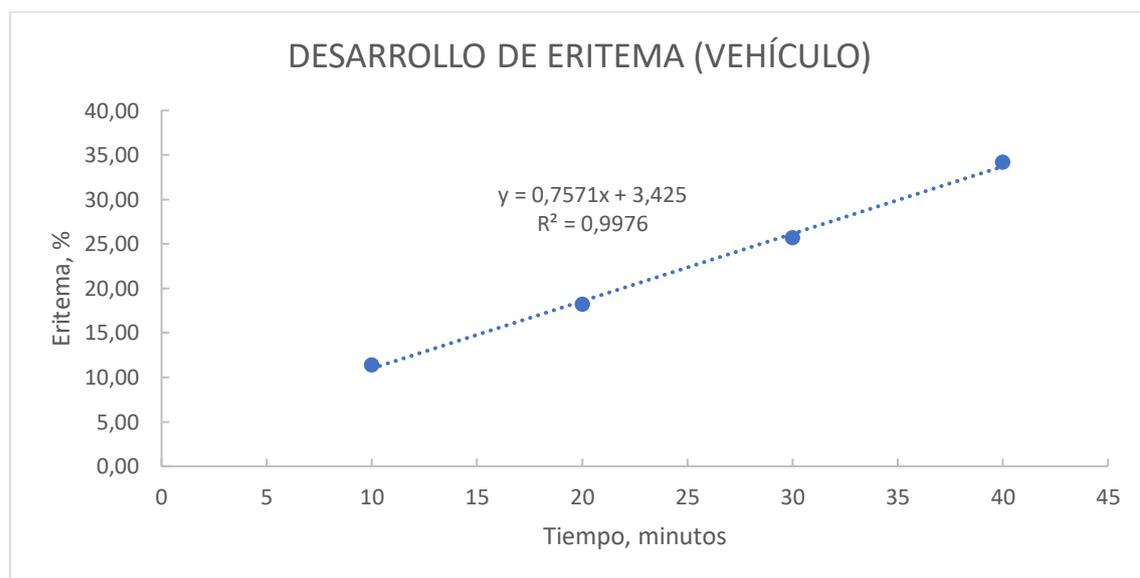


Gráfico 2-3: Desarrollo de eritema para el vehículo

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

En el Gráfico 2-3 se indica que el porcentaje eritémico en el grupo placebo es directamente proporcional al tiempo de exposición, llegando a un máximo de 34,14 en la cuarta lectura y

presentando un aumento de 7 ± 2 unidades en cada una de las lecturas. De la ecuación de la recta se obtuvo el valor de DEM de la siguiente manera:

$$y = 0,7571x + 3,425$$

$$50 = 0,7571x + 3,425$$

$$x = (50 - 3,425) / 0,7571$$

DEM = 61,52 minutos

Tabla 7-3: Promedio del porcentaje (en tres sujetos de experimentación) de incremento eritémico para formulación al 0,4% de *O. grandiflora*

