



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

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lonicera japonica* PARA LA  
ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR: DANNY PATRICIO LÓPEZ PULGAR**

**DIRECTORA: DRA. VERÓNICA MERCEDES CANDO BRITO PhD.**

Riobamba – Ecuador

2023

**©2023, Danny Patricio López Pulgar**

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

Yo, Danny Patricio López Pulgar 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 autor 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, 30 de junio de 2023




A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Danny Lopez', enclosed within a rectangular box with a double-line border.

**Danny Patricio López Pulgar**

**060483097-6**

**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 DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lonicera japonica* PARA LA ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR**, realizado por el señor **DANNY PATRICIO LÓPEZ PULGAR**, 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.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dra. Elizabeth del Rocío Escudero Vilema MSc. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2023-06-30
Dra. Verónica Mercedes Cando Brito PhD. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2023-06-30
BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla MSc. <b>ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2023-06-30

## **DEDICATORIA**

La presente investigación se lo dedico a Dios por darme salud, vida y sabiduría para poder culminar este objetivo trascendental en mi vida, a mis padres Jorge y Sonia, por ser ejemplo de valores y enseñanzas para enfrentar las adversidades con perseverancia, esfuerzo y determinación, a mis abuelos Jaime y Rosa por su apoyo y cuidado en cada etapa de mi vida y a mis hermanos Jorge y Mónica quienes siempre han sido fuente de fraternidad, afecto y confianza en mi día a día.

Danny

## **AGRADECIMIENTO**

Expreso mi eterna gratitud a Dios, por guiarme durante toda mi carrera, a mis padres Jorge y Sonia, abuelos Jaime y Rosa, hermanos Jorge y Mónica; quienes siempre me brindaron apoyo y consejos en los momentos necesarios para tener enfoque, constancia y disciplina en alcanzar esta meta de mi vida. A mi tutora Dra. Verónica Cando, asesora BQF. Gisela Pilco y demás docentes, quienes son ejemplo de conocimientos, enseñanzas y experiencias para guiarme y formarme con visión de excelencia y humanismo en el desarrollo del presente trabajo y a lo largo de mi formación de pregrado. A Luis y Diego por su compañía, confianza y su apoyo incondicional en todo momento. A mis amigos y compañeros que formaron parte de este camino, con quienes he compartido grandes momentos que quedarán guardados en mi mente y corazón.

Danny

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA.....	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos.....	4
1.3.1. Objetivo general.....	4
1.3.2. Objetivos específicos.....	4

### CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Familia Caprifoliaceae.....	5
2.1.2. <i>Diversidad</i> .....	5
2.1.3. <i>Distribución geográfica</i> .....	6
2.2. Género <i>Lonicera</i> .....	6
2.3. <i>Lonicera japonica</i> .....	6
2.3.1. <i>Generalidades de la planta</i> .....	6
2.3.2. <i>Descripción botánica</i> .....	8
2.4. Extractos vegetales.....	8
2.4.1. <i>Tipos de extractos vegetales</i> .....	8
2.4.2. <i>Tipos de extracción según el solvente</i> .....	9
2.4.3. <i>Métodos de extracción</i> .....	9
2.4.3.1. <i>Decocción</i> .....	9
2.4.3.2. <i>Macerado</i> .....	9
2.4.3.3. <i>Digestión</i> .....	9

<b>2.5. Caracterización físico-química</b> .....	10
2.5.1. <i>Caracteres organolépticos</i> .....	10
2.5.2. <i>Densidad relativa</i> .....	10
2.5.3. <i>Índice de refracción</i> .....	10
2.5.4. <i>pH del extracto</i> .....	11
<b>2.6. Metabolitos secundarios</b> .....	11
2.6.1. <i>Flavonoides</i> .....	11
2.6.2. <i>Taninos</i> .....	12
2.6.3. <i>Saponinas</i> .....	12
2.6.4. <i>Alcaloides</i> .....	13
2.6.5. <i>Cumarinas</i> .....	13
<b>2.7. Determinación mediante Screening Fitoquímico</b> .....	14
2.7.1. <i>Alcaloides</i> .....	14
2.7.1.1. <i>Reactivo de Dragendorff</i> .....	14
2.7.1.2. <i>Reactivo de Wagner</i> .....	14
2.7.1.3. <i>Reactivo de Mayer</i> .....	14
2.7.2. <i>Flavonoides</i> .....	15
2.7.2.1. <i>Ensayo de Shinoda</i> .....	14
2.7.3. <i>Saponinas</i> .....	15
2.7.3.1. <i>Ensayo de espuma</i> .....	14
2.7.4. <i>Quinonas</i> .....	16
2.7.4.1. <i>Ensayo de Borntrajer</i> .....	14
2.7.5. <i>Cumarinas</i> .....	16
2.7.5.1. <i>Ensayo de Baljet</i> .....	14
2.7.6. <i>Taninos</i> .....	16
2.7.6.1. <i>Cloruro férrico</i> .....	14
2.7.6.2. <i>Ensayo de gelatina-sal</i> .....	14
<b>2.8. Técnicas de Separación y Análisis</b> .....	17
2.8.1. <i>Técnicas de Separación</i> .....	17
2.8.1.1. <i>Cromatografía en capa fina</i> .....	14
2.8.1.2. <i>HPLC</i> .....	14
2.8.2. <i>Técnicas de Análisis</i> .....	18
2.8.1.1. <i>Espectroscopía infrarrojo</i> .....	14
2.8.1.2. <i>Espectroscopia ultravioleta</i> .....	14
<b>2.9. Técnicas de purificación</b> .....	18
2.9.1. <i>Recristalización</i> .....	18
2.9.2. <i>Filtración</i> .....	19



<b>2.10.</b>	<b>La piel</b> .....	19
<b>2.10.1.</b>	<i>Estructura de la piel</i> .....	19
<b>2.10.2.</b>	<i>Cáncer de piel</i> .....	20
<b>2.11.</b>	<b>Radiación</b> .....	20
<b>2.11.1.</b>	<i>Radiación solar</i> .....	20
<b>2.11.2.</b>	<i>Radiación Ultravioleta</i> .....	21
<b>2.14.</b>	<b>Protector solar</b> .....	22
<b>2.14.1.</b>	<i>Importancia</i> .....	22
<b>2.14.2.</b>	<i>Tipos de protectores solares y su composición</i> .....	22
<b>2.14.3.</b>	<i>El Factor de Protección Solar (FPS)</i> .....	23
<b>2.15.</b>	<b>Actividad fotoprotectora</b> .....	23
<b>2.16.</b>	<b>Métodos para determinar la actividad fotoprotectora</b> .....	24
<b>2.16.1.</b>	<i>Método de Vogelman</i> .....	24
<b>2.16.2.</b>	<i>Método de Mansur</i> .....	24
<b>2.17.</b>	<b>Emulsiones</b> .....	25
<b>2.17.1.</b>	<i>Tipo de emulsiones</i> .....	25
<b>2.17.2.</b>	<i>Control de calidad de emulsiones</i> .....	26
<b>2.17.2.1.</b>	<i>Homogeneidad</i> .....	26
<b>2.17.2.2.</b>	<i>Concistencia</i> .....	26
<b>2.17.2.3.</b>	<i>Extensibilidad</i> .....	26
<b>2.17.2.4.</b>	<i>Signo de emulsión</i> .....	26
<b>2.17.2.5.</b>	<i>pH</i> .....	26
<b>2.17.3.</b>	<i>Control microbiológico</i> .....	26

### CAPÍTULO III

<b>3.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	28
<b>3.1.</b>	<b>Enfoque y diseño</b> .....	28
<b>3.1.1.</b>	<i>Enfoque cualitativo</i> .....	28
<b>3.1.2.</b>	<i>Diseño experimental</i> .....	28
<b>3.2.</b>	<b>Población experimental</b> .....	28
<b>3.2.1.</b>	<i>Población de estudio</i> .....	28
<b>3.2.2.</b>	<i>Criterios de inclusión</i> .....	29
<b>3.2.3.</b>	<i>Criterios de exclusión</i> .....	29
<b>3.2.4.</b>	<i>Hipótesis</i> .....	29
<b>3.2.5.</b>	<i>Identificación de variables</i> .....	30
<b>3.3.</b>	<b>Lugar de investigación</b> .....	30

3.4.	Material vegetal.....	30
3.5.	Materiales, equipos y reactivos .....	30
3.5.1.	<i>Materiales</i> .....	30
3.5.2.	<i>Equipos</i> .....	30
3.5.3.	<i>Reactivos</i> .....	31
3.6.	Métodos, técnicas e instrumentos de investigación .....	32
3.7.	Secado y molienda .....	33
3.7.1.	<i>Secado</i> .....	33
3.7.2.	<i>Molienda</i> .....	33
3.8.	Control de calidad .....	33
3.8.1.	<i>Determinación de humedad</i> .....	33
3.8.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i> .....	34
3.8.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i> .....	34
3.8.4.	<i>Determinación de cenizas solubles en ácido clorhídrico</i> .....	35
3.9.	Preparación de extracto vegetal.....	35
3.9.1.	<i>Extracto etanólico</i> .....	35
3.9.2.	<i>Extracto acuoso</i> .....	36
3.10.	Maceración .....	36
3.11.	Filtración.....	36
3.11.1.	<i>Filtración de extracto etanólico</i> .....	36
3.11.2.	<i>Filtración de extracto acuoso</i> .....	36
3.12.	Extracto concentrado.....	37
3.12.1.	<i>Extracto etanólico concentrado</i> .....	37
3.12.2.	<i>Extracto acuoso concentrado</i> .....	37
3.13.	Determinación de parámetros de calidad del extracto .....	38
3.13.1.	<i>Requisitos organolépticos</i> .....	38
3.13.2.	<i>Densidad relativa</i> .....	38
3.13.3.	<i>Índice de refracción</i> .....	38
3.13.2.	<i>Determinación de pH</i> .....	38
3.14.	Cuantificación de fenoles.....	39
3.15.	Cuantificación de flavonoides .....	40
3.16.	Screening fitoquímico .....	40

#### CAPÍTULO IV

4.	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	44
4.1.	Control de calidad de hojas de <i>Lonicera japonica</i> .....	44

4.2.	Rendimiento de la extracción .....	44
4.3.	Control de calidad del extracto.....	45
4.4.	Cuantificación de fenoles totales.....	45
4.5.	Cuantificación de flavonoides totales .....	45
4.6.	Screening fitoquímico.....	48
4.7.	Cromatografía en capa fina.....	51
4.8.	Espectroscopía infrarroja.....	52
4.9.	Espectroscopía UV-VIS .....	54
4.10.	Determinación del FPS in vitro.....	54
4.11.	Control de calidad del protector solar.....	57
4.11.1.	<i>Descripción organoléptica</i> .....	57
4.11.2.	<i>Control físico químico</i> .....	57
4.11.3.	<i>Control microbiológico</i> .....	58
4.12.	Etiqueta del protector solar.....	59
CONCLUSIONES.....		60
RECOMENDACIONES.....		61
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2:</b>	Características de la familia Caprifoliaceae .....	5
<b>Tabla 1-2:</b>	Componentes de <i>Lonicera japonica</i> . .....	7
<b>Tabla 3-2:</b>	Los valores de EExI.....	24
<b>Tabla 1-3:</b>	Materiales usados en el ensayo fotoprotector.....	30
<b>Tabla 2-3:</b>	Equipos usado en el ensayo fotoprotector .....	31
<b>Tabla 3-3:</b>	Reactivos usados en el desarrollo de los ensayos.....	31
<b>Tabla 4-3:</b>	Protocolo de investigación .....	33
<b>Tabla 5-3:</b>	Screening fitoquímico .....	39
<b>Tabla 1-4:</b>	Resultados de parámetros de calidad de hojas de <i>Lonicera japonica</i> .....	44
<b>Tabla 2-4:</b>	Resultados de calidad del extracto etanólico .....	45
<b>Tabla 3-4:</b>	Cuantificación de fenoles totales .....	46
<b>Tabla 4-4:</b>	Cuantificación de flavonoides totales.....	47
<b>Tabla 5-4:</b>	Resultados del screening fitoquímico.....	48
<b>Tabla 6-4:</b>	Placa cromatográfica de extracto etanólico de <i>Lonicera japonica</i> .....	51
<b>Tabla 7-4:</b>	Determinación de RF para la identificación de flavonoides.....	51
<b>Tabla 8-4:</b>	Grupos funcionales del extracto etanólico de <i>Lonicera japonica</i> .....	52
<b>Tabla 9-4:</b>	Grupos funcionales del extracto acuoso de <i>Lonicera japonica</i> .....	53
<b>Tabla 10-4:</b>	Resultados de FPS del extracto etanólico por el método Mansur .....	54
<b>Tabla 11-4:</b>	Resultados del FPS del protector solar comercial por el método Mansur.....	55
<b>Tabla 12-4:</b>	Resultados del FPS del extracto etanólico por el método Vogelmann .....	55
<b>Tabla 13-4:</b>	Resultados del FPS del fotoprotector elaborado por el método Mansur .....	56
<b>Tabla 14-4:</b>	Descripción organoléptica del protector solar .....	57
<b>Tabla 15-4:</b>	Control físico químico del protector solar .....	57
<b>Tabla 16-4:</b>	Control microbiológico del protector solar .....	58

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-2:</b>	<i>Lonicera japonica</i> .....	6
<b>Ilustración 2-2:</b>	Estructura de un flavonoide .....	11
<b>Ilustración 3-2:</b>	Estructura de un tanino .....	12
<b>Ilustración 4-2:</b>	Estructura de una saponina .....	12
<b>Ilustración 5-2:</b>	Estructura de un alcaloide .....	13
<b>Ilustración 6-2:</b>	Estructura de una cumarina .....	13
<b>Ilustración 7-2:</b>	Reacción de Dragendorff .....	14
<b>Ilustración 8-2:</b>	Reacción de Mayer .....	15
<b>Ilustración 9-2:</b>	Reacción de Shinoda .....	15
<b>Ilustración 10-2:</b>	Reacción de FeCl <sub>3</sub> .....	17
<b>Ilustración 11-2:</b>	Capas de la piel .....	19
<b>Ilustración 12-2:</b>	Emulsión de W/O y O/W .....	25
<b>Ilustración 1-3:</b>	Ubicación de la recolección del material vegetal .....	29
<b>Ilustración 2-3:</b>	Mecanismo de acción del reactivo Folin-Ciocalteu .....	38
<b>Ilustración 1-4:</b>	Curva de calibración del ácido gálico .....	46
<b>Ilustración 2-4:</b>	Curva de calibración de la quercetina .....	47
<b>Ilustración 3-4:</b>	Espectro IR de extracto etanólico de <i>Lonicera japonica</i> .....	52
<b>Ilustración 4-4:</b>	Espectro IR de extracto acuoso de <i>Lonicera japonica</i> .....	53
<b>Ilustración 5-4:</b>	Espectro UV-VIS de extracto etanólico de <i>Lonicera japonica</i> .....	54
<b>Ilustración 6-4:</b>	Etiqueta del producto solar formulado .....	59

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A:** CONTROL DE CALIDAD DE LA ESPECIE VEGETAL

**ANEXO B:** CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO

**ANEXO C:** CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

**ANEXO D:** DETERMINACIÓN DEL FPS IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO

**ANEXO E:** FORMULACIÓN DEL PROTECTOR SOLAR

**ANEXO F:** DETERMINACIÓN DEL FPS IN VITRO DE LA FORMULACIÓN

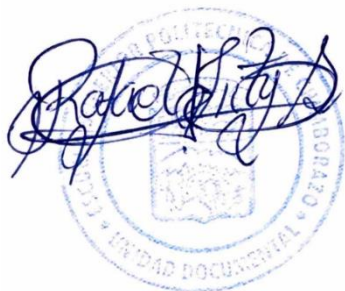
**ANEXO G:** CONTROL DE CALIDAD DEL PROTECTOR SOLAR FORMULADO

## RESUMEN

La exposición a la radiación ultravioleta causa una serie de enfermedades de la piel que ponen en riesgo la vida de las personas. Por esta razón, es importante protegerse del sol mediante el uso de fotoprotectores tópicos. La especie *Lonicera japonica* (Madreselva japonesa) es utilizada en medicina tradicional debido a que sus componentes activos del extracto ejercen efectos antimicrobianos, antioxidantes y antienvjecimiento en la piel. El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad fotoprotectora del extracto etanólico de *Lonicera japonica* para la elaboración de un protector solar. El extracto etanólico se obtuvo mediante maceración con etanol al 96% y una posterior concentración en el rotavapor bajo condiciones controladas. Mediante screening fitoquímico se identificó cualitativamente la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides. La cuantificación de fenoles y flavonoides totales se realizó mediante el método de Folin - Ciocalteu y cloruro de aluminio respectivamente. La cantidad de fenoles totales del extracto fue 9124 mg/L EAG, mientras que la de flavonoides fue 5362 mg/L EQ. Para determinar la actividad fotoprotectora se calculó el Factor de Protección Solar (FPS) mediante espectrofotometría y la aplicación de la ecuación de Mansur donde se obtuvo como resultado un FPS de 7,1 para el extracto etanólico y un FPS de 13,85 para el protector solar elaborado. Además, se realizó el control de calidad de la formulación, incluido el análisis microbiológico y se procedió a elaborar la etiqueta de acuerdo con los requisitos establecidos en la norma NTE INEN 2867. Finalmente, se concluyó que el extracto etanólico de *Lonicera japonica* posee actividad fotoprotectora, siendo una especie vegetal de interés para la fitocosmética y la fotoprotección.

**Palabras clave:** <BIOQUÍMICA Y FARMACIA>, <EXTRACTO ETANÓLICO>, <METABOLITOS SECUNDARIOS>, <ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA>, <RADIACIÓN ULTRAVIOLETA>, <PROTECTOR SOLAR>.

1427-DBRA-UPT-2023



## ABSTRACT

Exposure to ultraviolet radiation causes several life-threatening skin diseases. For this reason, it is essential to protect yourself from the sun by using topical sunscreens. *Lonicera japonica* (Japanese honeysuckle) is used in traditional medicine because its active components, the extract, exert antimicrobial, antioxidant, and anti-aging effects on the skin. This study aimed to evaluate the photoprotective activity of the ethanolic extract of *Lonicera japonica* in the production of sunscreen. The ethanolic quote obtains by maceration with 96% ethanol and a subsequent concentration in the rotary vapor under controlled conditions. The presence of phenolic compounds and flavonoids qualitatively identifies by phytochemical screening. The quantification of phenols and total flavonoids performs using the method of Folin – Ciocalteu and aluminum chloride, respectively. The total phenols in the extract were 9124 mg/L EAG, while that of flavonoids was 5362 mg/L EQ. Determining the photoprotective activity, the sun protection factor (SPF) calculates by spectrophotometry and the application of the Mansur equation, where an SPF of 7.1 obtains for the ethanolic extract and an SPF of 13.85 for the sunscreen made. In addition, the quality control of the formulation was carried out, including the microbiological analysis, and the label was developed according to the requirements established in the NTE INEN 2867 standard. Finally, it concludes that the extract of *Lonicera japonica* has photoprotective activity, being a plant species of interest for phytocosmetic and photoprotection.

**Keywords:** <BIOCHEMISTRY AND PHARMACY>, <ETHANOLIC EXTRACT>, <SECONDARY METABOLITES>, <PHOTOPROTECTIVE ACTIVITY>, <ULTRAVIOLET RADIATION>, <SUNSCREEN>.



---

MSc. Edison Renato Ruiz López

C.I. 060395704-4



## INTRODUCCIÓN

Los especímenes vegetales a través del tiempo han sido objeto de múltiples aplicaciones, siendo una de las más importantes el enfoque medicinal ya que se han convertido en un valioso tesoro en el afán de hallar conocimiento para el tratamiento de enfermedades y conservación de la salud. Se ha descrito en distintas fuentes el uso de plantas con fines medicinales desde el principio de la historia de la humanidad: 3.000 a.C. datan escritos en China, los sumerios 2.500 años a.C., los cuales usaron las plantas con actividad terapéutica; los asirios conocieron y ahondaron estos escritos con más de 250 hierbas medicinales.