TIEMPO EN MINUTOS	% ERITÉMICO
10	1,92
20	4,97
30	6,16
40	8,28

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

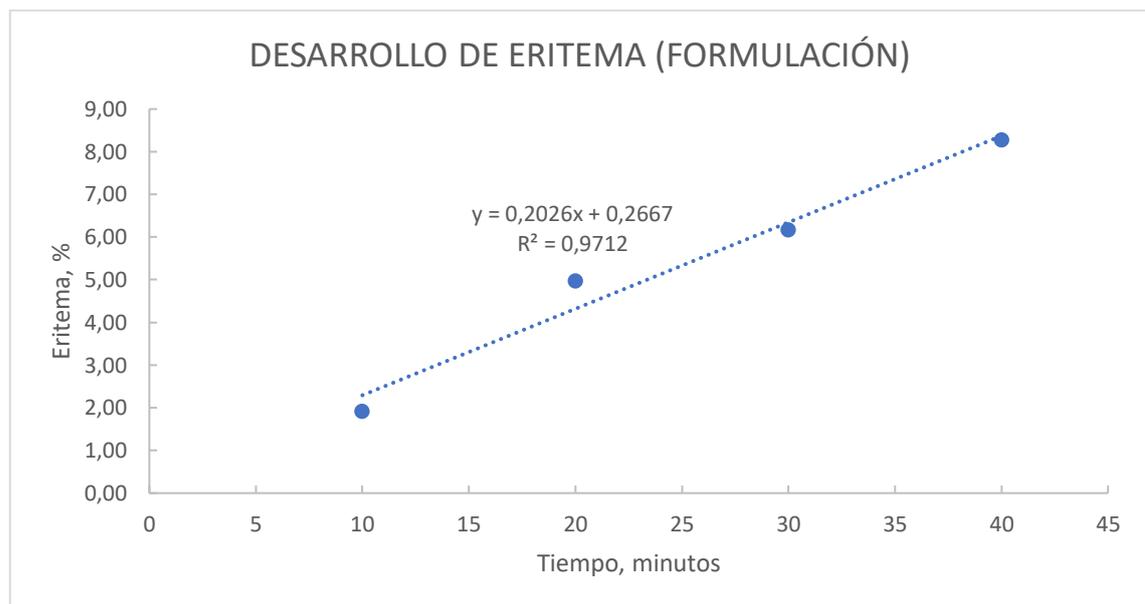


Gráfico 3-3: Desarrollo de eritema para formulación

Realizado por: Gallardo, Daniela, 2022.

En el Gráfico 3-3 se indica que el porcentaje eritémico en la formulación de *O. grandiflora* al 0,4% es directamente proporcional al tiempo de exposición, llegando a un máximo de 8,28 en la cuarta lectura y presentando un aumento de 2 ± 1 unidades en cada una de las lecturas. De la ecuación de la recta se obtuvo el valor de DEM de la siguiente manera:

$$y = 0,02026x + 0,2667$$
$$50 = 0,02026x + 0,2667$$
$$x = (50 - 0,2667) / 0,02026$$

DEM = 245, 48 minutos

Una vez obtenidos los DEM de cada grupo se pudo definir el valor del FPS para lo que se realizaron los siguientes cálculos:

FPS = DEM de la piel protegida/ DEM de la piel no protegida

$$\text{FPS} = 245,48 / 61,52$$

$$\text{FPS} = 4$$

Después del análisis de datos se puede afirmar que, en un lapso de 40 minutos la formulación de *O. grandiflora* protege la piel del cobayo de la radiación UV-B 4 veces más que al aplicar solamente la formulación placebo. Dicho resultado reafirma la actividad fotoprotectora que presentan las hojas de *O. grandiflora*.

En un estudio realizado por García et al., (2010) titulado “Actividad fotoprotectora de los polifenoles de *Yucca periculosa*”, con aplicación *in vivo* en cobayos, se evaluó el Factor de Protección Solar del Octilmetoxicinamato, estudio que dio como resultado un valor de FPS = 2 ± 0,1. En la formulación con mejor rendimiento a base del extracto seco de *Oreocallis grandiflora* al 0,4%, la evaluación del FPS presentó el doble de eficacia fotoprotectora para UV-B respecto al grupo control de OMC.

CONCLUSIONES

- La obtención del extracto seco de *Oreocallis grandiflora* a través de operaciones unitarias (extracción, filtración, concentración), permitió manejar un complejo fitoquímico activo más estable, libre de clorofilas, grasas y solvente, lo que favoreció su vehiculización en la base de Beeler.
- Gracias a la aplicación de la tecnología farmacéutica se logró realizar una formulación tópica que sirvió como vehículo del principio activo de *O. grandiflora*, de esta manera se aplicó correctamente y de forma segura en el sujeto de experimentación.
- Después de emitir radiación UV-B controlada en la especie *Cavia porcellus* haciendo uso de cada una de las formulaciones elaboradas, se determinó que la especie vegetal *O. grandiflora* presenta actividad fotoprotectora, así como también antiinflamatoria y antioxidante. Determinando que el FPS de la formulación al 0,4% en relación al placebo fue cuatro veces más eficaz en términos de fotoprotección.

RECOMENDACIONES

- Para obtener resultados más notorios se recomienda trabajar con cobayos cuyo pelaje sea de color blanco, ya que son de tez clara y de esta manera los efectos fotoprotectores resaltarán aún más.
- Es de suma importancia que la longitud de onda a la que se emite la radiación sea controlada, al igual que el tiempo de exposición para evitar en lo posible el daño al animal de experimentación.
- Antes de empezar con la exposición a radiación UV-B se debe asegurar que solo la zona planificada para recibir dicha radiación esté descubierta, el resto del cuerpo del animal debe estar totalmente cubierto por el cepo.
- Antes de empezar la parte experimental se debe definir el protocolo de trabajo para cumplir con las normas de ética para el cuidado de los animales de experimentación.