En Ecuador, gracias a la extensa herencia cultural y su legado se evidencia la enorme utilidad de plantas medicinales para evitar carencias nutricionales o tratar patologías causada por parásitos y agentes infecciosos. Todo esto gracias a los denominados metabolitos secundarios que se comportan como defensas químicas, sumado a la que gran variedad de células vegetales vivas que tienen la capacidad de detectar patógenos invasores y responder con defensas inducibles, incluida la producción de sustancias químicas tóxicas y enzimas que degradan patógenos (Velasco et al. 2004).

Hoy en día con los avances en medicina e industria farmacéutica se ha llegado a pensar que las plantas medicinales son cosa del pasado. Sin embargo, esta idea está alejada de la realidad, dado que la gran variedad de metabolitos son objeto de investigación para el desarrollo de nuevos fármacos.

La madreselva japonesa (*Lonicera japonica*), es utilizada en la medicina tradicional china durante siglos y es conocida debido a que sus componentes activos del extracto ejercen principalmente efectos antimicrobianos, antioxidantes y antienvjecimiento en la piel. Como antioxidante actúa como un escudo que protege la piel del daño causado por los radicales libres y del efecto perjudicial del oxígeno. El extracto puede ser utilizado en pieles inflamadas o sensibles ya que tiene un efecto antiinflamatorio.

La planta contiene glucósidos secoiridoides como loniceracetálicas, saponinas lonicerósida A, B y C; constituyentes fenólicos hiperósido, ácido cafeico, y ácido clorogénico; flavonoides como luteolina, crisina, ácido protocatequico, etc. En base a estos compuestos denominados metabolitos, se ha logrado evaluar la actividad fotoprotectora de una variedad de plantas que constituyen el principal punto de investigación para desarrollar nuevas formulaciones farmacéuticas (Lesielle, 2019).

## CAPÍTULO I

### 1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

#### 1.1. Planteamiento del problema

Durante las últimas décadas el planeta viene enfrentando uno de los fenómenos más preocupantes, como es el calentamiento global. Debido al deterioro de la capa de ozono, es evidente que existe un alto índice de retención de la radiación solar provocando un incremento en la temperatura global. Esta problemática al traer consigo diversas alteraciones climáticas han afectado nuestra manera de vivir, es así que la radiación solar constituye una amenaza para el ser humano por el alto potencial cancerígeno producto de su exposición (Luna et al, 2017, p. 44).

La luz solar es importante para el ser humano, sin embargo, las radiaciones solares en exceso sin fotoprotección puede causar efectos dañinos tanto a corto como a largo plazo en la piel, ojos e incluso en el sistema inmunitario. Ecuador, al estar ubicado en la zona geográfica ecuatorial, recibe la radiación ultravioleta (RUV) con mayor intensidad causando muchas patologías cutáneas tales como: envejecimiento prematuro de la piel, pigmentación cutánea, cáncer de piel, estrés oxidativo e incluso modificaciones a nivel celular por la generación de radicales libres (García 2010, pp 3-4).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció rangos en cuanto a la radiación ultravioleta a la cual nos sometemos los seres humanos:

- 1-2 UV: Radiación baja
- 3-4 UV: Radiación moderada
- 5-7 UV: Requiere protección
- 8-11 UV: Radicación extrema

Según la dermatóloga clínica y docente universitaria Mónica Zambrano, la incidencia de cáncer de piel se da de 4 a 6 casos por cada cien mil habitantes en hombres y de 2 a 3 en mujeres, de cáncer no melanoma. El tipo melanoma tiene incidencia de 0,9 por cada cien mil habitantes en hombres y 0,1 en mujeres. En Quito, la tasa de incidencia llega a 35,8% para hombres y 31,2% para mujeres, seguido de Loja y Cuenca (Quizhpi 2019, pp. 13-15).

Una gran variedad de protectores solares existentes en el mercado posee sustancias que se comportan como disruptores hormonales según varias investigaciones, la sociedad de endocrinología los define como químicos exógenos que interfieren con la función hormonal y reproductiva normal. Este efecto podría lograr ser transgeneracional e interferir con la foliculogénesis, la esteroidogénesis y la espermatogénesis, pues en concentraciones elevadas mimetizan y bloquean los receptores androgénicos y estrogénicos.

Además, puede presentarse una preocupación adicional en infantes ya que tienen un menor desarrollo en los procesos de eliminación a nivel farmacocinético. Un componente representativo de estos bloqueadores solares es la benzofenona-3 (BP-3) ampliamente utilizada en protectores solares. BP-3 es lipofílico, fotoestable y bioacumulable, y puede ser rápidamente absorbido por vía dérmica (Zalamea 2020).

## **1.2. Justificación**

Actualmente, se evidencia los grandes cambios climáticos que está afectando a la población mundial, entre estos se tiene al calentamiento global, donde el incremento de la radiación solar conduce al debilitamiento de la capa de ozono generando la necesidad de proteger la piel contra los efectos adversos de la radiación UV. Durante miles de años, el hombre ha usado plantas para protegerse contra diversas enfermedades y los conocimientos ancestrales han impulsado a la investigación de aquellos componentes activos que generan determinados efectos en el cuerpo humano, los cuales son eficientes en el desarrollo de agentes de control químico para distintos patógenos.

En Latinoamérica cerca del 80% de la población utiliza plantas como alternativa natural para el tratamiento de enfermedades, convirtiéndose en un eje fundamental para la atención primaria de salud. Una alternativa de protección es el uso de fórmulas fotoprotectoras con filtros UV, que interfieren directamente con la radiación solar a través de la absorción, reflexión o dispersión de energía (Tacuri, 2019, pp. 8-12).

La presente investigación busca convertirse en una alternativa enfocada en la búsqueda de moléculas con potencial fotoprotector del extracto etanólico de *Lonicera japonica* utilizando diversas técnicas in vitro para la posterior elaboración de un protector solar, pues se conoce que esta especie vegetal posee entre los múltiples metabolitos, compuestos polifenólicos. Varias de estas estructuras químicas tienen la capacidad de captar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, así como varios estudios que avalan sus propiedades antioxidantes (Valencia et al., 2017, pp. 1-15).

Estos compuestos tienen ciertas fracciones hidrofílicas que, sumado al carácter fotoprotector, va a evitar la absorción dérmica de moléculas nocivas, obteniendo una protección netamente tópica que previene un sinnúmero de reacciones adversas y enfermedades de la piel.

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Evaluar la actividad fotoprotectora del extracto etanólico de *Lonicera japonica* para la elaboración de un protector solar.

#### ***1.3.2. Objetivos específicos***

- Identificar cualitativamente a través de pruebas químicas de coloración y/o precipitación los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico.
- Formular un fotoprotector usando el extracto etanólico de *Lonicera japonica*.
- Determinar la calidad de la formulación del fotoprotector mediante ensayos fisicoquímicos y microbiológicos.
- Determinar el FPS in vitro del extracto etanólico y de la formulación mediante técnicas espectrofotométricas.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Familia Caprifoliaceae

La familia Caprifoliaceae se caracteriza por ser arbustivas, herbáceas o lianas, con pubescencia diversa, además se caracterizan por poseer hojas opuestas, simples, estipuladas o exestipuladas, sésiles o corto-pecioladas.

**Tabla 1-2:** Características de la familia Caprifoliaceae

Partes de la planta	Caracteres frecuentes
Morfología	• Frecuentemente arbustos o pequeños árboles
	• Lianas
	• Rara vez hierbas
Hojas	• Opuestas, decusadas, simples o pinnadas
	• Generalmente sin estipulas
Flores	• Frecuentemente en cimas plurifloras
	• Comúnmente vistosas y perfumadas
	• Frecuentemente entomófilas y ornitófilas. Poseen pelos glandulares
Perianto	• Corola gamopétala
	• Poseen un tubo largo, recto o giboso
	• Puede ser bilabiada
Androceo	• Posee de 4 a 5 estambres fijos al tubo corolar
	• Caracterizada por anteras introrsas
Gineceo	• Tiene un ovario ínfero, 1-5 (8) carpelos y lóculos
	• Caracterizado por uno o numerosos óvulos péndulos; estilo filiforme; estigma lobulado o capitado
Fruto	• Drupa
	• Baya
	• Poco usual en forma de cápsula
Semilla	• Endospermada de embrión pequeño

Fuente: Villareal, 2008, pp.1-7

Realizado por: López, Danny, 2023

#### 2.1.2. Diversidad

Familia con 13-16 géneros y cerca de 400 especies en el mundo, 3 géneros y 16 especies en México, 2 géneros y 2 especies en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

### 2.1.3. *Distribución geográfica*

Regiones templadas o montañas intertropicales, la mayor parte en el hemisferio norte. El principal centro de diversidad se encuentra en Asia (Villareal, 2008, pp. 1-7).

## 2.2. **Género Lonicera**

Lonicera es un género de plantas que pertenece a la familia Caprifoliaceae y cuyas especies incluidas dentro de este género son comúnmente conocidas con el nombre popular de madreselvas.

El género Lonicera comprende unas 180 especies de plantas de la familia de las Caprifoliaceae que habitan en zonas templadas. Entre las especies más conocidas tenemos:

- Madreselva etrusca (*Lonicera etrusca*)
- Madreselva japonesa (*Lonicera japonica*)
- Madreselva del bosque (*Lonicera periclymenum*)
- Zapaticos (*Lonicera implexa*)

Actualmente, estas especies están ampliamente distribuidas a nivel mundial gracias a su gran capacidad adaptativa y en Ecuador es considerada como una planta exótica cultivable de uso ornamental. Sin embargo, se está convirtiendo en una especie invasora en muchos lugares donde ha sido importada (Especies de Madreselva, 2018).

## 2.3. **Lonicera japonica**

### 2.3.1. *Generalidades de la planta*



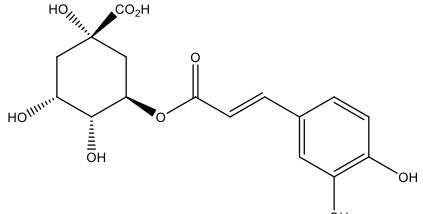
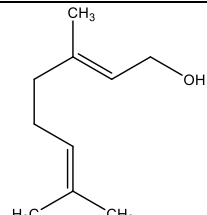
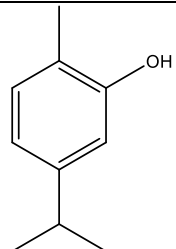
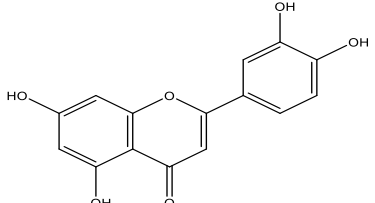
**Ilustración 1-2:** *Lonicera japonica*

**Fuente:** Portillo, 2020.

La madreselva japonesa es una especie de enredadera que se distingue por sus bellas y muy fragantes flores. En muchos sitios se utiliza en jardinería para cubrir muros y formar setos. En cambio, en otros lugares es una planta exótica invasiva. En adición, se cree que podría ser una planta alelopática, es decir, produce sustancias que inhiben el crecimiento de otras plantas. Son de hoja perenne cuando crecen en climas cálidos, pero pierden temporalmente sus hojas cuando están en climas templados. Sin embargo, no son plantas parásitas, ya que solo buscan un soporte para recibir más luz o para buscar el lugar ideal para su desarrollo (Madreselva Japonesa, 2018).

Sus componentes permiten que esta planta cuente con una amplia gama de propiedades, entre ellos se destaca la medicinal gracias al ácido clorogénico, el geraniol, carvacrol y la luteolina llegando a aliviar los resfriados, el asma, la bronquitis, la tuberculosis, la tos, entre otros. También está constituida por diversos minerales como el calcio, el magnesio y el potasio que ayuda en la prevención de retención de líquidos lo que puede generar hinchazón en el cuerpo; así mismo evita los cálculos del riñón e incluso la artritis (Jordano 1990, pp. 34-38).

**Tabla 2-2:** Componentes de *Lonicera japonica*

Componente	Estructura
Ácido clorogénico	
Geraniol	
Carvacrol	
Luteolina	

Fuente: Jordano, 1990, pp. 34-38

Realizado por: López, Danny, 2023.

### **2.3.2. Descripción botánica**

El Madreselva japonesa (*Lonicera japonica*) es una especie de madreselva originario de Asia Oriental, incluyendo China, Japón y Corea. Es un hermanamiento vid capaz de trepar hasta 10 metros (33 pies) de altura o más en árboles, liana leñosa perennifolia, muy densa, hojas opuestas 3 – 8 centímetros de largo y 2 a 3 centímetros de ancho, una enfrente de la otra, forma ovada y ápice agudo.

Se distingue de las madreselvas autóctonas por presentar las flores en parejas, blancas al abrirse y amarillas al cerrarse, y con el tubo de longitud parecida a la del resto de la flor. Esta tiene una falsa hoja, o bráctea, en la base. También porqué ocasionalmente el limbo de las hojas de brotes jóvenes es lobulado, carácter exclusivo de esta especie de madreselva (Madreselva Japonesa, 2017).

## **2.4. Extractos vegetales**

Los extractos vegetales son productos extraídos directamente de los frutos, hojas, semillas o raíces de una planta y pueden obtenerse en base a agua o a alcohol. La ventaja de utilizar extractos alcohólicos sobre extractos acuosos radica en la capacidad de extracción de sustancias específicas para activar los mecanismos de las plantas. Además de obtener los componentes activos más importantes del vegetal, de manera muy concentrada.

La separación de dos o más componentes por extracción se basa en la transferencia selectiva del compuesto desde una mezcla sólida o líquida con otros compuestos hacia una fase líquida (generalmente un disolvente orgánico). Sin embargo, se debe considerar como punto crítico la diferencia de solubilidad en el solvente de extracción, entre el compuesto deseado y los otros compuestos presentes en la mezcla inicial, para obtener los resultados deseados (Cáceres, 2020, p. 2).

### **2.4.1. Tipos de extractos vegetales**

Según el medio en el que están macerados, los extractos vegetales pueden ser:

- Glicólicos: Macerados principalmente en propilenglicol o glicerina junto al agua como medio para extraer los principios activos de la planta.
- Hidroalcohólicos o tinturas: Macerados en alcohol etílico de diferentes graduaciones según el activo a extraer.
- Oleosos: Son obtenidos a través de una maceración en frío de la planta con aceite vegetal.



- Hidrosolubles: Son aquellos en los que se utiliza agua y glicerina vegetal como disolventes (Iribarren 2012).

#### **2.4.2. Tipos de extracción según el solvente**

Se puede determinar 2 tipos de extracción dependiendo del solvente utilizado

##### **2.4.2.1. Extracción con solvente inerte**

Se caracteriza por no alterar ni modificar la estructura del compuesto a extraer.

##### **2.4.2.2. Extracción con solvente activo**

Se caracteriza por generar reacciones reversibles del tipo ácido-base (Cáceres 2020, p. 2).

#### **2.4.3. Métodos de extracción**

Para lograr una concentración adecuada de los principios activos contenidos en las plantas y que su acción sea más efectiva es necesario realizar diversos procedimientos de extracción. A continuación, se describen algunos métodos:

##### **2.4.3.1. Decocción**

Consiste en hervir la droga en agua por espacio de 15 a 60 minutos, se enfría, se cuela y se añade suficiente agua fría a través de la droga hasta obtener el volumen deseado (Carrasco y Lara 2014, p. 23).

##### **2.4.3.2. Macerado**

Consiste en dejar reposar una hierba en agua fría u otro solvente durante un período de tiempo que puede oscilar entre unas 6 horas y varias semanas o meses (Carballido 2019).

##### **2.4.3.3. Digestión**

Es una maceración a elevada temperatura. En este caso, la temperatura determina que las sustancias solubles sean extraídas a mayor velocidad lo cual disminuye grandemente el tiempo de ejecución del extracto (Carrasco y Lara 2014, p. 23).

## **2.5. Caracterización fisicoquímica**

### **2.5.1. Caracteres organolépticos**

Propiedades organolépticas se denominan a las características físicas que tiene la materia en general, según las pueden percibir los sentidos, como por ejemplo su sabor, textura, olor, color. (Ochoa et al., 2013, pp. 52-59).

### **2.5.2. Densidad relativa**

Densidad relativa se denomina a la magnitud adimensional que relaciona la densidad absoluta de un líquido respecto a la densidad absoluta de una sustancia de referencia.

Usualmente a nivel laboratorio, la densidad puede determinarse usando diferentes instrumentos, uno de los más comunes es el picnómetro. El picnómetro es un recipiente en donde se pesa el volumen de un líquido, usando una balanza analítica con precisión de  $\pm 0.0001$  g (Atarés 2017).

$$\rho = \frac{m}{V}$$

### **2.5.3. Índice de refracción**

La refracción de la luz es una propiedad física propia de las sustancias; definida como el cambio de dirección de una onda electromagnética al pasar de un medio a otro, debido a la variación de velocidad que experimenta. Frecuentemente el refractómetro de Abbe sigue siendo utilizado en los laboratorios por su funcionamiento sencillo y confiable.

Es importante considerar que existen dos tipos de refractómetros en función de la detección del índice de refracción: sistemas transparentes y sistemas de reflexión. Cabe recalcar que los refractómetros portátiles y los refractómetros Abbe usan los sistemas transparentes, mientras que los refractómetros digitales usan los sistemas de reflexión.

Además, es importante entender que los refractómetros tienen también escalas específicas que miden grados Brix (porcentaje de azúcares), densidad específica (sólidos solubles), para lo cual se necesitan unas soluciones que sirvan como patrón y escalas de conversión (Hernández et al., 2017).

#### 2.5.4. *pH del extracto*

Definimos al pH como la medida de la acidez o alcalinidad de una solución, basada en el fundamento de que los ácidos, bases y sales experimentan una disociación electrolítica (concentración de iones hidronio) en solución. El pH normalmente se mide en una escala de 1 a 14, en donde el 1 es el valor más ácido y el 14 el valor más alcalino. Finalmente, cuando se obtiene un pH 7 el valor neutro (Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

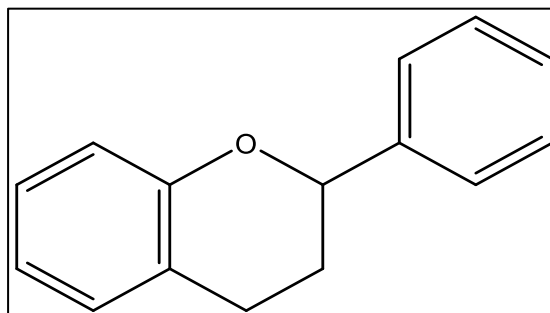
#### 2.6. **Metabolitos secundarios**

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos sintetizados a partir de excedentes del metabolismo primario. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies (Ávalos 2009, pp. 119-145).

Algunos de los grupos de metabolitos secundarios más conocidos son:

##### 2.6.1. *Flavonoides*

Son un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo- $\gamma$ -pirano, los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares, en forma de glicósidos. Ellos son muy importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas, ya que actúan como atrayentes de animales en la oviposición, como agentes protectores contra la luz UV o contra la infección por organismos fitopatógenos; además, estos compuestos presentan propiedades relacionadas con la salud humana, lo cual está basado en su actividad antioxidante (Cartaya y Reynaldo, 2001: pp. 5-14).

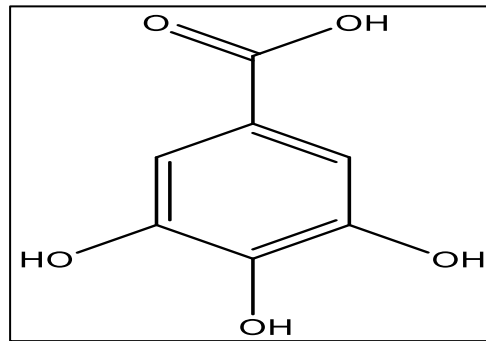


**Ilustración 2-2:** Estructura de un flavonoide

Realizado por: López, Danny, 2023.

### 2.6.2. Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos que se encuentran en muchas plantas dicotiledóneas, especialmente en leguminosas forrajeras de regiones templadas y tropicales. Son empleados por las plantas como mecanismo de defensa contra herbívoros y patógenos y para la conservación del nitrógeno (Márquez y Suárez, 2008, p. 87).

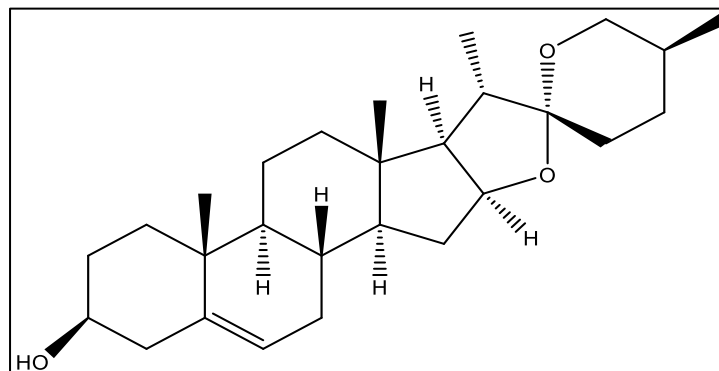


**Ilustración 3-2:** Estructura de un tanino

Realizado por: López, Danny, 2023.

### 2.6.3. Saponinas

Son compuestos glicosídicos que contienen un esqueleto triterpénico o esteroidal. Principalmente se caracterizan porque en contacto con el agua producen una espuma persistente, propiedad que se ha utilizado ampliamente en muchas partes del mundo. Constan de una parte glucídica (con uno o más azúcares) y de una genina (parte no glucídica) denominada sapogenina, que puede ser de naturaleza esteroide o triterpénica de carácter poco polar (López 2001, pp. 124-129).

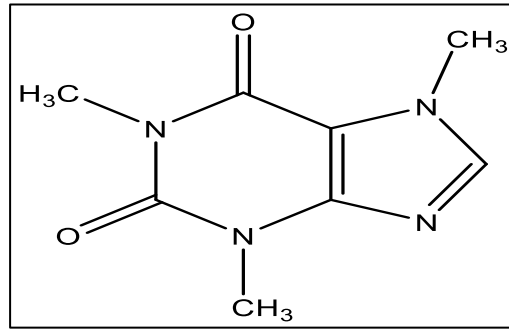


**Ilustración 4-2:** Estructura de una saponina

Realizado por: López, Danny, 2023.

#### 2.6.4. Alcaloides

Son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico mayoritariamente de origen vegetal que son usados como mecanismo de defensa. Tienen una estructura química compleja, cuya molécula está constituida por grupos atómicos que contienen nitrógeno y forman anillos cerrados (Mirabal 2021).



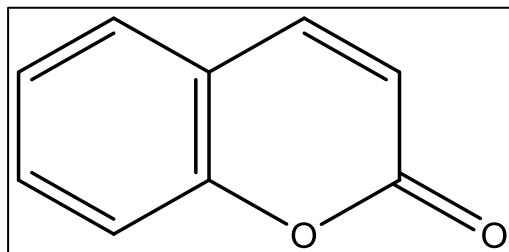
**Ilustración 5-2:** Estructura de un alcaloide

Realizado por: López, Danny, 2023.

#### 2.6.5. Cumarinas

Son compuestos químicos orgánicos que pertenecen a la familia de las benzopironas, al igual que a la mayoría de los metabolitos secundarios, a las cumarinas se les atribuye un papel como parte del sistema de defensa de las plantas ya que tienen estructuras muy variadas, por lo que sus propiedades farmacodinámicas abarcan una amplia gama terapéutica (Palacios, 2018, pp. 1-5)

Todos los metabolitos secundarios conocidos tienen algún tipo de actividad, entre estos tenemos actividad antibacteriana, antioxidante o anticancerígena, entre otras, y esto es el móvil de programas de búsqueda de compuestos naturales con una particular actividad biológica para el tratamiento de diversas patologías (Almaraz, 2015).



**Ilustración 6-2:** Estructura de una cumarina

Realizado por: López, Danny, 2023.

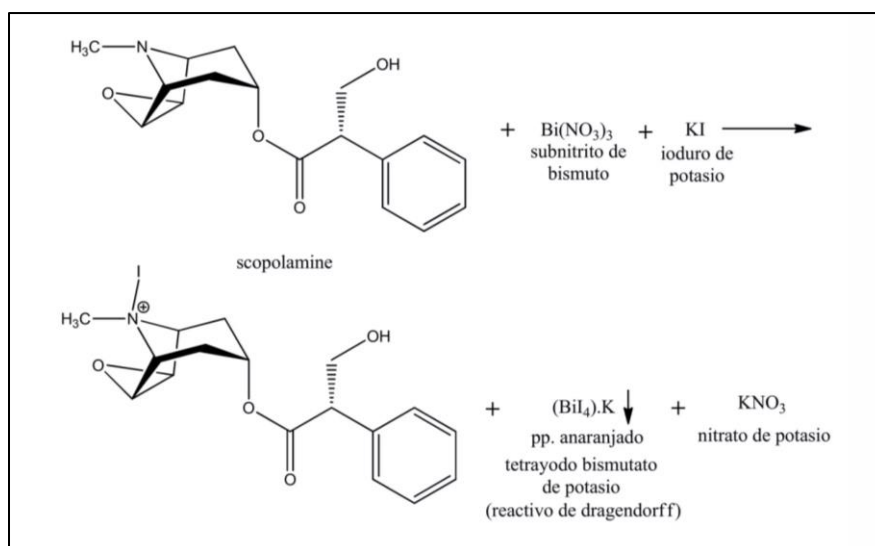
## 2.7. Determinación mediante screening fitoquímico

El screening fitoquímico permite determinar cualitativamente la presencia de determinados metabolitos secundarios en una planta, en dependencia de sus características estructurales y solubilidad de cada uno de ellos mediante un solvente que puede ser agua alcohol o éter a diferentes polaridades (Salazar y Jaime, 2011, pp.16-17).

### 2.7.1. Alcaloides

#### 2.7.1.1. Reactivo de Dragendorff

La presencia de alcaloides por este método se evidencia por la formación de un precipitado naranja rojizo cuando los alcaloides están en presencia del reactivo en una solución ácida (Arango, 2008; citada en San Román, 2014).



**Ilustración 7-2:** Reacción de Dragendorff

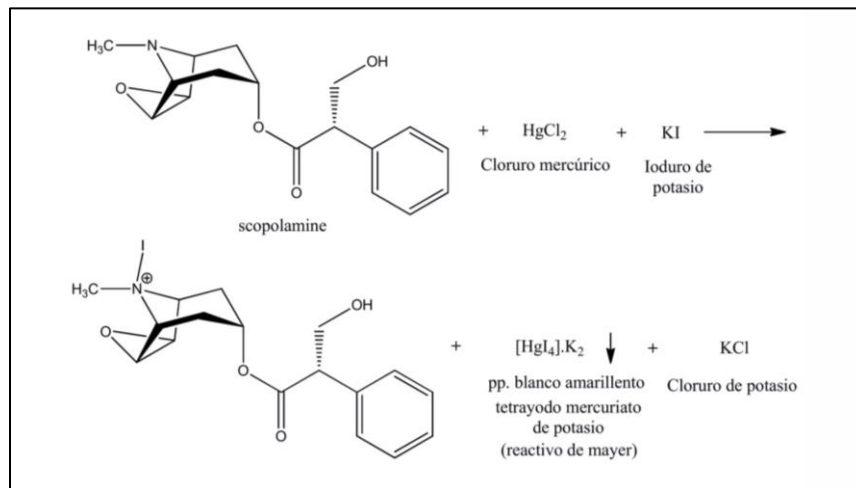
Fuente: Román, 2014.

#### 2.7.1.2. Reactivo de Wagner

El ensayo de Wagner se procede de la forma descrita para el ensayo de Dragendorff, hasta obtener la solución ácida. Si al añadir 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Wagner, se observa opalescencia, turbidez definida, precipitado coposo, entonces se considera positiva la presencia de este tipo de metabolito (Pereira et al., 2009: pp. 192-199).

### 2.7.2.3. Reactivo de Mayer

Es una reacción de precipitación para la identificación cualitativa de alcaloides totales, la reacción se da en medio ácido al adicionarse el reactivo de Mayer se forma una opalescencia leve (+), una turbidez definida (++) o precipitación abundante (+++) dependiendo de la concentración del alcaloide (Arango, 2008; citada en Román, 2014).



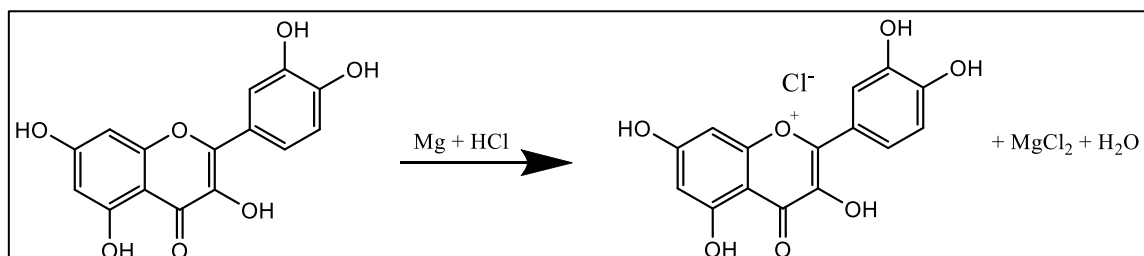
**Ilustración 8-2:** Reacción de Mayer

Fuente: Román, 2014.

### 2.7.2. Flavonoides

#### 2.7.2.1. Ensayo de Shinoda

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo, intensos en todos los casos.



**Ilustración 9-2:** Reacción de Shinoda

Realizado por: López, Danny, 2023.

### **2.7.3. Saponinas**

#### **2.7.3.1. Ensayo de espuma**

Permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénicas. Se obtiene un resultado positivo al provocar abundante espuma por agitación.

### **2.7.4. Quinonas**

#### **2.7.4.1. Ensayo de Borntrager**

Si la fase acuosa alcalina se colorea de rosado a rojo, el ensayo se considera positivo.

### **2.7.5. Cumarinas**

#### **2.7.5.1. Ensayo de Baljet**

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas, aunque otros compuestos láctonicos pueden dar también positivo este ensayo. En estas condiciones se considera la presencia de esta familia de compuestos por la aparición de una coloración y un precipitado (Pereira et al., 2009, pp. 192-199).

### **2.7.6. Taninos**

#### **2.7.6.1. Ensayo de cloruro férrico ( $FeCl_3$ )**

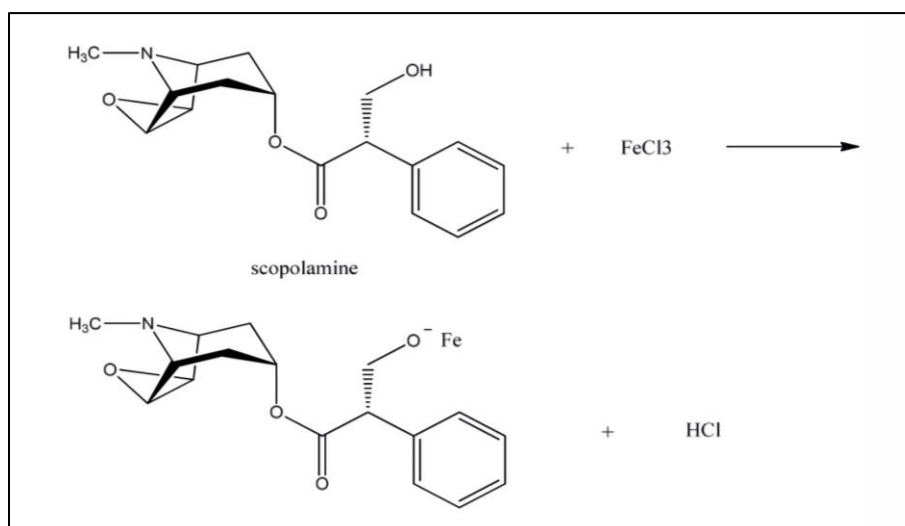
Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.

Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.

Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalol, derivados del ácido gálico.

Desarrollo de una coloración negra indica la presencia de ambos taninos.





**Ilustración 10-2:** Reacción de  $\text{FeCl}_3$

Fuente: Román, 2014.

#### 2.7.6.2. Ensayo gelatina-sal

La formación de un precipitado de color blanco indica la presencia de taninos (Muñoz 2016, p. 7).

### 2.8. Técnicas de separación y análisis

#### 2.8.1. Técnicas de separación

##### 2.8.1.1. Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina es una técnica analítica que se fundamenta en la separación de los componentes mediante las variaciones de velocidad a las que pasan por una fase móvil líquida a través de una fase fija o estacionaria generalmente a la denominada “placa de TLC”.

La muestra objeto de análisis se deposita adyacente al extremo de una lámina de plástico o aluminio previo al recubrimiento de una fina capa de adsorbente siendo esta la fase estacionaria. Adicionalmente la lámina se ubica en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados mismo que conformaran la fase móvil.

Esencialmente la separación de los analitos de la muestra se lleva a cabo mediante el proceso de adsorción pues un analito de la fase líquida entra en contacto con el sólido adsorbente y adhiriéndose a la superficie de este a través una fuerza física, dado que no hay un intercambio de electrones haciendo que mencionado proceso sea reversible (Vallejo et al., 2019, pp. 19-25).

### *2.8.1.2. Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)*

Es una técnica cromatográfica utilizada para identificar, cuantificar, separar y purificar los distintos compuestos presentes en cualquier muestra que se pueda disolver en un líquido. Los componentes con mayor afinidad con la fase estacionaria se desplazarán con menor velocidad que aquellos que presentan menor afinidad. Estas diferencias de velocidades dan origen a la separación de los componentes a medida que salen de la columna.

El material adsorbente utilizado suele ser granular, compuesto de partículas sólidas, como sílice, que forman la “fase estacionaria”. El líquido a presión es una mezcla de disolventes, como agua, y líquidos orgánicos, como metanol y acetonitrilo, que forman la “fase móvil” (Suarez y Morales 2018, pp. 7-14).

## **2.8.2. Técnicas de análisis**

### *2.8.2.1. Espectroscopía Infrarroja (IR)*

Se fundamenta en que la mayoría de las moléculas absorben la luz en la región infrarroja del espectro electromagnético, convirtiéndola en vibración molecular. La absorción de radiación por parte de una muestra proporciona información sobre el tipo de enlaces y grupos funcionales presentes (Espectroscopía Infrarroja, 2022).

### *2.8.2.2. Espectroscopía Ultravioleta (UV)*

La espectroscopia UV-Vis es un tipo de espectroscopia de absorción que mide la cantidad de longitudes de onda discretas de luz UV o visible entre 190 y 900 nm que son absorbidas o transmitidas a través de una muestra en comparación con una muestra de referencia o en blanco. Esta propiedad está influenciada por la composición de la muestra, proporcionando información sobre lo que hay en la muestra y en qué concentración (Tom, 2021).

## **2.9. Técnicas de purificación**

### **2.9.1. Recristalización**

La recristalización es la técnica más simple y eficaz para purificar compuestos sólidos. Consiste en la disolución de un sólido impuro en la menor cantidad posible del solvente adecuado y en caliente. En estas condiciones se genera una disolución saturada que al enfriar se sobresatura y se produce la cristalización (GUIDOLQUIM, 2014).

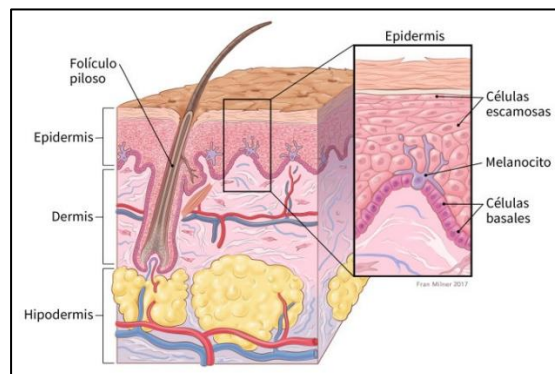
### 2.9.2. Filtración

La filtración es una técnica que consiste en la remoción de partículas suspendidas y coloidales presentes en una suspensión acuosa a través de un medio poroso (denominado medio filtrante) que permite separar dichos sólidos, y que se dispone sobre un dispositivo conocido como soporte de filtración, siendo el más elemental un embudo de filtración (Delgado 2016, p. 1).

## 2.10. La piel

La piel es el órgano más grande del cuerpo y sirve como protección contra agentes patógenos, proliferación de infecciones, la radiación UV, radicales libres y contra agresiones medioambientales. Interviene también en la termorregulación, mantenimiento del equilibrio de fluidos corporales y actuando como barrera ante la posible pérdida de agua y en la eliminación de diversas sustancias a través del el sudor y la secreción sebácea.

### 2.10.1. Estructura de la piel



**Ilustración 11-2:** Capas de la piel

**Fuente:** American Cancer Society, 2021.

La piel está formada por las siguientes capas:

- Epidermis: es la más superficial, la más delgada y muy celular.
- Dermis: es mucho más gruesa, está constituida por tejido conjuntivo que es atravesado por numerosos vasos y nervios y en esta se localizan los anejos cutáneos.
- Hipodermis: es la capa más profunda, está constituida por un tejido adiposo que también se conoce como tejido subcutáneo graso.

En la capa epidérmica o exterior de la piel hay células que contienen el pigmento llamado melanina. La melanina protege la piel de los rayos ultravioleta del sol, los cuales pueden quemar la piel y, con el tiempo, podrían reducir su elasticidad y causar que una persona envejezca prematuramente (MedlinePlus, 2017).

### ***2.10.2. Cáncer de piel***

El cáncer de piel es una enfermedad producida por el desarrollo y crecimiento descontrolado de células cancerosas en cualquiera de las capas de la piel. Uno de los factores de riesgo que se encuentra relacionado en muchos estudios epidemiológicos es la existencia de antecedentes de quemaduras solares y la exposición a la luz ultravioleta (UV), ya sea a través de los rayos del sol o de fuentes artificiales como camas bronceadoras (SkinCancer, 2022).

Los tipos principales de cáncer de piel son:

**Carcinoma de células escamosas:** Este tipo de cáncer comúnmente aparecen en las áreas del cuerpo expuestas al sol, tales como la cara, las orejas, los labios y el dorso de las manos. También puede surgir en cicatrices o llagas crónicas de la piel en otras partes del cuerpo. Con menor frecuencia, se forman en la piel del área genital.

**Carcinoma de células basales:** Comienzan en la capa celular basal, que es la parte inferior de la epidermis. Por lo general, estos cánceres surgen en las zonas expuestas al sol, especialmente la cara, la cabeza y el cuello. Suelen crecer lentamente y es muy poco común que el cáncer de células basales se propague a otras partes del cuerpo. Pero de no tratarse, el cáncer de células basales puede extenderse hacia las áreas cercanas e invadir el hueso u otros tejidos debajo de la piel.

**Melanoma:** Es el tipo más grave de cáncer y es la causa principal de muerte por enfermedades de la piel. Se originan a partir de los melanocitos, las células de la piel que se encuentran en la epidermis y que producen los pigmentos.

El melanoma es mucho menos común que los otros tipos de cáncer, pero es mucho más probable que invada el tejido cercano y se disemine a otras partes del cuerpo causando la mayoría de las muertes por cáncer de piel. Mientras que el carcinoma de células basales y de células escamosas son más comunes, se pueden tratar y se encuentran con más frecuencia en las áreas que han sido expuestas a la luz solar (American Cancer Society, 2021).

## **2.11. Radiación**

La radiación es la emisión, propagación y transferencia de energía en cualquier medio en forma de ondas electromagnéticas o partículas. Puede ocurrir naturalmente o ser creada por el hombre.

Existen dos tipos:

- Radiación no ionizante: Incluye ondas de radio, teléfonos celulares, microondas, radiación infrarroja y luz visible
- Radiación ionizante: Incluye radiación ultravioleta, radón, rayos X y gamma (EPA, 2016).