BIBLIOGRAFÍA

- AEFA.** “Compuestos fenólicos para superar situaciones de estrés abiótico”. [en línea], 2021, (España). [Consulta: 11 August 2022]. Disponible en: <https://aefa-agronutrientes.org/compuestos-fenolicos-para-superar-situaciones-de-estres-abiotico>
- ALEGRE, V.** “Estructura y patología de la piel”. [en línea], 2021. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://www.uv.es/derma/CLindex/CLdermatopat/CLdermatopatologia.html>
- BAGAZGOITIA, L.** “FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR: QUÉ SIGNIFICA Y CÓMO SE CALCULA”. [en línea], 2017. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://dermatologia-bagazgoitia.com/2017/07/factor-proteccion-solar-que-significa-como-calcula-3607>
- BATLLE, C.** “Factor de protección solar”. *Elsevier* [en línea], 2005, 24(6). [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13076818>
- BENÉITEZ B.** “¿Qué ha ocurrido con el agujero de la capa de ozono?” [en línea], 2022. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://www.lavanguardia.com/natural/20220402/8171578/que-ocurrido-agujero-capa-ozono-ciencia-natural-cambio-climatico-nbs.html>
- BOHÓRQUEZ, J. & PÉREZ, J.** “Radiación ultravioleta”. [en línea], 2007, 5(9) [Consulta: 10 August 2022]. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1145&context=svo>
- CAJAMARCA, D.** DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA *in vitro* DE LOS EXTRACTOS DE *Oreocallis grandiflora* (Trabajo de Titulación). Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. Facultad de Ciencias, Bioquímica y Farmacia, Ecuador. 2016. [Consulta: 15 August 2022]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/6331/1/56T00674.PDF>
- CAÑARTE, K.** Radiación Ultravioleta. *Ciencia Unemi* [en línea], 2010, (Ecuador). [Consulta: 15 August 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/5826/582663869005.pdf>

CANTABRIA LABS. *Dermis y sus funciones* [blog]. 2021 [Consulta: 8 August 2022].
Disponible en: <https://www.cantabrialabs.es/blog/la-dermis-y-sus-funciones/>

CÁRDENAS, S et al. First record of flower visitation by a rodent in Neotropical Proteaceae, *Oreocallis grandiflora*. *Journal of Tropical Ecology* [en línea], 2017. [Consulta: 15 August 2022]. Disponible en: DOI 10.1017/S0266467417000025.

CASTAÑEDA, M et al. “Photoprotective activity of a cream containing lyophilized aqueous extract of *lepidium meyenii* (Maca) against ultraviolet irradiation on mouse skin”. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* [en línea], 2021. 38 (3), pp. 434–441. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: DOI 10.17843/RPMESP.2021.383.7420.

CENTRO PARA EL CONTROL Y LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES. “Radiación UV”. *Centro Nacional de Salud Ambiental*. [en línea], 2021. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/spanish/nceh/especiales/radiacionuv/index.html>

CHAUCA, L. *Producción de cuyes (Cavia porcellus*. Perú, 1997).

CHORILLI, M et al. “Ensaio biológico para avaliação de segurança de produtos cosméticos” *Revista de Ciências Farmacéuticas Básica y Aplicada*. [en línea], 2009, 30 (1). [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/49599564_Ensaio_biologicos_para_avaliacao_de_seguranca_de_produtos_cosmeticos

CIFUENTES, L. & VICTORIA, J. “The Biology of melanocyte and its role in the cutaneous immune response” *Dermatología Revista Mexicana*. [en línea], 2019. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://dermatologiarevistamexicana.org.mx/article/la-biologia-del-melanocito-y-su-papel-en-la-respuesta-inmunitaria-cutanea/>

DE LAPUENTE, J et al. “Los métodos alternativos en el estudio de la seguridad de cosméticos” *Toxicología*. [en línea], 2014. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91932969012>