### ***2.11.1. Radiación solar***

La radiación solar es la energía emitida por el Sol, que se propaga en todas las direcciones a través del espacio mediante ondas electromagnéticas y la vida en la Tierra depende de ella. La luz solar estimula la producción de vitamina D, ayuda a controlar algunos trastornos crónicos de la piel y causa una sensación de bienestar.

La radiación solar se compone por los siguientes tipos de radiaciones:

- Rayos infrarrojos (IR): La radiación infrarroja proporciona calor y representa el 49% de la radiación solar.
- Rayos visibles (VI): representan el 43% de la radiación y proporcionan luz.
- Rayos ultravioletas (radiación UV): representan el 7%.
- Otros tipos de rayos: representan cerca del 1% del total (Planas, 2015).

### ***2.11.2. Radiación ultravioleta***

El Sol emite una gran cantidad de energía a la Tierra, de la cual sólo entre un 6% a 7% corresponde a la radiación ultravioleta (UV). Esta radiación UV es una forma de energía radiante invisible que cubre el rango de longitudes de onda entre los 100 y los 400 nanómetros (IDEAM, 2018).

La luz UV se clasifica en tres tipos, dependiendo de su longitud de onda:

- Ultravioleta A (UVA): la longitud de onda está comprendida entre los 315 y los 400 nm.
- Ultravioleta B (UVB): la longitud de onda oscila entre los 280 y los 315 nm.

- Ultravioleta C (UVC): son los rayos UV más energéticos con longitudes de onda entre los 100 y los 280 nm.

La parte más dañina de esta radiación (radiación UVC) no alcanza la superficie terrestre ya que es absorbida por la atmósfera, especialmente en la denominada capa de ozono. Aunque los rayos ultravioletas UVB son absorbidos en la atmósfera en un 90% aproximadamente, y los UVA son también atenuados en menor medida, una parte de ellos llega a alcanzar la superficie terrestre (INSST, 2021).

## **2.14. Protector solar**

Son agentes que ayudan a prevenir que los rayos ultravioletas UVA y UVB lleguen a la piel, los cuales causan daños y aumentan el riesgo de cáncer de piel. La luz UVB es la principal causa de las quemaduras por el sol, mientras que los rayos UVA penetran más profundamente en la piel, agrava los efectos cancerígenos de los rayos UVB y cada vez más se considera un causante de cáncer de piel. Además, se asocian con las arrugas, la pérdida de la elasticidad y otros efectos del fotoenvejecimiento (SkinCancer, 2022).

### **2.14.1. Importancia**

Al usar correctamente el protector solar se previene el envejecimiento cutáneo, es decir, aparición de manchas, pecas, efélides y líneas de expresión, además de evitar el cáncer de piel que está demostrado es inducido por la luz, ya sea solar o artificial.

### **2.14.2. Tipos de protectores solares y su composición**

Los protectores solares se clasifican en físicos y químicos. Según la American Academy of Dermatology (AAD), los protectores solares físicos funcionan como un escudo. Estos yacen en la superficie de la piel y sirven como deflectores para los rayos del sol. Estos contienen los ingredientes activos óxido de zinc y/o dióxido de titanio, los cuales son considerados seguros para usar por parte de la FDA.

Los protectores solares químicos funcionan como una esponja, absorbiendo los rayos UV del sol. Estos productos contienen uno o más de los siguientes ingredientes activos: oxibenzona, avobenzona, octisalato, octocrylene, homosalato y octinoxato (Fernández, 2019).

### **2.14.3. El factor de protección solar (FPS)**

El FPS es el índice que mide la capacidad protectora de un protector solar frente a los efectos nocivos de la radiación ultravioleta tipo B (UVB) sobre la piel y nos indica el tiempo que podemos permanecer expuestos a los rayos solares sin que aparezca enrojecimiento o se produzca una quemadura solar. Mientras más alto es el número del FPS, más alta es la protección de los rayos solares (IDERMA, 2019).

La fórmula del cálculo es:

$$FPS = \frac{DEM \text{ (dosis mínima de eritema) zona protegida}}{DEM \text{ (dosis mínima de eritema) zona sin protección}}$$

El factor de protección frente a UVB de un fotoprotector se determina desde 1997 de acuerdo con el estándar de la Agrupación Europea de Fabricantes de Productos de Cosmética y Perfumería (COLIPA). Esto permite una clasificación según el nivel de fotoprotección:

- Bajo: 2, 4, 6
- Medio: 8, 10, 12
- Alto: 15, 20, 25
- Muy alto: 30, 40, 50
- Ultra: superior a 50 (Batlle, 2005, pp. 65-72).

### **2.15. Actividad fotoprotectora**

Los fotoprotectores son agentes que tienen la finalidad de proteger la estructura y preservar la función de la piel humana contra el daño provocado por la radiación ultravioleta (UV) (Gilaberte, 2003, p.271). Las plantas poseen una gran diversidad de moléculas naturales útiles en la fotoprotección, entre las más comunes se encuentran los terpenos, las flavonas, los carotenoides, las catequinas y las antocianinas.

Algunas de estas moléculas pueden actuar como filtros solares ya que tienen propiedades antioxidantes. Los antioxidantes fueron inicialmente usados como un complemento de los filtros solares para reducir el estrés oxidativo producido por la radiación UV. Hoy se sabe que estos compuestos naturales pueden mitigar varios de los efectos biológicos adversos de la radiación UV que generan fotoenvejecimiento celular y cáncer de piel (Fuentes, 2019, pp 550-562).

## 2.16. Métodos para determinar la actividad fotoprotectora

### 2.16.1. Método de Mansur

Consiste en un método espectrofotométrico en el cual la formulación se diluye en etanol hasta una concentración de 0,2 mg/mL, condición establecida por el autor para establecer una correlación con el método *in vivo* a través de la fórmula matemática desarrollada según el método, se relacionan los valores de absorbancia obtenidos de las muestras con el FPS de la formulación (Mansur et al., 1986, pp. 121-124).

$$FPS = FC \times \sum (290 - 320) \times EE (\lambda) \times I (\lambda) \times Abs (\lambda)$$

**Dónde:**

**FPS:** Factor de Protección Solar

**FC:** 10 (factor de corrección)

**EE ( $\lambda$ ):** Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda

**Abs ( $\lambda$ ):** Absorbancia de la solución en la longitud de onda.

**I ( $\lambda$ ):** Intensidad del sol en la longitud de onda

La relación entre el efecto eritemogénico y la intensidad de la radiación de cada longitud de onda ( $EE (\lambda) \times I (\lambda)$ ) es una constante y se muestra a continuación en la tabla 3-2.

**Tabla 3-2:** Los valores de  $EE \times I$

Longitud de onda (nm)	290	295	300	305	310	315	320	Total
EE ( $\lambda$ ) x I ( $\lambda$ )	0,0150	0,0817	0,2874	0,3278	0,1868	0,0839	0,0180	1,0

Fuente: Sayre et al., 1980

### 2.16.2. Método de Vogelmann

Mediante este método se determina el FPS *in vitro*, las lecturas se realizan tomando en cuenta el espectro de absorción UVB establecido en el Método Internacional para la determinación del FPS. Las muestras se preparan a una concentración de 0,01 mg/mL, se utiliza como patrón un protector solar comercial (FPS = 50) a una concentración de 0,01 mg/mL.



Las absorbancias de las soluciones se determinan en el rango de 260 a 360 nm, con intervalos de 5 nm utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm. Los análisis se realizan por triplicado y el FPS se calcula de acuerdo con la ecuación (Vogelman et al., 1985, pp. 5).

$$FPS \textit{ in vitro} = \frac{FPS \textit{ patrón} \times \sum A \textit{ muestra} (260 - 360 \textit{ nm})}{A \textit{ patrón} (260 - 360 \textit{ nm})}$$

**Dónde:**

FPS patrón = Protector solar con FPS conocido.

$\Sigma$  A muestra = Sumatoria de picos de absorbancia en el rango 260 – 360 nm.

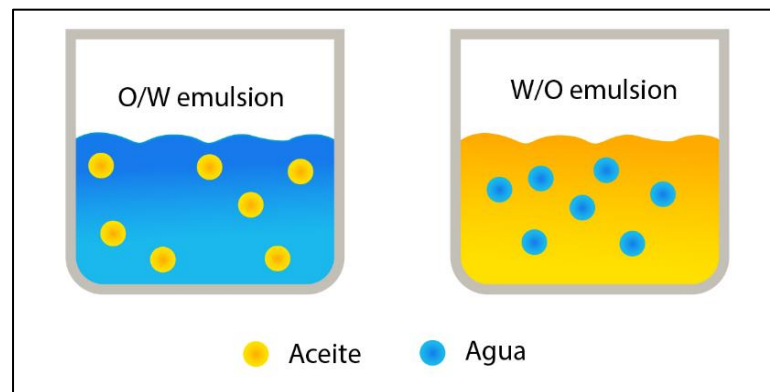
A patrón = Absorbancia del protector solar con FPS conocido

## 2.17. Emulsiones

Es un sistema disperso heterogéneo que consta de dos líquidos parcialmente miscibles, uno de los cuales están disperso en el seno del otro en forma de finas gotas o glóbulos y puede ser:

- W/O
- O/W

### 2.17.1. Tipo de emulsiones



**Ilustración 12-2:** Emulsion O/W y W/O

Fuente: Solano, 2022.

La mayor parte de las emulsiones constan de un líquido polar, como el agua; y otro apolar, como los aceites, hidrocarburos y la mayoría de disolventes orgánicos.

Hay dos tipos de emulsiones:

- Tipo aceite en agua (O / W): donde el aceite forma la fase dispersa (gotas) y el agua forma la fase continua;
- Tipo agua en aceite (W / O): donde el agua forma la fase dispersa (gotitas) y el aceite forma la fase continua (Rheonics, 2020).

### ***2.17.2. Control de calidad de emulsiones***

En los ensayos de emulsiones se analizan la homogeneidad, la consistencia, la extensibilidad, el tipo o signo, la determinación del pH y el peso de la fórmula terminada, descontando el envase de la formulación.

#### ***2.17.2.1. Homogeneidad***

- Uniformidad: Se realiza cuando la emulsión formulada contiene principios activos insolubles que han sido incorporados reducidos a polvo fino.
- Distribución y tamaño: Se pueden determinar los fenómenos de aglomeración y coalescencia mediante observación microscópica de una muestra de la emulsión.
- Cremado y sedimentación: Mediante observación visual en una probeta, se puede observar un fenómeno de cremado cuando existe un aspecto cremoso en la superficie cremado y un fenómeno de sedimentación cuando existe partículas en la base.

#### ***2.17.2.2. Consistencia***

Se lo realiza empleando un penetrómetro a temperatura ambiente mediante el método de Mahler.

#### ***2.17.2.3. Extensibilidad***

Es el incremento de superficie que experimenta una cierta cantidad de emulsión cuando se la somete a la acción de pesos crecientes, en intervalos fijos de tiempo.

#### ***2.17.2.4. Signo de la emulsión***

Se utiliza varios métodos: método de la gota (más empleado), método de los colorantes y método de la conductibilidad para determinar si la emulsión formulada es de tipo O/W o W/O.

#### 2.17.2.5. pH

En este ensayo se procede a determinar la cantidad de pH que tiene la emulsión (Fernández 2003 pp. 70-75).

#### 2.17.3. Control microbiológico

El control microbiológico es fundamental para garantizar la calidad de los productos y la seguridad del consumidor. Tomando en cuenta que los productos cosméticos están formulados con una serie de ingredientes, puede darse una proliferación de microorganismos y se deben tomar las medidas adecuadas. Entre los ensayos microbiológicos se analiza:

- Bacterias Aerobias: necesario para calificar la higiene de los procesos.
- Coliformes Totales: para verificar buenas prácticas de manufactura.
- Hongos y Levaduras: como monitoreo de la calidad del aire y medio ambiente de las instalaciones.
- Análisis de Patógenos: para asegurar que la inocuidad del producto mediante la detección de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (SAE, 2018).

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Enfoque y diseño de investigación

El trabajo tuvo un enfoque cuantitativo con diseño experimental de tipo prospectivo y según el número de mediciones fue transversal y correlacional en la determinación de la actividad fotoprotectora de los componentes del extracto etanólico de *Lonicera japonica* en la elaboración de un protector solar.

##### 3.1.1. Enfoque cuantitativo

La investigación tuvo un enfoque cuantitativo por la determinación a través de distintos métodos y técnicas la medición de variables del extracto etanólico tales como: densidad relativa, índice de refracción, pH y los compuestos polifenólicos presentes. Mientras que, en la formulación se cuantificó variables como: extensibilidad, pH y la actividad fotoprotectora.

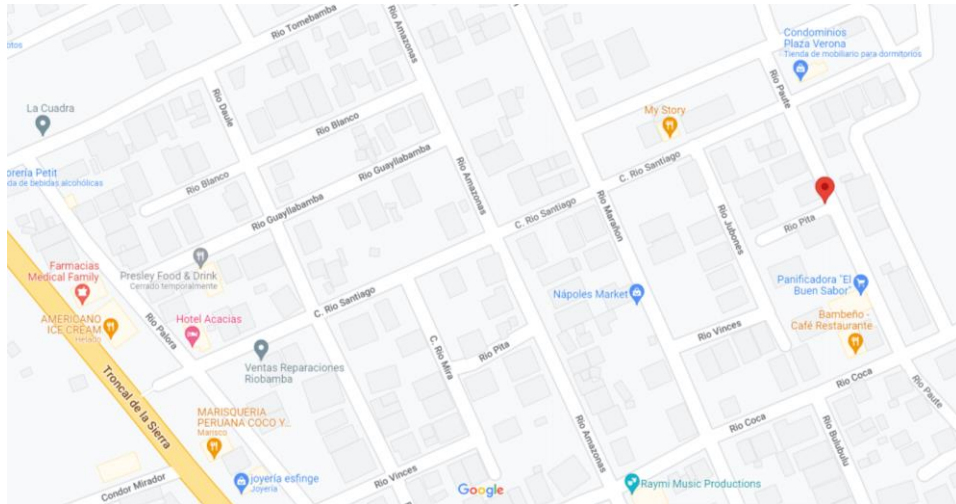
##### 3.1.2. Diseño experimental

Respecto a la cronología de las observaciones el diseño fue de tipo prospectivo al tratarse de un trabajo experimental puro. En función al número de mediciones es de tipo transversal descriptivo porque se realizó mediciones de distintos parámetros en cada fase del protocolo de investigación. Además, es transversal correlacional ya que se le atribuye la actividad fotoprotectora de *Lonicera japonica* a la alta concentración de compuestos fenólicos como flavonoides presentes en el extracto de la droga vegetal.

#### 3.2. Parte experimental

##### 3.2.1. Población de estudio y/o tamaño de muestra y/o método de muestreo

La población de estudio son las partes aéreas (hojas) de *Lonicera japonica*. La recolección del material vegetal se realizó en la provincia de Chimborazo, cantón Riobamba en las siguientes coordenadas 1°38'13.5"S 78°40'33.0"W sector Las Acacias, mediante un muestreo aleatorio simple para obtener aproximadamente 2 kg de la especie vegetal *Lonicera japonica*.



**Ilustración 1-3:** Ubicación de recolección de material vegetal

Fuente: Google Maps, 2022

Al ser una planta ornamental, no se requiere el permiso del Ministerio del Ambiente. Para la recolección del material vegetal se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

### 3.2.2. *Criterios de inclusión*

Especies vegetales que presenten buen estado, con todas sus partes integra y frescas.

### 3.2.3. *Criterios de exclusión*

Plantas que presenten daños por acción de animales o insectos.

Plantas que presenten deterioro por factores físicos (agua o viento).

Plantas en mal estado o secas.

Plantas que se encuentren en proceso de descomposición o con contaminación microbiológica.

### 3.2.4. *Hipótesis*

Los metabolitos secundarios de *Lonicera japonica* presentan actividad fotoprotectora.

### 3.2.5. *Identificación de variables*

- **Variable dependiente:**

Actividad fotoprotectora

- **Variable independiente:**

Extracto etanólico

### 3.3. Lugar de investigación

La investigación se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales, Investigación, Microbiología y Tecnología Farmacéutica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia.

### 3.4. Material vegetal

Se trabajó con el extracto etanólico de las hojas de *Lonicera japonica*

### 3.5. Materiales, equipos y reactivos

#### 3.5.1. Materiales

**Tabla 1-3:** Materiales utilizados para el ensayo fotoprotector

- Frascos ámbar	- Malla
- Papel aluminio	- Balones de aforo de 10 mL, 50 mL y 100 mL
- Papel filtro	- Pipetas automáticas de 100µL y 1000µL
- Espátula	- Puntas de pipeta azules y amarillas
- Vidrio reloj	- Embudo de vidrio
- Tubos de ensayo	- Varilla de agitación
- Gradilla	- Algodón
- Pipetas de 1mL, 5mL, y 10 mL	- Toallas desechables
- Pera de succión	- Piseta
- Embudo Büchner	- Placas cromatográficas
- Kitasato	- Cuba de vidrio
- Matraz Erlenmeyer 100 mL y 250 mL	- Capilares
- Vasos de precipitación de 250 mL, 500 mL	- Papel milimetrado
- Probetas de 25 mL, 50 mL y 100 mL	- Portaobjetos
- Picnómetro	- Envases estériles
- Crisoles de porcelana	- Tiras de pH
- Pinzas para crisol	- Cajas petri
- Cápsulas de porcelana	- Petrifilm
- Pistilo	- Asa
- Mechero	- Hisopos estériles

Realizado por: López, Danny, 2023.

### 3.5.2. Equipos

**Tabla 2-3:** Equipos utilizados para el ensayo fotoprotector

PROCESO	EQUIPOS
Molienda de la especie vegetal	- Molino (Marca Retsch)
	- Balanza analítica (Marca Ohaus)
Obtención del extracto etanólico y acuoso	- Sonicador (Marca Branson 3510)
	- Bomba al vacío (Marca Rocker 420)
	- Rotavapor (Marca Biobase RE 100-Pro)
Tamizaje Fitoquímico	- Balanza analítica (Marca Ohaus)
	- Estufa (Marca redLINE)
Cromatografía	- Espectrofotómetro (Thermo)
Control de Calidad	- Balanza analítica (Marca Ohaus)
	- Estufa (Marca redLINE)
	- Termobalanza (Marca RADWAG PMC 50)
	- Mufla (Marca Optic Ivymen)
	- Desecador
	- Autoclave
	- Cámara de flujo laminar
	- pH-metro (Marca Accumet XL150)
	- Refractómetro (Marca RA-620)
	- Viscosímetro
Ensayo fotoprotector y elaboración del protector solar	- Balanza analítica (Marca Ohaus)
	- Baño María
	- Espectrofotómetro (Thermo)

Realizado por: López, Danny, 2023.

### 3.5.3. Reactivos

**Tabla 3-3:** Reactivos usados para el desarrollo de los ensayos

PROCESO	REACTIVOS
Obtención del extracto etanólico y acuoso	• Etanol 96%
	• Agua destilada
Tamizaje Fitoquímico	• Etanol
	• Magnesio metálico
	• Ácido clorhídrico
	• Hidróxido de sodio
	• Ácido pícrico
	• Hidróxido de amonio
	• Ácido sulfúrico
	• Hidróxido de potasio

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cloroformo</li> <li>• Peróxido de hidrógeno</li> <li>• Tartrato de sodio y potasio</li> <li>• Carbonato de sodio</li> <li>• Alcohol N-Amílico</li> <li>• Reactivo de Mayer</li> <li>• Reactivo de Wagner</li> <li>• Reactivo de Dragendorff</li> <li>• Anhídrido acético</li> <li>• Gelatina</li> <li>• Cloruro férrico</li> </ul>
Cromatografía	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acetato de etilo</li> <li>• Ácido acético</li> <li>• Ácido fórmico</li> <li>• Agua</li> <li>• Natural Products 1%</li> <li>• PEG 4000</li> </ul>
Control de calidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ácido clorhídrico 10%</li> <li>• Ácido nítrico</li> <li>• Nitrato de plata 0,1 M</li> <li>• Azul de metileno</li> <li>• Agares</li> </ul>
Ensayo fotoprotector	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracto etanólico</li> </ul>
Elaboración del protector solar	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alcohol cetílico</li> <li>• Glicerina</li> <li>• Nipagin</li> <li>• Nipasol</li> <li>• Dehyquart</li> <li>• Oxido de zinc</li> <li>• Aceite de coco</li> <li>• Extracto etanólico</li> </ul>

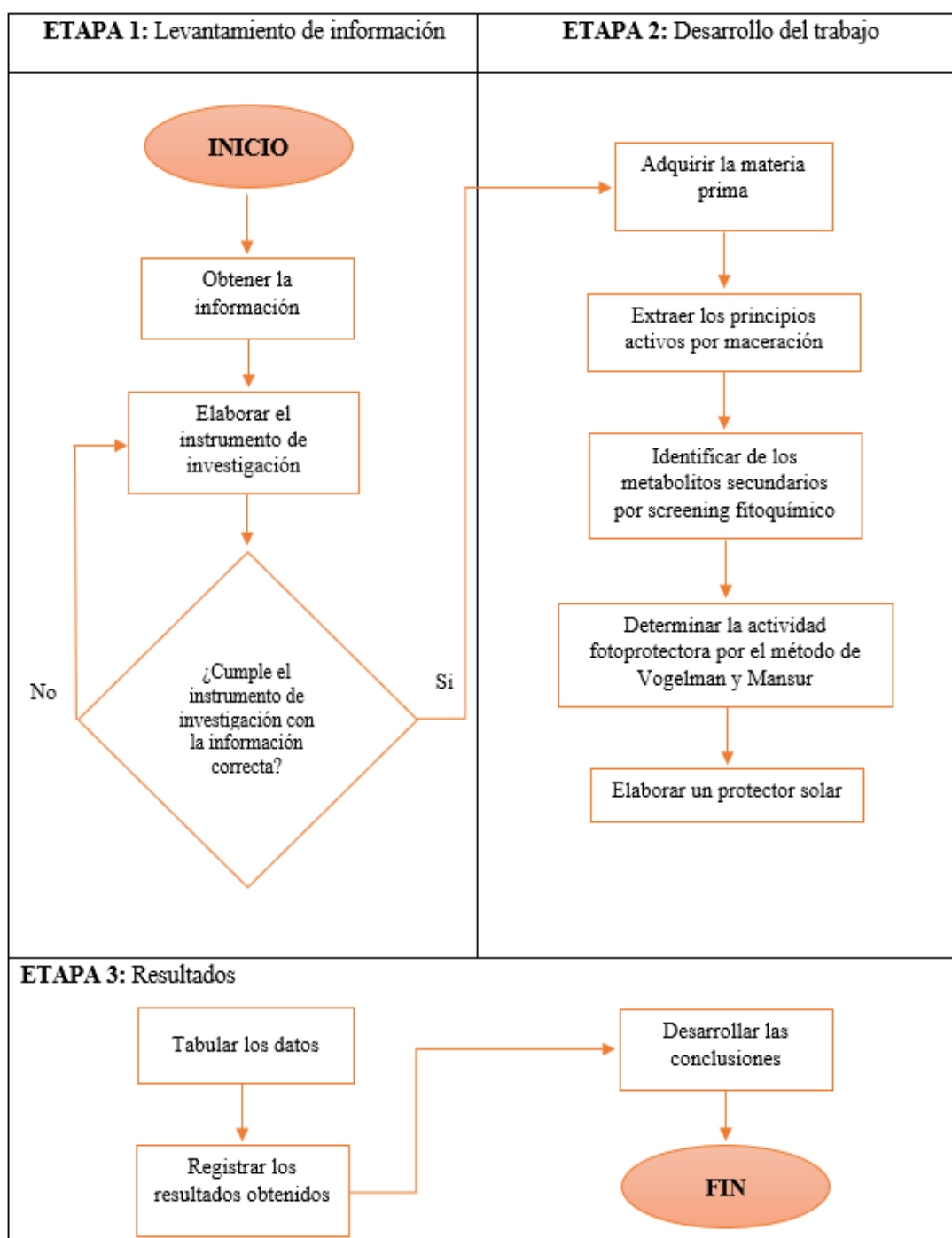
Realizado por: López, Danny, 2023.

### 3.6. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

A continuación se presentan los métodos de investigación:



**Tabla 4-3:** Protocolo de investigación



Realizado por: López, Danny, 2023.

### 3.7. Secado y molienda de la materia vegetal

#### 3.7.1. Secado

Las hojas recolectadas de *Lonicera japonica* fueron seleccionadas, lavadas y secadas a temperatura ambiente por un período de 15 días.

### **3.7.2. Molienda**

El proceso de molienda de la muestra vegetal se realizó mediante el uso de un molino industrial marca Retsch hasta obtener una muestra pulverizada uniforme.

## **3.8. Control de calidad**

### **3.8.1. Determinación del contenido de humedad**

Se pesó 5 g de muestra molida en un vidrio reloj y posteriormente se colocó en una termobalanza durante 10 minutos a 105 °C para determinar el porcentaje de humedad.

### **3.8.2. Determinación de cenizas totales**

Se pesó 2g de muestra vegetal pulverizada en un crisol de porcelana previamente tarado, se calentó la porción de ensayo en un reverbero aumentando la temperatura hasta carbonización, posterior se incineró en una mufla a 700 – 750 °C durante 2 horas, se dejó enfriar el crisol en un desecador y se pesó. Este procedimiento se repitió hasta obtener una masa constante (Romero 2018, p. 22).

$$\% C = [m_2 - m / m_1 - m] * 100$$

En donde:

**% C** = porcentaje de cenizas totales en base hidratada

**m** = masa del crisol vacío en g

**m<sub>1</sub>** = masa del crisol con la porción de ensayo en g

**m<sub>2</sub>** = masa del crisol con la ceniza en g

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

A las cenizas obtenidas de las cenizas totales, se le añadió 15 – 20 mL de agua destilada, se tapó el crisol y se calentó suavemente a la llama del mechero durante 5 min. Posteriormente, la solución se filtró y carbonizó en el mechero para proceder a incinerar en la mufla a una temperatura de 700 750 °C durante 2h. Se colocó en un desecador y cuando alcanzó la temperatura ambiente se pesó. Este procedimiento se repitió hasta obtener una masa constante (Romero 2018, p. 22).

$$\% \text{Ca} = [(m_2 - m_a) / (m_1 - m)] * 100$$

En donde:

**% Ca** = Porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

**m** = masa del crisol vacío en g

**m<sub>a</sub>** = masa del crisol con la ceniza insoluble en agua en g

**m<sub>1</sub>** = masa del crisol con la muestra de ensayo en g

**m<sub>2</sub>** = masa del crisol con la ceniza total en g

#### **3.8.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico**

A las cenizas totales obtenidas se añadió 2 mL de ácido clorhídrico al 10%, se cubrió el crisol con un vidrio reloj y se calentó a baño maría durante 10 minutos. Se lavó el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente para retirar los residuos depositados en las paredes y se unió al contenido del crisol. La solución se filtró a través de un papel filtro libre de cenizas, se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico, al cual se añadió 2 gotas de nitrato de plata 0,1 mol/L, no presente cloruros. El filtrado con el residuo se desecó a 100 – 105 °C y se trasladó al crisol inicial para ser incinerado en una mufla a 700 – 750 ° C durante 2 horas. Finalmente se colocó en un desecador hasta que se alcance la temperatura ambiente y se pesó. Este procedimiento se repitió hasta obtener una masa constante (Romero 2018, p. 24).

$$\% \text{B} = [(m_2 - m) / (m_1 - m)] * 100$$

En donde:

**B** = Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada

**m** = muestra utilizada en g

**m<sub>1</sub>** = masa del crisol con la muestra en g

**m<sub>2</sub>** = masa del crisol con la ceniza insoluble en ácido clorhídrico en g

### **3.9. Preparación del extracto vegetal**

#### **3.9.1. Extracto etanólico**

- Pesar 200 gramos de planta triturada
- Añadir 400 ml de etanol

### **3.9.2. *Extracto acuoso***

- Pesar 100 gramos de planta triturada
- Añadir 300 ml de etanol

### **3.10. *Maceración***

- Dejar en reposo el extracto etanólico y acuoso durante 5 días
- Llevar al sonicador durante 30 minutos para posteriormente filtrar los extractos

### **3.11. *Filtración***

#### **3.11.1. *Filtración del extracto etanólico***

- Conectar el embudo buchner a una bomba de vacío
- Colocar el extracto etanólico sobre un kitasato con papel filtro para realizar la filtración

#### **3.11.2. *Filtración del extracto acuoso***

- Conectar el embudo buchner a una bomba de vacío
- Colocar el extracto acuoso sobre un kitasato con papel filtro para realizar la filtración

### **3.12. *Extractos concentrados***

#### **3.12.1. *Extracto etanólico concentrado***

- Colocar el extracto etanólico en el Rotavapor a 55 °C
- Esperar hasta que se separe todo el etanol de la muestra filtrada

#### **3.12.2. *Extracto acuoso concentrado***

- Colocar el extracto acuoso en el Rotavapor a 70 °C
- Esperar hasta que se separe toda el agua destilada de la muestra filtrada

Finalmente, se coloca el extracto concentrado en sus respectivos envases estériles, se pesó el extracto obtenido y se calculó el rendimiento de la extracción mediante la siguiente ecuación:

$$R = M_2/M_1 \times 100$$

En donde:

**R** = % en gramos del extracto seco

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

**M<sub>1</sub>** = Masa del material vegetal seco molido sometido a extracción (g) (Quisnancela 2019, p. 27).

### **3.13. Determinación de los parámetros de calidad del extracto**

#### **3.13.1. Determinación de los requisitos organolépticos**

Se determinó el aspecto, color, olor y sabor del extracto.

- Determinación de olor: Se tomó una tira de papel y se introduce en el extracto, se percibe el olor para determinar si pertenece a las características propias del extracto obtenido (Romero 2018, p. 27).
- Determinación de **color**: En un tubo de ensayo completamente limpio y seco se colocó la muestra de ensayo hasta las  $\frac{3}{4}$  partes para observar el color y la transparencia (Romero 2018, p. 27).

#### **3.13.2. Determinación de densidad relativa**

Se pesó un picnómetro vacío y seco, posteriormente se enrasó el picnómetro con agua (fluido de referencia) y se anotó su masa. De igual manera se enrasó el picnómetro con el extracto (líquido cuya densidad queremos hallar) y se pesó cuidadosamente (Romero 2018, p. 27).

$$\% D_{25} = [m_1 - m / m_2 - m] * 100$$

En donde:

**D<sub>25</sub>** = Densidad relativa

**m** = masa del picnómetro vacío en g

**m<sub>1</sub>** = masa del picnómetro con la muestra en g

**m<sub>2</sub>** = masa del picnómetro con el agua en g

#### **3.13.3. Determinación del índice de refracción**

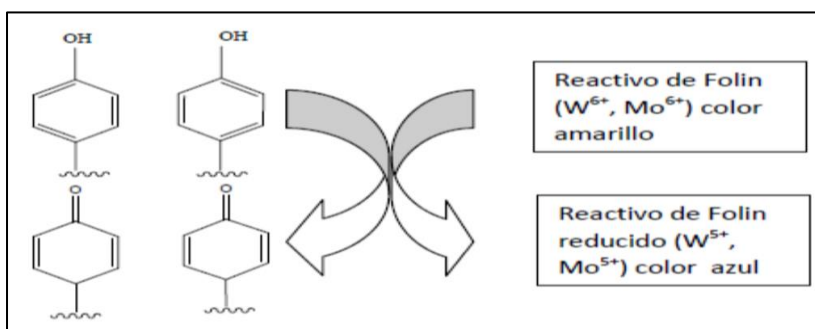
Se colocó una gota de la muestra de análisis sobre el prisma de medición de un refractómetro digital y se esperó durante 5-10 segundos hasta que nos proporcione el resultado.

### 3.13.4. Determinación del pH

Se ajustó el pH-metro con las soluciones buffer reguladoras y se procedió a medir el pH.

### 3.14. Cuantificación de fenoles totales

Para la cuantificación de fenoles totales en productos vegetales se utilizó la técnica basada en el ensayo de Folin-Ciocalteu. Este método se basa en que los compuestos fenólicos presentes en la muestra reaccionan con el reactivo de Folin- Ciocalteu de color amarillo, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm y que se cuantifica en base a una recta patrón de ácido gálico. El reactivo de Folin- Ciocalteu contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico. El mecanismo de reacción es una reacción redox, por lo que también puede considerarse como un método de medida de la actividad antioxidante total (García et al., 2018)



**Ilustración 2-3:** Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.

Fuente: García et al., 2018.

### 3.15. Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales utilizando cloruro de aluminio se basó en la detección de complejos de color formados entre Al<sub>3</sub> y los grupos hidroxilo de los flavonoides en un medio alcalino. Es un método calorimétrico en el cual los metabolitos secundarios del extracto reaccionan con el cloruro de aluminio, presentando un máximo de absorción a 415 nm y son cuantificados por espectrofotometría en base a una recta patrón utilizando como estándar quercetina (Cruz 2018, p. 44).

### 3.16. Screening fitoquímico

La detección de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Lonicera japonica* se realizó mediante reacciones de coloración y/o precipitación.

**Tabla 4-3:** Screening Fitoquímico

<b>Metabolito Secundario</b>	<b>Reactivo</b>	<b>Ensayo</b>	<b>Reacciones</b>
Flavonoides	Shinoda	Agregar un trozo de cinta de magnesio y gotas de HCl cc., dejar por 5 minutos y adicionar 1 mL de alcohol amílico	El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos
Flavonoides	Hidróxido de sodio al 10%	Adicionar 0,5 mL de hidróxido de sodio	Si se forma una coloración de amarillo a rojo, indica la presencia de xantonas y flavonas; de café a naranja de flavonoles; de púrpura a rojizo de chalconas y azul de antocianinas
Cumarinas	Hidróxido de amonio	Adicionar dos gotas de hidróxido de amonio concentrado.	Se considera positiva la prueba si se presenta una fluorescencia azul-violeta bajo la luz ultravioleta.
Quinonas	Ácido sulfúrico	Agregar 1 gota de ácido sulfúrico concentrado a otra porción del extracto	La formación de una coloración roja indica la presencia de quinonas.
Antraquinonas	Hidróxido de amonio	Adicionar una gota de hidróxido de amonio concentrado al extracto.	Se considera positiva la prueba para antraquinonas al tener la presencia de una coloración roja que aparece en los dos primeros minutos.
Alcaloides	Dragendorff	Adicionar en el respectivo tubo el reactivo de Dragendorff	Aparición de turbidez o precipitado rojo-naranja
Alcaloides	Mayer	Adicionar en el respectivo tubo el reactivo de Mayer	Aparición de turbidez o precipitados color blanco
Alcaloides	Wagner	Adicionar en el respectivo tubo el reactivo de Wagner	Aparición de turbidez o precipitados color rojo pardo
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman Bouchard	Añadir 0,5 mL de anhídrido acético y adicionar 2 a 3 gotas de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> cc. por las paredes del tubo.	Positivo cuando aparecen coloraciones violeta, verde o azul.
Saponinas	Espuma	Colocar 1 mL de solución acuosa del extracto, agitar vigorosamente durante un minuto y tomar la	Positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

		altura de la espuma	
Saponinas	Rosenthaler	Adicionar dos gotas del reactivo Rosenthaler y estratificando con dos gotas de ácido sulfúrico concentrado	Si se forma coloración violeta, se considera positiva para sapogeninas triterpenoidales y una coloración verde para sapogeninas esteroideas.
Taninos/Compuestos fenólicos	Gelatina	Colocar 2 gotas de reactivo de gelatina	La formación de un precipitado blanco indica presencia de taninos
Taninos/Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Añadir una gota de cloruro férrico al 1%	Positivo si te torna de color verde intenso o azul
Azúcares Reductores	Fehling	Añadir 5 gotas del reactivo Fehling A y 5 gotas del reactivo Fehling B	La formación de un precipitado de color rojo indica una prueba positiva

Realizado por: López, Danny, 2023.

### 3.17. Cromatografía en capa fina

En una placa de CCF la fase estacionaria es una fina capa de material adsorbente, normalmente gel de sílice u óxido de aluminio, que recubre una superficie de placa inerte, normalmente vidrio, plástico o aluminio. Se depositó una pequeña cantidad de la muestra problema en disolución en un punto en la parte inferior de la placa y se introdujo en una cubeta cromatográfica, de forma que sólo la parte inferior de la placa queda sumergida en el disolvente orgánico (fase móvil) y asciende por la placa de CCF por capilaridad. Cuando el disolvente llega a la parte superior de la placa, ésta se retira de la cubeta y se seca. Los componentes separados aparecen como puntos en la placa y finalmente se evaluó el factor de retención (RF) de cada componente. El factor de retención se encuentra entre cero y uno.

#### Cálculo del Factor de retención:

$$Rf = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto (X)}}{\text{distancia recorrida por el eluyente (Y)}}$$

#### Visualización de las manchas

Si los compuestos son coloreados se pueden observar las manchas a simple vista. Si no es así, hay varios métodos para visualizar las manchas correspondientes a cada componente de la mezcla (Ruiz 2020, p. 3).



- Utilizar luz ultravioleta para observar la placa. Normalmente se adiciona un colorante fluorescente al adsorbente, de forma que la placa sea fluorescente en todas partes excepto donde haya una mancha correspondiente a un compuesto orgánico.
- Utilizar reveladores como Natural Products 1% y PEG 4000 para flavonoides

### **3.18. Métodos para determinar la actividad fotoprotectora**

#### ***3.18.1. Método de Mansur***

Para obtener las diluciones a una concentración de 0,2 mg/mL se pesó 10 mg del extracto y se colocó en un balón aforado de 50 ml, se agregó 30 mL de etanol, se agitó durante 5 minutos y se completó el volumen con etanol, se homogeneizó y se filtró (Solución A). Las absorbancias de las soluciones se determinaron en el rango de 290 a 320 nm, con intervalos de 5 nm utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm. Los análisis se realizaron por triplicado y el FPS se calculó de acuerdo con la ecuación desarrollada por Mansur (Mansur et al., 1986, pp. 121-124).

#### ***3.18.2. Método de Vogelmann***

Para obtener concentraciones finales de 0,01 mg/mL, se tomó una alícuota de 0,5 mL de la Solución A (preparada en el método de Mansur), se llevó a un balón aforado de 10 mL y se completó el volumen con etanol. Se utilizó como patrón un protector solar comercial a una concentración de 0,01 mg/mL. Las absorbancias de las soluciones se determinaron en el rango de 260 a 360 nm, con intervalos de 5 nm utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm. Los análisis se realizaron por triplicado y el FPS se calculó de acuerdo con la ecuación desarrollada por Vogelmann (Vogelmann et al., 1985, pp. 5).

### **3.19. Elaboración del protector solar**

#### ***3.19.1. Preparar la fase oleosa***

Se mezcló sucesivamente con una varilla de agitación 20 g de alcohol cetílico, 7 mL de glicerina, 0,18 g de nipagin, 0,02 g de nipasol, 3 mL de dehyquart y se calentó la mezcla obtenida a baño maría a 65 °C hasta que quede todo disuelto.

#### ***3.19.2. Preparar la fase acuosa***

En esta fase se calentó el agua hasta llegar a los 65 °C

### ***3.19.3. Unir fase acuosa con fase oleosa***

En este apartado las dos fases deben estar a la misma temperatura. Se añadió lentamente el agua a la mezcla oleosa sin dejar de remover con la varilla durante 3-4 minutos y se pudo observar como la mezcla se fue haciendo más homogénea.

### ***3.19.4. Incorporación del extracto etanólico de *Lonicera japonica* y envasado***

En un mortero se colocó y mezcló 1 g de glicerina, 1 g de óxido de zinc y 1 g de extracto puro. Finalmente, se fue incorporando la crema base obtenida previamente hasta obtener una mezcla homogénea para posteriormente proceder a envasar en condiciones de esterilidad.

## **3.20. Control de calidad del protector solar**

### ***3.20.1. Descripción organoléptica***

Se basa en el empleo de los sentidos (vista, olfato, tacto). Se verificó las características básicas del protector solar y se evaluó su calidad en función a las variaciones en el aspecto, olor y color.