- ESPINOSA, M et al.** Actividad antioxidante y antihiper glucemiante de la especie medicinal *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R. Br., al sur del Ecuador. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. [en línea]. 2013. [Consulta: 15 August 2022]. Disponible en: www.blacpma.usach.cl
- ÉTICA ANIMAL.** *Experimentación de cosméticos y productos del hogar* [blog]. 2021. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://www.animal-ethics.org/experimentacion-cosmeticos-productos-hogar/#:~:text=Se%20usan%20conejos%2C%20cobayas%2C%20ratones,al%20mismo%20tormento%20de%20nuevo.>
- FARIA, J.** UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR Estudio do efeito do Octilmetoxicinamato (OMC) em artérias umbilicais humanas [En línea] (Trabajo de titulación) Universidad da Beira Interior, Covilhã. 2016. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/5364/1/4844_9632.pdf
- FERRARO, G et al.** *FITOCOSMÉTICA FITOINGREDIENTES Y OTROS PRODUCTOS NATURALES* [en línea]. Buenos Aires-Argentina: Editorial Universitaria de Buenos Aires, 2012. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: www.eudeba.com.ar
- GARCÍA, A et al.** “Photoprotective activity of *Yucca periculosa* polyphenols” *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* [en línea], 2010, 9 (2). [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/43531714>
- GARCÍA, J. & ALONSO, P.** “Anatomía y Fisiología de la piel” [en línea], 2021. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: https://www.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2021/xxv03/07/n3-156e1-13_RB_JesusGarcia.pdf
- GARNACHO, G et al.** “Effects of solar radiation and an update on photoprotection”. *Anales de Pediatría* [en línea], 2020 (España) 92 (6), p. 377. [Consulta: 30 August 2020]. Disponible en: DOI 10.1016/j.anpedi.2020.04.014.
- GILABERTE, Y.** “Fotoprotección”. [en línea]. 2003 [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://www.actasdermo.org/es-fotoproteccion-articulo->

[13048173#:~:text=La%20fotoprotecci%C3%B3n%20tiene%20como%20objetivo,la%20radiaci%C3%B3n%20ultravioleta%20\(UV\).](#)

GONZÁLEZ, M. “LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA. SU EFECTO DAÑINO Y CONSECUENCIAS PARA LA SALUD HUMANA” *Theoria*. [en línea], 2009. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/299/29917006006.pdf>

GUAVITA, D. “Fototipos cutáneos”. [en línea], 2015. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://revia.areandina.edu.co/index.php/RSA/article/view/354/387>

COLLANTES, J. “Efectos de la radiación solar en la piel” *Eugenio Espejo* [en línea], 2015. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ecuador/2015/equ-7043/equ-7043-220.pdf>

KUKLINSKI, C. *FARMACOGNOSIA - Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. 1999, P.98.

KUNZ, M. “ESTUDIO COMPARADO DE VARIABLES CORPORALES Y TAMAÑO DE CAMADA EN CUYES (*Cavia porcellus*) AMERINDIOS (ARICA) Y DE LABORATORIO DESDE EL NACIMIENTO HASTA LOS CUATRO MESES DE EDAD” [en línea] (Trabajo de Titulación). Universidad de Chile. 2003. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/133758/Estudio-comparado-de-variables-corporales-y-tama%C3%B1o-de-camada-en-cuyes-%28Cavia-porcellus%29-amerindios-%28Arica%29-y-de-laboratorio-desde-el-nacimiento-hasta-los-cuatro-meses-de-edad.pdf?sequ>

MARCOS, R. “Filtros solares: Físicos y químicos” [blog]. 2018. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://cienciaycosmetica.com/2018/07/05/filtros-solares-fisicos-vs-quimicos-conceptos-basicos/>

MARÍN, D. & DEL POZO, A. “Fototipos cutáneos. Conceptos generales” [en línea]. 2005. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <http://www.todocancer.com/esp>

- MASET, J.** *Fotoenvejecimiento* [blog]. 2021. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://cinfasalud.cinfa.com/p/fotoenvejecimiento/>
- MEGÍAS & POMBAL.** “Atlas de Histología vegetal y animal” [en línea], 2019. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/queratinocito.php>
- MERINO, J & NORIEGA, M.** “FISIOLOGÍA GENERAL LA PIEL: ESTRUCTURA Y FUNCIONES” [en línea], 2014. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%252011-Bloque%2520II-La%2520Piel.%2520Estructura%2520y%2520Funciones.pdf>
- MESTANZA, E.** EFECTO DEL ÁCIDO NAFTALENACÉTICO Y ÁCIDO GIBERÉLICO EN EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE *Oreocallis grandijlora* (Lam.) R. Br. (CHACPÁ), PARA SU ACLIMATACIÓN EN INVERNADERO (Trabajo de titulación). [en línea] Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. 2015 [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/1052/T%20789%202015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- MOYA, S.** Capacidad antioxidante, regeneradora y factor de protección solar del liofilizado de *Passiflora edulis* “maracuya” y desarrollo de una crema (Trabajo de titulación). [en línea] Universidad Nacional de Trujillo. 2018. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9705>
- NAVARRA, M.** *Radiación ultravioleta* [blog]. 2022. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: http://meteo.navarra.es/definiciones/radiacion_ultravioleta.cfm
- OKADA, F et al.** “Inflammation-related carcinogenesis: Lessons from animal models to clinical aspects” [en línea], 2021. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/4/921>
- OMS.** “Índice UV solar mundial”. [en línea], 2002. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/publications/i/item/9241590076>

PÁEZ, V. “Fotocarcinogénesis” [blog]. 2012. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en:
<https://doctorapaez.com/2012/04/fotocarcinogenesis/>

PALACIOS, C et al. “Bioética, bienestar y la experimentación con animales. Capítulo 4 “EL USO DE LOS BIOMODELOS DIDÁCTICOS EN LAS CIENCIAS VETERINARIAS.” [en línea], 2021. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/355981850_Bioetica_bienestar_y_la_experimentacion_con_animales_Capitulo_4_EL_USO_DE_LOS_BIOMODELOS_DIDACTICOS_EN_LAS_CIENCIAS_VETERINARIAS?enrichId=rgreq-bea7a928daadabe7e855ceb2242f7063-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzM1NTk4MTg1MDtBUzoxMDg3NTk5NTgyMTYyOTUwQDE2MzYzMTUzNTU4NDc%3D&el=1_x_2&esc=publicationCoverPdf

PATIL, H. *Oreocallis grandiflora* [blog]. 2018. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en:
<https://alchetron.com/Oreocallis>

REIRIZ, J. “TEJIDOS. MEMBRANAS. PIEL. DERIVADOS DE LA PIEL”. [en línea], 2014. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en:
<https://www.infermeravirtual.com/files/media/file/95/Tejidos%20%20membranas%20%20piel%20y%20derivados.pdf?1358605323>

RINCÓN, A. *Quercetina: El antioxidante natural para retrasar el envejecimiento* [blog]. 2022. [Consulta: 8 August 2022]. Disponible en:
<https://www.hsnstore.com/blog/suplementos/antioxidantes/quercetina/>

ROCHA, D. Relación de la estructura química de los flavonoides con la actividad antioxidante (Trabajo de titulación). [en línea] Unidad Central del Ecuador. 2022. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/26153/1/UCE-FCQ-CQF-SANTAFE%20DIANA.pdf>

SALUM, G et al. “ESTIMACIÓN DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN AL SOL NECESARIO PARA ASEGURAR LA PRODUCCION DE VITAMINA D Y PREVENIR ERITEMA PARA LA CIUDAD DE CONCEPCIÓN DEL URUGUAY” [en línea], 2008. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en:

http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/94967/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

SANZ, C. et al. “REVISIONES EN FARMACOTERAPIA La radiación solar y la fotoprotección” [en línea], 2021. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8017051>

SRIVASTAVA, A et al. “Phytomedicine: A Potential Alternative Medicine in Controlling Neurological Disorders”. *Elsevier* [en línea], 2019 [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: ISBN 9780128146200.

TORRES, L. *Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador* [en línea]. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, 2008. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: ISBN 9789978771358.

TORRES, R & RUIZ, S. “FITOCOSMÉTICA Y AROMATERAPIA”. [en línea], 2014. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: <https://www.yumpu.com/es/document/view/63697445/fitocosmetica-y-aromaterapia>

VINUEZA, D et al. “*Oreocallis grandiflora* photoprotective effect against ultraviolet B radiation-induced cell death”. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. [en línea], 2018, 11(2), pp. 276–280. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: DOI 10.22159/ajpcr.2018.v11i2.20910.

VIVAS, J & CARBALLO, D. Manual de crianza de cobayos (*Cavia porcellus*) Universidad Nacional Agraria Especies Alternativas: Manual de Crianza de Cobayos (*Cavia porcellus*) (Trabajo de titulación) Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. 2009. [Consulta: 30 August 2022]. Disponible en: https://www.academia.edu/36667425/UNIVERSIDAD_NACIONAL_AGRARIA_Facultad_de_Ciencia_Animal_Por_un_Desarrollo_Agrario_Integral_y_Sostenible_Especies_Alternativas_Manual_de_crianza_de_cobayos_Cavia_porcellus


DIRECCION DE BIBLIOTECAS
Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Y LA INVESTIGACION
Ing. Jhonatan Parreño Uquillas MBA
ANALISTA DE BIBLIOTECA 1

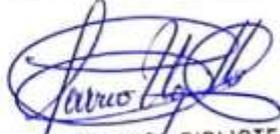


UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 07 / 12 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Daniela Stefania Gallardo Ruiz
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Bioquímica y Farmacia
Título a optar: Bioquímica Farmacéutica
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Leonardo Medina Nuste MSc.


DIRECCION DE BIBLIOTECAS
Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Y LA INVESTIGACION
 Ing. Jhonatan Parreno Equillas MBA
ANALISTA DE BIBLIOTECA 1

2196-DBRA-UTP-2022