### ***3.20.2. Control fisicoquímico***

#### ***3.20.2.1. Determinación de pH***

Se introdujo una tira de pH en el envase de la formulación y el cambio de color del papel se produce de forma instantánea. Finalmente, en el tubo de interpretación se comprobó a qué pH corresponde el color obtenido.

#### ***3.20.2.2. Determinación de viscosidad***

Se colocó aproximadamente 500 gramos de muestra en un vaso de precipitación de 750 mL de capacidad y con el uso de un viscosímetro rotacional se procedió a registrar la velocidad de giro, el husillo utilizado, temperatura y viscosidad.

#### ***3.20.2.3. Signo de la emulsión***

En un vidrio de reloj se pesó 1 gramo de muestra y se colocó una gota de azul de metileno (colorante hidrosoluble).

Si la emulsión es de tipo O/W el colorante se dispersa; pero si la emulsión es de tipo W/O el colorante no se extiende, se repele.

### **3.20.3. Control microbiológico**

En el control microbiológico del producto final se realizó pruebas críticas que estudian la presencia de microorganismos como bacterias Mesófilas aerobias, hongos y levaduras, además que confirme la ausencia de microorganismos patógenos. Según la NTE INEN 2867 2015-03, los microorganismos a evaluar son:

- *Aerobios mesófilos*
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Mohos y levaduras*

Para el análisis se tomó 1 gramo del protector solar y se disolvió en 9 mL de agua de peptona, seguido se sembró 1000 µL de la muestra en cajas Petri con los medios de cultivo respectivos para: *Aerobios mesófilos* (Agar PCA), *Escherichia coli* (Agar EMB), *Staphylococcus aureus* (Agar Manitol), *Pseudomonas aeruginosa* (Agar EMB) y se incubó a 35 - 37 °C de 24 a 48 horas.

Finalmente, para *Mohos y levaduras* se utilizó Agar Sabouraud y se incubó de 35 - 37 °C por 3 – 5 días. Una vez cumplido el tiempo de incubación se realizó el conteo de las colonias y se reportó como UFC/g o mL de muestra.

## CAPÍTULO IV

### 4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Control de calidad de las hojas de *Lonicera japonica*

**Tabla 1-4:** Resultados de parámetros de calidad de las hojas de *Lonicera japonica*

Parámetro	Resultado	USP #35
Humedad	10,005%	Hasta 14%
Cenizas totales	5,58%	Hasta 12%
Cenizas solubles en agua	1,29%	Hasta 7%
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	3,84%	Hasta 5%

Realizado por: López, Danny, 2023.

En la tabla 1-4 se puede observar que el contenido de humedad de las hojas de *Lonicera japonica* fue de 10,005%, el cual se encuentra en los límites permitidos según la USP#35.

La cantidad de ceniza es un indicativo de calidad de la muestra vegetal y constituye una base para evaluar su pureza, brinda información acerca de la posible adulteración o presencia de material inorgánico o cuerpos extraños y su contenido en sales inorgánicas. Las cenizas totales se componen generalmente de fosfatos, carbonatos, sulfatos, sílice y silicatos (Hernández, 2018).

Las cenizas insolubles en ácido principalmente se componen de sílice, un elevado porcentaje indica contaminación con productos térreos, el valor de estas cenizas puede alertar sobre la presencia de metales pesados en la composición de la planta.

El porcentaje de cenizas totales de las hojas de *Lonicera japonica* fue de 5,58%, cenizas solubles en agua 1,29% y cenizas insolubles en ácido clorhídrico 3,84%. Resultados que permiten considerarlos dentro del rango establecido en la USP#35 (Gutiérrez 2021, p. 1).

#### 4.2. Rendimiento de la extracción

Se obtuvo 52,65 g de extracto seco a partir de 200 g de hojas secas y molidas de *Lonicera japonica*, consiguiendo un rendimiento de 26,33% mediante maceración en etanol al 96% y una posterior extracción en el rotavapor.

### 4.3. Control de calidad del extracto

**Tabla 2-4:** Resultados de calidad del extracto etanólico

PARÁMETRO		RESULTADO
		Extracto etanólico
Parámetros organolépticos	Aspecto	Opalescente
	Color	Verde oscuro
	Olor	Alcohólico aromático
	Sabor	Amargo
Densidad relativa		0,827 g/cm <sup>3</sup>
Índice de Refracción		1,37079
pH		6,10

Realizado por: López, Danny, 2023.

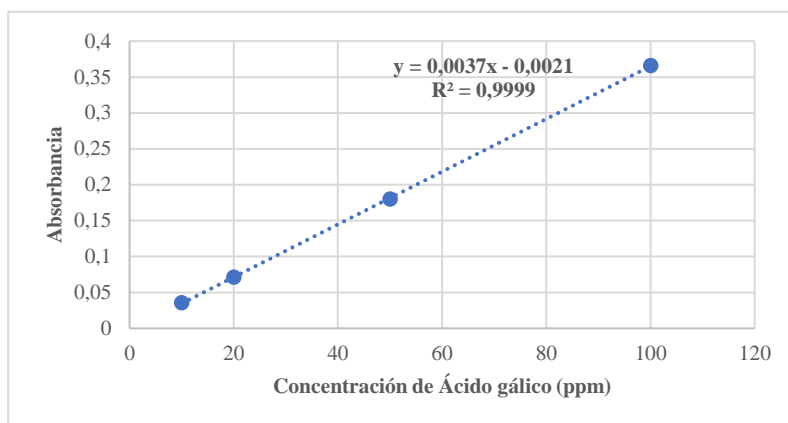
La tabla 2-4, presenta los parámetros organolépticos del extracto etanólico de las hojas de *Lonicera japónica*. La densidad relativa fue 0,827 g/cm<sup>3</sup> tomando en cuenta que en este análisis se utilizó una dilución del extracto puro de *Lonicera japonica* al 20% en alcohol etílico 96%. De acuerdo a un estudio sobre Química analítica, se determinó que, la densidad de este extracto es de 0,801 g/cm<sup>3</sup>, notándose claramente que es mayor la densidad relativa del extracto etanólico diluido respecto al etanol 96% probablemente por la presencia de metabolitos de interés (Dorwil 2020, p.1).

El índice de refracción del extracto etanólico al 20% fue 1,3707, comparando con un estándar de etanol al 96% con IR de 1,3610 se detectó un incremento de 0,0097, demostrando mediante esta diferencia la presencia de sustancias diluidas en el extracto etanólico de *Lonicera japonica* (Hernández et al. 2020, p. 11).

El valor de pH fue de 6,10, lo que revela que el extracto tiende a ser ligeramente ácido. El carácter ácido podría deberse a los compuestos que tienden a ser extraídos como flavonoides, fenoles y taninos, ácido benzoico, oleico, esteárico, lignocérico, entre otros (Ochoa et al. 2018, p. 57).

### 4.4. Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles se realizó por espectrofotometría mediante el método de Folin – Ciocalteu, a partir de la curva de calibración de ácido gálico se obtuvo la siguiente ecuación de la recta  $A = 0,0037C - 0,0021$  ( $R^2 = 0,9999$ ) indicada en la ilustración 1-4.



**Ilustración 1-4:** Curva de calibración de Ácido gálico

Realizado por: López, Danny, 2023.

Para calcular la concentración de fenoles totales en el extracto se interpoló la absorbancia de la muestra, el resultado fue expresado en mg/L EAG y se observa en la tabla 3-4.

**Tabla 3-4:** Cuantificación de fenoles totales

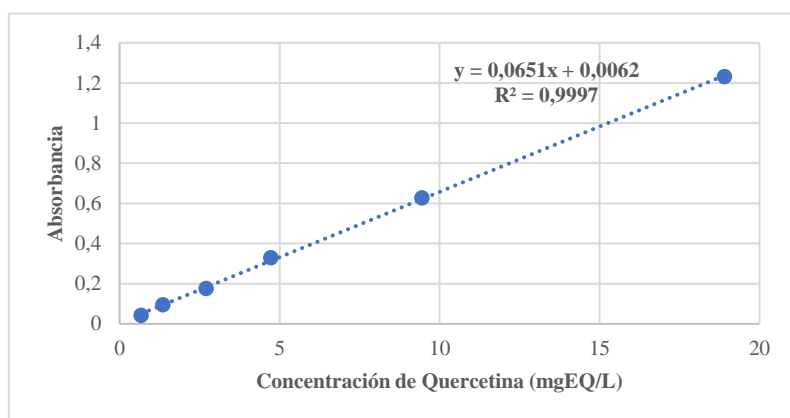
Fenoles Totales	
Muestra	Resultado (mg/L EAG)
Extracto etanólico de <i>Lonicera japonica</i>	9124

Realizado por: López, Danny, 2023.

El valor obtenido de fenoles totales fue de 9124 mg/L EAG, cuyo valor es significativamente alto. En general una planta con mayor contenido de compuestos fenólicos totales presenta una mayor actividad antioxidante y la protege contra los daños provocados por la radiación UV.

#### 4.5. Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales se realizó por espectrofotometría mediante el método de tricloruro de aluminio, a partir de la curva de calibración de quercetina, se obtuvo la siguiente ecuación de la recta  $A = 0,0651C + 0,0062$  ( $R^2 = 0,9997$ ) indicada en la ilustración 2-4.



**Ilustración 2-4:** Curva de calibración de Quercetina

Realizado por: López, Danny, 2023.

Para calcular la concentración de flavonoides totales en el extracto se interpoló la absorbancia de la muestra, el resultado fue expresado en mg/L EQ y se observa en la tabla 4-4.

**Tabla 4-4:** Cuantificación de flavonoides totales

Flavonoides Totales	
Muestra	Resultado (mg/L EQ)
Extracto etanólico de <i>Lonicera japonica</i>	5362






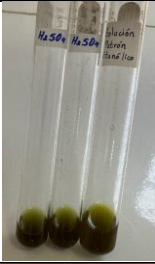
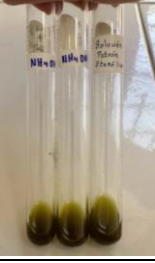
Realizado por: López, Danny, 2023.

El contenido de fenoles y flavonoides es un parámetro importante que establece su potencial biológico, en especial la actividad antioxidante. Estos compuestos tienen la capacidad de actuar interrumpiendo la reacción de oxidación de lípidos, inhibiendo las reacciones de quimioluminiscencia y capturando varias especies reactivas de oxígeno.

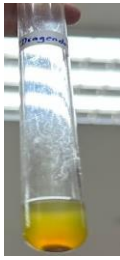









Las altas concentraciones de fenoles y flavonoides en el extracto etanólico de *Lonicera japonica* pueden deberse a que en la zona donde creció la planta es un área altamente expuesta a la radiación UV, lo que puede inducir o aumentar la biosíntesis de flavonoides. Además, el aumento de los compuestos fenólicos como resultado de la tensión térmica se ha asociado con el aumento en la actividad de fenilalanina amonio liasa, una enzima clave en el metabolismo de compuestos fenólicos tales como: ácidos fenólicos, feniletanoides o flavonoides, siendo los principales constituyentes de la actividad antioxidante en vegetales (Garrido et al. 2018, p. 30).



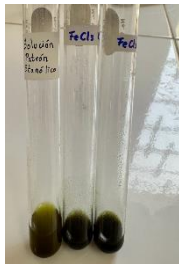
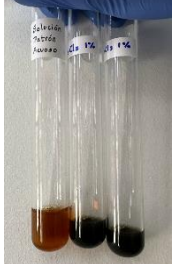


#### 4.6. Screening Fitoquímico

**Tabla 5-4:** Resultados del Screening Fitoquímico

Metabolito Secundario	Reactivo	Resultados			
		Extracto Etanólico	Ilustración	Extracto Acuoso	Ilustración
Flavonoides	Shinoda	(-)		(+++)	
Flavonoides	Hidróxido de sodio al 10%:	(+++)		N/A	N/A
Cumarinas	Hidróxido de amonio	(-)		(-)	
Quinonas	Ácido sulfúrico	(-)		N/A	N/A
Antraquinonas	Hidróxido de amonio	(-)		N/A	N/A



Alcaloides	Dragendorff	(++)		(++)	
Alcaloides	Mayer	(++)		(-)	
Alcaloides	Wagner	(++)		(-)	
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman Bouchard	(++)		N/A	N/A
Saponinas	Espuma	(-)		(+)	
Saponinas	Rosenthaler	N/A	N/A	(+)	

Taninos/Compuestos fenólicos	Gelatina	(++)		(-)	
Taninos/Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	(++)		(++)	
Azúcares Reductores	Fehling	(++)		(++)	

**Nota:** (N/A) No aplica, (-) Ausencia, (+) Escaso, (++) Mediamente abundante, (+++) Abundante

**Realizado por:** López, Danny, 2023.

En la tabla 5-4 se expresan los resultados del screening fitoquímico del extracto etanólico y acuoso de *Lonicera japonica*, se muestra la alta variabilidad de compuestos presentes destacándose entre estos: flavonoides (+++), alcaloides (++), triterpenos (++), esteroides (++), saponinas (+), taninos (++), compuestos fenólicos (++) y azúcares reductores (++) . Por lo tanto, los flavonoides son los principios activos a los cuales se le atribuyen la propiedad antioxidante que ha sido probada en diferentes estudios para evaluar la actividad fotoprotectora.

Según el artículo denominado “Aportes quimiotaxonómicos al estatus actual de la familia Caprifoliaceae” menciona que desde el punto de vista fitoquímico el género *Lonicera* es uno de los más estudiados dentro de las caprifoliáceas, aunque la mayor parte de los estudios están centrados principalmente en la especie *Lonicera japonica*, de la cual ha sido reportada la presencia de iridoides glicosilados, saponinas triterpénicas, flavonoides, antocianinas y compuestos fenólicos (Rojas y Amaro 2018, p. 37).

#### 4.7. Cromatografía en capa fina

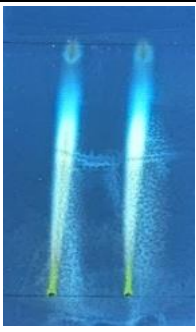
Se realizó cromatografía en capa fina para identificar flavonoides en el extracto etanólico de *Lonicera japonica*, los resultados obtenidos se observan en la tabla 7-4

**Tabla 6-4:** Placa cromatográfica del extracto etanólico de *Lonicera japonica*

Placa de sílica gel	Solvente corrido	Muestra	Revelador
7 cm x 2 cm	Acetato de etilo, Ácido acético, Ácido fórmico y Agua	Extracto etanólico de <i>Lonicera</i> <i>japonica</i>	Natural Products 1% y PEG 4000

Realizado por: López, Danny, 2023.

**Tabla 7-4:** Determinación de Rf para la identificación de flavonoides

				
Bandas observadas	Recorrido del disolvente	Recorrido de la muestra	Rf	Color
1	4,50 cm	0,45 cm	0,10	Amarillo verdoso
2	4,50 cm	3,60 cm	0,80	Azul
3	4,50 cm	4,20 cm	0,93	Blanco

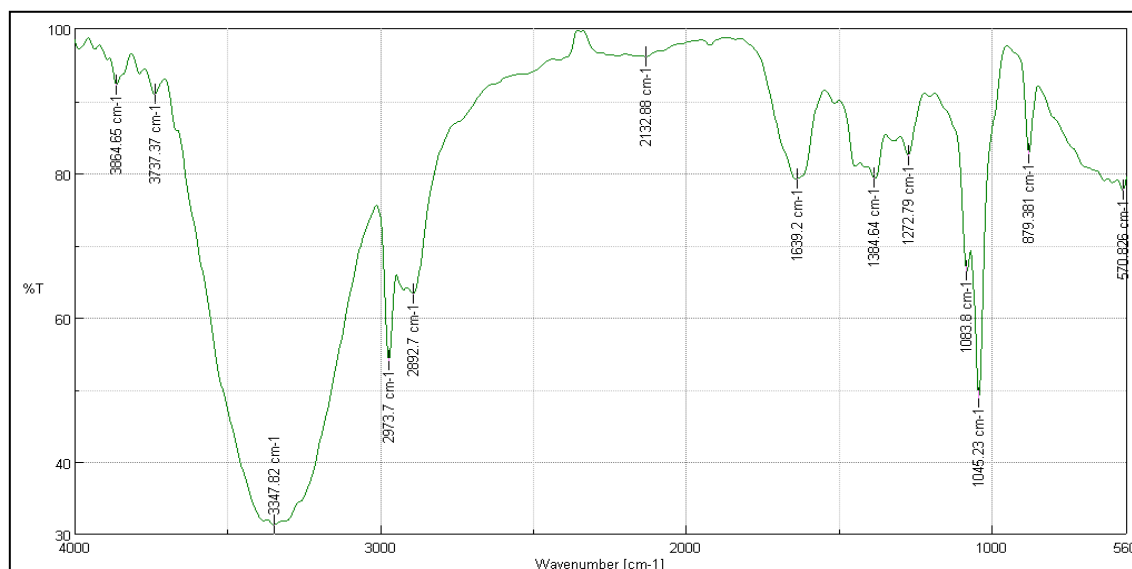
Realizado por: López, Danny, 2023.

Cuanto más fuerte se une un compuesto a la fase estacionaria, más lento migra hacia la parte superior de la placa cromatográfica. Los adsorbentes de la CCF son normalmente polares, los compuestos polares tienden a moverse más despacio y tienen menores valores de Rf, mientras que los compuestos no polares tienden a subir más rápido por la placa, produciendo mayores valores de Rf (Lorca, 2022).

En la tabla 7-4 se observan tres bandas correctamente identificadas en la placa cromatográfica, las cuales por comparación bibliográfica según “Plant drug análisis: a thin layer chromatography atlas” la banda N° 1 de color amarillo verdoso seguramente corresponde a un flavonol, la banda N° 2 de color azul intenso un ácido clorogénico y por último en la banda N° 3 de color blanco el ácido cafeico (Wagner y Sabine 1996, pp. 210-211).

Se confirma que la planta contiene constituyentes fenólicos como ácido cafeico, ácido clorogénico y flavonoides. En base a estos constituyentes se ha logrado evaluar la actividad fotoprotectora (Lesielle, 2019).

#### 4.8. Espectroscopía infrarroja



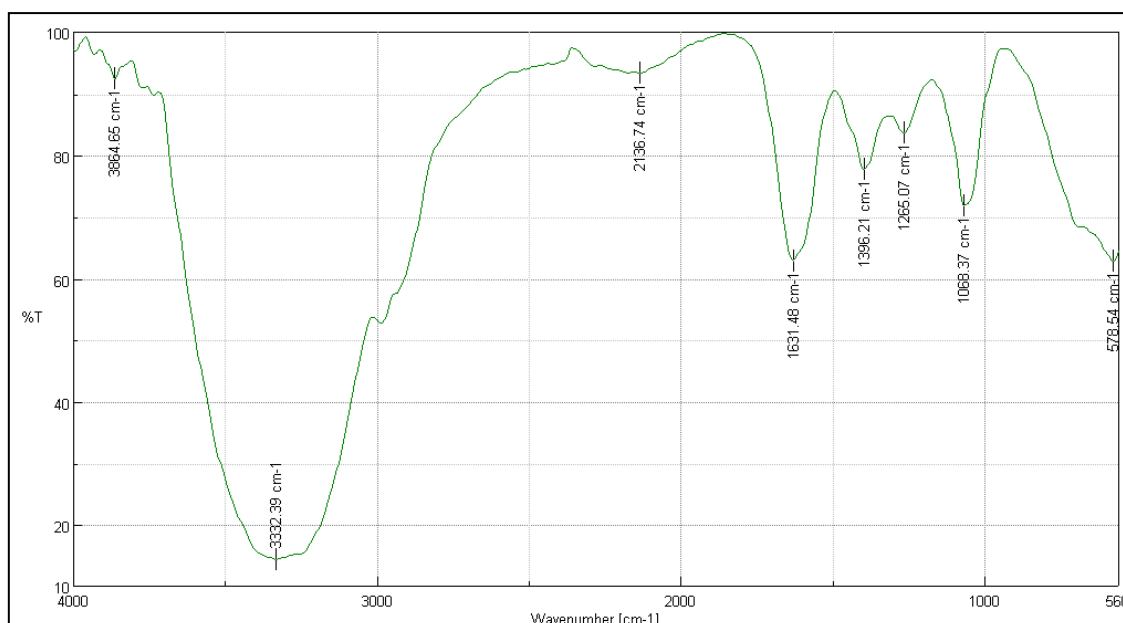
**Ilustración 3-4:** Espectro IR del extracto etanólico de *Lonicera japonica*

Realizado por: López, Danny, 2023.

**Tabla 8-4:** Grupos funcionales presentes en el extracto etanólico de *Lonicera japonica*

Wavenumber [cm <sup>-1</sup> ]	%T	Interpretación
3864.65	92.2078	NH <sub>2</sub>
3737.37	90.9226	-OH en alcoholes y fenoles
3347.82	31.3032	O-H en alcoholes con puentes de hidrógeno, fenoles
2973.7	53.9853	-CH <sub>3</sub> y -CH <sub>2</sub> - en compuestos alifáticos
2892.7	63.2855	-CH <sub>3</sub> y -CH <sub>2</sub> - en compuestos alifáticos
2132.88	96.1343	-C ≡ C
1639.2	79.1927	C = O en β-dicetonas C = O estiramiento forma de enol C = O en benzofenonas

Realizado por: López, Danny, 2023.



**Ilustración 4-4:** Espectro IR del extracto acuoso de *Lonicera japonica*

Realizado por: López, Danny, 2023.

**Tabla 9-4:** Grupos funcionales presentes en el extracto acuoso de *Lonicera japonica*

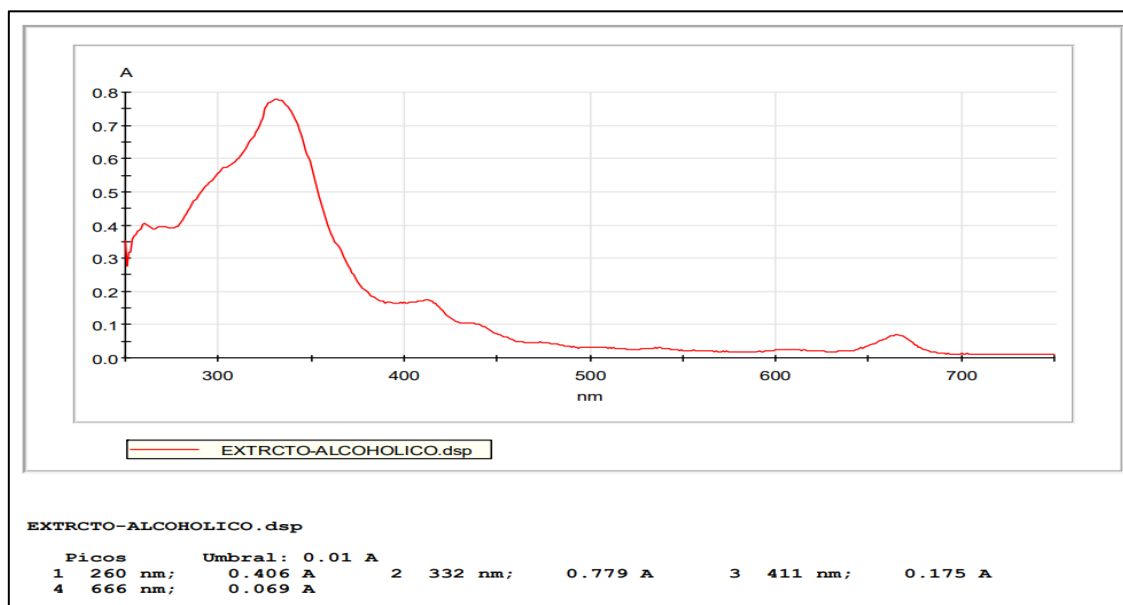
Wavenumber [cm <sup>-1</sup> ]	%T	Interpretación
3864.65	92.4473	NH <sub>2</sub>
3332.39	14.3404	OH en alcoholes y fenoles
2136.74	93.3442	-C ≡ C- en alquinos monoinsaturados
1631.48	62.9037	C = O

Realizado por: López, Danny, 2023.

Al analizar los espectros de la ilustración 4-4 y la ilustración 5-4 se puede diferenciar una menor cantidad de picos en el extracto acuoso y una menor complejidad del espectro por las características propias de solubilidad del solvente. Sin embargo, se evidencia que las bandas de los dos extractos poseen grupos funcionales similares, principalmente grupos OH de alcoholes y fenoles, se observa vibraciones de moléculas alifáticas (-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-) y además es evidente la presencia del grupo carbonilo (C=O) que pueden ser cetonas, características en los flavonoides.

Es importante mencionar que para esta técnica analítica en la interpretación de las señales cuando se establece más de un tipo de vibración es porque todos los grupos funcionales presentes a esa determinada señal pueden ser probables. Un estudio sobre “Análisis FTIR del exudado del árbol de algarrobo”, determinó que, los flavonoides muestran en sus espectros las absorciones características de los grupos químicos que los conforman, es decir, grupos OH (de fenoles y alcoholes), grupo C=O, anillos bencénicos y éter cíclico (Gallegos et al. 2020, p. 209).

#### 4.9. Espectroscopía UV-VIS



**Ilustración 5-4:** Espectro UV-VIS del extracto etanólico de *Lonicera japonica*

Realizado por: López, Danny, 2023.

Al interpretar la ilustración 5-4 del Espectro UV-VIS se puede observar 4 picos definidos. No obstante, la absorción de compuestos fenólicos ocurre a una longitud de onda de 332 nm, ya que es el pico que presenta una mayor absorbancia. Por lo tanto, cubre la zona UVA (320-400 nm) mientras que la zona UVB (280-320 nm) se encuentra desprotegida.

Según el artículo denominado “La radiación ultravioleta. Su efecto dañino y consecuencias para la salud humana” de la radiación UV que recibimos, la UVB comprende aproximadamente el 5% y la UVA el 95% restante. Sin embargo, la radiación UVB es responsable de la mayor parte de daños biológicos ocasionados por la luz solar, en consecuencia se optó añadir óxido de zinc a la formulación para que refuerce el efecto fotoprotector generando un mayor campo de protección (Gonzalez et al, 2018, p. 70).

#### 4.10. Determinación del factor de protección solar (FPS) *in vitro*

**Tabla 10-4:** Resultados del FPS del extracto etanólico por el método de Mansur

Longitud de onda	Abs M1	Abs M2	Abs M3	Abs X ± DE	EE * I	FC	FPS CALC
290	0,645	0,645	0,634	0,641 ± 0,006	0,015	10	0,0096
295	0,680	0,682	0,668	0,677 ± 0,008	0,0817	10	0,0553
300	0,701	0,703	0,690	0,698 ± 0,007	0,2874	10	0,2006

<b>305</b>	0,708	0,712	0,698	0,706 ± 0,007	0,3278	10	0,2314
<b>310</b>	0,724	0,728	0,714	0,722 ± 0,007	0,1868	10	0,1349
<b>315</b>	0,760	0,764	0,747	0,757 ± 0,009	0,0839	10	0,0635
<b>320</b>	0,816	0,821	0,803	0,813 ± 0,009	0,018	10	0,0146
<b>Sumatoria</b>							0,7100
<b>Factor de Protección Solar</b>							<b>7,1</b>
<p><b>(λ) nm:</b> Longitud de onda  <b>Abs.:</b> Absorbancia  <b>M1:</b> Muestra 1; <b>M2:</b> Muestra 2; <b>M3:</b> Muestra 3  <b>X ± DE:</b> Media ± Desviación Estándar  <b>EE*I:</b> Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda  <b>FPS CALC:</b> Factor de protección solar calculado</p>							

Realizado por: López, Danny, 2023.

**Tabla 11-4:** Resultados del FPS del protector comercial por el método de Mansur

Longitud de onda	Abs Pat 1	Abs Pat 2	Abs Pat 3	Abs X ± DE	EE * I	FC	FPS CALC
<b>290</b>	1,583	1,523	1,605	1,570 ± 0,042	0,015	10	0,0236
<b>295</b>	1,699	1,737	1,758	1,731 ± 0,030	0,0817	10	0,1414
<b>300</b>	1,784	1,833	1,841	1,819 ± 0,031	0,2874	10	0,5228
<b>305</b>	1,844	1,799	1,867	1,837 ± 0,035	0,3278	10	0,6022
<b>310</b>	1,892	1,743	1,883	1,839 ± 0,084	0,1868	10	0,3435
<b>315</b>	1,831	1,658	1,822	1,770 ± 0,097	0,0839	10	0,1485
<b>320</b>	1,656	1,530	1,696	1,627 ± 0,087	0,018	10	0,0293
<b>Sumatoria</b>							1,8112
<b>Factor de Protección Solar</b>							<b>18,11</b>
<p><b>(λ) nm:</b> Longitud de onda  <b>Abs.:</b> Absorbancia  <b>Pat 1:</b> Patrón 1; <b>Pat 2:</b> Patrón 2; <b>Pat 3:</b> Patrón 3  <b>X ± DE:</b> Media ± Desviación Estándar  <b>EE*I:</b> Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda  <b>FPS CALC:</b> Factor de protección solar calculado</p>							

Realizado por: López, Danny, 2023.

**Tabla 12-4:** Resultados del FPS del extracto etanólico por el método de Vogelmann

FPS patrón	∑ A muestra (260-360 nm)	A patrón (260-360 nm)	FPS CALC
18,11	0,632	1,355	<b>8,45</b>
<p><b>FPS patrón:</b> Factor de protección solar del patrón  <b>∑ A muestra:</b> Sumatoria de las absorbancias de la muestra  <b>A patrón:</b> Absorbancias del patrón  <b>FPS CALC:</b> Factor de protección solar calculado</p>			

Realizado por: López, Danny, 2023.

**Tabla 13-4:** Resultados del FPS del protector elaborado por el método de Mansur

Longitud de onda	Abs Pat 1	Abs Pat 2	Abs Pat 3	Abs X ± DE	EE * I	FC	FPS CALC
290	1,154	1,165	1,168	1,162 ± 0,007	0,015	10	0,0174
295	1,238	1,249	1,254	1,247 ± 0,008	0,0817	10	0,1019
300	1,307	1,318	1,322	1,316 ± 0,008	0,2874	10	0,3782
305	1,412	1,425	1,429	1,422 ± 0,009	0,3278	10	0,4661
310	1,449	1,461	1,467	1,459 ± 0,009	0,1868	10	0,2725
315	1,471	1,488	1,482	1,480 ± 0,009	0,0839	10	0,1242
320	1,342	1,354	1,356	1,351 ± 0,008	0,018	10	0,0243
<b>Sumatoria</b>							1,3847
<b>Factor de Protección Solar</b>							<b>13,85</b>
<p><b>(λ) nm:</b> Longitud de onda  <b>Abs.:</b> Absorbancia  <b>Pat 1:</b> Patrón 1; <b>Pat 2:</b> Patrón 2; <b>Pat 3:</b> Patrón 3  <b>X ± DE:</b> Media ± Desviación Estándar  <b>EE*I:</b> Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda  <b>FPS CALC:</b> Factor de protección solar calculado</p>							

Realizado por: López, Danny, 2023.

El factor de protección solar (FPS) del extracto etanólico de *Lonicera japonica* se evaluó mediante el análisis de absorbancias de las soluciones en el rango de 290 a 320 nm y como control un protector solar comercial “Natural Sun Block” con FPS 50. En los resultados expuestos en la tabla 8-4 y 9-4 se observa el FPS *in vitro* calculado mediante la ecuación de Mansur, tanto para el extracto etanólico como para el protector comercial. Mientras que, en la tabla 10-4 se obtuvo un FPS de 8,45 para el extracto aplicando la ecuación de Vogelmann. La diferencia existente se debe a que este método no es específico y hay una variación en las absorbancias al momento de realizar la lectura en el espectro UV.

El protector solar comercial “Natural Sun Block”, gracias a sus ingredientes exclusivos de origen natural, brinda a la piel una alta protección contra la radiación UVA y UVB.

El extracto etanólico de *Lonicera japonica* posee compuestos fenólicos, entre ellos se destacan los flavonoides, que son compuestos a los que se les atribuye la propiedad antioxidante. En este sentido, se comparó el FPS del extracto (7,1) con el protector comercial (18,11), resultando que este último en su presentación indica un FPS de 50. No obstante, ambos productos cumplen con lo señalado en el Reglamento Técnico Mercosur, ya que para su inclusión como fotoprotector deben presentar un FPS de 6 como mínimo (Romero 2018, p. 40).



Finalmente, al evaluar la actividad fotoprotectora del protector solar elaborado a base del extracto etanólico de *Lonicera japonica*, en la tabla 11-4 se observa que se obtuvo como resultado un FPS de 13,85, lo cual justifica que la formulación se puede utilizar como fotoprotector solar.

#### 4.11. Control de calidad del protector solar

##### 4.11.1. Descripción organoléptica

**Tabla 14-4:** Descripción organoléptica del protector solar

PARÁMETRO		RESULTADO
Parámetros organolépticos	Aspecto	Homogéneo
	Color	Verde claro
	Olor	Coco

Realizado por: López, Danny, 2023.

El protector solar presentó características organolépticas favorables, como un color verde claro, suave aroma a coco y un aspecto homogéneo libre de grumos.

##### 4.11.2. Control fisicoquímico

**Tabla 15-4:** Control fisicoquímico del protector solar

PARÁMETRO	RESULTADO
pH	6
Viscosidad	6675 cP
Signo de la emulsión	O/W
Extensibilidad	17671 mm <sup>2</sup>
Presencia de grumos	No

Realizado por: López, Danny, 2023.

En la tabla 13-4 se reporta el control fisicoquímico, se obtuvo como resultado un pH de 6, el cual se encuentra dentro del rango de 4 a 7, resultando idóneo para cosméticos tópicos de acuerdo con el pH de la piel que está entre 4,5 y 5,9.

La viscosidad en la formulación se midió con el spindle 4 a 50 RPM durante 1 minuto a una temperatura de 25,3° C; el resultado para el protector solar a base de extracto fue de 6670 cP.

La determinación del signo de la emulsión demostró que el protector es una emulsión aceite en agua, es decir, la fase interna es oleosa y la fase externa es acuosa. Las emulsiones O/W son las más usadas ya que aportan un efecto refrescante y se eliminan fácilmente de la piel.

La extensibilidad al aplicar un peso de 4,8 g se obtuvo como resultado un área de 17671 mm<sup>2</sup>, la cual indica que tiene una mayor facilidad de aplicación sobre la piel y una sensación agradable al tacto.

#### 4.11.3. Control microbiológico

**Tabla 16-4:** Descripción del control microbiológico del protector solar de *Lonicera japonica*

PARÁMETRO	RESULTADO	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD NTE INEN 2867
<i>E.coli/Coliformes</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o mL
<i>Aerobios mesófilos</i>	Ausencia	Límite máximo 5x10 <sup>2</sup> UFC*/g o mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o mL
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia	Ausencia en 1 g o mL
<i>Mohos y levaduras</i>	Ausencia	< 100 UFC/g o mL

Realizado por: López, Danny, 2023.

En la tabla 14-4 se puede observar que el control microbiológico del protector solar formulado cumple con los límites de aceptabilidad según la NTE INEN 2867 2015-03, presentando inocuidad, lo cual indica que la formulación fue desarrollada en condiciones sanitarias adecuadas. Además, es segura para su aplicación sobre la piel sin riesgo de infección por microorganismos patógenos (INEN 2867 2015, p. 3).

Según el artículo “Cosméticos microbiológicamente seguros” los microorganismos más habituales que pueden contaminar las materias primas y los productos cosméticos de base acuosa son bacterias gramnegativas, tanto si el origen es el entorno de fabricación como si lo es su utilización por el consumidor, ya que habitan principalmente en lugares con presencia de agua (AEMPS 2021, p. 12).

#### 4.12. Etiqueta del producto final

La etiqueta cumple con los requisitos establecidos en la norma NTE INEN 2867 2015-03. El protector solar fue elaborado con fines investigativos, por tal motivo no está incluido el número de notificación sanitaria, requisito obligatorio cuando se va a comercializar el producto.



**Ilustración 6-4:** Etiqueta del protector solar formulado

Realizado por: López, Danny, 2023.

## CONCLUSIONES

- Se evaluó la actividad fotoprotectora del extracto etanólico de *Lonicera japonica* para la elaboración de un protector solar. Al analizar en el espectro UV-VIS se verificó que a una longitud de onda de 332 nm presenta actividad fotoprotectora frente a la radiación UVA.
- Se identificó cualitativamente a través de pruebas químicas de coloración y/o precipitación la presencia de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Lonicera japonica*. Entre estos tenemos a los flavonoides que son los principales responsables de la actividad fotoprotectora, alcaloides, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, compuestos fenólicos y azúcares reductores.
- Se formuló un fotoprotector usando el extracto etanólico de *Lonicera japonica* al 1% y filtros sintéticos como óxido de zinc para ampliar la cobertura de protección a zonas de radiación UVA y UVB.
- Se determinó la calidad de la formulación del fotoprotector mediante ensayos fisicoquímicos y microbiológicos del extracto etanólico de *Lonicera japonica*. Al realizar el control de calidad organoléptico y fisicoquímico, se obtuvo que poseen características organolépticas aceptables y los parámetros fisicoquímicos se encuentran dentro de los rangos establecidos. El control microbiológico del protector solar demostró que cumple con los límites de aceptabilidad establecidos en la Norma NTE INEN 2867: 2015.
- Se determinó el Factor de Protección Solar (FPS) in vitro del extracto etanólico y de la formulación mediante la ecuación de Mansur, obteniendo un FPS de 7,1 para el extracto y un FPS de 13,85 para el protector solar formulado.

## **RECOMENDACIONES**

- Incentivar el desarrollo de formulaciones con extractos naturales que presenten actividad fotoprotectora.
- Tener un conocimiento teórico amplio sobre la composición química de la planta de estudio para desarrollar correctamente los procesos de extracción y analizar los resultados obtenidos.
- Desarrollar un estudio más profundo para identificar y aislar los metabolitos secundarios o compuestos fenólicos responsables de la actividad fotoprotectora y poder usarlos en nuevos productos como filtros solares naturales.
- Realizar análisis a mayores concentraciones del extracto para comprobar una mayor eficacia.
- Efectuar más estudios para determinar nuevas propiedades farmacológicas ya que tiene una gran variedad de metabolitos secundarios.
- Crear espacios propicios para el cultivo de esta especie vegetal, con el objetivo de tener disponibilidad de materia prima con características óptimas para futuras investigaciones.

## BIBLIOGRAFÍA

**AMAGUAÑA, F y CHURUCHUMBI, E.** *Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (Calendula officinalis)* [En línea] Universidad Politécnica Salesiana, Trabajo de titulación. Quito, Ecuador. 2018. p. 35. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf>

**ALMARAZ, N et al.** *El metabolismo secundario de las plantas, un nuevo concepto.* [en línea] 2015 Disponible en: <https://www.repositoriodigital.ipn.mx//METABOLISMOECUNDARIO-ALMARAZ.pdf>

**AMERICAN CANCER SOCIETY.** *Cáncer de piel.* [en línea], 2021. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel.html>

**ÁVALOS, A y PÉRES, E.** *Metabolismo secundario de plantas.* Reduca. [en línea] 2009, (España) 2(3), pp. 119-145. Disponible en: [https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo\\_secundario\\_de\\_plantas.pdf](https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf)

**BATLLE, C.** *Factor de protección solar*”. *ELSEVIER* [en línea]. 2005, vol. 24, no. 6, pp. 65-72. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articuloSe%20denomina%20factor%20de%20protecci%C3%B3n,enojercicio%20previo%20a%20la%20quemadura>

**CARRASCO, C y LARA, K.** *Análisis comparativo del grado de variación del contenido del Principio Activo (Apigenina 7-Glucósido) de la Manzanilla (Matricaria Chamomilla) Y Matico (Budeja Globosa) fresca y deshidratada.* [En línea] Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Agroindustrial. Trabajo de titulación. Riobamba, Ecuador. 2014. p. 23. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/421/1/UNACH-EC-IAGRO-2014-0001.pdf>

**CARTAYA, O. y REYNALDO, I.** *Flavonoides: características químicas y aplicaciones*”. *Cultivos Tropicales* [en línea]. 2001, vol. 22, no. 2, pp. 5-14. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>.

**DELGADO, F.** *Diseño de un filtro a escala piloto para la retención de sólidos suspendidos de agua residual proveniente de una empresa licorera empleando caucho de neumáticos usados.*

[En línea] Escuela Politécnica Nacional, Trabajo de titulación. Quito, Ecuador. 2016. p. 1. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/15163/1/CD-6943.pdf>

**DIMITRIU, L et al.** *Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from Honeysuckle (Lonicera caprifolium* [en línea], 2021. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/LuminitaDimitriu/publication/357649046\\_optimization\\_of\\_ultrasoundassisted\\_extraction\\_of\\_polyphenols\\_from\\_honeysuckle\\_lonicera\\_caprifolium/links/61d825c7e669ee0f5c8db78f/optimization-of-ultrasound-assisted-extraction-of-polyphenols-from-honeysuckle-Lonicera-caprifolium.pdf](https://www.researchgate.net/profile/LuminitaDimitriu/publication/357649046_optimization_of_ultrasoundassisted_extraction_of_polyphenols_from_honeysuckle_lonicera_caprifolium/links/61d825c7e669ee0f5c8db78f/optimization-of-ultrasound-assisted-extraction-of-polyphenols-from-honeysuckle-Lonicera-caprifolium.pdf)

**EPA.** *Información básica sobre la radiación* [En línea].2016. Disponible en: <https://espanol.epa.gov/espanol/informacion-basica-sobre-la-radiacion>

**FERNÁNDEZ, J.** *Los ingredientes de los protectores solares:*. [en línea]. 2019. [Consulta: 30 octubre 2022]. Disponible en: <https://baptisthealth.net/baptist-health-news/es/los-ingredientes-de-los-protectores-solares-n,%2C%20octocrylene%2C%20homosalato%20y%20octinoxato>

**FUENTES, J.** *Las plantas como fuente de compuestos fotoprotectores frente al daño en el ADN producido por la radiación ultravioleta.* Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. [en línea], 2019, (Colombia) 43(168), pp. 550-562. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/racefn/v43n168/0370-3908-racefn-43-168-550.pdf>

**GARCÍA BORES, Ana María.** *Evaluación de la actividad fotoprotectora y antioxidante.* Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, México. [en línea] 2010, pp. 3-4. Disponible en: [http://132.248.9.195/ptb2010/octubre/0662637/0662637\\_A1.pdf](http://132.248.9.195/ptb2010/octubre/0662637/0662637_A1.pdf)

**GILABERTE, Y et al.** *Fotoprotección.* NIH [en línea], 2003, (España), p. 271. Disponible en: [https://www.actasdermo.org/es-fotoproteccion20radiaci%C3%B3n%20ultravioleta%20\(UV\)](https://www.actasdermo.org/es-fotoproteccion20radiaci%C3%B3n%20ultravioleta%20(UV)).

**GUIDOLQUIM, C.** *Técnicas y Operaciones Avanzadas en el Laboratorio Químico (TALQ).* [en línea]. 2014. Disponible en: <https://www.ub.edu/talq/es/node/209#:~:text=Es%20la%20t%C3%A9cnica%20m%C3%A1s%20simple,y%20se%20produce%20la%20cristalizaci%C3%B3n>.

**IDEAM.** *Generalidades de la radiación ultravioleta. Química de la Atmósfera.* [en línea], 2018. [Consulta: 21 julio 2022]. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/generalidades-de-la-radiacion-ultravioleta>

**IDERMA.** *Factor De Protección Solar. Instituto de Dermatología Avanzada.* [en línea], 2019. Disponible en: <https://www.iderma.es/es/blog.cfm/ID/13114/ESP/el-significado-factor-proteccion-solar.htm>

**ILIES, D et al.** *Volatile Constituents from the flowers of two Species of Honeysuckle (Lonicera japonica and Lonicera caprifolium).* ResearchGate [en línea], 2014, pp.194-200. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/297282524\\_VOLATILE\\_CONSTITUENTS\\_FROM\\_THE\\_FLOWERS\\_OF\\_TWO\\_SPECIES\\_OF\\_HONEYSUCKLE\\_LONICERA\\_JAPONICA\\_AND\\_LONICERA\\_CAPRIFOLIUM/references](https://www.researchgate.net/publication/297282524_VOLATILE_CONSTITUENTS_FROM_THE_FLOWERS_OF_TWO_SPECIES_OF_HONEYSUCKLE_LONICERA_JAPONICA_AND_LONICERA_CAPRIFOLIUM/references)

**INSST.** *¿Qué es la Radiación Ultravioleta?.* Ministerio de Trabajo y Economía Social. [en línea], 2021. Disponible en: <https://www.insst.es/-/que-es-la-radiacion-ultraviolet-1>

**JORDANO, Pedro.** *Biología de la reproducción de tres especies del género Lonicera (Caprifoliaceae) en la Sierra de Cazorla* [en línea]. Sevilla , España:Estación Biológica de Doñana , 1990, pp. 34-38. Disponible en: [https://digital.csic.es/bitstream/10261/42692/1/Anales\\_48%281%29\\_031\\_052.pdf](https://digital.csic.es/bitstream/10261/42692/1/Anales_48%281%29_031_052.pdf)

**LESIELLE.** *Extracto de flor de madreSelva* [En línea] 2019. Disponible en: <https://www.lesielle.com/int/es/Lonicera-japonica0%C3%A1cido%20procatecuico%2C%20etc>.

**LÓPEZ, M.** *Saponósidos.* *ELSEVIER.* [en línea]. 2001, vol. 20, no. 6, pp. 124-129. [Consulta: 30 Octubre 2022]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-saponosidos-13015492>

**LUNA, J. et al.** *Cáncer y cambio climático: ¿existe alguna evidencia?.* *ELSEVIER* [en línea], 2017, (Perú) 21(1), p. 44. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-colombiana-cancerologia-361-articulo-cancer-cambio-climatico-existe%C3%A1ncer%20de%20piel>

**MADRESELVA JAPONESA** (*Lonicera japonica*). [En línea]. 2017 Disponible en: <https://www.biobserva.com/stopinvasoras/species/481#:~:text=Caracter%C3%ADsticas,del%20resto%20de%20la%20flor>.

**MANSUR, J, et al.** *Determinação Do Fator De Proteção Solar Por Espectrofotometria. An Bras Dermatol Rio De Janeiro*” Río de Janeiro, Brasil, 1986, pp. 121-124



**MÁRQUEZ, D. & SUÁREZ, A.** *El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. Revista de Medicina Veterinaria.* [en línea]. 2008, no. 6, p. 87. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4943803.pdf>

**MEDLINEPLUS.** *Efectos del sol en la piel.* [en línea], 2017. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/anatomyvideos/000125.htm>

**MIRABAL, J.** *Alcaloides. Medicina Natural* [en línea]. 2021. Disponible en: <https://instituciones.sld.cu/medicinaturalssp/alcaloides/>

**MUÑOZ, F.** Identificación de grupos funcionales y taninos naturales [en línea], 2016, (Venezuela) p. 7. Disponible en: <http://webdelprofesor.ula.ve/ciencias/fidelmun/practica8aa.pdf>

**OLIOSO, B.** *Honeysuckle extract review for antimicrobial protection* [en línea] septiembre, 2017. Disponible en: <https://thegreenchemist.com/wp-content/uploads/2019/05/Honeysuckle.pdf>

**PEREIRA, S. et al.** *Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la Trichilia hirta L. Química Viva* [en línea]. 2009, 8(3), 192-199. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86320633005>

**PLANAS, Oriol.** *¿Qué es la radiación solar?* 2015. Disponible en: <https://solar-energia.net/que-es-energia-solar/radiacion-solar>

**PORTILLO, G.** *Madreselva del Japón (Lonicera japonica).* [en línea]. 2020. Disponible en: <https://solar-energia.net/que-es-energia-solar/radiacion-solar>

**ROMÁN, Q.** *Desarrollo de un método Espectrofotométrico para la detección de Alcaloides Pirrolizidínicos (PAs) en mieles y polen de plantas melíferas de la península de Yucatán* [En línea] (Trabajo de titulación). CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO.. 2014. p. 22. Disponible en: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/66/1/Daniel%20Armando%20San%20Rom%C3%A1n%20Avila.pdf>

**SKINCANCER.** *Protector Solar: Acerca del Protector Solar.* [en línea]. 2022. Disponible en: <https://cancerdepiel.org/prevencion/proteccion-solar/protector-solar-acerca-del-protector-solar>

**SOLANO, Arnold.** *Medición de pH en emulsiones asfálticas* [blog]. Hanna Instruments: 2022. Disponible en: <https://www.hannacolombia.com/blog/post/719/medicion-ph-en-emulsiones-asfalticas>

**SUAREZ, D. y MORALES, Y.** *Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas. Revista Semilleros: Formación Investigativa* [en línea]. 2018, vol. 4, no. 1, pp. 7-14. Disponible en: <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7731/1/6131978-2018-1-IQ.pdf>

**QUIZHPI, N.** *Evaluación in vitro de la actividad fotoprotectora de los extractos alcohólico y glicólico de la cáscara de papa (Solanum tuberosum L.) variedad superchola para su uso en la elaboración de un protector solar.* [en línea] Universidad Politécnica Salesiana, Facultad de Ciencias, Escuela de Biotecnología de los Recursos Naturales. Trabajo de titulación. Cuenca, Ecuador. 2019. pp. 13-15. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17968/1/UPS-CT008531.pdf>

**SALAZAR, F.** *Cordia inermis (Mill.)* [En línea] Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Escuela de Química y Farmacia. Trabajo de titulación. Managua, Nicaragua. 2011. pp. 16-17. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/53103585.pdf>

**SAYRE R et al.** *Sunscreen testing methods: in vitro predictions of effectiveness.* *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1980, pp. 133-43.

**SKINCANCER.** *Información Sobre el Cáncer de Piel.* [en línea], 2022. Disponible en: <https://cancerdepiel.org/cancer-de-piel>

**TACURI, M.** *Evaluación del potencial de los aceites esenciales de Albahaca (Ocimum basilicum), Caléndula (Calendula officinalis) y Manzanilla (Matricaria chamomilla) y sus mezclas como fotoprotectores.* [En línea]. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Bioquímica y Farmacia. 2019. pp. 8-12. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/32084/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf>

**TOM, J.** *Espectroscopía UV-Vis: principio, fortalezas y limitaciones y aplicaciones.* [en línea]. 2021. Disponible en: <https://www.news-courier.com/analysis/articles/uv-vis-spectroscopy-principle-strengths-and-limitations-and-applications-349865>

**VALENCIA, E., et al.** *Polyphenols: antioxidant and toxicological properties*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2017, pp. 1-15.

**VALLEJO, Y., et al.** *Thin Layer Chromatography: a Current Alternative in the Pharmaceutical Industry*. *Revistas PUCP* [en línea]. 2019. vol. 3946, pp. 19-25. Disponible en: <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/download/23788/22933/>.

**VILLARREAL, J.** *Caprifoliaceae Juss. Instituto de Biología. Universidad Autónoma de México* [en línea]. 2008, no. 1, pp. 1-7. Disponible en: [http://www.ibiologia.unam.mx/barra/publicaciones/floras\\_tehuacan/F58\\_Capri.pdf](http://www.ibiologia.unam.mx/barra/publicaciones/floras_tehuacan/F58_Capri.pdf)

**VOGELMAN, J, et al.** *A Spectrophotometric Method for Determining Relative SPF Values of Sunscreen Preparations* [en línea], 1985, (Jamaica) p.5. Disponible en: <http://www.iscd.it/files/A-Spectrophotometric-Method-for-Determining-Relative-SPF-Values-of--Sunscreen-Preparations.pdf>

**WAGNER, H y SABINE, B.** *Plant drug analysis a thin layer chromatography atlas*.1996.

**ZALAMEA, L.** *Bloqueadores solares y actividad estrogénica y androgénica*. *ResearchGate. Universidad de Guayaquil* [en línea]. 2020. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/340818880\\_20ABRIL2020\\_Bloqueadores\\_solares\\_affectedacion\\_androgenica\\_estrogenica](https://www.researchgate.net/publication/340818880_20ABRIL2020_Bloqueadores_solares_affectedacion_androgenica_estrogenica)



## ANEXOS

### ANEXO A: RECOLECCIÓN, SECADO Y MOLIENDA DE LA MATERIA VEGETAL



**Ilustración 1:** Hojas de la especie vegetal *Lonicera japonica*



**Ilustración 2:** Secado de las hojas



**Ilustración 3:** Molienda de las hojas

## ANEXO B: CONTROL DE CALIDAD DE LA ESPECIE VEGETAL



**Ilustración 4:** Determinación de humedad



**Ilustración 5:** Determinación de cenizas totales



**Ilustración 6:** Determinación de cenizas en agua y HCl

## ANEXO C: PREPARACIÓN DEL EXTRACTO VEGETAL



**Ilustración 7:** Extracto etanólico



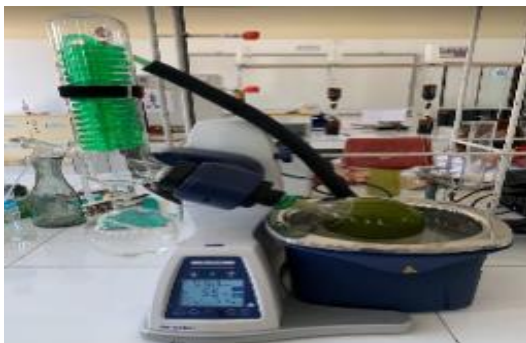
**Ilustración 8:** Extracto acuoso



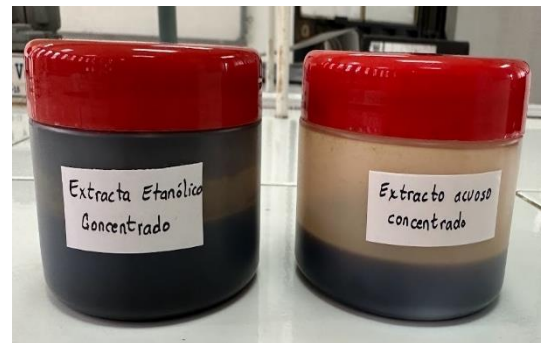
**Ilustración 9:** Sonicador



**Ilustración 10:** Filtración de extracto etanólico y acuoso

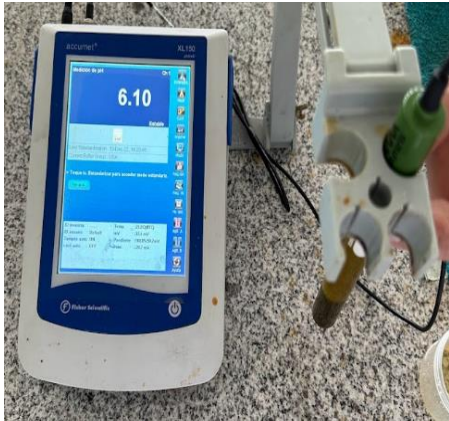


**Ilustración 11:** Uso del rotavapor para obtener los extractos concentrados



**Ilustración 12:** Extractos concentrados envasados

## ANEXO D: CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO



**Ilustración 13:** Determinación de pH



**Ilustración 14:** Determinación de índice de refracción

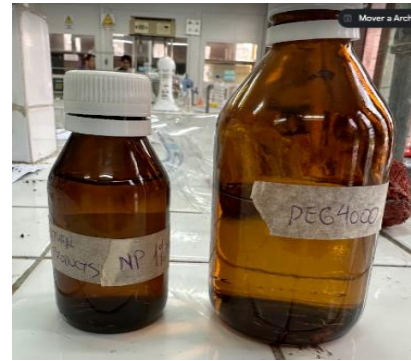


**Ilustración 15:** Determinación de densidad relativa

## ANEXO E: CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA



**Ilustración 16:** Cuba de vidrio con solventes



**Ilustración 17:** Reveladores



## ANEXO F: DETERMINACIÓN DEL FPS *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO



**Ilustración 18:** Peso del extracto



**Ilustración 19:** Preparación de las soluciones



**Ilustración 20:** Lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro

## ANEXO G: FORMULACIÓN DEL PROTECTOR SOLAR



**Ilustración 21:** Crema base



**Ilustración 22:** Formulación con el extracto etanólico



**Ilustración 23:** Producto terminado y envasado

## ANEXO H: DETERMINACIÓN DEL FPS IN VITRO DE LA FORMULACIÓN

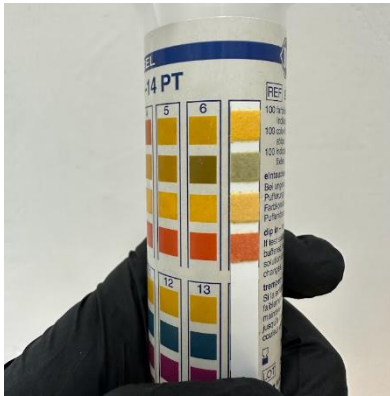


**Ilustración 24:** Preparación de las soluciones



**Ilustración 25:** Lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro

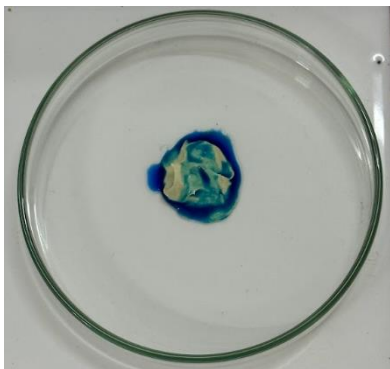
## ANEXO I: CONTROL DE CALIDAD DEL PROTECTOR SOLAR FORMULADO



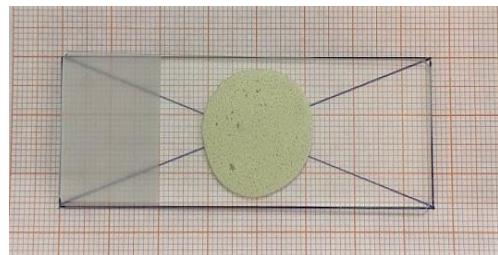
**Ilustración 26:** Determinación de pH



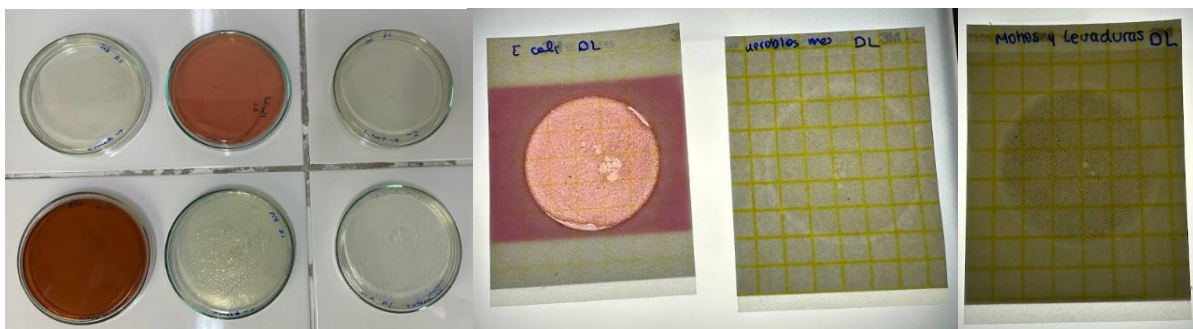
**Ilustración 27:** Determinación de viscosidad



**Ilustración 28:** Determinación del signo de la emulsión



**Ilustración 29:** Determinación de la extensibilidad



**Ilustración 30:** Control microbiológico del protector solar formulado



epoch

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 25 / 07 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Danny Patricio López Pulgar
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias
<b>Carrera:</b> Bioquímica y Farmacia
<b>Título a optar:</b> Bioquímico Farmacéutico
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo



