



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LA MARACUYÁ (*Passiflora edulis*),
ISHPINGO (*Ocotea quixos*) EN FOTOTIPOS III (*Homo sapiens*) PARA
ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR”.**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

PRESENTADO POR

MARLON PATRICIO CAZORLA MARTÍNEZ

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

A mis padres por darme la vida y por estar conmigo en cada paso que doy, por iluminar mi mente, a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis queridos hermanos por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida, demostrándome que con paciencia y sacrificio todo es posible.

A mi hijo por ser mi motor que ha impulsado en mí el deseo de superarme día a día para fortalecer mi corazón y mente.

AGRADECIMIENTO

A Dios por dármele todo lo que necesito porque allí comienza el arte de vivir.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

A la Dra. Susana Abdo por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente Tesis.

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LA MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) EN FOTOTIPOS III (*Homo sapiens*) PARA ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR**”, de responsabilidad del señor egresado Marlon Patricio Cazorla Martínez, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. SUSANA ABDO
DIRECTOR(A) DE TESIS

BQF. FAUSTO CONTERO
MIEMBRO DE TRIBUNAL

BQF. GISELA PILCO
MIEMBRO DE TRIBUNAL

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, Marlon Patricio Cazorla Martínez, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

MARLON PATRICIO CAZORLA MARTÍNEZ

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
FDA	Administración de drogas y alimentos
EXA	Agencia espacial civil ecuatoriana
NASA	Agencia espacial norteamericana
COLIPA	Asociación europea cosmética del cuidado personal
C	Carbono
c.s.p	Cantidad suficiente para
DLR	Centro aeroespacial alemán
CSIC	Consejo Superior de Investigaciones Científicas de España
TLC	Cromatografía de capa fina
CoA	Coenzima A
kDa	Dalton
E	Eritema
EEUU	Estados Unidos
EUROCARE	Estudio europeo sobre el cáncer de supervivencia de los pacientes y la atención
EHA	Extracto Hidroalcohólico
FPS	Factor protección solar
USP	Farmacopea de los Estados Unidos
Pal	Fenilalanina amonio liasa
FEPSO	Fosfoenolpiruvato
f.f	Forma farmacéutica
FEP	Fundación ecuatoriana de la psoriasis
°C	Grados Celcius
FG	Grupo fototipo
UVI	Indice ultra violeta
KNMI	Instituto meteorologico del clima en holanda
Th1	Linfocito helper 1
Th2	Linfocito helper 2
UV	Luz ultravioleta
MEDp	Mínima dosis eritémica con protección
MEDsp	Mínima dosis eritémica sin protección
NMP	Número más probable
OMS	Organización Mundial de la Salud

OMC	Octil metoxi cinamato
Pág.	Página
PABA	Para-aminobenzoico
%	Porcentaje
C(%)	Porcentaje de cenizas totales en base hidratada
pH	Potencial de hidrógeno
PCA	Placa de agar para recuento
p.a	Principio activo
p.e	Punto de ebullición
p.f	Punto de fusión
UVA	Radiación ultravioleta alfa de onda larga
UVB	Radiación ultravioleta beta de onda mediana
UVC	Radiación ultravioleta de onda corta
SOLCA	Sociedad de Lucha contra el Cáncer
UFC	Unidades formadoras de colonias

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	xiv
1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Quemadura solar.....	1
1.1.1 Definición.....	1
1.1.2 Causas quemadura solar.....	1
1.1.3. Factores que hacen más probable la quemadura solar.....	2
1.1.4. Signos y síntomas.....	3
1.1.5. Prevención de quemaduras solares.....	3
1.2 Radiación ultra violeta.....	4
1.2.1. Tipos de radiación ultra violeta.....	5
1.2.2. Radiación ultra violeta que llega a la superficie.....	6
1.2.3. Efectos para los seres vivos causados por radiación uv.....	6
1.3 Cáncer de piel.....	8
1.3.1. Tipos de cáncer de piel.....	8
1.3.2. Causas para cáncer de piel.....	10
1.3.3. Epidemiología cáncer de piel.....	11
1.4 Protector solar.....	12
1.4.1. Definición.....	12
1.4.2. Clases de protector o filtro solar.....	13
1.4.3. Filtro inorgánico o físico.....	13
1.4.3.1 Óxido de zinc.....	14
1.4.3.2 Dióxido de titanio.....	14
1.4.3.2.1 Efectos adversos del dióxido de titanio.....	14
1.4.4. Filtros orgánicos.....	15

1.4.4.1.	PABA.....	16
1.4.4.1.1	Efectos adversos PABA.....	17
1.4.5.	Mecanismo de acción de los protectores solares.....	17
1.4.6.	Factor de protección solar.....	17
1.5.	Extractos vegetales.....	19
1.5.1.	Clasificación de los extractos vegetales.....	20
1.5.2.	Proceso para obtención de extractos vegetales.....	20
1.5.3.	Drogas vegetales.....	22
1.6	Flavonoides en plantas.....	22
1.6.1.	Biosíntesis.....	22
1.6.2.	Regulación de la biosíntesis.....	23
1.6.3.	Funciones en las plantas.....	23
1.6.4.	Aplicaciones en medicina.....	24
1.7	Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	24
1.7.1.	Clasificación científica.....	24
1.7.2.	Características botánicas.....	25
1.7.3.	Origen y distribución.....	26
1.7.4.	Composición química.....	27
1.7.5.	Propiedades terapéuticas.....	27
1.8	Cinamatos.....	28
1.9	Ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>).....	29
1.9.1	Clasificación científica.....	29
1.9.2	Características botánicas.....	30
1.9.2.	Origen y distribución geográfica.....	30
1.9.4.	Composición química.....	31
1.10	Piel.....	31
1.10.1	Capas de la piel.....	31
1.11	Fototipo.....	34
1.11.1	Características fototipo.....	35
1.12	Párametros éticos que debe regir la experimentación con sujetos humanos.....	36

2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	38
2.1.	Lugar de investigación.....	38
2.2.	Materiales, equipos y reactivos.....	39
2.2.1.	Material biológico.....	39
2.2.2.	Materia prima.....	40
2.2.3.	Materiales y reactivos para el estudio farmacognóstico y control de calidad.....	42
2.3.	Manejo específico del experimento.....	42
2.3.1.	Actividad fotoprotectora de los productos con los extractos de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>).....	42
2.3.1.1.	Unidades de observación.....	42
2.3.1.2.	Grupos de estudio.....	42
2.3.1.3.	Diseño experimental.....	43
2.3.1.4.	Protocolo experimental.....	43
2.3.2.	Estudio fotoprotector.....	46
2.3.3.	Análisis descriptivo.....	47
2.3.4.	Investigación fitoquímica.....	48
2.4.	Métodos y técnicas.....	48
2.4.1.	Preparación de los extractos hidroalcohólicos de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>).....	48
2.4.2.	Control de calidad de las especies vegetales.....	48
2.4.2.1.	Análisis físico-químico.....	48
2.4.2.2.	Determinación de microorganismos contaminantes en la droga cruda.....	48
2.4.3.	Control de calidad en los extractos.....	52
2.4.3.1.	Determinación de los requisitos organolépticos.....	52
2.4.4.	Cuantificación de flavonoides totales expresados como quercetina..	52
2.4.5.	Cuantificación de cinamatos.....	53
2.4.6.	Determinación de las cantidades y tipos de excipientes adecuados para la formulación de las cremas a base de maracuyá, ishpingo...	54
2.4.7.	Preparación de la crema.....	54

2.5	Materiales reactivos y equipos para comprobar el efecto fotoprotector.....	55
2.6	Protocolo de administración del producto a los voluntarios en base a la técnica del método COLIPA.....	55
2.7	Control de calidad de productos terminados	56
2.7.1.	Control de calidad de las cremas.....	56
2.7.1.1	Descripción del producto.....	56
2.7.1.2	Controles fisicoquímicos.....	57
2.7.2	Análisis microbiológico.....	58
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
4.	CONCLUSIONES.....	89
5.	RECOMENDACIONES.....	91
6.	RESUMEN.....	92
	SUMARY.....	93
7.	BIBLIOGRAFIA.....	94
8.	ANEXOS.....	103

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Humedad de las drogas secas y trituradas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>) Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	61
CUADRO No. 2	Cenizas totales de las drogas secas y trituradas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	62
CUADRO No. 3	Cenizas solubles en agua de las drogas secas y trituradas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	62
CUADRO No. 4	Cenizas insolubles en ácido clorhídrico de las drogas secas y trituradas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	62
CUADRO No. 5	Características organolépticas de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	63
CUADRO No. 6	Parámetros físicos de calidad de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	64
CUADRO No. 7	Identificación cualitativa de los metabolitos secundarios en las hojas secas y trituradas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>). Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	65
CUADRO No. 8	Absorbancias de quercetina a distintas concentraciones. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	66
CUADRO No. 9	Cuantificación de flavonoides de las hojas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) a una longitud de onda de 258 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	67
CUADRO No. 10	Absorbancias de cinamatos a distintas concentraciones. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del	

	2012.....	67
CUADRO No. 11	Cuantificación de cinamatos de las hojas de ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>) a una longitud de onda de 311 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias EPOCH. Riobamba Septiembre del 2012.....	68
CUADRO No. 12	Cuantificación de flavonoides en producto con extracto de las hojas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>) a una longitud de onda de 258 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias EPOCH. Riobamba Septiembre del 2012.....	69
CUADRO No. 13	Cuantificación de cinamatos en producto con extracto de las hojas de ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>) a una longitud de onda de 311 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias EPOCH. Riobamba Septiembre del 2012.....	69
CUADRO No. 14	Cuantificación de flavonoides en producto con extracto de las hojas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>) a una longitud de onda de 258 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias EPOCH. Riobamba Septiembre del 2012.....	70
CUADRO No. 15	Cuantificación de cinamatos en producto con extracto de las hojas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>) a una longitud de onda de 311 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias EPOCH. Riobamba Septiembre del 2012.....	70
CUADRO No. 16	Parámetros en la descripción de los productos con extractos alcohólicos de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>) Laboratorio de fitoquímica. Facultad de Ciencias. EPOCH Riobamba Septiembre 2012.....	71
CUADRO No. 17	Parámetros físicos-químicos de los productos con extracto hidroalcohólico de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>), y combinación de ambos extractos. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias EPOCH. Riobamba Septiembre del 2012.....	72
CUADRO No. 18	Determinación microbiológica de la cremas fotoprotectoras a base de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>) Laboratorio Microbiología. Facultad de Ciencias EPOCH. Riobamba Septiembre del 2012.....	73
CUADRO No. 19	Nivel de eritemas en las superficies de experimentación de los voluntarios en los 120 minutos de evaluación. Riobamba septiembre del 2012.....	74
CUADRO No. 20	Tiempo al aparecer el eritema en las superficies de experimentación de los voluntarios. Riobamba Septiembre del	

	2012.....	77
CUADRO No. 21	Factor de protección solar para las superficies experimentales de los productos aplicados en voluntarios. Riobamba Septiembre del 2012.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Clasificación de los filtros solares de acuerdo al tipo de radiación UV	16
TABLA No. 2	Características Fototipos	34
TABLA No. 3	Grupos de estudio.....	42
TABLA No. 4	Descripción del proceso experimental	45
TABLA No. 5	Tabla utilizada para la interpretación del nmp para la determinación de coliformes totales.....	50
TABLA No. 6	Formulación de la crema fotoprotectora.....	54
TABLA No. 7	Materiales y reactivos empleados para comprobar el efecto fotoprotector.....	55
TABLA No. 8	Datos obtenidos de la evaluación fotoprotectora de los productos con los extractos de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>), ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>) y combinación de ambos extractos.....	118

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO No. 1	Curva de Absorbancia Vs Concentración de Quercetina para la cuantificación de flavonoides. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	66
GRAFICO No. 2	Curva de Absorbancia Vs Concentración de Cinamatos en aceite de canela para la cuantificación de cinamatos en ishpingo. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	68
GRAFICO No. 3	Nivel de eritemas en las superficies de experimentación de los voluntarios en los 120 minutos de evaluación.Riobamba septiembre del 2012.....	75
GRAFICO No.4	Tiempo al aparecer el eritema en las superficies de experimentación de los voluntarios. Riobamba Septiembre 2012.....	77
GRAFICO No.5	Factor de protección solar para las superficies experimentales de los productos aplicados en los voluntarios. Riobamba Septiembre 2012.....	80

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Capas de la piel humana.....	31
--------------	------------------------------	----

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Hojas de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....	24
FOTOGRAFÍA No. 2	Hojas de ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>).....	29
FOTOGRAFÍA No. 3	Material vegetal <i>Passiflora edulis</i>	114
FOTOGRAFÍA No. 4	Material vegetal <i>Ocotea quixos</i>	114
FOTOGRAFÍA No. 5	Control de calidad <i>Passiflora edulis</i> , <i>Ocotea quixos</i>	115
FOTOGRAFÍA No. 6	Obtención extractos alcohólicos <i>Passiflora edulis</i> , <i>Ocotea quixos</i>	116
FOTOGRAFÍA No. 7	Tamizaje Fitoquímico de <i>Passiflora edulis</i> , <i>Ocotea quixos</i>	116
FOTOGRAFÍA No. 8	Control de calidad de productos con <i>Passiflora edulis</i> , <i>Ocotea quixos</i>	116
FOTOGRAFÍA No. 9	Tira de Test colorimétrico para medición de Nivel de Eritema por color de piel.....	117
FOTOGRAFÍA No. 10	Voluntario en la Evaluación	117
FOTOGRAFÍA No. 11	Actividad fotoprotectora.....	117

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Técnica utilizada en la investigación.....	96
ANEXO No. 2	Cálculos.....	104
ANEXO No. 3	Formato del consentimiento informado.....	104
ANEXO No. 4	Fotografías.....	114
ANEXO No. 5	Resultados de la experimentación.....	118

INTRODUCCIÓN

La radiación ultravioleta es la primera causa de cáncer de piel y estamos atravesando en la actualidad diversas formas de cambios, con ritmos de vida que cada vez busca conectarnos con la naturaleza lo cual exige una demanda y especial atención para poder satisfacer esta demanda. Este entorno exige a las personas mayor grado de sensibilidad, flexibilidad, capacidad de iniciativa, para moldearse a situaciones nuevas que logren una conexión adecuada con nuestro entorno natural. Precisamente, las contrariedades de diversos cambios climáticos y con mayor número de horas frente a la exposición de radiación solar debido a las exigencias que cotidianamente se realizan y que el hombre debe enfrentar propician las condiciones adecuadas para que se de esta exposición inadecuada, lo cual la hace responsable de aspectos tan diversos como los eritemas, pitiriasis, manchas cutáneas, por ende cáncer; pero los efectos de la exposición cutánea a la radiación ultravioleta son contradictorios. Por un lado, se ven efectos nocivos que aumentan la predisposición al cáncer de piel y al envejecimiento prematuro y por otro lado, se usa como tratamiento de ciertas enfermedades por medio de la fototerapia, la exposición crónica a la radiación ultravioleta se asocia directamente con la aparición de queratosis actínica, carcinoma baso celular y carcinoma escamo celular, mientras que una exposición intermitente e intensa se asocia al desarrollo de melanoma. En Ecuador, el número de enfermos de cáncer de piel se ha incrementado 500 veces en los últimos cinco años, lo que representaría un 5.000%. Esto de acuerdo con un estudio elaborado por la Fundación Ecuatoriana de Psoriasis-Fepso, cuyas cifras las manejan también SOLCA y el propio Ministerio de Salud, de acuerdo con estas cifras, en 2005, la incidencia de esta enfermedad era de una por cada 100 mil personas, lo que representaba un 0.001% de la población, mientras que el año pasado fue de una por cada 200 personas lo que representa el 0.50%. (27)

Ecuador, Colombia y Perú reciben la mayor dosis de radiación ultravioleta del planeta un estudio de campo acerca del estado de la capa de ozono sobre la franja ecuatorial de nuestro planeta, basado en imágenes de 10 satélites e instrumentos distintos de la EXA, la Agencia Ambiental Canadiense, la NASA, el KNMI, el DLR y 2 estaciones climatológicas propias en territorio ecuatoriano que prueban la existencia de un gran debilitamiento de la capa de ozono sobre latitudes ecuatoriales y en consecuencia, el territorio ecuatoriano recibe niveles de radiación ultravioleta (UV) muy superiores al máximo establecido como seguro o tolerable para la salud humana los niveles de radiación detectados por las estaciones en tierra son corroboradas por las imágenes de los satélites Guayaquil y Quito registran niveles de radiación solar que superan los límites que resiste el ser humano, Guayaquil registra 14 en Quito se registra 24 mientras que en Riobamba oscila entre 14 a 15 UVI lo cual indica que existe una radiación extrema. Por las razones mencionadas es importante incidir en el factor preventivo de afecciones en la piel mediante la utilización de fotoprotectores, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Meteorológica Mundial (OMM) han establecido que el máximo tolerable para la exposición humana es 11 IUV. Además EXA reveló que la mayor potencia de la radiación UV se sitúa en una frecuencia que se sabe es capaz de alterar el ADN humano y causar mutaciones, esta es la frecuencia 340 nm que en Quito alcanza una potencia máxima de 14 vatios por metro cuadrado, cuando su valor normal no debería superar 1 vatio por metro cuadrado. (44)

Existen muchos métodos de fotoprotección tanto físicos inorgánicos como los químicos, sobre los cuales existen investigaciones tempranas en los cuales se alcanzan muchos puntos sobre los efectos perjudiciales que causan estos fotoprotectores químicos por su uso en demasía, siendo durante la última década que ha surgido un gran interés sobre sus efectos en los humanos al igual que en el medio ambiente pues según la evidencia existente y algunas investigaciones realizados sugieren que se debe disminuir su uso o usarlos con prudencia o en su defecto usar alternativas provenientes de fuentes naturales, en pruebas llevadas a cabo en el laboratorio, los científicos de la Universidad de Barcelona y el Consejo Superior de

Investigaciones Científicas de España (CSIC), descubrieron que los flavonoides que se extraen de las uvas y los cinamatos provenientes de la canela parecen tener un efecto protector en las células contra la radiación ultravioleta. Actualmente, los principales laboratorios y consorcios farmacéuticos cuentan con grupos de especialistas multidisciplinarios con líneas de investigación dirigidos a la explotación etnomédica y quimiotaxonomía; es decir, a la clasificación de las características químicas de las plantas con propiedades medicinales. Los productos naturales que se originan en las plantas se sintetizan a través de múltiples rutas metabólicas y se dividen en metabolitos primarios y secundarios, siendo estos últimos los más importantes en lo referente a aplicaciones. Los metabolitos primarios se consideran esenciales y son moléculas nutricionales o estructurales; dentro de este grupo se encuentran los carbohidratos, las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos los metabolitos secundarios, los cuales tienen funciones no nutricionales, pero muy importantes para su supervivencia. Son compuestos que les sirven para protegerse de los factores externos, como los flavonoides, taninos, líganos, cumarinas, alcaloides, terpenos, saponinas, propil fenoles entre otros. Los metabolitos secundarios son almacenados en varios organelos en las células de la planta, debido a la toxicidad que representa su acumulación. Teniendo datos bibliográficos sobre la maracuyá que posee un gran contenido de flavonoides y el ishpingo siendo de la familia de las lauráceas posee cinamatos, tenemos una alternativa natural con efecto fotoprotector. Con todos los datos que se menciona anteriormente, se busca el presente trabajo de investigación comprobar la actividad fotoprotectora de maracuyá (*P. edulis*) e ishpingo (*O. quixos*) en fototipos III (*Homo sapiens*) para elaborar un protector solar natural así como también conocer la presencia de metabolitos secundarios presentes en el extracto alcohólico de las partes aéreas (hojas) del ishpingo (*O. quixos*) y maracuyá (*P. edulis*), para su potencial aplicación como fotoprotector natural, formular el protector solar en crema con los extractos de maracuyá e ishpingo, para poder evaluar el efecto de fotoprotector de los extractos en fototipos III (*Homo sapiens*) a través del ensayo de exposición a radiación UV basado en la normativa de métodos para probar la eficacia de los productos solares COLIPA. (23)

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. QUEMADURA SOLAR

1.1.1 DEFINICIÓN

Es el enrojecimiento de la piel que ocurre después de exponerse al sol o a otro tipo de luz ultravioleta.

La exposición cutánea a la radiación ultravioleta induce diferentes eventos biológicos que modulan la respuesta inmunitaria creando un desequilibrio y estimulan la células de Langerhans, algunas veces no maduras que, al migrar, activan la respuesta celular de linfocitos T, especialmente TH2, lo que disminuye la habilidad para desencadenar una respuesta inmunitaria adecuada hacia antígenos microbianos y hacia el crecimiento celular. La radiación ultravioleta por sí misma es carcinógena y su efecto inmunomodulador puede inducir neoplasias. (21)

1.1.2 CAUSAS DE QUEMADURA SOLAR

Entre las primeras causas de quemadura solar tenemos:

a) Exposición prolongada a fuentes de radiación UV

La quemadura solar se presenta cuando el grado de exposición al sol o a una fuente de luz ultravioleta excede la capacidad del pigmento protector del cuerpo, melanina, para proteger la piel. Una quemadura solar en una persona con piel muy clara puede ocurrir en menos de 15 minutos de exposición al sol del mediodía, en tanto que una persona con piel oscura puede tolerar la misma exposición por horas. (21)

b) Exposición a la radiación UV del sol sin protección

No hay tal cosa como el "bronceado saludable", la exposición a la radiación UV del sol sin protección causa el envejecimiento prematuro de la piel, la exposición al sol puede causar quemaduras de primero y segundo grados.

1.1.3 FACTORES QUE HACEN MÁS PROBABLE LA QUEMADURA POR ACCIÓN DE LA RADIACIÓN UV

Dentro de los factores que hacen más probable la quemadura por acción de la radiación UV proveniente del sol tenemos:

- Los bebés y niños son especialmente sensibles a los efectos quemantes del sol.
- Las personas de piel clara tienen mayor probabilidad de sufrir una quemadura solar, pero incluso la piel oscura y negra se puede quemar y debe protegerse.
- Los rayos del sol son más fuertes durante las horas de 10:00 de la mañana a 4:00 de la tarde.
- Los rayos del sol también son más fuertes en las grandes altitudes y latitudes bajas (más cerca de los trópicos). El reflejo del agua, la arena o la nieve puede intensificar los ardientes rayos solares.
- Las lámparas de sol pueden causar una quemadura solar severa.

- Algunos medicamentos (tales como el antibiótico doxiciclina) puede hacer que uno sea más susceptible a las quemaduras solares. (21)

1.1.4 SIGNOS Y SINTOMAS

Los primeros signos de una quemadura solar pueden no aparecer durante unas cuantas horas y el efecto total para la piel puede no aparecer durante 24 horas o por más tiempo.

Los posibles síntomas abarcan:

- Piel roja y sensible que es caliente al tacto.
- Ampollas que se desarrollan de horas a días después.
- Reacciones severas (algunas veces llamadas "alergia solar"), incluyendo fiebre, escalofríos, náuseas o erupción cutánea.
- Peladura de la piel en áreas quemadas por el sol varios días después de la quemadura solar.

1.1.5 PREVENCIÓN DE LAS QUEMADURAS SOLARES

La mejor manera de evitar las quemaduras solares es tomar las medidas preventivas adecuadas antes de que estas aparezcan. Entre todas ellas podemos mencionar las siguientes:

- **Utilizar un filtro solar adecuado:** Las cremas solares, con un factor mínimo de 15, deberán aplicarse antes de exponerse al sol. Se volverán a aplicar cada dos horas o cada hora y media después de estar dentro del agua. Es necesario volver a aplicarse después de restregarse con una toalla o después de sudar mucho, se aplicara crema solar en todas la partes expuestas de la piel incluidas las que pueden estar por debajo del agua ya que los rayos solares la atraviesan fácilmente, teniendo en cuenta que las cremas solares no protegen al 100% de los rayos UV.

- **No exponerse al sol demasiado tiempo:** Especialmente durante los primeros días cuando la piel no está acostumbrada, la primera exposición no debe superar los 15 minutos, independientemente del tipo de piel, progresivamente se irá aumentando cada día.
- **Se aconseja el uso de gorras o sombreros de ala ancha y llevar una camiseta:** Cuando estemos cerca del agua, la cual refleja hasta un 25% los rayos ultravioleta.
- **Debemos protegernos del sol incluso en días nublados:** Los rayos solares atraviesan las nubes. Ciertos medicamentos, especialmente aquellos que contienen hormonas- medicamentos contra el acné, píldora contra el embarazo, antibióticos, medicamentos contra la hipertensión y la diabetes pueden sensibilizar la piel haciendo que esta reaccione más fácilmente frente a la radiación solar aumentando la fotosensibilización.
(17)(42)

1.2 RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

El descubrimiento de la radiación ultravioleta está asociado a la experimentación del oscurecimiento de las sales de plata al ser expuestas a la luz solar. En 1801 el físico alemán Johann Wilhelm Ritter descubrió que los rayos invisibles situados justo detrás del extremo violeta del espectro visible eran especialmente efectivos oscureciendo el papel impregnado con cloruro de plata. Denominó a estos rayos "rayos desoxidantes" para enfatizar su reactividad química y para distinguirlos de los "rayos calóricos" (descubiertos por William Herschel) que se encontraban al otro lado del espectro visible. Poco después se adoptó el término "rayos químicos". Estos dos términos, "rayos calóricos" y "rayos químicos" permanecieron siendo bastante populares a lo largo del siglo XIX. Finalmente estos términos fueron dando paso a los más modernos de radiación infrarroja y ultravioleta respectivamente. Su nombre proviene de que su rango empieza desde longitudes de onda más cortas de lo que los humanos identificamos como el color violeta, la luz ultravioleta tiene diversas

aplicaciones una de las aplicaciones de los rayos ultravioleta es como forma de esterilización, junto con los rayos infrarrojos (pueden eliminar toda clase de bacterias y virus sin dejar residuos, a diferencia de los productos químicos). (43)

El sol emite radiación ultravioleta como parte del espectro electromagnético, que es un componente del amplio espectro solar; la longitud de onda de los rayos ultravioleta se encuentra entre los 150 nm y los 400 nm. Las células fotorreactivas de la retina humana son sensibles a longitudes de onda menores a 400 nm; por esta razón, es inadecuado hablar de luz ultravioleta, se debe llamar siempre radiación ultravioleta. (17)

1.2.1 TIPOS DE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

Se suelen diferenciar tres bandas de radiación UV: UV-A, UV-B y UV-C.

- **UV-A.-** Banda de los 320 a los 400 nm., es la más cercana al espectro visible y no es absorbida por el ozono.
 - **UV-B.-** Banda de los 280 a los 320 nm., es absorbida casi totalmente por el ozono, aunque algunos rayos de este tipo llegan a la superficie de la Tierra, es un tipo de radiación dañina, especialmente para el ADN, provoca melanoma y otros tipos de cáncer de piel. También puede estar relacionada, aunque esto no es tan seguro, con daños en algunos materiales, cosechas y formas de vidas marinas.
 - **UV-C.-** Banda de las radiaciones UV menores de 280 nm., este tipo de radiación es extremadamente peligroso, pero es absorbido casi completamente por el ozono y el oxígeno.
- (43)

1.2.2 RADIACIÓN QUE LLEGA A LA SUPERFICIE

El oxígeno y el ozono estratosféricos absorben entre el 97 y 99% de las radiaciones UV de entre 150 y 300 nm, procedentes del sol.

La cantidad de radiación UV-B recibida en la superficie depende mucho de la latitud y la altura sobre el nivel del mar del lugar. Cerca de las zonas polares el sol está siempre bajo en el horizonte y los rayos solares atraviesan capas más espesas de atmósfera por lo que la exposición a UV-B es, de media, unas mil veces menor en las zonas polares que en el Ecuador. También influye la cubierta de nubes que protege más cuanto más gruesa es y la proximidad a las zonas industriales porque la contaminación con ozono troposférico típica del smog fotoquímico filtra estas radiaciones. (44)

1.2.3 EFECTOS PARA LOS SERES VIVOS CAUSADOS POR LAS RADIACIONES UV.

El sol es imprescindible para la vida y tiene efectos muy beneficiosos sobre el organismo, no obstante, si lo tomamos con exceso y abuso puede ser nuestro enemigo más cruel. La exposición a la luz solar natural o artificial, voluntaria o involuntaria, puede llegar a ser muy dañina para la piel humana. Muchas personas olvidan o ignoran que el cuerpo se está enfrentando a una de las fuentes de energía más potentes de la naturaleza. Tal y como recoge la Organización Mundial de la Salud, las radiaciones solares ejercen un efecto negativo para la salud, principalmente vinculadas a diversas afectaciones como:

- Daños genéticos.
- Daños en los ojos.
- Daños a la vida marina.
- Cáncer de piel.

- **DAÑOS GENÉTICOS**

La radiación UV-B interfiere con los enlaces del ADN dañando la molécula. Muchos de estos errores son reparados por los sistemas enzimáticos de la célula pero algunas mutaciones perviven y pueden producir cánceres, especialmente de piel. El 90% de los cánceres de piel se atribuyen a los rayos UV-B y se supone que una disminución en la capa de ozono de un 1% podría incidir en aumentos de un 4 a un 6% de distintos tipos de cáncer de piel, aunque esto no está tan claro en el más maligno de todos el melanoma, cuya relación con exposiciones cortas pero intensas a los rayos UV parece notoria, aunque poco comprendida y puede llegar a manifestarse hasta 20 años después de la sobreexposición al sol.

- **DAÑOS EN LOS OJOS**

La exposición a dosis altas de rayos UV puede dañar los ojos, especialmente la córnea que absorbe muy fácil estas radiaciones. A veces se producen cegueras temporales y la exposición crónica se asocia con mayor facilidad de desarrollar cataratas.

- **DAÑOS A LA VIDA MARINA**

Una de las mayores preocupaciones derivadas de la formación del agujero de ozono de la Antártida ha sido ver la influencia en el plancton marino del incremento de rayos UV en los mares de la zona. Los organismos del plancton se concentran en la capa de unos 2 metros próxima a la superficie oceánica y son fundamentales en la cadena trófica. Algunos estudios han encontrado descensos en su productividad de entre el 6 y el 12% en las 10 a 12 semanas que coinciden con el agujero de ozono, lo que supone un descenso medio del 2 o 4%, cantidad detectable, aunque no catastrófica todavía. (28)

1.3 CÁNCER DE PIEL

El cáncer de piel es una enfermedad producida por el desarrollo de células cancerosas en cualquiera de las capas de la piel, el principal factor de riesgo para desarrollar un cáncer de piel son los llamados rayos ultravioleta procedentes de la luz solar, que producen mutaciones en el ADN de las células que se acumulan durante años, el cáncer de piel es la forma más frecuente de cáncer en la población de piel blanca. Los tres tipos principales de cáncer de piel son, el carcinoma basocelular, el carcinoma de células escamosas (que tiene altas posibilidades de curación), y el tipo más grave, que es el melanoma maligno.

Las personas que están expuestas a los factores de riesgo deben prestarle atención a úlceras o irritaciones crónicas que no cicatrizan tales como lunares y otras marcas de nacimiento que aumenten de tamaño o cambien de color. Las medidas para protegerse del Sol pueden prevenir el cáncer de piel si se utilizan de forma constante, los rayos ultravioletas procedentes de fuentes artificiales de luz, tales como los lechos de bronceado y las lámparas solares, son tan peligrosos como la radiación solar y por lo cual también deben evitarse. El cáncer de piel por lo regular aparece en la adultez, pero es causado por la exposición al sol y quemaduras solares que empezaron temprano en la niñez. El cáncer de piel engloba a un conjunto de enfermedades neoplásicas que tienen diagnóstico, tratamiento y pronóstico muy diferente. Lo único que tienen en común es la misma localización anatómica la cual es la piel. (19)

1.3.1 TIPOS DE CÁNCER DE PIEL

Para hablar sobre el cáncer de piel debemos establecer claramente que a grosso modo se lo puede dividir en cáncer del tipo melanoma o no melanoma donde que el de tipo melanoma es el nombre genérico de los tumores melánicos o pigmentados y el cáncer de tipo no melanoma es el más frecuente y se denomina no melanoma porque se forma a partir de otras células de la piel que no son las que acumulan el pigmento (los melanocitos). (49)

- **CARCINOMA BASOCELULAR (BASALIOMA)**

El basalioma es un tipo de tumor maligno cutáneo que fue denominado de esta manera debido a que se origina en las células del estrato germinativo basal, que es la última capa de la epidermis. La terminación *-oma* en el término, indica una tumoración. El basalioma es el tumor cutáneo de mayor ocurrencia. Puede manifestarse en ambos sexos aunque se encuentra más frecuentemente en mujeres y personas que han entrado a la quinta (5ta) década de su vida. Su comienzo generalmente es insidioso y se manifiesta con la aparición de uno o varios nódulos de tamaño pequeño que, lenta pero progresivamente, aumentan de volumen.

El basalioma no produce metástasis, sin embargo puede resultar seriamente peligroso si profundiza a los estratos más profundos de la piel donde puede ocurrir compresión de órganos importantes de la piel del rostro. La malignidad del proceso es por lo regular localizada y puede propagarse hacia la periferia dejando en el centro una marca cicatrizal. Cuando aparece en el rostro la persona se preocupa más por la cuestión estética lo cual puede solucionarse con cirugía. (19)

- **CARCINOMA ESCAMOCELULAR**

El carcinoma de células escamosas es un cáncer que se origina a partir de epitelio escamoso y es un tipo de tumor que afecta la piel. El principal síntoma del cáncer de piel escamocelular es una protuberancia creciente que puede tener una superficie áspera y escamosa, y parches planos de color rojizo. (20)

- **MELANOMA MALIGNO**

Es un tumor maligno originado en los melanocitos, derivados de la cresta neural, afecta a la piel en 95%, ojos y mucosas 5%, provoca una neoformación pigmentada que produce

metástasis linfáticas y hematógenas que llevan tempranamente a la muerte, aunque las cifras de mortalidad han disminuido en virtud de detecciones tempranas y mejoría en las modalidades terapéuticas, Estos tumores aparecen predominantemente en la cubierta cutánea, pero pueden también presentarse en las mucosas, en las capas pigmentadas del globo ocular, etc.

Éste es un sistema de clasificación por etapas simplificado que es útil en la determinación del tratamiento y en la estimación de los resultados. Este sistema de clasificación por etapas implica que se conoce el estado de los ganglios linfáticos a partir del examen microscópico de los ganglios extirpados con cirugía. Si este examen quirúrgico no se realiza, algunos pacientes clasificados en la etapa clínica II presentarán la enfermedad en la etapa III con ganglios linfáticos involucrados. (38)

1.3.2 CAUSAS PARA CÁNCER DE PIEL

Existen un sin número de causas para el cáncer de piel y dentro de las principales podemos citar:

- Exposición prolongada a la radiación UV por acción del sol.
- Las lámparas y cabinas bronceadoras son otras fuentes de radiación ultravioleta que pueden causar un mayor riesgo de desarrollar un cáncer de la piel no melanoma.
- La exposición a ciertos productos químicos como el arsénico, la brea industrial, la hulla, la parafina y ciertos tipos de aceites.
- La exposición a la radiación como la producida por la radioterapia.
- Las lesiones o inflamaciones graves o prolongadas de la piel, como pueden ser las quemaduras graves, la piel que recubre el área donde se produjo una infección ósea grave, y la piel dañada por ciertas enfermedades inflamatorias.
- El tratamiento de la psoriasis con psoralenos y luz ultravioleta administrados a algunos pacientes con psoriasis.

- El xeroderma pigmentoso, una condición hereditaria muy poco frecuente, reduce la capacidad de la piel para reparar los daños que sufre el ADN como consecuencia de la exposición a la luz solar. Las personas que tienen este trastorno desarrollan un gran número de tumores cancerosos de la piel, a veces desde la infancia.
- El síndrome del nevus de células basales es una condición congénita igualmente poco frecuente, que ocasiona múltiples tumores cancerosos de células basales. La mayoría de los casos, aunque no todos, son hereditarios. (49)

1.3.3 EPIDEMIOLOGIA CÁNCER DE PIEL

Revisaremos los datos epidemiológicos más recientes a nivel mundial, pues es importante conocer la magnitud del problema de forma exacta ya que se trata de un mal que se ha puesto en la actualidad una de las enfermedades más comunes a nivel mundial.

El cáncer de piel es el tipo de cáncer más común en los Estados Unidos. Las estadísticas siguientes se refieren a melanomas cutáneos. Los cánceres de piel no epiteliales, que no aparecen abajo, representan el 7% de los cánceres de piel que no tienen seguimiento en los registros centrales del cáncer.

El melanoma es una de las neoplasias que ha experimentado un incremento más espectacular, ya que casi ha triplicado su incidencia en los últimos cuarenta años a un ritmo de un 4 % anual en Occidente. En España este aumento de incidencia es más acusado en mujeres, dato que nos diferencia del resto de Europa. En nuestro país el melanoma representa el 1.3% y el 2.5% de todos los tumores malignos en varones y mujeres respectivamente, mientras que los valores mundiales son del 2.4% y del 4.9%. Es interesante comparar las diferencias que existen en las cifras de incidencias de este tumor en distintas provincias españolas (los valores más altos recogidos en varones corresponden a Tarragona y a Mallorca y en mujeres a Gerona y Granada), así como con los países que recogen cifras

máximas y mínimas tanto a nivel europeo (Noruega y Portugal, respectivamente) como a nivel mundial (Australia y Gambia).

Acerca del melanoma, en el estudio EUROCARE-III encontramos que la tasa de supervivencia de España es la mayor de Europa si bien hay diferencias atendiendo al sexo, siendo las mujeres las que presentan una tasa de supervivencia mayor. Parece que estas diferencias pueden deberse a un aumento en el diagnóstico de melanomas de bajo grado, al diagnóstico precoz y al tratamiento quirúrgico. A pesar de la elevación generalizada en la incidencia del melanoma la mortalidad tiende a estabilizarse. En EEUU la incidencia es mayor en hombres a partir de los 40 años y la mortalidad también muestra cifras mucho más relevantes en varones y que se incrementan con la edad. (29)

1.4 PROTECTORES SOLARES

1.4.1 DEFINICIÓN

La Comisión Europea define como producto de protección solar cualquier preparado (como crema, aceite, gel o aerosol) de aplicación sobre la piel humana con la finalidad exclusiva o principal de protegerla de la radiación UV absorbiéndola, dispersándola o reflejándola. Inicialmente, el protector solar se usó para contrarrestar los efectos agudos de la radiación ultravioleta. Actualmente, se busca disminuir los efectos crónicos, para prevenir la aparición de carcinomas de piel y disminuir la formación de dímeros de pirimiditas, y además, proteger de la inmunosupresión cutánea desencadenada por la depleción de células de Langerhans. En Estados Unidos, los filtros solares se consideran fármacos y son vigilados por la FDA, mientras que, en Europa, siguen las normas vigentes para los fármacos y cosméticos, regulados por COLIPA (Cosméticos Europeos, asociación de perfumería y artículos de tocador). Por esta razón, en el mercado estadounidense, los protectores deben seguir el mismo camino que otros fármacos, lo que significa menos avances debido a los

altos costos necesarios para ingresar un nuevo producto o componente que, generalmente, se usa para mejorar un protector ya comercialmente establecido.

1.4.2 CLASES DE PROTECTOR O FILTRO SOLAR

Existen Varios tipos de protector solar o filtro solar y haremos mención de los actuales filtros solares presentes los cuales son:

1.4.3 FILTROS INORGÁNICOS O FÍSICOS

Los filtros inorgánicos, previamente llamados filtros físicos, son moléculas estables a la luz que protegen de la radiación ultravioleta por dispersión, reflejo o absorción de la misma, dependiendo del tamaño de la partícula.

Debido a que el tamaño original es grande, los filtros son opacos y pueden alcanzar a brindar protección hasta contra la luz visible, por lo cual son muy útiles en fotodermatosis como el lupus eritematoso sistémico y otras. No obstante, debido a la sensación de máscara que pueden dejar (efecto mínimo) y a su capacidad de producir comedones, se ha buscado mejorarlo cosméticamente, disminuyendo el tamaño de la partículas a formas ultra finas, o micronizadas, lo que los hace visiblemente aceptables y químicamente estables, y más efectivos contra longitudes de onda más cortas. Hay dos filtros inorgánicos aprobados en el momento: el óxido de cinc (ZnO) y el dióxido de titanio (TiO_2). Estos son moléculas estables a la luz, sin capacidad de causar alergias ni sensibilización, ambos pueden alcanzar a brindar protección contra longitudes de onda de hasta 380 nm (UVA). Actualmente, varios de los protectores solares que hay en el mercado tienen filtros inorgánicos con formas micronizadas o nano partículas que pueden llegar hasta a ser de un tamaño de 100 nm. (30) (48)

1.4.3.1 Óxido de zinc.

El óxido de zinc, con partículas de 60 nm, brinda una buena protección contra la radiación UV, inclusive UVA I, en rangos de 380 nm, había temor de que, por el tamaño de las macropartículas, éstas pudieran ser absorbidas y llegar a penetrar hasta la dermis y tener interacción con el tejido cutáneo; sin embargo, los estudios in vitro e in vivo han confirmado que se mantienen en el estrato córneo, por lo cual persiste la seguridad que ofrecen los filtros inorgánicos. Montero S. (2008)

1.4.3.2 Dióxido de titanio

El dióxido de titanio es una sustancia inerte que se utiliza en polvos, cremas o pomadas como dermatoprotector frente a las radiaciones solares. En su formulación microfina, que se utiliza cada vez más, se trata de un polvo blanco que se prepara en suspensión en concentraciones que oscilan entre el 1% y el 10%. Esta formulación puede asociarse a otras sustancias capaces de absorber la radiación ultravioleta. En la formulación corriente puede utilizarse en concentraciones de incluso un 25%. El dióxido de titanio necesita partículas, por lo menos, de 120 nm para ser igualmente efectivo y proteger, especialmente, contra rangos de UVB y UVA II. Montero S. (2008).

1.4.3.2.1 Efectos adversos del Dióxido de Titanio

El dióxido de titanio se lo encuentra en todas partes ya sea en protectores solares, colorante dentífrico, fármacos, colorante alimenticio y su uso indiscriminado está causando varios efectos adversos, aunque se definen sus propiedades más importantes como: no tóxicas, compatible con las mucosas y la piel, y buena dispersabilidad en soluciones orgánicas, curiosamente está presente en todo medicamento que afecta:

- Principalmente la fertilidad

- Resulta abortivo y/o teratogénico.
- Afecta al ADN
- Incremento del riesgo de cáncer

La explicación a esto se encuentra a fines del año 2009 en un estudio realizado por científicos del centro Jonsson Comprehensive Cáncer de la UCLA (EEUU), demostrando que las nanopartículas de TiO₂ presentes en los productos antes mencionados causan daño genético sistémico en ratones, induciendo roturas en las cepas del ADN y causando daño cromosómico e inflamación e incremento del riesgo de cáncer en los animales. Las nanopartículas se acumulan en diversos órganos porque el cuerpo no cuenta con un medio efectivo para eliminarlas ni menos que impida su paso debido a su minúsculo tamaño. Por esta razón pueden ir hasta cualquier parte del cuerpo, incluso atravesar células y membranas fácilmente, interfiriendo con los mecanismos del mismo núcleo donde se encuentra el ADN. Jones A. (2011)

1.4.4 FILTROS ORGÁNICOS

Los filtros orgánicos tienen un mecanismo de acción muy diferente al de los filtros inorgánicos; por medio de anillos aromáticos conjugados que hacen parte de su estructura, y de la excitación y posterior estabilización de electrones, convierten la radiación en calor. Están divididos en filtros contra UVB y contra UVA.

TABLA No 1. CLASIFICACION DE LOS FILTROS SOLARES DE ACUERDO AL TIPO DE RADIACIÓN UV.

Filtros para UVB	Filtros para UVA
PABA	
Éster de PABA	Benzofenonas.
Salicilatos	Oxibenzona.
Octocrileno.	Avobenzona.
Ensulizol (ácido fenol-benzimidazol sulfónico).	Ecamsule (mexoril SX). Bisotrizol(metileno-bis-benzotriazolil-tetrametilbutilfenol). Tinosorb S (bis-etil-hexil-oxifenol-metoxifenol triazina). Octil triazona (etil-hexil-triazona). Isoamilo metoxicinamate (amiloxato). Metil-benzilideno alcanpfor (enzacameno). Dietil-hexil-butamido triazona (iscotrizinol).

FUENTE: <http://apps.elsevier.es2010>

1.4.4.1 PABA

El ácido para-amino-benzoico, más comúnmente conocido como PABA, es un agente usado en las pantallas solares, funciona reflejando los rayos ultravioletas del sol y convirtiendo la energía de la luz solar en calor. El PABA ha sido también usado por vía oral para el tratamiento de la constipación, otros desórdenes gastrointestinales y para ayudar a reducir los síntomas del vitiligo, una enfermedad que se caracteriza por la pérdida del pigmento en zonas aleatorias de la piel.

1.4.4.1.1 Efectos adversos del PABA

Las reacciones leves más comunes consisten en erupciones, sudoración, picazón y enrojecimiento. El PABA usado directamente sobre la piel contribuye a la liberación de radicales libres del oxígeno los cuales se ha demostrado que favorecen el desarrollo de cáncer. De acuerdo con el centro de información sobre salud natural, las pantallas a base de PABA dañan el ADN, aumentando el riesgo de cánceres relacionados con la piel. Finalmente, las pantallas a base de PABA solo protegen contra el carcinoma, dejando a los usuarios desprevenidos expuestos al melanoma, otra forma de cáncer de piel que puede ser fatal. Se ha demostrado recientemente que podría provocar cáncer en las personas que lo usan. Pino L. (2009)

1.4.5 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PROTECTORES SOLARES

Los filtros solares se dividen en químicos y no químicos en los químicos el componente activo es el carbono y, en los no químicos, es inorgánico (sin carbono). El grupo de protectores no químicos incluye agentes pigmentarios que forman una capa visible sobre la piel, también llamados pantallas solares. En su mecanismo de acción se utilizan dos procesos: dispersión y absorción. Los protectores solares tienen sustancias que actúan mediante ambos mecanismos.

- **DISPERSIÓN**

Ocurre cuando los rayos ultravioleta chocan contra una película o pantalla que desvía su trayectoria, lo cual permite que se disipe en el entorno, por ejemplo, las pantallas solares.

- **ABSORCIÓN**

En este caso, las moléculas del protector solar absorben la radiación ultravioleta. Implica la incorporación de energía en la estructura del protector. Los fotones son absorbidos hasta alcanzar la piel y conducidos en forma de calor.

1.4.6 FACTOR DE PROTECCION SOLAR (FPS)

El factor de protección solar se define como el tiempo de exposición solar necesario para producir eritema mínimo detectable en la piel; se compara el efecto sin ningún tipo de protección con el efecto con el filtro solar. Una persona que presenta eritema y signos de quemadura con una hora de exposición solar, al usar un filtro con factor de protección solar 4 (FPS 4) desarrollaría eritema sólo al exponerse al sol durante cuatro horas seguidas. La FDA aprobó la determinación del factor de protección solar FPS como la técnica de referencia para valorar la eficacia de los protectores solares contra la quemadura solar. (30) (48)

El factor de protección solar mide principalmente la protección frente a la UVB. El FPS 25 protege contra el 92% de la UVB, en comparación con el FPS 30 que protege contra más del 97,5% y un FPS 50 bloquea el 99 por ciento. Se considera que un protector solar debe tener, por lo menos, un FPS 30+ y que, al adicionarle filtros UVA, se potencia su eficacia contra el espectro de radiación ultravioleta. No hay consenso sobre la medición del factor de protección contra la UVA. En algunos países han adoptado diferentes guías para determinarlo, métodos in vitro por medio de espectrofotometría y métodos in vivo (psoraleno más exposición a UVA), pero todos determinan la pigmentación inmediata o tardía. En Japón se determina la pigmentación tardía con un método in vivo y, al final, el protector se clasifica en tres categorías. En los Estados Unidos, se combinan ambas pruebas, in vivo e in vitro, para un total de cinco categorías: ninguna, baja, mediana, alta y muy alta.

Para establecer que un protector solar es de amplio espectro UVA, debe brindar protección contra una longitud de onda de 370 nm, por lo menos, y la pigmentación tardía debe corresponder a un factor de protección UVA superior a 4. La mayoría de los filtros solares con un FPS de 15 o mayor, hacen un excelente trabajo de protección contra los rayos UVB. El modelo del FPS tiene ciertos puntos a considerar; en primer lugar, ningún protector solar, independientemente de su capacidad, continúa siendo eficaz sin reaplicarse cada dos horas, en segundo lugar, el enrojecimiento de la piel es una reacción a los rayos UVB y dice poco sobre el daño que los rayos UVA puedan hacer.

Se ha presentado mucha controversia sobre la forma como se determina dicho factor de protección, debido a que no se evalúa el espectro de acción para la inducción del cáncer de piel en humanos. Otro punto es que la determinación del factor de protección solar se hace sólo con la aplicación cutánea de 2 mg/cm^2 , pero algunos estudios han demostrado que las personas realmente no usan esa dosis e, inclusive, usan en promedio menos de $1,5 \text{ mg/cm}^2$. Esto demostraría que la protección solar es significativamente menor. (30) (48)

1.5 EXTRACTOS VEGETALES

Es una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología. Un extracto siempre está constituido por una variedad de compuestos químicos de mayor o menor complejidad y son estos componentes los que interactúan con una gran diversidad de moléculas biológicas que pueden ser receptores de la membrana celular, citoplasmáticos, sistemas transportadores de iones, enzimas etc. Esta característica determina entonces que los fitofármacos no actúan por fuerzas inexplicables o desconocidas. Según la OMS el 25% de los fármacos comercializados actualmente son de origen vegetal y un 25% contiene principios vegetales modificados químicamente, está establecido que actúan por las mismas vías que lo hacen los medicamentos llamados convencionales y no pocas veces, a través de varias vías simultáneas, en lo que se denomina

acción sinérgica. Actualmente se considera como una referencia indispensable para determinar la calidad para el empleo de las mismas, especialmente cuando van a ser empleadas en medicamentos fitoterápicos o especialidades farmacéuticas. Así mismo, es una herramienta muy útil para determinar absorción de sustancias tóxicas por las plantas, residuos de plaguicidas, y las posibles consecuencias derivadas de procesos de contaminación atmosférica, de las aguas o de los suelos. En taxonomía vegetal, permite la identificación química de especies y quimiotipos, el número de sustancias químicas sintetizadas en el laboratorio que se pueden utilizar por su toxicidad o efectos secundarios aumenta constantemente, por lo tanto en la naturaleza se pueden obtener nuevas estructuras, con actividad terapéutica. (2) (31)

1.5.1 CLASIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Dependiendo del grado de concentración de los extractivos, los extractos pueden clasificarse en:

- a) Extractos fluidos o líquidos
- b) Extractos semisólidos o blandos
- c) Extractos secos

1.5.2 PROCESO PARA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal. Por ejemplo: (15) (31)

- **Naturaleza química de la materia prima vegetal:** Conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer.

- **Selección del solvente:** Definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés.
- **Relación sólido-líquido:** La proporción más conveniente de trabajo será aquella con la que se alcancen los mayores rendimientos de extracción.
- **Tamaño de partícula del sólido:** De la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida el éxito de la lixiviación, a menor tamaño de partícula, mayor superficie de contacto entre la droga y el disolvente, y por tanto, mayor acceso de los principios activos al medio líquido; no obstante, tamaños de partícula muy pequeños conducen a la formación de polvos demasiado finos, que pueden causar problemas en el proceso de extracción.
- **Temperatura:** El aumento de la temperatura favorece la extracción, hay que prestar especial atención cuando la sustancia de interés es termolábil o el menstruo es volátil, además, temperaturas elevadas pueden conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables.
- **Velocidad de agitación y tiempo de extracción:** Los óptimos valores de estos parámetros serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones.
- **Viscosidad del medio:** No deben seleccionarse solventes de viscosidad relativamente alta.

El extracto vegetal obtenido se debe caracterizar en cuanto a: sustancias activas y marcadores, densidad, solventes residuales, sólidos totales, pH, control microbiológico y volumen total. (2)

1.5.3 DROGAS VEGETALES

La palabra “droga” tiene varias definiciones, según sea el campo en el que se utilice. En el caso de la fitoterapia, se considera que una droga es aquella parte de una planta que produce un efecto biológico sobre el organismo. Definir droga vegetal como “la planta entera o partes de éstas frescas o convenientemente desecadas que pueden utilizarse como materia prima para la elaboración de formas farmacéuticas o para la obtención de extractos utilizables en terapéutica”.

1.6 FLAVONOIDES EN PLANTAS

Es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides. Los flavonoides aparecieron por primera vez en los ancestros de las embriofitas, que comprende al grupo monofilético de todas las plantas terrestres (musgos, helechos, gimnospermas y angiospermas). Se cree que fueron una de las adaptaciones clave para la transición a la vida terrestre desde el alga verde ancestral, debido a su capacidad de absorber la radiación ultravioleta, mucho más intensa en la atmósfera que en el agua.

1.6.1 BIOSÍNTESIS

La vía biosintética de los flavonoides comienza cuando la fenilalanina, por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) se transforma en ácido cinámico, que luego es transformado en ácido p-cumarínico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel de anillo aromático, y la acción de una CoA ligasa lo transforma en cumaril-SCoA, el precursor de la mayoría de los fenoles de origen vegetal, entre los que se encuentran los flavonoides.

La vía del ácido shikímico se inicia en los plastos por condensación de dos productos fotosintéticos, la eritrosa 4-P con el fosfoenolpiruvato (PEP), y por diversas modificaciones

se obtiene el ácido shikímico, del cual derivan directamente algunos fenoles en los vegetales. Pero la vía del ácido shikímico normalmente prosigue, y la incorporación de una segunda molécula de PEP conduce a la formación de fenilalanina.

1.6.2 REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS

- La vía del ácido shikímico es dependiente de la luz.
- La acción de la fenilalanina amonioliasa, que inicia la vía biosintética de los flavonoides, es fundamental para la vida de las plantas y por ello está estrictamente regulada. Entre otros factores, la fenilalanina amonioliasa es activada por la luz, y depende además de la concentración de diferentes hormonas vegetales. La actividad de la fenilalanina amonioliasa suele aumentar cuando a los vegetales se les somete a situaciones de estrés, como puede ser la falta de agua ("estrés hídrico"), infecciones fúngicas o bacterianas, radiaciones UV, y el frío (por esto último las plantas sometidas a bajas temperaturas suelen presentar coloraciones rojizas en tallos y hojas, y cuando los inviernos son muy fríos, las flores desarrollan colores muy intensos en la primavera siguiente).
- Hay isozimas dedicadas a la producción de flavonoides diferentes en respuesta a señales ambientales diferentes.

1.6.3 FUNCIONES EN LAS PLANTAS

- **Protección ante la luz UV:** Los flavonoides incoloros suelen acumularse en las capas más superficiales de las plantas y captan hasta el 90% de las radiaciones UV, impidiendo los efectos nocivos de estas radiaciones en los tejidos internos.
- **Defensa ante el herbivorismo.** Algunos flavonoides como los taninos, protegen a las plantas generando sabores desagradables para los herbívoros, principalmente amargos, o texturas que pueden resultar desagradables para los herbívoros, que se ven estimulados a elegir otras plantas. (2)

1.6.4. APLICACIONES EN MEDICINA

Los flavonoides consumidos por el hombre le protegen del daño de los oxidantes, como los rayos UV (cuya cantidad aumenta en verano); la polución ambiental (minerales tóxicos como el plomo y el mercurio); algunas sustancias químicas presentes en los alimentos (colorantes, conservantes, etc). Como el organismo humano no tiene la capacidad de sintetizar estas sustancias químicas, las obtiene enteramente de los alimentos que ingiere.

Al limitar la acción de los radicales libres (que son oxidantes), los flavonoides reducen el riesgo de cáncer, mejoran los síntomas alérgicos y de artritis, aumentan la actividad de la vitamina C, bloquean la progresión de las cataratas y la degeneración macular, evitan las tufaradas de calor en la menopausia y combaten otros síntomas.

En general el sabor es amargo, llegando incluso a provocar sensaciones de astringencia si la concentración de taninos condensados es muy alta. El sabor puede variar dependiendo de las sustituciones presentadas en el esqueleto llegando incluso a usarse como edulcorantes cientos de veces más dulces que la glucosa. (4)

1.7 MARACUYÁ (*Passiflora edulis*)



FUENTE: <http://www.hort.purdue.edu>

FOTOGRAFÍA No1 PLANTA DE MARACUYÁ

1.7.1 CLASIFICACION CIENTIFICA.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Violales

Familia: Passifloraceae

Género: Passiflora

Especie: *P. edulis*.

1.7.2 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

La pasionaria es una planta trepadora; puede alcanzar los 9 metros de longitud en condiciones climáticas favorables, aunque su período de vida no supera por lo general la década. Las raíces, como es habitual en las trepadoras, son superficiales fibrosas, fasciculadas, con una raíz primaria de escaso crecimiento, de la que se derivan un gran número de raíces secundarias. Las raíces se suelen distribuir en los primeros 50 cm de suelo, encontrándose la mayor densidad en los primeros 30 cm.

Su tallo es rígido y leñoso, cilíndrico, estriado y voluble, dando soporte a la planta y con la misión de almacenar agua, la escalada por medio de zarcillos.

Las hojas alternas, siempre verdes, profundamente 3-lobado en la madurez, son finamente dentadas, 3 a 8 pulgadas (7,5-20 cm) de largo, por debajo de lo anterior, más pálido y sin brillo de color verde oscuro y brillante, y, al igual que los tallos jóvenes y los zarcillos, teñida de color rojo o púrpura, especialmente en la forma amarilla.

Una sola flor, fragante, de 2 a 3 pulgadas (5-7.5 cm) de ancho, se confirma en cada nodo en el nuevo crecimiento. La flor, enmarcada por las 3 grandes brácteas verdes, como hojas, consta de 5 sépalos de color blanco verdoso, 5 pétalos blancos, una corona, de punta blanca, púrpura rayos ricos en la base, también 5 estambres con anteras grandes, los ovario y de tres brazos estilo de la formación de una estructura central prominente. La flor del amarillo es el más llamativo, con un color más intenso La apariencia de la flor, similar a una corona de

espinas, indujo a los colonizadores españoles a denominarla *el fruto de la pasión*; su estructura pentarradial recibió una interpretación teológica, con los cinco pétalos y cinco sépalos simbolizando a los diez apóstoles (doce, menos Judas Iscariote y Pedro), mientras que los cinco estambres representarían los cinco estigmas. Finalmente, los tres pistilos corresponderían a los clavos de la cruz.

El fruto casi esférico u ovoide, (4-7.5 cm) de ancho, tiene una corteza dura, lisa, cerosa, que van en el tono del púrpura oscuro con manchas tenues, blancas y finas, de color amarillo claro o de calabaza de color. Se trata de 1/8 pulgada (3 mm) de espesor, adherida a una capa de 1/4 pulgada (6 mm) de la parte blanca. Dentro de una cavidad más o menos lleno de una masa aromática de doble pared, sacos membranosos llenos de color naranja, jugo de pulpa y nada menos que 250 pequeñas, duras, de color marrón oscuro o negro, semillas picadas. El sabor es atractivo, almizclado, como guayaba, sub-ácido a ácido

El epicarpio está formado por varias capas de células cortas y de paredes muy gruesas y amarillas y, aunque miden menos de 1mm de espesor, le dan una gran solidez a la fruta. El mesocarpio es blanco y esponjoso, seco, de 5 mm de grosor. El epicarpio duro y el mesocarpio seco favorecen el almacenamiento y transporte de la granadilla.

Las semillas son planas, elípticas, negras y rodeadas de un arilo transparente y gelatinoso que se constituye en la parte comestible. (36)

1.7.3 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN.

La Maracuyá (*Passiflora edulis*), perteneciente a la familia Passifloraceae es una planta trepadora nativa de las regiones subtropicales de América, Perú, Argentina, Uruguay, Bolivia, Brasil, Ecuador, Perú, Colombia, Venezuela. Se ha dicho que la forma amarilla es de origen desconocido, o tal vez originario de la región amazónica de Brasil, o es un híbrido entre *P. edulis* y *P. ligularis*.

Es una planta que crece y se desarrolla muy bien en zonas tropicales; requiere invariablemente más de 1000 mm anuales de lluvia y protección del viento y las heladas, pero es por lo demás más rústica maracuyá amarillo es tropical o casi tropical. En Samoa Occidental, se cultiva desde cerca del nivel del mar hasta una altura de 2.000 pies (600m) la maracuyá se cultiva en muchos tipos de suelos, pero ligeros y pesados suelos franco arenosos, de textura media son los más adecuados, y el pH debe ser de 6,5 a 7,5. Si el suelo es demasiado ácido, la cal se debe aplicar.

1.7.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

Contiene calcio, fosforo, vitamina c, por lo que es un gran preventivo, ya que fortalece el sistema inmunológico contra enfermedades respiratorias El estudio fitoquímico de *Passiflora edulis* (*Pasiflorácea*) demuestra la presencia de glucósidos, entre ellos passiflorina glucósidos flavonoides como luteolina-6-C-chinovósido, glucósidos cianogénicos; alcaloides como harman; triterpenos y saponinas fenoles, carotenoides, antocianinas, ácido L-ascórbico, lactonas, ésteres, aceites volátiles, eugenol, amino-ácidos, carbohidratos y minerales. (25)

1.7.5 PROPIEDADES TERAPÉUTICAS

La pulpa, el zumo, las flores y la infusión de las hojas del maracuyá tienen un efecto relajante. Mucho más pronunciado en el caso de la infusión, la cual puede utilizarse como sedante ligero o como calmante para dolores musculares o cefaleas. Debido a que contiene varios alcaloides, entre ellos el harmano y el harmol, en dosis normales, una o dos tazas de infusión al día, ayudan a conciliar el sueño y puede tener además efectos antiespasmódicos. Es recomendado también en caso de espasmos bronquiales o intestinales de origen nervioso, así como para los dolores menstruales. Posee también un ligero efecto vasodilatador, reduciendo la tensión arterial, lo cual aligera el trabajo al corazón. Aunque no se recomienda su utilización regular a fin de evitar efectos tóxicos.

El fruto de la pasión contiene polifenoles, estos tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. También es un efectivo energizante, por esta razón aumenta el metabolismo para la eliminación de las grasas depositadas en los tejidos, motivo por el cual es utilizado como un práctico adelgazante. Además, contiene una cantidad elevada de fibra, que mejora el tránsito intestinal y reduce el riesgo de ciertas alteraciones y enfermedades. (41)

- **Contraindicaciones**

La pasiflora no puede combinarse con medicamentos con propiedades similares, como tranquilizantes, ansiolíticos, antihistamínicos, medicamentos para dormir, etc. Igualmente su uso resulta contraindicado en bebés o niños, mujeres embarazadas o lactantes. Las mujeres lactantes proporcionan los principios de esta planta a través de la leche. La presencia de alcaloides uterotóxicos no la hacen adecuada para usarla durante el embarazo o la lactancia. El uso de esta planta podría producir reacciones adversas en personas alérgicas. (26)

1.8 CINAMATOS.

Es el filtro UVB más usado en Estados Unidos. Es soluble en agua, tiene un bajo potencial irritante y se usa frecuentemente en cosméticos con protector solar. Hay de dos tipos: octinoxato (octil-metoxi-cinamato, o OMC, parsol MCX) y cinoxato (2-etoxi-etil-p-metoxicinamato).

El octinoxato (OMC) es el filtro más usado en los protectores solares, con un pico de acción sobre longitudes de onda hasta 320 nm (UVB); la eficacia del OMC puede aumentar cuando es encapsulado en microesferas de polimetilmetacrilato. El cinoxato cubre un espectro de hasta 289 nm y es un filtro poco usado. (10)

1.9 ISHPINGO (*Ocotea quixos*)



FUENTE: <http://lagranja.ups.edu.ec> 2012

FOTOGRAFIA No 2 PLANTA DEL ISHPINGO

1.9.1 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laurales

Familia: Lauráceae

Género: *Ocotea*

Especie: *O. quixos*. (9)

1.9.2 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

El Ishpingo es un árbol perenne del Ecuador que mide entre 2 y 5 metros de altura, raíces zancudas, con nodos unilacunares y con 2-3 rastros foliare. Su tallo es rígido y leñoso, cilíndrico, voluble anchamente ramificado, corteza generalmente lisa, frecuentemente con pequeñas lenticelas.

Hojas lanceoladas con olor muy agradable similar a la goma Dente, peciolo 0.9-1.5 cm de longitud láminas de 14.5-23.5 cm de longitud por 3.5-6.0 cm de ancho, base cuneada, ápice apiculado, margen entero, haz glabara, verde oscuro y envés glabro, verde claro.

Flor blanco verdosa, escamas del disco pardo-negras, anteras amarillo-claras cáliz de 6 sépalos, persistente hasta maduración del fruto, concrecente. Fruto de 4 cm de longitud oval con una semilla grande. Las semillas son aproximadamente $\frac{3}{4}$ de pulgada de diámetro. (8)

1.9.3 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

El Ishpingo (*Ocotea quixos*) perteneciente a la familia Laurácea es un árbol que se encuentra en Sur América el hábitat natural de este árbol es el bosque húmedo tropical de la Amazonía ecuatoriana, encontrándose entre 310 y 1.250 msnm de altitud y destacándose por ser endémico de este lugar crece generalmente en un suelo de riqueza ligeramente ácida.

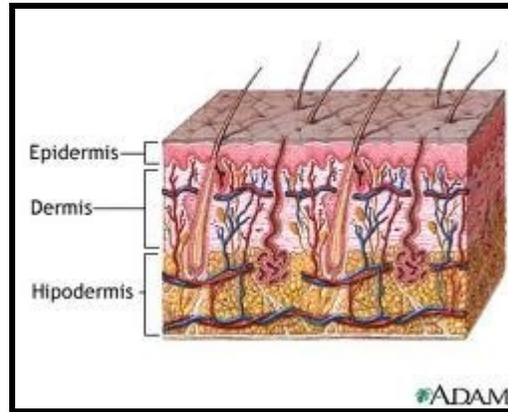
1.9.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

Contiene canfeno, benzaldehído, terpinolen, cimeno, linalol, hidroxicinemaldehído, bornil alcohol, 4 terpineol, α terpineol, cinemaldehído, acetol, ciclosativeno, α copaeno, cinamato de metil. (23)

1.10 PIEL

La piel se define, no sin razón, como el mayor órgano funcional del cuerpo humano; cubre un área de 1,5 a 2 metros cuadrados en un adulto medio. A lo largo de la vida, las tareas que tiene que realizar son enormemente variadas, entre ellas, proteger el medio interno de los efectos destructivos del medio exterior y establecer la comunicación entre ambos.

1.10.1 CAPAS DE LA PIEL



FUENTE: <http://www.alfinal.com/cent/semana2.php>

FIGURA No 1. CAPAS DE LA PIEL HUMANA

- **Epidermis:** La epidermis es la capa más externa y está formada por cinco estratos celulares. El más interno, el estrato basal, se halla dispuesto a modo de empalizada y se está dividiendo constantemente. Las células así producidas son empujadas a la superficie, pero, en el camino, su núcleo degenera y las células mueren, dando lugar al estrato más exterior o estrato córneo. Este, de un espesor de veinticinco a treinta células muertas, contiene una proteína insoluble e indigerible llamada queratina, que es también el principal componente del pelo y las uñas. La producción de queratina es diferente en las distintas zonas del cuerpo; por ejemplo es mucho mayor en las palmas de la mano y las plantas de los pies, donde la presión y el roce son mayores.

El estrato lúcido, el quinto, sólo se encuentra, pues, en estas áreas engrosadas. Sus células contienen eleidina, sustancia transparente o “lúcida” formada por queratohialina, a partir de la cual se produce la queratina. La queratina se dispone en un entramado laxo que permite gran movilidad particularmente en los animales en los que forma escamas, pero que, al mismo tiempo, impide la penetración de bacterias, la absorción de agua exterior o la pérdida del agua corporal a través de la evaporación. Justamente encima de la capa más interna, ocho o diez filas de células poligonales con aspecto espiculado constituyen el estrato espinoso. Al

igual que el estrato basal, éste contiene también melanina, pigmento que forma gránulos que se van fragmentando a medida que la célula asciende a la superficie para desprenderse finalmente con la queratina. La melanina protege la piel contra la exposición excesiva a los rayos ultravioleta, cuya energía es absorbida por el pigmento, que se oxida y se vuelve más oscuro. Este proceso es el responsable del “bronceado” cuando uno se expone al sol durante cortos periodos. Si las células llegan a dañarse por una exposición excesiva, los *melanocitos* se estimulan, producen más melanina y con ello un bronceado más oscuro.

En la piel clara de los pueblos nórdicos, la melanina se localiza en los dos primeros estratos, mientras que en los originarios de climas tropicales se encuentra en todos los estratos. Algunos pueblos orientales, como los chinos, tienen en el estrato córneo y en la dermis otro pigmento, llamado caroteno, que confiere a la piel su característico color amarillo. El tercer estrato de la epidermis está compuesto por dos o tres capas de células que son la fuente de la queratina. Contienen gránulos de queratohialina a los que el estrato debe su nombre: estrato granuloso. La epidermis se halla en constante actividad reponiendo las capas que van desprendiéndose, lo que constituye un importante factor en el proceso de curación de las heridas o en el crecimiento de un trasplante cutáneo. La epidermis es exclusivamente celular, y la nutrición de los cinco estratos corre a cargo de los líquidos tisulares que difunden hacia arriba desde los espacios intercelulares de la dermis, situada debajo.

- **Dermis:** La dermis contiene los medios de nutrición, comunicación y control de temperatura de la piel. Consta de dos capas; la superior está irrigada por abundantes vasos sanguíneos que se extienden en todas direcciones en la trama de colágeno y elastina del tejido conjuntivo. El colágeno está constituido por haces de proteína fibrosa y algunos poseen también elastina, proteína que confiere elasticidad a la piel. Al parecer, los espacios entre estos haces están rellenos de una sustancia acuosa. Esta capa superior se llama capa papilar porque su superficie se halla aumentada extraordinariamente mediante papilas, pequeñas elevaciones parecidas a dedos y semejantes a las vellosidades del intestino delgado. Como los estratos de la epidermis están dispuestos encima de estas elevaciones, el

más exterior se halla estructurado en una serie de surcos y crestas que reciben el nombre de crestas epidérmicas y que, además de modificar la apariencia externa de la piel, originan las diferencias fácilmente detectables de las huellas dactilares de los distintos individuos. (21)

- **Hipodermis:** Por debajo de la dermis se halla la hipodermis que es la capa adiposa de la piel. Es en ésta capa donde se acumula la grasa del organismo que da el aspecto de obesidad o delgadez. También la grasa se acumula en las vísceras abdominales y alrededor del corazón. La grasa es la reserva energética del organismo, ya que en situaciones de carencia alimentaria aporta liberación de ácidos grasos que son transformados en energía. Los adipocitos o células grasas se distribuyen de manera distinta en la mujer y en el hombre. En las mujeres, los adipocitos predominan en la zona de los glúteos y de los muslos, en los hombres, se encuentran más bien en la zona abdominal, en la hipodermis, se encuentran las glándulas sudoríparas y los folículos pilosos a los que están unidas las glándulas sebáceas. (34)

1.11 FOTOTIPO

El fototipo es un ser humano al cual se le clasifica en los diferentes tipos de piel en función de su reacción a la luz del sol, esta reacción depende del color de la piel (blanca, morena o negra) y el resultado de la exposición a la radiación ultravioleta (bronceado). En sí el fototipo es la capacidad de adaptación al sol que tiene cada persona desde que nace, es decir, el conjunto de características que determinan si una piel se broncea o no, y cómo y en qué grado lo hace. Cuanto más baja sea esta capacidad, menos se contrarrestarán los efectos de las radiaciones solares en la piel. Hay diferentes formas de clasificar los fototipos cutáneos la más utilizada es la del Dr. T. Fitzpatrick en el cual los clasifica en seis fototipos, en función de las quemaduras solares y la capacidad de bronceado. (18)

1.11.1 CARACTERÍSTICAS FOTOTIPOS.

TABLA No 2 CARACTERÍSTICAS FOTOTIPOS

FOTOTIPOS	Acción del sol sobre la piel (no protegida)	Características pigmentarias
Fototipo I	Presenta intensas quemaduras solares, casi no se pigmenta y se descama de forma ostensible.	Individuos de piel muy clara, ojos azules, pelirrojos y con pecas, piel. de color blanco-lechoso
Fototipo II	Se quema fácil e intensamente y descama de forma notoria.	Individuos de piel clara, pelo rubio, ojos azules y pecas, piel, blanca.
Fototipo III	Se quema moderadamente y se pigmenta correctamente.	Razas de piel blanca, personas de pelo castaño claro, ojos marrones de piel clara que se broncea en la mayoría suelen ponerse morenos tras sus exposiciones solares.
Fototipo IV	Se quema moderadamente o mínimamente.	Individuos de piel morena, pelo castaño oscuro, los ojos marrones.
Fototipo V	Raramente se quema, pigmenta con facilidad e intensidad	Individuos que tienen la piel oscura, al igual que los ojos y el pelo
Fototipo VI	No se quema y pigmenta intensamente	Raza negra

FUENTE <http://apps.elsevier.es>

1.12 PARÁMETROS ÉTICOS QUE DEBE REGIR LA EXPERIMENTACIÓN CON SUJETOS HUMANOS

- La investigación y la experimentación científica sobre el ser humano constituyen un derecho y un deber de la comunidad científica y biomédica, la experimentación científica constituye una importante vía de progreso de los conocimientos sobre la naturaleza humana. Estos conocimientos deben ser aprovechados para incrementar el bienestar, la salud y la calidad de vida del ser humano, tiene una obligación de respeto a la integridad del ser humano y a la dignidad de la persona. En la investigación sobre el ser humano, los intereses de la ciencia y de la sociedad nunca podrán prevalecer sobre el bienestar del sujeto. Debe respetarse siempre el derecho del sujeto a proteger su integridad. Deberán tomarse todas las precauciones para preservar la integridad física y psicológica de las personas que participan como sujetos experimentales.
- La experimentación con seres humanos que pueda suponer riesgos o molestias para los sujetos sólo debe realizarse cuando no existan procedimientos alternativos de eficacia comparable. La investigación biomédica en seres humanos debe concordar con las normas éticas y científicas comúnmente aceptadas y se basará en la evaluación de los riesgos sobre la base de experimentos previos, correctamente realizados en el laboratorio y sobre animales, y en un conocimiento razonable de las posibles consecuencias del experimento.
- No podrá hacerse ningún experimento con una persona, a menos que no exista un método alternativo al experimento con seres humanos de eficacia comparable.
- Proporcionalidad entre beneficios y riesgos de la investigación, los riesgos o molestias que conlleven la experimentación sobre seres humanos no serán desproporcionados ni supondrán merma de la conciencia moral o de su dignidad. En el caso de la investigación

biomédica, la importancia de los objetivos será proporcionada al riesgo que por ella corren los sujetos.

- Todo proyecto de investigación biomédica en seres humanos debe estar precedido de un cuidadoso cálculo de los riesgos previsibles y de su comparación con los beneficios que puedan derivarse para el sujeto de la investigación y para otros individuos.
- La preocupación por los intereses de la persona investigada deberá prevalecer siempre sobre los intereses de la ciencia y de la Comité Ético de Experimentación.
- Deberá ser suspendida cualquier investigación o experimento si se encuentra que los riesgos son superiores a los beneficios calculados.
- Las directrices éticas y la legislación, establecen una distinción fundamental entre la investigación biomédica en la que se propone el diagnóstico y tratamiento de un paciente y aquella otra que persigue un fin puramente científico y que no supone un beneficio directo, diagnóstico o terapéutico, para la persona sometida a esa investigación.
- En la apreciación de la proporcionalidad entre posibles riesgos y beneficios derivados de la investigación deberá tenerse en cuenta el que los potenciales resultados de la investigación vayan a redundar o no en beneficio directo para la salud de los sujetos participantes.
- Participación voluntaria, libre e informada de los sujetos, la participación en toda investigación o experimento implicará el consentimiento libre e informado del sujeto de experimentación después de recibir la información adecuada acerca de la naturaleza y finalidad del experimento, los objetivos, los métodos, los beneficios calculados y los posibles riesgos o incomodidades que pueda implicar.
- Los sujetos podrán retirar libremente su consentimiento en cualquier momento, sin que por ello resulten perjudicados.
- En el caso de que los investigadores ofrezcan a los sujetos incentivos o recompensas económicas o de cualquier otro tipo por su participación en la investigación o el experimento, esta no será en ningún caso tan elevada que no pueda ser razonablemente

rechazada por el sujeto. En el caso de los niños, las recompensas que se usen no deben exceder el rango de los que reciben habitualmente.

- En el caso de que participen en la investigación o experimento menores o personas incapacitadas o con la competencia o autonomía disminuidas, el consentimiento lo otorgará siempre por escrito su representante legal o quien tenga el deber de cuidarlo. Deberá también tenerse en cuenta la opinión y los deseos del menor o incapacitado en la medida en que las condiciones del sujeto lo permitan.
- Garantía del derecho a la intimidad de los sujetos, los investigadores tienen el deber de garantizar el derecho a la intimidad de los sujetos. En el trabajo en equipo, cada investigador es responsable de la totalidad del secreto. Todos los participantes en una investigación sobre sujetos humanos guardarán la más estricta confidencialidad de forma que no se viole la intimidad personal ni familiar de los sujetos participantes en la misma. Asimismo deberán tomarse las medidas apropiadas para evitar el acceso de personas no autorizadas a los datos obtenidos en la investigación. Los investigadores tienen la obligación de prever el destino final de los datos de forma que se garantice el anonimato y la intimidad de los sujetos. (39)(40)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Bioquímica, de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Cantón: Riobamba

Provincia: Chimborazo

2.2. MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

- **Población:** En la experimentación utilizamos 10 personas de ambos géneros con características de fototipo III los cuales voluntariamente aportaron para la investigación.

- **Descripción**

Nomenclatura:	
Edad	18-25 años
Sexo	Masculino/femenino
Peso promedio	70 ± 5kg
Características fototipos III	pelo castaño claro, ojos marrones, tono de piel clara
Hábitat	Zona sierra centro Ecuador (Riobamba)

- **Condiciones**

Nomenclatura:	
Temperatura	25 °C±2
Lugar geográfico	Zona sierra centro Ecuador.
Hora del día	Entre 11:30 y 13:30
Altitud	2 754 msnm
Índice UV	14.8

- **Muestra**

- 10 Personas con Fototipo III
- 10 (experimentos netos), (grupo patrón), (grupo control positivo natural), (grupo control positivo químico), (grupo control negativo) cada sujeto será su propio patrón y control positivo.
- En los experimentos netos se procedió a aplicar en cada una de las superficies experimentales las cremas con los extractos hidroalcohólicos de maracuyá (*Passiflora edulis*) e ishpingo (*Ocotea quixos*) y una mezcla de ambos extractos.

2.2.2. MATERIA PRIMA

La materia prima que se utilizó fueron las hojas de maracuyá (*Passiflora edulis.*) y las hojas de ishpingo (*Ocotea quixos*) secas.

La materia vegetal de maracuyá (*Passiflora edulis.*), se lo recolectó en el cantón Bucay Provincia del Guayas a la altura de 137 msnm, y las hojas de ishpingo (*Ocotea quixos*) se adquirió en la ciudad de Macas provincia de Morona Santiago. Identificado por el Ing. Samaniego C. en el vivero Agroforestal TIMIAS de Macas.

2.2.3. MATERIALES Y REACTIVOS PARA EL ESTUDIO FARMACOGNOSICO Y CONTROL DE CALIDAD

- **Materiales**

Vasos de precipitación de 50, 100, 250, 500ml

Pipetas graduadas de 5, 10 ml

Pipetas volumétricas de 1, 5ml

Probetas de 10,50,100,250 ml

Balones aforados de 10,25,50,100 ml

Balones esmerilados de 500,1000 ml

Embudos simples

Embudos de separación de 100, 250 ml

Embudo Buchner

Trípode

Varilla de agitación

Espátula

Tubos de ensayo

Gradilla

Papel aluminio

Cápsulas de porcelana

Crisoles de porcelana

Pipetas Pasteur

Picnómetro

Termómetro

Papel filtro

Vidrio reloj

Pinzas para tubos

Pinzas

Refrigerante

Mangueras

Piceta

- **Reactivos**

Agua destilada

Alcohol 96%

Hexano

Cloroformo

Éter etílico

Reactivo de Dragendorff
Reactivo de Mayer
Reactivo de Baljet
Hidróxido de sodio
Hidróxido de potasio
Amonio al 5% en agua
Anhídrido acético
Ácido sulfúrico concentrado
Solución de carbonato de sodio
Reactivo de Fehling
Cloruro Férrico al 5%
Acetato de sodio
Solución al 2% de Ninhidrina en agua
Ácido clorhídrico concentrado
Magnesio metálico
Alcohol amílico
Reactivo de Sudan III
Metanol

• **Equipos**

Balanza analítica (BOECO)
Estufa (MEMMERT)
Mufla (OPTIC IVYMEN SYSTEM)
Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-VAP)
Densímetro (SELECTA)
Autoclave
pH-metro
Espectrofotómetro
Refractómetro
Congelador
Molino
Desecador

2.3. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

2.3.1 ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LOS PRODUCTOS CON EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*.) ISHPINGO (*Ocotea quixos*)

La comprobación del efecto fotoprotector se desarrolló en base a la técnica COLIPA. (Ver Anexo No. 1)

2.3.1.1 Unidad de observación

Fototipos III personas (*Homo sapiens*), en las cuales se aplicará por vía tópica en la zona anteroposterior del brazo las diferentes formulaciones realizadas con los extractos de maracuyá (*Passiflora edulis*.) e ishpingo (*Ocotea quixos*)

2.3.1.2 Grupos de estudio

TABLA No 3. GRUPOS DE ESTUDIO

GRUPO	TRATAMIENTO	DETALLES DEL TRATAMIENTO
CONTROL	X ₁	Dosis (0mg/cm ² /día) sin extracto
CREMA	X ₂	Dosis (2 mg/ cm ² /día) de crema sin extracto
PLACEBO		
PATRON	X ₃	Dosis (2 mg/ cm ² /día) de crema con FPS15
E ₁	X ₄	Dosis (2 mg/ cm ² /día) de crema con extracto de maracuyá
E ₂	X ₅	Dosis (2 mg/ cm ² /día) de crema con extracto de ishpingo
E ₃	X ₆	Dosis (2 mg/ cm ² /día) de crema con extracto de maracuyá más extracto de ishpingo

2.3.1.3 Diseño experimental

El experimento se procedió con diez fototipos III por tratamiento y seis superficies experimentales de la parte anteroposterior del brazo tres zonas por fototipo experimental, es decir; que para tres tratamientos propuestos se obtuvieron un total de 30 variantes por lote experimental.

2.3.1.4 Protocolo Experimental

- **Preparación de extractos**

Los extractos hidroalcohólicos se obtuvieron en el Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH tras corroborar su composición por el análisis cualitativo y cuantitativo por espectrofotometría. Los extractos de las hojas de maracuyá e ishpingo fueron añadidos a dos cremas base cada una y posteriormente la mezcla de los dos extractos se añadió a una tercera crema base a una concentración del cien por ciento; para administrar a tres zonas diferentes; por vía tópica.

- **Proceso experimental**

Para el estudio se utilizó personas fototipos III cuyo peso corporal oscilaba entre 70 ± 5 kg. Los fototipos III estuvieron sin aplicación de fotoprotectores durante 15 días para adecuar la piel para condiciones de laboratorio. La temperatura se mantuvo en 25 ± 2 °C, índice UV 14.8 por dos horas de radiación (UV.) proveniente del sol datos provenientes de la Agencia civil espacial ecuatoriana del día 28 de Noviembre.

Toda la manipulación de los fototipos se realizó de acuerdo con los principios éticos para el uso de humanos en laboratorio.

Posterior al periodo de estabilidad de la piel, un total de 10 fototipos III fueron escogidos al azar en un grupo experimental (10 voluntarios en el grupo), cantidad que se encuentra dentro de lo recomendado para este ensayo.

Se procedieron a un proceso donde se evaluó la superficie experimental de la piel para valorar la presencia de eritema mediante una tira colorimétrica (nivel de eritema por color de piel)

Posterior a la evaluación de la presencia de eritema de todos los fototipos III pertenecientes al grupo de estudio se dio inicio al tratamiento el cual se extendió por 12 horas.

El tratamiento se realizó de la siguiente forma:

- Grupo1 superficie experimental 1 (“Control”): Sin crema.
- Grupo1 superficie experimental 2 (“Patrón”): Tratado con crema sin extractos (2mg/cm²/día)
- Grupo1 superficie experimental 3 (“Placebo”): Tratado con la crema patrón con FPS 15.
- Grupo1 superficie experimental 4 (“Problema I”): Tratado con crema con extracto de maracuyá (2mg/cm²/día).
- Grupo1 superficie experimental 5 (“Problema II”): Tratado con crema con extracto de ishpingo (2mg/cm²/día).
- Grupo1 superficie experimental 6 (“Problema III”): Tratado con crema con extracto de maracuyá e ishpingo (2mg/cm²/día).

Los productos se administraron por vía tópica, en volúmenes equivalentes a 2mg **ml**.

En el periodo experimental se procedió a observar a todos los fototipos de experimentación cada quince minutos se evaluó el eritema en función al test colorimétrico.

Luego los fototipos estuvieron bajo observación para determinar que no exista la presencia de insolación.

TABLA No4. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL

GRUPOS	Nivel de Eritema (test colorimétrico)	Tratamiento, Administración de crema sin extracto, fotoprotector comercial, y de la crema con extractos (mg/cm²/día)	Evaluar la presencia de eritema en función del tiempo (e/t)
FG1	Ei	X1	Ef
FG1	Ei	X2	Ef
FG1	Ei	X3	Ef
FG1	Ei	X4	Ef
FG1	Ei	X5	Ef
FG1	Ei	X6	Ef

FUENTE: CAZORLA M. 2012

Dónde:

F= Para asignar al azar o aleatoriamente

G= Para determinar el grupo de sujetos los cuales corresponden a fototipo III (*Homo sapiens*), con un peso entre 70 ± 5 kg, que han sido controlados en impedir el uso de fotoprotectores por un lapso de 15 días para obtención de resultados adecuados.

Ei=Determinación de los niveles de eritema inicial (No hay presencia de eritema).

X= Tratamiento administrado por vía tópica a través de micropipeta 10ul con dosis específica.

Ef=Determinación del eritema leve (Presencia de coloración rojiza en piel).

2.3.2 ESTUDIO FOTOPROTECTOR

Se realizó el estudio fotoprotector, para lo cual se administró por vía tópica a los individuos las dosis antes mencionadas una sola ocasión y se evaluó su comportamiento cada 15 minutos con el test colorimétrico después de 3 horas. Durante estas 2 horas el humano estuvo provisto de alimento y agua para evitar la deshidratación.

2.3.3 ANÁLISIS DESCRIPTIVO (Tablas de frecuencias)

- Se aplicó el análisis descriptivo ya que se llevó a cabo con el único objetivo de describir una o más características de una población específica ya que en este tipo se hallan la serie de casos que es el estudio que se remite solamente a la descripción de una o más condiciones de interés, limitadas a un grupo de pacientes y en el que no se establecen con una población de referencia. Conjuntamente con las tablas de frecuencias se añadió más columnas según los cálculos y la información que se necesitó. Podemos ir completando la tabla con las frecuencias absoluta y relativa.

- Donde la frecuencia absoluta fue el número de veces que apareció cualquier valor de la variable que es la presencia del eritema. Se representó por f_i .

- La frecuencia relativa fue entonces el cociente entre la frecuencia absoluta y el número de datos (N). Se representó por h_i . Al multiplicarla por 100 obtenemos el porcentaje de individuos que presentan esta característica.

Como se puede leer se han tenido en cuenta las variables cualitativas por lo que únicamente tendría sentido en la tabla construir las columnas de frecuencias absolutas y relativas, pero no las acumuladas.

La hipótesis nula del análisis descriptivo es:

- Ho: Los extractos de las hojas de la maracuyá (*Passiflora edulis*), ishpingo (*Ocotea quixos*) conjuntamente no presentan mejor efecto fotoprotector en fototipos III (*Homo sapiens*) que los extractos individuales.
- H1: Al menos uno de los extractos Hidroalcohólico de las hojas de maracuyá (*Passiflora edulis*), ishpingo (*Ocotea quixos*) presenta actividad fotoprotectora en fototipos III (*Homo sapiens*).
- Esta prueba se lo realizó con gráfico de columnas que consiste en dos ejes perpendiculares y una barra o rectángulo para cada valor de la variable. Normalmente, se suele colocar en el eje horizontal los valores de la variable (aunque también se puede hacer en el vertical). El otro eje se gradúa según los valores de las frecuencias. La representación gráfica consiste en dibujar una barra o un rectángulo para cada uno de los valores de la variable de altura igual a su frecuencia.

La hipótesis nula se niega si hay evidencia suficiente para poder rechazarla.

En el caso de que rechace la hipótesis nula se puede determinar mediante comparaciones múltiples a posteriori, de que extractos proviene esas diferencias.

2.3.4 INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA

Se ejecutó el tamizaje fitoquímico con el objetivo de buscar grupos de metabolitos secundarios permisibles con interés farmacológico donde todos los ensayos que se realizaron para el tamizaje fitoquímico se hicieron siguiendo el protocolo del folleto de Miranda M, Cuellar A. (2000). (7)(8)

2.4 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.4.1 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*)

Las técnicas de extracción de metabolitos de una planta son varias y se aplican de acuerdo a las características de cada especie se hicieron siguiendo el protocolo del folleto de Miranda M, Cuellar A. (2000). (7)(8)

2.4.2 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LAS ESPECIES VEGETALES

El control de calidad de las drogas se lo realizó considerando las metodologías de la OMS, y demás organismos encargados de asegurar la calidad de los productos fitofarmacéuticos.

Para el control de calidad de las drogas crudas se realizan las diferentes pruebas:

2.4.2.1 Análisis Físico – Químico

- Determinación de la humedad
- Cenizas totales
- Cenizas solubles en agua
- Cenizas insolubles en ácido clorhídrico
- Determinación de microorganismos

Los cuales fueron realizados siguiendo el protocolo del folleto de Miranda M, Cuellar A. (2000). (7)(8)

2.4.2.2 Determinación de microorganismos contaminantes en la droga cruda

- **MÉTODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA**

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un Erlenmeyer estéril.

- Agregar 250 ml de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10-1
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 ml y mezclar con 9 ml de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10-2. De este modo realizar otras diluciones.
- Se preparan tubos de ensayo tapa rosca con 15 ml de medio de cultivo PCA (Plate count agar).
- A cada tubo con agar se adiciona 1 ml de la dilución preparada en el agua peptonada al 0.1%.
- Homogenizar en un vortex, y el contenido de cada tubo verter en cajas Petri.
- Incubar a 35 ± 2 °C por 48 horas.
- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura.

Contar las colonias que se desarrollan y se anota el resultado de las placas con mayor número de colonias. Héctor A. (2010)

- **DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES.**

- a) Prueba presuntiva.**

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un Erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 ml de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar. De este modo se obtiene una dilución de 10-1
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 ml y mezclar con 9 ml de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10-2.
- Colocar 1 ml de cada una de las diluciones en 10 ml de caldo lactosado.
- Incubar por 24-48 h. a 35 ± 2 °C.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).

b) Prueba confirmatoria.

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 o 3 asadas y sembrar en tubos
- 10 ml de caldo BRILLA.
- Incubar por 24-48 h. a 35 ± 2 °C.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).
- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP.

TABLA No. 5 TABLA UTILIZADA PARA LA INTERPRETACIÓN DEL NMP PARA LA DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES.

COMBINACIÓN DE TUBOS	NMP	COMBINACIÓN DE TUBOS	NMP
0-0-0	<3	3-0-0	23
0-0-1	3	3-0-1	39
0-1-0	3	3-0-2	64
1-0-0	4	3-1-0	43
1-0-1	7	3-1-1	75
1-1-0	7	3-1-2	120
1-1-1	11	3-2-0	93
1-2-0	11	3-2-1	150
2-0-0	9	3-2-2	210
2-0-10	14	3-3-0	240
2-1-0	15	3-3-1	260
2-1-1	20	3-3-2	1100
2-2-0	21	3-3-3	>2400

Fuente: Cáceres, Armando. Control de Calidad Microbiológico de Materia Prima y Productos Fitofarmacéuticos. Farmaya. Guatemala. 2000

El número de microorganismos aceptados para este tipo de material es:

Para Coliformes totales:

- 0-100 NMP/g. ACEPTABLE.
- 100-460 NMP/g. REGULAR ACEPTABLE.
- 460 NMP/g. INACEPTABLE/RECHAZADO.
- Para Coliformes fecales:

- < De 10 NMP/g ACEPTABLE.
- DE 10 NMP/g RECHAZADO. (1)

- **DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES.**

- a) Prueba presuntiva.**

Se procede de igual forma que en la prueba presuntiva para Coliformes totales.

- b) Prueba confirmatoria.**

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 o 3 asas y sembrar en tubos 10 ml de caldo EC.
- Incubar por 24-48 h a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).
- Los resultados se interpretaron según la tabla de NMP. (1)

- **MÉTODO DE CONTEO DE MOHOS EN PLACA.**

- Pesar 25 g. de materia prima vegetal en un Erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 ml de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10-1.
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 ml y mezclar con 9 ml de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10-2.
- Preparar cajas petri con medio de cultivo OGY.
- Sobre las cajas petri colocar 0.1 ml de las diluciones respectivas y extender mediante un extensor de vidrio.

- Incubar a temperatura ambiente por 5-7 días

Realizar el contaje.

El recuento del número de colonias formadas no debe ser mayor de 100 Colonias/caja, todos los parámetros microbiológicos de calidad se lo realizó de acuerdo a los estudios realizados por Héctor A. (2010).

2.4.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS

2.4.3.1 Determinación de los requisitos organolépticos

- Determinación del olor
- Determinación del color
- Determinación del pH
- Determinación de la Densidad Relativa
- Determinación del Índice de Refracción
- Determinación de Sólidos Totales

Las técnicas para el control de calidad de los extractos de una planta son varios y se aplican de acuerdo a las características de cada especie, se hicieron siguiendo el protocolo del folleto de Miranda M, Cuellar A. (2000). (7)(8)

2.4.4 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO QUERCETINA

Para la droga seca y producto final:

1. Se pesa 1 gramo de muestra y colocar en un balón esmerilado de 250 ml.
2. Luego se añade 20 ml de etanol al 50% y 8mL de H₂SO₄ concentrado.
3. Se refleja por 2 horas en un baño de agua.
4. Se deja enfriar y filtrar a través del filtro Buchner, utilizando papel filtro.
5. Se lava el residuo con 10mL de etanol al 50% para desecharlo totalmente.

6. El filtrado se evapora con baño de agua hasta la mitad del volumen inicial.
7. Se enfría sobre un baño de agua fría durante 30 minutos.
8. A continuación se filtra, el papel con el residuo se lava con 70 ml de etanol al 96% caliente a 50 °C.
9. Se trasvasa a un balón volumétrico de 100mL y se afora con etanol al 96% V/V.
10. Posteriormente se leyeron las absorbancias a una longitud de onda de 258 nm.
11. Como patrón se empleó 0.04g de Quercetina, los cuales los cuales se deben disolver con etanol al 96% V/V hasta completar un volumen de 50 ml; de esta solución tomar 1 ml y se afora a 100 ml con etanol al 50% V/V.
12. El blanco consistió en una solución de etanol al 50% V/V con la que encera el espectrofotómetro a la longitud de onda de 258 nm.

Nota: si es necesario diluir la muestra hasta que la absorbancia se encuentre en el rango de 0.300 a 0.800 de absorbancia.

La expresión empleada para el cálculo es:

$$\% \text{concentración} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del estandar}} \times \text{Factor de dilución} \times 100$$

Dónde:

X= Contenido de flavonoides totales expresados como quercetina (%)

Am₁= Absorbancia de la solución muestra (nm)

Am₂= Absorbancia de la sustancia referencia (nm)

2.4.5 CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS

1. Pesar 450 gramos de droga seca previamente triturada
2. Colocar la droga en un balón esmerilado de 1000mL
3. Añadir agua destilada hasta cubrir la droga
4. Armar el equipo de destilación y dejar destilar por aproximadamente 1 hora.
5. El aceite obtenido se trasvasa a un balón volumétrico de 50 ml y se afora con etanol al 96% V/V.

6. Posteriormente se leyeron las absorbancias a una longitud de onda de 311 nm.
7. Como patrón se empleó aceite de canela, el cual se debe disolver con etanol al 96% V/V hasta completar un volumen de 50 ml; de esta solución tomar 1 ml y se afora a 100 ml con etanol al 50% V/V.
8. El blanco consistió en una solución de etanol al 50% V/V con la que encera el espectrofotómetro a la longitud de onda de 311 nm.

2.4.6 DETERMINACIÓN DE LAS CANTIDADES Y TIPOS DE EXCIPIENTES ADECUADOS PARA LA FORMULACIÓN DE LAS CREMAS A BASE DE MARACUYÁ, ISHPINGO.

TABLA 6: FORMULACIÓN DE LA CREMA FOTOPROTECTORA AL 100%

INGREDIENTE	CANTIDAD	UNIDAD
Alcohol cetílico	60	g
Agua destilada y purificada	800	ml
Espesante Deighton	57	ml
Extracto alcohólico	15	ml
Glicerina	10	ml
Ácido ascórbico	5	g

Para preparar un lote de 1L al 100%

2.4.7 PREPARACIÓN DE LA CREMA

1. Calentar la fase oleosa a 75⁰ C
2. Calentar la fase acuosa a 75⁰ C
3. Mezclar las fases, agitando continuamente
4. Añadir el espesante, agitando continuamente
5. Añadir el ácido ascórbico
6. Añadir el extracto agitando hasta que la mezcla este uniforme
7. Envasar a 40⁰ C.

2.5 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS PARA COMPROBAR EL EFECTO FOTOPROTECTOR

TABLA N°7. MATERIALES Y REACTIVOS EMPLEADOS PARA COMPROBAR EL EFECTO FOTOPROTECTOR (ensayo pre-clínico)

MATERIALES	REACTIVOS	EQUIPOS
Micropipeta 10 uL	Crema sin extracto	Cámara fotográfica
Guantes y mascarilla	Crema con extracto alcohólico <i>Passiflora edulis</i>	
Cronómetro	Crema con extracto alcohólico <i>Ocotea quixos</i>	
Protector de antebrazo con agujeros diseñado para fines de experimentación	Crema con extracto alcohólico <i>Ocotea quixos</i> y <i>Passiflora edulis</i>	
Envases ámbar	Crema con FPS 15	

FUENTE: CAZORLA M. 2012

2.6 PROTOCOLO DE ADMINISTRACIÓN DEL PRODUCTO A LOS VOLUNTARIOS EN BASE A LA TÉCNICA DEL MÉTODO COLIPA (VER ANEXO 1).

Charlas de capacitación con respecto a las quemaduras por radiación UV y sus efectos, adjuntamente charlas sobre problemáticas de los productos de foto protección y su uso adecuado.

- ❖ Selección de los voluntarios de acuerdo al tipo de piel que poseen.
- ❖ Prohibición del uso de cremas en el área anteroposterior de los brazos a los voluntarios por un período de 15 días.
- ❖ Para el día de la aplicación el voluntario debe tener su piel bien limpia para lo cual se recomienda lavar con agua y jabón después de secar la piel limpiar con algodón seco.
- ❖ Se lava bien las manos para aplicarse las cremas

- ❖ Comparar la piel con el test colorimétrico para determinar que no hay presencia de eritemas previo la experimentación.
- ❖ Se toma una cantidad de 2mg con una micropipeta de 10 uL codificado adecuadamente y se coloca en la zona T 15 minutos antes de la exposición a la radiación UV, luego se continúa aplicando cada una de las cremas en el resto de las zonas etiquetadas en la parte anteroposterior del brazo.
- ❖ Observación sobre la evolución de cada voluntario después de 3 de exposición al sol con su evaluación cada 15 minutos enfocándose en la presencia de enrojecimiento o eritema que presente.
- ❖ Determinar el FPS para cada una de las cremas con sus extractos respectivos.

$$\text{SPF} = \frac{\text{MED (mínima dosis eritémica con protección)}}{\text{MED (mínima dosis eritémica sin protección)}} = \frac{\text{MEDp}}{\text{MEDsp}}$$

2.7 CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS TERMINADOS

2.7.1 CONTROL DE CALIDAD DE LAS CREMAS.

El control de calidad de producto terminado tiene como propósito determinar si una forma farmacéutica posee los atributos de calidad previamente establecidos. Estos atributos buscan poder conseguir en último término que el medicamento cumpla el objetivo para el cual fue diseñado de manera segura y eficaz. (50)

2.7.1.1 Descripción del producto

Se registran características como color, aroma, consistencia, forma cosmética y el contenido neto.

- Forma cosmética
- Aspecto
- Características organolépticas

2.7.1.2 Controles Fisicoquímicos

- **MEDICIÓN DE pH:** Dispersar aproximadamente 1 g de producto en 10 mL de agua destilada y medir el pH con electrodo de vidrio a 20° C. (50)
- **VISCOSIDAD APARENTE:** Se mide en 12 g de producto a 25° C, utilizando el viscosímetro adaptado para pequeño volumen. (50)
- **PESO ESPECÍFICO:** Se determina por pesada de un picnómetro con producto (P), con agua (A) y vacío (V): (50)

$$\text{Peso específico} = (P - V)/(A - V)$$

- **DETERMINACIÓN DE RESIDUO SECO:** Se basa en la medición gravimétrica de la pérdida en peso que se produce cuando se calienta una muestra de 1 g a 105° C por un período de 2 horas. (50)

$$\% \text{ residuo seco} = (\text{peso final de la muestra} / \text{peso inicial}) \times 100$$

- **TIPO DE EMULSIÓN:**

– **Prueba de dilución:** Dispersar 0,5 g de producto en 50 mL de agua. Se obtiene una emulsión lechosa cuando es aceite/agua (o/w). Las emulsiones agua/aceite no permiten dilución.

– **Prueba de lavado:** colocar sobre la superficie seca de la mano aproximadamente 1 g de emulsión. Aplicar un chorro pequeño de agua corriente con ayuda del dedo índice. Una emulsión aceite/agua se puede lavar completamente. (50)

- **EXTENSIBILIDAD O ESPARCIMIENTO:**

- Colocar la placa inferior de vidrio sobre una hoja de papel milimetrado.
- Trazar las diagonales.
- Colocar una $1 \pm 0,1$ g de emulsión sobre el punto de intersección
- Pesar la placa de vidrio superior de 10 cm²
- Poner la placa de vidrio de 10 cm² sobre la formulación
- Después de 1 minuto, medir el diámetro (mm) de la circunferencia o elipse formada (diámetro inicial)
- Comprimir con peso de 200 g por 1 minuto a 20° C
- Medir el diámetro (mm) de extensibilidad del producto (diámetro final). (50)

2.7.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

- **TEST PARA CONTAJE TOTAL DE MICROORGANISMO AERÓBICOS.**

Asépticamente transfiera 10 g de la muestra en un contenedor adecuado conteniendo peptona, Tween, peptona o TAT (Azoleccitina tripticasa caldo con Tween) y ajuste el volumen a 100 mL si es necesario ponga esta mezcla en un baño a 40 – 45 °C por más de 10 minutos. Mezcle bien en un vortex mixer. Gallegos J. (2000)

- **CONTAJE DE BACTERIAS.**

Transferir 1 mL de la mezcla de 100 mL a dos cajas petri por separado, entonces añadir unos 20 mL de TSA (Trypticasa soya agar) a cada caja. Mover la caja con movimientos de rotación, para obtener una buena mezcla de la muestra con el agar.

Dejar solidificar e invertir las cajas, incubarlas de 30 – 35 °C por 48 horas a 5 días o más tiempo si es requerido. Gallegos J. (2000)

- **CONTAJE DE HONGOS.**

Proceder como en el punto anterior pero en lugar de usar TSA añadir SAB. (Sabourad dextrosa agar) e incubar de 20 – 25°C por 5 – 7 días.

Al final del periodo de incubación cuente el número de colonias y reporte el promedio de bacterias u hongos encontrados por gramo de muestra. Gallegos J. (2000)

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados que se presentan a continuación fueron realizados mediante el siguiente protocolo para una formulación de un fitofármaco según la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos para lo cual se hizo un control de calidad de la materia prima, extracto y producto terminado.

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

Antes de la utilización de la droga vegetal en las diferentes aplicaciones, se recomienda la utilización de control de calidad de la droga cruda que en este caso se trata de las hojas de maracuyá (*P. edulis*), ishpingo (*O. quixos*).

Para este análisis la materia vegetal (partes aéreas) se recolectó en la provincia del Guayas, cantón Bucay para la maracuyá y en la provincia de Morona Santiago cantón Macas para el ishpingo. A las mismas que se tomó en cuenta el estado físico y color, descartando aquellas partes que se encontraban deterioradas. Una vez preparada las mismas se lavó con abundante agua para luego desinfectarlo con cloro al 0,5%. La materia prima en el caso del ishpingo (*O. quixos*) es una bebida común en los hogares preparada a manera de un té que lo atribuye sus propiedades medicinales beneficiosas al igual que la maracuyá (*P. edulis*).

3.1.1. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

CUADRO No1. RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DE LA DROGA SECA DE LAS HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

% HUMEDAD		
<i>P. edulis</i>	<i>O. quixos</i>	LÍMITE DE HUMEDAD
7.06 ± 0,50	8.78± 0,11	Hasta 14 %

Este parámetro de calidad sirve para determinar la proliferación bacteriana y micótica seguido de la hidrólisis de los principios activos. Los resultados expresados en el (Cuadro No 1) indican que el contenido de humedad de las hojas de maracuyá (*P. edulis*) es de 7.06± 0,50%, en las hojas de ishpingo (*O. quixos*) es de 8.78 con variación de ± 0,11 % de planta seca, comparada con el valor máximo (14%) por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos, se encuentra dentro de los valores aceptados, por lo tanto este porcentaje bajo indica que la planta se puede conservar por un tiempo moderado siendo favorable para nuestro estudio.

3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

La determinación de cenizas es un indicativo de la calidad de la droga si el valor es mayor a 12 % la droga deberá ser rechazada ya que es probable, que tenga demasiada contaminación con tierra, sílice o en su defecto metales pesados, por esta razón se aplicó los tres métodos de cenizas; cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico. En la droga seca de las hojas de maracuyá (*P. edulis*), ishpingo (*O. quixos*) se utilizó el método gravimétrico de la determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en HCl se obtuvieron los siguientes resultados.

CUADRO No2. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES, DE LA DROGA SECA DE LAS HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*), LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

% CENIZAS TOTALES		
<i>P. edulis</i>	<i>O. quixos</i>	ESPECIFICACIÓN
10.4± 0,19%	9.47± 0,25%	HASTA 12%

El resultado expresado en el Cuadro No. 2 de las hojas de maracuyá (*P. edulis*), indica en contenido de cenizas totales (%C.T) es de 10.4±0,19%, en las hojas de ishpingo (*O. quixos*), indica que el contenido de cenizas totales (%C.T) es de 9,47±0,25% por lo cual se acepta estos porcentajes ya que están dentro de los límites según la USP (12%). (45) (37)

CUADRO No3 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA DE LA DROGA SECA DE LAS HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

%CENIZAS SOLUBLES EN AGUA		
<i>P. edulis</i>	<i>O. quixos</i>	ESPECIFICACIÓN
5.85 ± 0,06%	6.3± 0,03%	HASTA 7%

En el Cuadro No. 3, indica que el porcentaje de cenizas solubles en agua para *P. edulis* fue de 5,85± 0,06%, en *O. quixos* de 6,3 (± 0,03) que corresponde al material de tipo orgánico presente en la muestra, lo que se encuentra dentro de los límites establecidos (7%) dada por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos.

CUADRO No4. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO DE LA DROGA SECA DE LAS HOJAS MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

%CENIZAS INSOLUBLES EN HCl		
<i>P. edulis</i>	<i>O. quixos</i>	ESPECIFICACIÓN
2.11± 0,10 %	1.11± 0,15%	HASTA 5%

El porcentaje de cenizas insolubles en HCl indicado en el Cuadro No. 4, demuestra que el valor encontrado para *P. edulis* fue de $5,85 \pm 0,10$, en *O. quixos* de $6,3 (\pm 0,15)$ se encuentra dentro de límites aceptados (5%) en la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos, lo que indica que la droga seca no tiene una presencia considerable de materia arenosa.

3.2. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*).

El análisis de control de calidad se realizó a partir del extracto obtenido por percolación con alcohol al 70% de las hojas de maracuyá (*P. edulis*), ishpingo (*O. quixos*).

3.2.1. PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS

CUADRO No5. RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH RIOBAMBA SEPTIEMBRE 2012.

PARÁMETRO	EHA <i>P. edulis</i>	EHA <i>O. quixos</i>
Olor	Herbal característico de la planta	Dulce característico de la planta
Color	Verde oscuro	Café-rojizo oscuro
Sabor	Amargo	Dulce
Aspecto	Líquido turbio	Líquido

Los resultados que se observan en el Cuadro No. 5 son los características organolépticas del extracto alcohólico de las hojas de Maracuyá (*P. edulis*), siendo líquidos en su aspecto, de color verde oscuro, sabor amargo y olor herbal aracterístico de la planta mientras que las características organolépticas del extracto alcohólico de las hojas de Ishpingo (*O. quixos*), siendo líquidos en su aspecto, de color Café-rojizo oscuro, sabor dulce y olor característico de la planta.

3.2.2. PARÁMETROS FÍSICOS

CUADRO No 6. PARÁMETROS FÍSICOS DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) LABORATÓRIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

PARÁMETRO	EHA <i>P. edulis</i>	EHA <i>O. quixos</i>
pH	5,13	5.48
Índice de refracción	1,589	1,462
Densidad relativa	0,964	0,943
Sólidos totales	9.10%	8.64%

De acuerdo con los resultados indicados en el Cuadro No. 6, se observa que el pH del extracto de *P. edulis* fue de 5,13 y en *O. quixos* fue 5.48 lo que representa un pH ácido.

El índice de refracción en el extracto de *P. edulis* fue de 1,589 y en *O. quixos* fue 1.462 lo que demuestra la presencia de componentes extraídos por el solvente al ser comparado con el índice de refracción del agua 1,333; la densidad relativa del extracto es menor que la del agua 0,964 para *P. edulis* y para *O. quixos* fue de 0.943 ; el porcentaje de sólidos totales que abarca sales, metabolitos y residuos orgánicos fue de 9,10% para *P. edulis* lo que confirma Teleguario C (2010) y para *O. quixos* fue de 8.64% obtenido por la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor.

3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir de allí, orientar al fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. (13)

CUADRO No.7. RESULTADO DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012

ENSAYO	METABOLITO	EHA <i>Passiflora edulis</i>	EHA <i>Ocotea quixos</i>
DRAGENDORFF	ALCALOIDES	+++	-
WAGNER	ALCALOIDES	+++	-
LIEBERMAN	TRITERPENOS	+	+
BUCHARD	Y/O ESTEROIDES		
BORNTRAGER	QUINONAS	++	+
BALJET	COMPUESTOS LACTONICOS	++	++
SUDAN III	COMPUESTOS GRASOS	-	+
CATEQUINAS	CATEQUINAS	-	-
RESINAS	RESINAS	+	+
ESPUMA	SAPONINAS	-	-
CLORURO FERRICO	COMPUESTOS FENOLICOS Y/O TANINOS	++	+++
SHINODA	FLAVONOIDES	+++	++
ANTOCIANIDINAS		+	+
FEHLING	PRESENCIA DE AZUCARES	++	+++

+++ : ALTA EVIDENCIA
 ++ : EVIDENCIA
 + : BAJA EVIDENCIA
 - : NEGATIVO

En el Cuadro No. 7 se puede apreciar los resultados obtenidos luego de haber realizado el tamizaje fitoquímico del extracto de las hojas de la Maracuyá (*P. edulis*), el cual evidenció la existencia de los metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos y azúcares siendo estos los metabolitos de mayor evidencia presentes en el vegetal. Cabe señalar que los metabolitos secundarios representativos con potencial farmacológico son los flavonoides, quienes le brindan la actividad fotoprotectora. Mientras que en el ishpingo (*O. quixos*) realizado por triplicado evidenciamos la presencia de los metabolitos secundarios que fueron encontrados principalmente los compuestos fenólicos que son los que brindan la actividad fotoprotectora. (45, 37).

3.4 CUANTIFICACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS

3.4.1 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO QUERCETINA.

CUADRO N°8. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) EXPRESADOS COMO QUERCETINA. LABORATORIO INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

CURVA DE CALIBRACIÓN (QUERCETINA)	
Concentración,(ppm)	Absorbancia
4	0,233
8	0,448
12	0,675
16	0,953
20	1,136

FUENTE: CAZORLA M, 2012

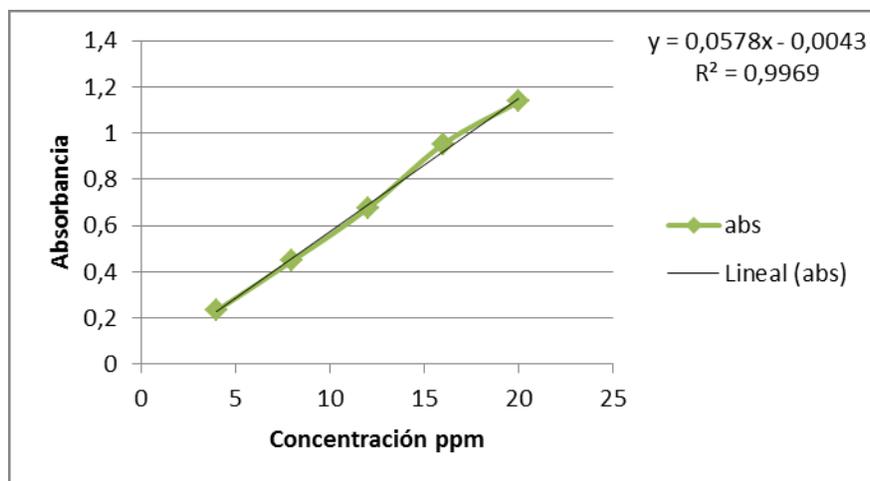


GRAFICO No 1.CURVA DE ABSORBANCIA Vs CONCENTRACIÓN DE QUERCETINA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Las lecturas que se obtuvieron, sirvieron para la gráfica de la curva de absorbancia en función de la concentración de quercetina, para la obtención de la ecuación de la recta, la cual nos sirvió para la cuantificación de los flavonoides totales.

CUADRO No 9. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN LAS HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) A UNA LONGITUD DE ONDA DE 258 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

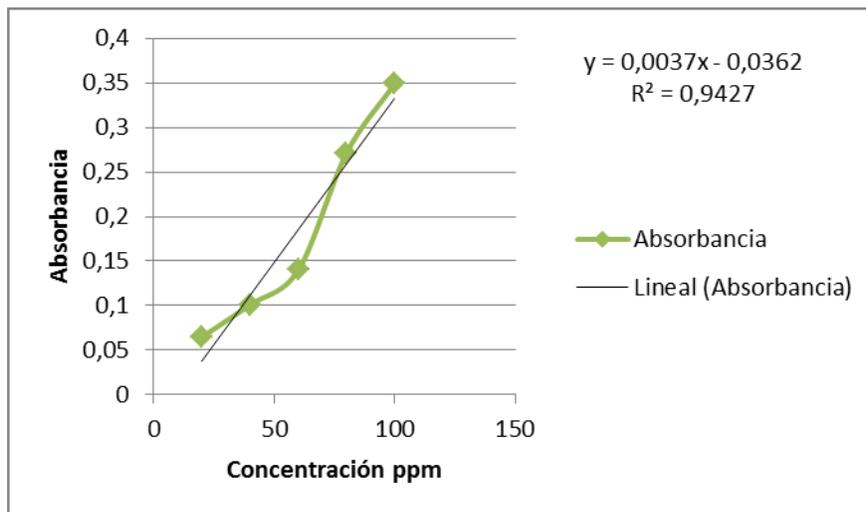
Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Droga seca	0,717	12,47 ppm	1,56

En el Cuadro No. 9, se indica que la absorbancia del extracto de *P. edulis* fue de 0,717 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de la quercetina (Gráfico No 1), se obtuvo una concentración de 12.47 ppm dando como resultado un porcentaje de flavonoides totales del 1,56% o 15,6 mg/ g de planta. La *P. edulis* señala la presencia de flavonoides en un porcentaje comprendido entre 1.5 - 2.1% citada en Teleguario C (2008).
(14)

3.4.2 CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS.

CUADRO N°10. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE ISHPINGO (*Ocotea quixos*) A UNA LONGITUD DE ONDA DE 311 nm. LABORATORIO INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

CURVA DE CALIBRACIÓN (CINAMATOS)	
Concentración,(ppm)	Absorbancia
20	0,065
40	0,101
60	0,140
80	0,271
100	0,349



FUENTE CAZORLA M,2012

GRAFICO No 2. CURVA DE ABSORBANCIA Vs CONCENTRACIÓN DE CINAMATOS EN ACEITE DE CANELA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN ISHPINGO. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Las lecturas que se obtuvieron, sirvieron para la gráfica de la curva de absorción en función de la concentración, para la obtención de la ecuación de la recta, la cual nos sirvió para la cuantificación de los cinamatos.

CUADRO No 11. CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN LAS HOJAS DE ISHPINGO (*Ocotea quixos*) A UNA LONGITUD DE ONDA DE 311 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA AGOSTO DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Droga seca	0,196	77,33ppm	21

En el Cuadro No. 11, se indica que la absorción del extracto de *O. quixos* fue de 0,196 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de cinamatos (Gráfico No 2), se obtuvo una concentración de 77.33 ppm dando como resultado un porcentaje de cinamatos del 21% o 21 mg/g de planta. El ishpingo (*Ocotea quixos*) señala la presencia de cinamatos en un porcentaje no superior al 22,65% citado en Manolo S., (2000). (24)

3.4.3 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN PRODUCTO CON EXTRACTO DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*).

CUADRO No 12. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN PRODUCTO CON EXTRACTO DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) A UNA LONGITUD DE ONDA DE 258 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Producto con ext. <i>P. edulis</i>	0,703	12,23 ppm	0,022

En el Cuadro No. 12, se indica que la absorbancia de flavonoides totales en el producto con extracto de *P. edulis* fue de 0,764 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de la quercetina (Gráfico No 1), se obtuvo una concentración de 12.23 ppm dando como resultado un porcentaje de flavonoides totales del 0,022% o 0,22 mg/g de crema.

3.4.4 CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN PRODUCTO CON EXTRACTO DE ISHPINGO (*Ocotea quixos*).

CUADRO No 13. CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN PRODUCTO CON EL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE ISHPINGO (*Ocotea quixos*). A UNA LONGITUD DE ONDA DE 311 nm. LABORATORIO INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Producto con ext. <i>O. quixos</i>	0,096	44 ppm	0,165

En el Cuadro No. 13, se indica que la absorbancia de cinamatos en el producto con extracto de *O. quixos* de 0,096 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de los cinamatos (Gráfico No 2), se obtuvo una concentración de 44 ppm dando como resultado un porcentaje de cinamatos del 0,165% o 1,6 mg/g de crema.

3.4.5 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN PRODUCTO CON EXTRACTO DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*).

CUADRO No 14. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN PRODUCTO CON EXTRACTO DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) A UNA LONGITUD DE ONDA DE 258 nm. LABORATÓRIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Producto con ext. <i>P. edulis, O. quixos</i>	0,685	11,92 ppm	0,010

En el Cuadro No. 14, se indica que la absorbancia de flavonoides totales en el producto con extracto de *P. edulis, O. quixos* fue de 0,685 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de la quercetina (Gráfico No 1), se obtuvo una concentración de 11.92 ppm dando como resultado un porcentaje de flavonoides totales del 0,010% o 0,10 mg/g de crema.

3.4.6 CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN PRODUCTO CON EXTRACTO DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*).

CUADRO No 15. CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN PRODUCTO CON EXTRACTO DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) A UNA LONGITUD DE ONDA DE 311 nm. LABORATÓRIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Producto con ext. <i>P. edulis</i>	0,070	35.3 ppm	0,063

En el Cuadro No. 15, se indica que la absorbancia de cinamatos en el producto con extracto de *P. edulis, O. quixos* fue de 0,070 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de

calibración de cinamatos (Gráfico No 2), se obtuvo una concentración de 35.3 ppm dando como resultado un porcentaje de cinamatos del 0,063% o 0,63 mg/g de crema.

3.5 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS PRODUCTOS CON LOS EXTRACTOS HIDROALCHÓLICOS DE HOJAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*)

El control de calidad de producto terminado (crema) tiene como propósito determinar si una forma farmacéutica posee los atributos de calidad previamente establecidos. Estas características buscan poder conseguir en último término que el medicamento cumpla el objetivo para el cual fue diseñado de manera segura.

3.5.1 PARÁMETROS DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

CUADRO No16. RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS EN LA DESCRIPCIÓN DE LOS PRODUCTOS CON EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH RIOBAMBA SEPTIEMBRE 2012.

PARÁMETRO	EHA <i>P. edulis</i>	EHA <i>O. quixos</i>	EHA <i>P. edulis</i> , <i>O. quixos</i>
Olor	Herbal	Herbal dulce	Herbal dulce
Color	Verde claro	Café-rojizo oscuro	Café-amarillo oscuro
Aspecto	Crema homogénea	Crema homogénea	Crema homogénea
Presencia de grumos	Negativo	Negativo	Negativo
Forma Cosmética	Crema	Crema	Crema
Contenido neto	100g	100g	100g

Los resultados que se observan en el Cuadro No. 16 son los parámetros en la descripción del producto con extracto alcohólico de las hojas de Maracuyá (*P. edulis*), siendo crema homogénea en su aspecto, de color verde claro, olor característico de la planta herbal, sin presencia de grumos, con un peso de 100g siendo una crema en su forma cosmética. De igual manera los parámetros en la descripción del producto con extracto alcohólico de las hojas de Ishpingo (*O. quixos*), los resultados que se observan son cremoso en su aspecto, de color Café-rojizo oscuro, sabor dulce y olor característico de la planta. Mientras que descripción del producto con extracto alcohólico de Maracuyá (*P. edulis*) e Ishpingo (*O. quixos*), son cremoso en su aspecto, de color Café-amarillo oscuro, olor característico de las plantas herbal con aspecto homogéneo.

3.5.2 PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS

CUADRO No 17. PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS DE LOS PRODUCTOS CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*), Y COMBINACIÓN DE AMBOS EXTRACTOS. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Parámetro	EHA <i>P. edulis</i>	EHA <i>O. quixos</i>	EHA <i>P. edulis</i>, EHA <i>O. quixos</i>	ESPECIFICACIÓN
pH	5,75	5,25	5,4	5.5-5.9
Viscosidad Aparente	55.45cp	53.30cp	51.75cp	50-56cp
Peso específico	0,964	0,924	0,930	No hay especificación
% Residuo seco	1.8	1.5	1.7	No hay especificación
Extensibilidad o Esparcimiento	4.15mm	4.3mm	4.4 mm	Máximo 4.5mm
Tipo de emulsión	Aceite/agua	Aceite/agua	Aceite/agua	

Los resultados expresados en el cuadro No. 17, indican que el pH de la crema se encuentra dentro de los límites permitidos según la USP 30. Siendo un resultado beneficioso para nuestro

objetivo debido a que el pH de la piel está entre 5.5-5.9. Cuando el valor del pH está por encima o debajo del rango permitido, se producen disfunciones del sistema defensivo de la piel dando lugar al acné, dermatitis seborreica o infecciones. BETSABE R., (2010).

3.5.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUADRO No.18 DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA CREMAS FOTOPROTECTORAS A BASE DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) LABORATORIO MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

	CREMA <i>P. edulis</i>	CREMA <i>O. quixos</i>	CREMA <i>P. edulis</i> , <i>O. quixos</i>	VALOR DE REFERENCIA	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Aerobios mesófilos	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	ACEPTABLE
Mohos y Levaduras	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	ACEPTABLE
Coliformes totales	20 NMP/g	28 NMP/g	24 NMP/g	0-100 NMP/g	ACEPTABLE
Coliformes fecales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	< 10 NMP/g	ACEPTABLE
Salmonella sp	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ACEPTABLE

FUENTE CAZORLA M 2012

NMP: Número más probable

UFC: Unidades formadoras de Colonias

De acuerdo al cuadro No. 18 podemos ver que existe un análisis microbiológico aceptable por lo que nuestro producto se encuentra en óptimas condiciones y se puede permitir su uso. Además refleja una buena asepsia durante su elaboración

3.5.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LAS CREMAS DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*), MARACUYÁ CON ISHPINGO, EN FOTOTIPOS III.

Para realizar el análisis estadístico descriptivo se utilizó como población a voluntarios tipo de piel III en la ciudad de Riobamba provincia de Chimborazo. Se tomó una muestra de 10 voluntarios cuya edad oscila entre 18-25 años. Luego se realizó el test colorimétrico para determinar la ausencia de eritema, se indicó que cantidad debe ser necesaria para la

aplicación. La experimentación tuvo una duración de 2 horas a una temperatura de 25 ± 2 °C, de acuerdo a la página web de la EXA UVI 14,8.

CUADRO No 19. NIVEL DE ERITEMAS EN LAS SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN DE LOS VOLUNTARIOS EN LOS 120 MINUTOS DE EVALUACION. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

SUPERFICIE EXPERIMENTAL (1cm ²)	TIEMPOS DE EVALUACION AL APARECER LOS ERITEMAS							
	Nivel de eritema)por intensidad de color en piel							
	15min	30 min	45min	60 min	75 min	90min	105 min	120 min
BLANCO	2	2	3	4	4	4	4	4
CREMA PLACEBO	2	2	3	4	4	4	4	4
CREMA FPS15	1	1	1	1	1	1	1	1
CREMA CON EXTRACTO DE <i>P. edulis</i>	1	1	1	2	2	3	4	4
CREMA CON EXTRACTO DE <i>O. quixos</i>	1	1	1	1	1	1	1	2
CREMA CON AMBOS EXTRACTOS	1	1	1	1	1	2	3	3

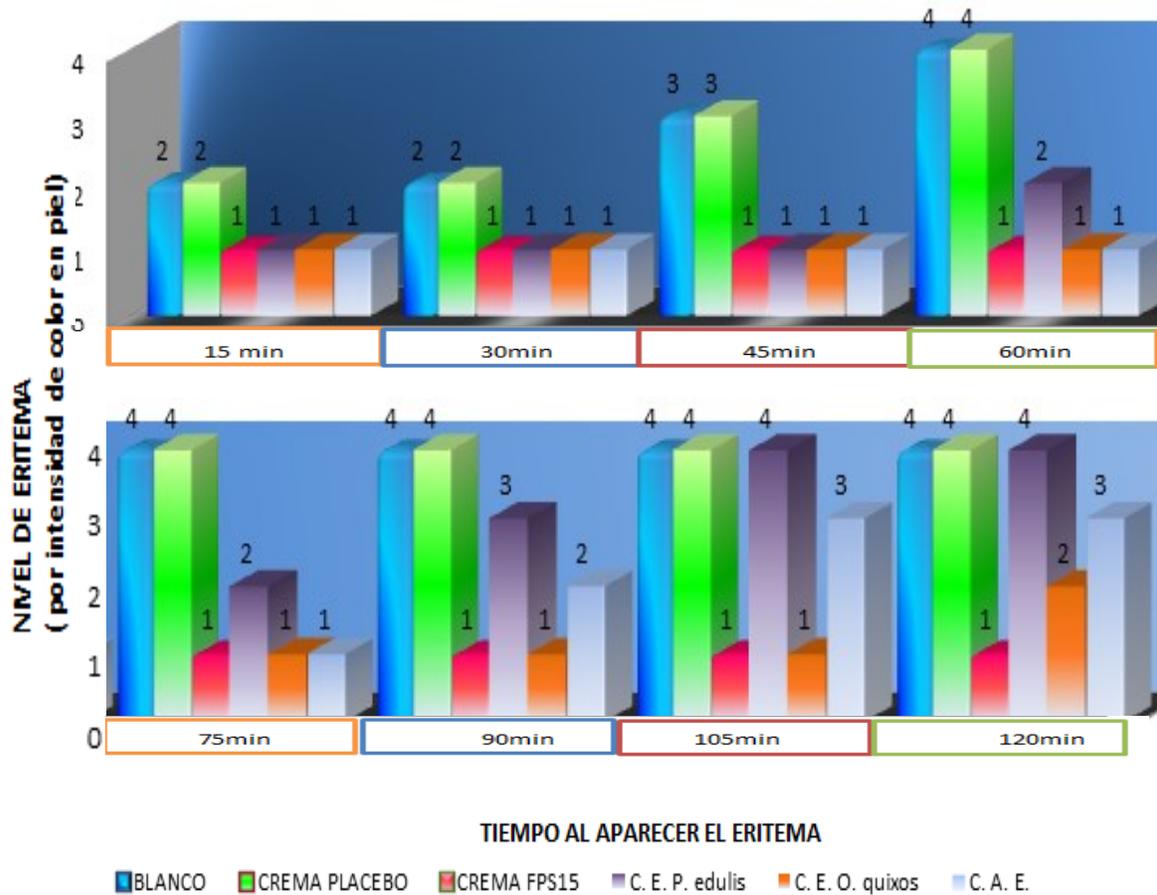


GRAFICO No. 3 NIVEL DE ERITEMAS EN LAS SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN DE LOS PRODUCTOS APLICADOS EN VOLUNTARIOS EN LOS 120 MINUTOS DE EVALUACION. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012

En el Cuadro No. 19 y en la Gráfica No. 3, se indica la presencia de los niveles de los eritemas a 15 minutos de exposición solar, observando que en las superficies experimentales del blanco y de la crema placebo se presenta un nivel de eritema 2 (eritema leve) mientras que en las demás superficies de experimentación con las cremas con actividad fotoprotectora no hay aparición de eritema de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico; a 30 minutos de exposición solar observamos que no existe cambios en las superficies experimentales del blanco y de la crema placebo al igual que en las demás superficies experimentales; en los 45 minutos de exposición a la radiación solar, distinguimos que en las superficies experimentales del blanco y de la crema placebo se presenta un nivel de eritema 3 (eritema moderado) mientras que en las demás superficies de experimentación no hay aparición de eritema de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico.

A 60 minutos de exposición solar, se puede notar que en las superficies experimentales del blanco y de la crema placebo se presenta un nivel de eritema 4 (eritema agresivo), mientras que en la superficie de experimentación con la crema con extracto de *P. edulis* existe la presencia de eritema 2 (eritema leve) de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico, alcanzando su límite como actividad fotoprotectora; los eritemas a 75 minutos de exposición solar en las superficies experimentales se mantienen.

La presencia de los niveles de eritemas a 90 minutos de exposición solar es variada debido a que observamos en las superficies experimentales de la crema con la combinación de los extractos de *P. edulis* y *O. quixos* un nivel de eritema 2 (eritema leve), logrando su límite como efecto fotoprotector, mientras que en la crema con extracto de *P. edulis* existe la presencia de eritema 3 (eritema moderado) de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico y a los 105 minutos de radiación UV en las superficies de experimentación con la crema con extracto de *O. quixos* se presenta un nivel de eritema 3 (eritema moderado), al igual que con la combinación de los extractos de *P. edulis* y *O. quixos* mientras que en la crema con extracto de *P. edulis* existe la presencia de eritema 4 (eritema agresivo) de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico.

A 120 minutos de exposición solar, es evidente que en las superficies experimentales del blanco, crema placebo, crema con extracto de *P. edulis* se presentó un nivel de eritema 4 (eritema agresivo), mientras que en las superficies de experimentación con crema de FPS15 no presentó eritema, con la crema con extracto de *O. quixos* ya se presentó un nivel de eritema 2 (eritema leve) llegando hasta aquí su actividad fotoprotectora mientras que con la combinación de los extractos de *P. edulis* y *O. quixos* se presenta un nivel de eritema 3 (eritema moderado) y en la crema con extracto de *P. edulis* existe la presencia de eritema 4 (eritema agresivo).

CUADRO No 20. TIEMPO AL APARECER EL ERITEMA EN LAS SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN DE LOS VOLUNTARIOS. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

SUPERFICIES EXPERIMENTACIÓN (1cm ²)	TIEMPO AL APARECER EL ERITEMA (minutos)
BLANCO	15
CREMA PLACEBO	15
CREMA FPS15	120
CREMA CON EXTRACTO DE <i>P. edulis</i>	60
CREMA CON EXTRACTO DE <i>O. quixos</i>	120
CREMA CON AMBOS EXTRACTOS	90

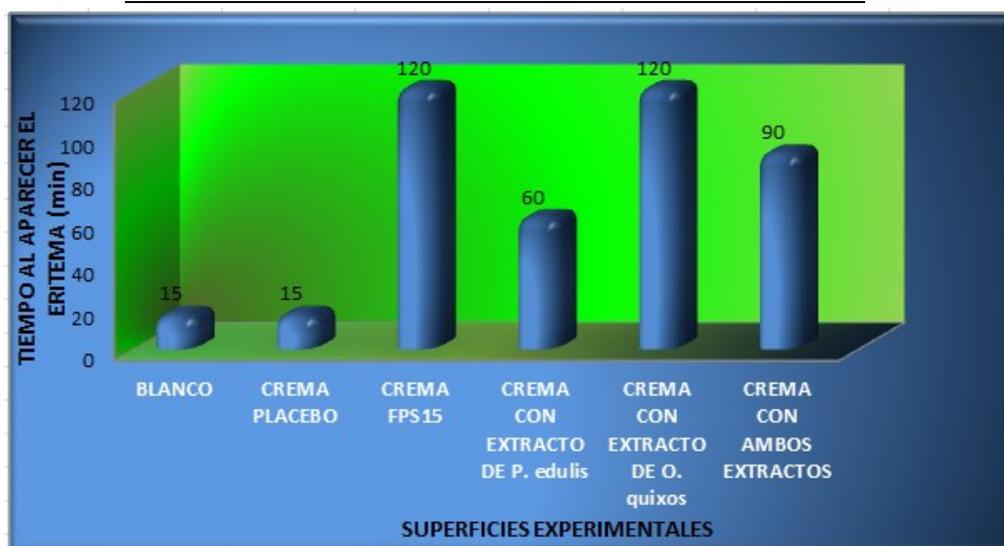


GRAFICO No 4. TIEMPO AL APARECER EL ERITEMA EN LAS SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN DE LOS VOLUNTARIOS. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012

ANALISIS DE RESULTADOS

Como lo indica en el Cuadro No. 20 y en la Gráfica No. 4, los tiempos de aparición de eritema obtenidos en las superficies experimentales al final tratamiento muestran los siguientes resultados:

En la superficie experimental blanco al igual que en la crema placebo la presencia del eritema se da a los 15 minutos debido a la ausencia de sustancias con actividad fotoprotectora.

En la superficie experimental patrón (administrado con producto cosmético con FPS15) los resultados expuestos en el Cuadro No. 20, señala que en estos valores no hay presencia de eritema en los 120 minutos de experimentación en comparación con la superficie experimental grupo control (blanco y producto placebo) que el tiempo de aparición del eritema leve fue a los 15 minutos.

Con respecto a la superficie de experimentación con extracto de *P. edulis*, se indica que presentó eritema leve en la superficie de experimentación a los 60 minutos de exposición a la radiación UV cuyo tiempo es superior a las superficies experimentales control (crema placebo y blanco) presentando actividad fotoprotectora, pero es inferior que la superficie experimental patrón (administrado crema con FPS15).

En cuanto a la superficie experimental con extracto de *O. quixos*, indica que, presentó eritema leve en la superficie de experimentación a los 120 minutos de exposición a la radiación UV cuyo tiempo es superior a la superficie experimental con extracto de maracuyá y superficies control (crema placebo y blanco) presentando actividad fotoprotectora, pero es inferior que la superficie experimental patrón (administrado crema con FPS15)

Con respecto a la superficie experimental del producto con *P. edulis* y *O. quixos*, presentó eritema en la superficie de experimentación a los 90 minutos de exposición a la radiación UV cuyo tiempo es superior a la superficie experimental con extracto de maracuyá y superficies control (crema placebo y blanco) presentando actividad fotoprotectora, pero es inferior a la superficie experimental patrón (administrado crema con FPS15) y con extracto de ishpingo.

CUADRO No 21. FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR PARA LAS SUPERFICIES EXPERIMENTALES DE LOS PRODUCTOS APLICADOS EN VOLUNTARIOS. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN (1cm²)	FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR
Blanco	1
Producto placebo	1
Producto cosmético	15
Producto con extracto de maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	4
Producto con extracto de ishpingo (<i>Ocotea quixos</i>)	8
Producto con extracto de maracuyá, ishpingo	6

FUENTE CAZORLA M. 2012

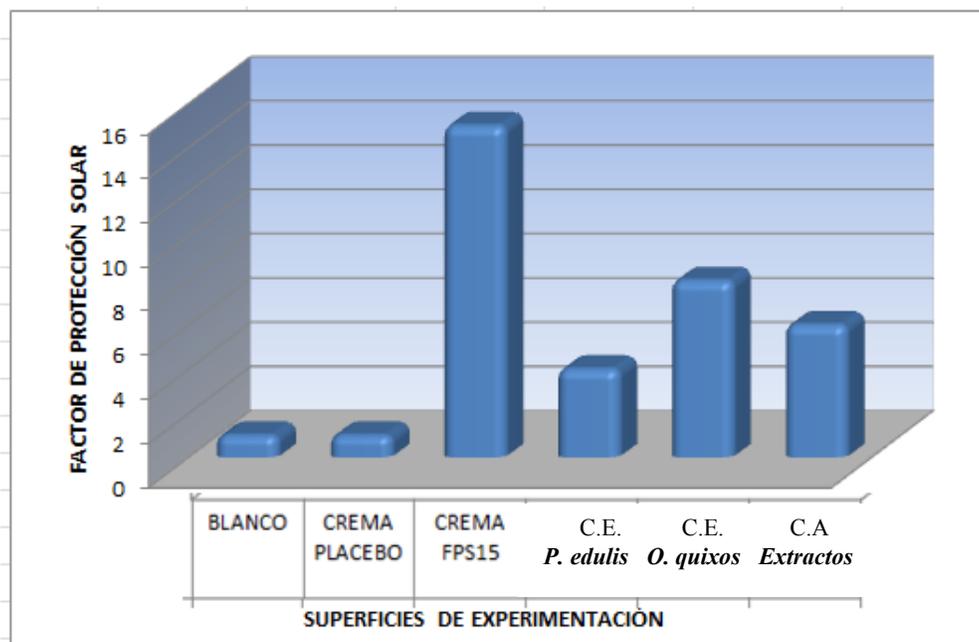


GRÁFICO No 5. FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR PARA LAS SUPERFICIES EXPERIMENTALES DE LOS PRODUCTOS APLICADOS EN LOS VOLUNTARIOS. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Como lo indica el Cuadro No.20 y en la Gráfica No.5, los niveles de FPS obtenidos en el grupo con sus respectivas superficies de experimentación al final tratamiento muestran los siguientes resultados:

En el blanco y producto placebo se pudo obtener un FPS de 1 ya que no produce ninguna actividad de fotoprotección, frente a la radiación ultravioleta emanada por el sol en comparación con los demás productos con los diferentes extractos.

Con respecto al producto con extracto de *P. edulis* se pudo obtener un FPS de 4 que es un nivel de protección baja frente a la radiación ultravioleta emanada por el sol en comparación con los demás productos con los diferentes extractos, demostrando que existe actividad fotoprotectora lo que se corrobora con lo que sucede en las plantas del género Passiflora

donde los flavonoides captan las radiaciones UV, impidiendo los efectos nocivos de estas radiaciones en los tejidos internos en su mecanismo de acción. (51)

En cuanto a la crema con extracto de *O. quixos* el FPS fue de 8 el cual es un nivel de protección media frente a la radiación ultravioleta siendo la que presentó mayor actividad fotoprotectora esto se debe a que los cinamatos presentes en esta planta absorben a una longitud de onda de 311 nm presentando mayor estabilidad. (10)

En la hipótesis nula tenemos que los extractos de las hojas de la maracuyá (*P. edulis*), ishpingo (*O. quixos*) conjuntamente no presentan sinergismo en fototipos III(*Homo sapiens*) en relación a los extractos individuales la cual se aceptó ya que se presentó un FPS de 6 que es un nivel de protección media esto se debe a que los rangos de FPS del producto con *P. edulis* y del producto con *O. quixos* son muy distanciados, lo que sucede con productos cosméticos con características no equivalentes que al combinarlos no se potencializa su efecto, según Vaca M (2012).

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Los tres productos con los extractos de *Passiflora edulis*, *Ocotea quixos*, y la combinación de ambos (2mg/cm² por día), producen efecto fotoprotector sobre la superficie de piel en fototipos III; por lo tanto la utilización de la maracuyá (*Passiflora edulis*), ishpingo (*Ocotea quixos*) resultará beneficiosa en el empleo de fotoprotector en fototipos III.
2. Los resultados del control de calidad de la droga cruda pulverizada de las hojas de maracuyá (*Passiflora edulis*), ishpingo (*Ocotea quixos*) cumplen con los parámetros de calidad establecidos por la USP, Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de maracuyá empleado presentó las siguientes características: líquido turbio, verde oscuro, olor característico, de sabor amargo; pH 5,25; índice de refracción 1,589; densidad relativa 0,964, sólidos totales de 9,10%, el extracto hidroalcohólico de las hojas de ishpingo empleado presentó las siguientes características: líquido turbio, café rojizo oscuro, olor característico, de sabor dulce; pH 5.48; índice de refracción 1,462; densidad relativa 0,943, sólidos totales de 8,64%.
4. La cuantificación de Flavonoides se lo realizó mediante espectrofotometría en el extracto alcohólico de hojas secas de maracuyá (*Passiflora edulis*), obteniendo el 1.56% de flavonoides totales; la cuantificación de cinamatos en el extracto a base de ishpingo (*Ocotea quixos*) reporto el 21 % lo cual se evidencia dándonos un mayor efecto fotoprotector en las cremas con *O. quixos*.

5. En los productos terminados con extracto de *Passiflora edulis*, *Ocotea quixos* y la mezcla de ambos extractos se realizó los diferentes ensayos de control de calidad tanto parámetros físico-químicos como microbiológicos, concluyendo que cumplen con los requisitos establecidos, por lo que las cremas se encuentra en óptimas condiciones para su uso.
6. Los grupos fitoquímicos determinados en los extractos etanólicos de las hojas de *Passiflora edulis*, fueron principalmente los flavonoides, los cuales confieren la actividad fotoprotectora, y en el extracto etanólico las hojas *Ocotea quixos* fueron principalmente los cinamatos.
7. Concluida la investigación acorde a los resultados obtenidos al realizar el análisis descriptivo la actividad de las tres cremas administradas por vía tópica ($2\text{mg}/\text{cm}^2$) tienen actividad fotoprotectora favorable para dicho tratamiento existiendo una mayor eficacia en fototipos III con la crema con extracto de *Ocotea quixos*, afirmando la hipótesis nula ya que existe un efecto antagónico en la combinación de los extractos de *Passiflora edulis* y *Ocotea quixos*.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar todo extracto herbario siguiendo las normas establecidas para dichos productos, para obtener así productos de calidad
2. Realizar análisis complementarios sobre la actividad de las cremas a base de maracuyá (*Passiflora edulis*), ishpingo (*Ocotea quixos*) respecto a pruebas de estabilidad.
3. Investigar más a fondo sobre los beneficios de la planta de ishpingo (*Ocotea quixos*), ya que no existe una referencia amplia sobre esta planta.
4. Complementar estudios de la planta de maracuyá (*Passiflora edulis*), ishpingo (*Ocotea quixos*), con respecto a la fotoprotección en otras formas farmacéuticas.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

La comprobación de la actividad fotoprotectora in vivo, con efecto sinérgico de las cremas a partir de hojas de Maracuyá (*P. edulis*), Ishpingo (*O. quixos*), se realizó en los laboratorios de Fitoquímica, Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

Con el método de observación y experimentación científica las sustancias de interés que se estudiaron fueron flavonoides y cinamatos totales, en los extractos fluidos y cremas de cada planta los cuales se cuantificaron por espectrofotometría; a la materia prima, extractos fluidos y producto terminado se realizó el control de calidad de acuerdo a lo especificado en la Norma Ecuatoriana de Fitofármacos y la Farmacopea Americana XXXI; el estudio in vivo se realizó en voluntarios con tipo de piel III con protector de antebrazo dividido en áreas con 6 superficies experimentales sometidos a radiación solar bajo condiciones específicas aplicando los productos a evaluar con micropietas de 10 μ L, basándonos en el método de eficacia en productos solares COLIPA.

En esta investigación las cremas presentaron los siguientes valores pH 5.4-5.9, viscosidad 50-56cp, extensibilidad 4.1-4.5mm resultados que cumplieron con los requisitos de referencia; las cremas presentaron las siguientes actividades fotoprotectoras para *O. quixos* presentó un FPS de 8, *P. edulis* FPS 4, y la combinación de ambos un FPS 6.

Se concluye que las cremas presentaron actividades fotoprotectoras pero no existió un efecto sinérgico. Se recomienda que los cosméticos que incluyan extractos de *P. edulis*, *O. quixos* tengan un pH ligeramente ácido para asegurar la afinidad de los productos por la Piel.

SUMMARY

The photoprotective in vivo activity demonstration, with synergistic effect in creams from leaves passion fruit (*P. edulis*), Ishpingo (*O. quixos*), was conducted in the Phytochemistry, Instrumental Analysis laboratories, Sciences Faculty in the ESPOCH.

With the method of scientific experimentation and observation of interest substances studied were cinnamates flavonoids and total fluid in the extracts from each plant and creams which are quantified by spectrophotometry, of the raw material and finished product fluid extracts was performed quality control as specified in the Reporting Standard Herbal Medicine and American Pharmacopeia XXXI, the in vivo study was performed in volunteers with skin type III with forearm protector divided into six areas with surface solar radiation under experimental conditions applying specific products of 10 μ L micropietas evaluate, based on the method of efficiency in solar products COLIPA.

In this research the creams showed the following values pH 5.4-5.9, 50-56cp viscosity, 4.1-4.5mm extensibility results that met the baseline requirements; creams photoprotective presented the following activities for *O. Quixos* presented an SPF of 8, *P. edulis* FPS 4, and the combination of both an SPF 6.

We conclude that the creams showed photoprotective activity but there was no synergistic effect. It is recommended that cosmetics that include extracts of *P. edulis*, *O. Quixos* have a slightly acidic pH to ensure the affinity of the products for the skin.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍAS

1. **BUSTAMANTE F.**, Manual sobre el uso de las plantas medicinales., s. ed., Managua-Nicaragua., Editorial Isnaya., 2002., Pp. 212-216
2. **BRUNETON J.**, Farmacognosia Fitoquímica de Plantas Medicinales., 2a.ed., Zaragoza-España., Editorial Acribia., 1993., Pp. 239-275; 301-349; 455-760; 773-793.
3. **CÁRDENAS D. Y OTROS.**, Canelo de los Andaquíes., Bogotá-Colombia., Editorial Imprenta Nacional Bogotá., 2007., Pp. 115-117.
4. **CORREA B.**, Especies vegetales promisoras., Bogotá-Colombia., Editorial Secab., 1989., Pp. 400-412.
5. **GARCIA H.**, Flora medicinal de Botánica Médica., Bogotá-Colombia., Editorial Imprenta Nacional Bogotá., 1975., Pp. 139-143.
6. **HIPOLITO A. Y OTROS.**, Plantas medicinales., DF-México., Editorial Biblioteca Práctica de México., 1976., Pp. 54-100.
7. **MIRANDA M. Y OTROS.**, Farmacognosia y Productos naturales., Habana-Cuba., Editorial Universidad de la Habana., 2000., Pp. 40-60.

8. **MIRANDA M. Y OTROS.,** Farmacognosia y Productos Naturales., 2a.ed., Habana-Cuba., Editorial Félix Varela., 2001., Pp. 159-165; 168-171; 242-245; 261-265; 273-274; 278-290.
9. **PALOMINO M.,** Dermatología Fisiología de la Piel., 2a.ed., Lima-Perú., Editorial Universidad de San Marcos., 2001., Pp. 2
10. **VERSCHOOTEN L.,** Nuevas estrategias de fotoprotección., 2a.ed., L.A. California-EE UU., s. edt., 2006., Pp.10-16; 23.
11. **WAGNER H. Y OTROS.,** Análisis de plantas y drogas., 2a.ed., Berlín-Alemania., Editorial Springer Verlag., 1996., Pp. 334-347.
12. **SALINAS N.,** Canelo de los Andaquíes., Bogotá-Colombia., Editorial Secab., 2007., Pp. 115-117
13. **SHARAPIN.,** Fundamentos de Tecnología Productos Fitoterapéuticos., Bogotá Colombia., Editorial Secab., 2006., Pp. 28-57
14. **TELEGUARIO C.,** Caracterización y cuantificación de flavonoides., Guatemala-Guatemala., s. edt., 2008., Pp. 14
15. **JATIVA C.,** Texto Básico Fotoquímica., s. ed., Riobamba-Ecuador editorial ESPOCH., 2000., Pp. 19-21
16. **JORGENSEN Y OTROS.,** Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador., Missouri-EEUU., s. edt, 1999., Pp. 1181.

Bibliografía de Internet

17. ADENOCARCINOMAS

<http://www.revistasocolderma.com>
2012/06/17

18. CARACTERISTICAS FOTOTIPOS

http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13074483&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v24n05a13074483pdf001.pdf&ty=165&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es
2012/06/27

19. CARACTERÍSTICAS RADIACIÓN UV

<http://www.tecnun.es/asignaturas/Ecologia/Hipertexto/10CAtm1/364UltrViol.htm>
2012/07/12

20. CARCINOMA ESCAMOCELULAR Y BASOCELULAR

<http://www.clinicadam.com/salud/5/000829.html>
2012/07/23

21. CAUSA QUEMADURA SOLAR

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003227.htm>
2012/07/23

22. CAPAS DE LA PIEL

<http://www.educaplus.org/play-228-Estructura-de-la-piel.html>

2012/08/14

23. COMPUESTOS DE LA UVA PROTEGEN DE LA RADIACIÓN SOLAR

http://www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2011/08/110801_uvas_radiacion_ultravioleta_men.shtml

2012/09/25

24. COMPOSICIÓN QUÍMICA ISHPINGO

http://lagranja.ups.edu.ec/documents/1317427/1368380/01_analisiscomposicion_quimica.pdf

2012/09/17

25. COMPOSICIÓN QUÍMICA MARACUYA

<http://www.rpan.org/principal/catalogo/54%20MARACUYA%20r-PAN.pdf>

2012/08/13

26. CONTRAINDICACIONES DE LA PASIONARIA

http://www.botanicalonline.com/plantasmedicinales/contraindicaciones_pasionaria.htm

2012/12/03

27. DATOS SOBRE CÁNCER

<http://www.cdc.gov/spanish/cancer/skin/statistics/>

2012/12/06

28. EFECTOS PARA LA SALUD Y LOS SERES VIVOS CAUSADOS POR LAS RADIACIONES UV.

http://www.lapiel.com/frontend/lapiel/noticia.php?id_noticia=558&PHPSESSID=9cd2bd13db6e716857e2d9d2edbd6d80

2012/12/07

29. EPIDEMIOLOGIA CANCER DE PIEL

<http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=cancer%20de%20piel%20epidemiologia%20mundial&source=web&cd=3&cad=rja&ved=0CD0QFjAC&url=http%3A%2F%2Fwww.uam.es%2Fdepartamentos%2Fmedicina%2Fpreventiva%2Fespecifica%2FCongresoXIX%2F21.doc&ei=GF3JUK->

[PN4es8QS1noCIDw&usg=AFQjCNGnEbXlvF1OjWVeLso2j3KvQ67](http://www.uam.es/medicina/preventiva/especifica/CongresoXIX/21.doc)

[msw](#)

2012/06/03

30. FACTOR DE PROTECCION SOLAR

<http://www.skincancer.ar.com/index.php?option=comcontent&view=section&id=12&layout=blog&Itemid=71>

2012/12/27

31. FITOFARMACOS EXTRACTOS VEGETALES CON PROPIEDADES TERAPEUTICAS

<http://phytomedchile.blogspot.com/2008/05/fitofrmacos-extractos-estandarizados-un.html>

2013/01/10

32. FOTOPROTECCIÓN

http://edumed.imss.gob.mx/edumed/rev_med/pdf/gra_art/A920.pdf

2012/12/18

33. FOTOTIPOS CONCEPTOS GENERALES

http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13074483&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v24n05a13074483pdf001.pdf&ty=165&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es

2013/01/18

34. HIPODERMIS

<http://www.alfinal.com/cent/semana2.php>

2013/01/29

35. HISTORIA PROTECTOR SOLAR

<http://www.trendenciasbelleza.com/tratamientos/el-primer-protectorsolar-comercializado-fue-coppertone-la-historia>

2012/09/09

36. MARACUYA (*Passiflora edulis*)

<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/passionfruit.html>

2012/06/26

37. MEDICINA NATURAL Y TRADICIONAL DE REMEDIOS

<http://www.ecoaldea.com/articulos/Pasiflora.htm>

2013/01/20

38. MELANOMA MALIGNO

<http://conexioncancer.es/tipos-de-cancer/informacion-general-sobre-el-melanoma/>

2013/02/16

39. NORMAS GENERALES PARA EXPERIMENTOS EN SERES HUMANOS

<http://www.mailxmail.com/curso-etnociencias-yage/normas-generales-experimentos-seres-humanos>

2012/09/18

40. PARAMETROS ÉTICOS QUE DEBE REGIR LA EXPERIMENTACIÓN CON SUJETOS HUMANOS

http://investigacion.us.es/docs/cetico/Principios_eticos_para_humanos.pdf

2013/10/28

41. PROPIEDADES MEDICINALES MARACUYA

<http://mednaturesagradafamilia.blogspot.com/2008/10/las-propiedades-de-la-maracuya.html>

2012/02/23

42. QUEMADURA SOLAR

<http://www.botanical-online.com/medicinalsquemadurassolares.htm>

2006/02/23

43. RADIACIÓN UV

http://es.wikipedia.org/wiki/Radiaci%C3%B3n_ultravioleta

2012/04/23

44. RADIACIÓN UV EN ECUADOR

<http://www.exa.ec/bp21/index-es.html>

2012/06/09

45. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE PASSIFLORA . PARA SU USO EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

<http://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=CARACTERIZACI%C3%93N+FISICOQU%C3%8DMICA+DE+PASSIFLORA+INCARNATA+L.+PARA+SU+USO+EN+LA+INDUSTRIA+FARMAC%C3%89UTICA&source=web&cd=1&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fojs.uo.edu.cu%2Findex.php%2Focq%2Farticle%2Fdownload%2F2196%2F1738&ei=eJC1UKaKfY2o8ATJkYGYCg&usg=AFQjCNF9MBzO3AdyMPNBmElakf5ioGEQ9g&cad=rja>

2012/07/16

46. TODO SOBRE EL ISHPINGO (*Ocotea quixos*)

http://en.wikipedia.org/wiki/Ocotea_quixos

2012/04/17

47. TODO SOBRE RADIACIÓN UV

<http://www.revistasocolderma.com/numeros/marzo10/pdfs/Fotoproteccion.pdf>

2012/07/15

48. TIPOS PROTECTOR SOLAR

http://es.wikipedia.org/wiki/Protector_solar

2012/05/28

49. TODO SOBRE PROTECCION CONTRA EL CÁNCER Y EL CÁNCER

<http://www.elmundo.es/elmundosalud/especiales/cancer/piel.html>

2013/02/12

50. TODO SOBRE PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD EN CREMAS COSMETICAS

http://prontus.uv.cl/pubacademica/pubprofesores/s/pubsanchezvirginia/site/artic/20080411/asocfile/laboratorio_ccalidad.pdf

2012/09/17

51. TODO SOBRE PRUEBAS Y MECANISMO DE FLAVONOIDES.

<http://linneo.bio.ucm.es/balaguer/Repository/Schironia.pdf>

2013/02/03

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO No 1. TÉCNICA UTILIZADA EN LA INVESTIGACIÓN



COMISIÓN EUROPEA
EMPRESA E INDUSTRIA DE LA DIRECCIÓN GENERAL
BIENES DE CONSUMO
COSMÉTICOS Y PRODUCTOS SANITARIOS

http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/doc/sunscreen_mandate_en.pdf

Bruselas, 12 de julio de 2006
M/389 EN

NORMALIZACIÓN MANDATO AL CEN SOBRE MÉTODOS PARA PROBAR LA EFICACIA DE LOS PRODUCTOS SOLARES.

DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO OBLIGATORIO

La Comisión invita al CEN para establecer una norma europea de ensayo de métodos de eficacia de los productos de protección solar. A los efectos de este mandato, "producto de protección solar" significa "cualquier preparación (como, por ejemplo, crema, aceite, gel, spray) destinado a ser puesto en contacto con la piel humana con una vista exclusiva o principalmente, a que lo protege de la radiación ultravioleta a través de absorción, dispersión o reflejar la radiación".

Cf. Art. 1 del proyecto de "Recomendación sobre la eficacia y reclamaciones relacionadas con productos de protección solar".
Persona responsable: Stefan Fuehring (Stefan.fuehring@ec.europa.eu)

En la norma europea de ensayo de métodos de eficacia de los productos de protección solar se indicarán:

- La protección contra las quemaduras solares (es decir, principalmente la radiación UVB)
- Protección contra la radiación UVA.
- Determinación de la longitud de onda crítica, es decir, la longitud de onda para la cual la sección bajo la curva de densidad óptica integrada a partir de 290 nm es igual al 90% de los la sección integrada entre 290 y 400 nm.

Dos de los métodos de prueba presentados con este mandato son ensayos in vivo sobre la salud humana los voluntarios. Aparte de estos métodos in vivo, el CEN está invitado a considerar también in-vitro métodos de prueba que:

- Conducen a resultados comparables a los obtenidos con los métodos in vivo;
- Son reproducibles.
- Tomar la foto-degradación.

A fin de facilitar una amplia aceptación de la norma, CEN tendrá en cuenta la normas de ensayo que actualmente se consideran en el proyecto de recomendación Comisión "en la eficacia y las relativas a productos de protección solar "2 y, en particular, o la norma (s) otras prestaciones de normalización en preparación o publicados como resultado de ISO / TC217 "Cosméticos". CEN evitará la duplicación innecesaria de trabajo con el organizaciones internacionales de normalización, en particular mediante el uso de las disposiciones relativas a paralelo procedimientos de aprobación establecidos en los actuales acuerdos de cooperación ("Acuerdo Viena").

INTRODUCCIÓN

El nivel de protección solar tradicionalmente ha sido estimado usando el factor de protección solar o SPF de prueba, que utiliza la respuesta de eritema de la piel a los rayos ultravioleta (UV).

El SPF es una relación calculada a partir de las energías necesarias para inducir un eritema mínimo la respuesta con y sin producto de sol aplicada a la piel de los voluntarios humanos, utilizando radiación ultravioleta normalmente de una fuente artificial.

El método que se describe en las secciones siguientes es una guía para ayudar al experimentado técnico para realizar la prueba. Ciertos procedimientos son críticos para obtener el correcto resultado que se describen en los apéndices, que muestra el procedimiento correcto para el pesaje y la aplicación de los productos.

Todos los procedimientos descritos en esta Guía podrán ser objeto de revisión por lo que la realización de los técnicos de la prueba debe asegurarse de que están trabajando para la revisión más reciente del método.

Regulación local nacional en relación con el uso de voluntarios (en lo sucesivo, pacientes) en los estudios clínicos deben ser respetadas.

EL MÉTODO

El Método de Prueba Internacional SPF es un método de laboratorio que utiliza una lámpara de arco de xenón simulador solar (o equivalente) de salida definido y conocido.

Para determinar el Factor de Protección Solar, serie incremental de las respuestas tardías de eritema se inducen en un número de pequeños sub-sitios en la piel de sujetos humanos seleccionados.

Cf. Art. 1 del proyecto de "Recomendación sobre la eficacia y reclamaciones relacionadas con productos de protección solar".
Persona responsable: Stefan Fuehring (Stefan.fuehring @ ec.europa.eu)

El test se realiza en la zona de la espalda entre la cintura y el hombro de línea. Un área de piel de cada sujeto se expone a la luz ultravioleta sin ninguna protección y otra zona (diferente) está expuesta después de la aplicación de un producto de prueba de protección solar.

Además al menos una zona adicional es expuesta después de la aplicación de una referencia SPF para la formulación de protección solar.

Aumentando gradualmente la dosis de UV, diversos grados de eritema de la piel (enrojecimiento debido a la vasodilatación superficial) se generan. Estas respuestas son eritema retardada evaluarse visualmente para la intensidad enrojecimiento 16 a 24 horas después de la radiación UV, por la sentencia de un evaluador capacitado.

La dosis mínima de eritema (MED) para la piel sin protección (MEDU) y el MED obtenido después de la aplicación de un producto de protección solar (es decir, la MED para el producto protegido piel, PDME) debe ser determinado sobre el mismo tema en el mismo día.

Más de un producto puede ser probado en el mismo tema en una sola prueba. Un factor de protección solar individual (ISPS) para cada materia evaluada se calcula como la relación de Med_{pi} / MED_{ui} . El factor de protección solar para el producto (SPF) es la media aritmética de todas válidas ISPS los resultados de todos y cada sujeto en la prueba y debe expresarse con un decimal lugar.

Un mínimo de 10 resultados válidos y un máximo de 20 se utilizará para el cálculo de SPF. Los límites de confianza (95% intervalo de confianza) para la media SPF deben incluirse en el rango de $\pm 17\%$ de la media SPF. Cada ensayo debe incluir una apropiada alta o baja SPF formulación de protección solar de referencia dependiendo de la espera SPF de las formulaciones de ensayo (véase el apéndice V). El SPF obtenido para una formulación de protección solar SPF referencia debe caer dentro del rango esperado.

CANTIDAD DE PRODUCTO Y APLICACIÓN.

La cantidad de producto aplicado y la uniformidad de la difusión en los lugares de prueba afecta a la magnitud y variabilidad de los resultados de la prueba. Por tanto, es muy importante seguir las recomendaciones que figuran a continuación.

1. Condiciones ambientales.

Aplicación del producto, la exposición UV y evaluación MED debe llevarse a cabo en estable condiciones, con la temperatura ambiente mantiene entre 18 y 26 ° C.

2. Producto lugar de aplicación.

El área mínima para un sitio de la aplicación del producto será de 30 cm² y el máximo deberá ser 60 cm².

El sitio de prueba sin protección utilizado para determinar MEDU debe estar en estrecha proximidad a la PDME sitios de prueba.

Las posiciones de los productos de prueba y sitios de referencia de protección solar de prueba debe ser al azar distribuidos en la parte posterior sobre el grupo de prueba conjunto de temas con el fin de reducir sistemática error que surge de las diferencias anatómicas de la piel.

Debe haber una distancia mínima de 1 cm entre las fronteras de producto adyacentes sitios de aplicación.

Antes de la aplicación del producto, el área de prueba se puede limpiar, pero sólo mediante el uso de un algodón seco pad o equivalente.

Cf. Art. 1 del proyecto de "Recomendación sobre la eficacia y reclamaciones relacionadas con productos de protección solar".
Persona responsable: Stefan Fuehring (Stefan.fuehring@ec.europa.eu)

El sitio de la aplicación del producto (s) debe ser delineada con un marcador de la piel y / o una plantilla hechos de materiales no absorbentes.

3. Cantidad de producto aplicado

La cantidad de producto de prueba y formulación de protección solar de referencia aplicado a la piel antes difusión será $2,00 \text{ mg.cm}^{-2} \pm 2,5\%$. La sensibilidad de la balanza debería ser al menos 0,0001, es decir, con al menos 4 decimales.

Se debe tener cuidado para evitar la pérdida por evaporación de los componentes volátiles cuando el producto se pesaron y antes de la aplicación a la piel. Es importante que la cantidad total de producto pesado se transfiere al sitio de aplicación del producto. Un método de pesaje por la pérdida es muy recomendable. Los productos de tipo líquidos constan de dos capas debe ser sacudido fuertemente antes de pesar con el fin de asegurar una dispersión homogénea.

4. MODO DE ENTREGA

4.1 Las lociones, líquidos, leches, cremas y aerosoles

Para ayudar a una cobertura uniforme de gotas (aproximadamente el 15 por 30cm^2 , el 30 por 60cm^2) del producto debe ser depositado en una jeringa / pipeta, luego se extendió sobre el sitio de prueba de conjunto con una ligera presión, utilizando un dedil (si es apropiado).

Si está empleado, un dedil nuevo debe ser utilizado para cada producto. Difusión de tiempo debe estar en el rango de 20 a 50 segundos dependiendo de la superficie y la facilidad de difusión del producto.

4.2 Polvos

En el caso de productos en polvo, alícuotas de polvo debe ser transferida a la piel en una rejilla manera, utilizando una espátula o un dedo como se muestra en el CD-ROM. El acumulado polvo se sangra y se extendió luego sobre el sitio de prueba entera usando un dedo con o sin dedil. Alternativamente, la punta de una calada aplicador precargado cosmético puede utilizarse en lugar de un dedo.

En este caso, es importante verificar que 2 polvo de prueba mg/cm²of producto permanece en la piel después de la extensión, pesando el polvo que queda en la punta de la calada aplicador. Agua purificada o en otro disolvente adecuado que no tiene UV propiedades de protección se puede aplicar antes de la aplicación del polvo para ayudar a la muestra se adhieren al sitio de aplicación. Los sujetos deben estar en la posición de decúbito prono para prevenir la muestras se caiga de la superficie.

5. EL TIEMPO DE ESPERA ENTRE LA SOLICITUD Y LA EXPOSICIÓN UV (TIEMPO DE SECADO).

La exposición del sitio de prueba con la secuencia de dosis de UV se iniciará 15 a 30 minutos después de la aplicación del producto (s). Cualquier exposición extraño de los sitios de prueba a la luz UV (Artificial o natural) se deben evitar durante este periodo y durante un período de 24 horas antes de la exposición, así como 24 horas después de la exposición.

6. EXPOSICIONES UV

Un tiempo de calentamiento, generalmente de 10 minutos, se debe permitir para el simulador solar UV a estabilizar antes de empezar la exposición de los sujetos.

1. Posición de los sujetos.

Cuando los sujetos están siendo expuestos que pueden estar sentados o estar en la posición de decúbito prono (excepto para el ensayo de productos en polvo que debe ser probado en la posición prona).

El sujeto debería estar situado en una manera de asegurar que la cantidad total de producto de ensayo se aplica uniformemente y permanece en la piel. La posición será la misma para el producto aplicación, por la exposición UV y para MED evaluación.

2. La exposición sub-sitios.

La prueba sub-sitios destinados a la exposición UV debe estar libre de manchas y tiene un incluso el tono de color. Una plantilla de no-absorbente puede ser utilizado para delimitar los subsitios de la exposición UV (largebeam Salida del simulador solar).

El área mínima aceptable de cada exposición sub-sitio es de 0,5 cm².

El área recomendada es de al menos 1 cm².

La distancia mínima entre los bordes de cada exposición sub-sitio (manchas) debe estar en menos 0,8 cm y cada sitio de sub-debe ser de la misma área

ANEXO No 2 CÁLCULOS

CÁLCULOS % CONCENTRACIÓN DE QUERCETINA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = 0.0578C - 0.0043$$

$$C = \frac{A + 4,30 \times 10^{-3}}{0,057775}$$

$$C = \frac{0,717 + 4,30 \times 10^{-3}}{0,057775} = 12.47 \frac{\mu g}{mL}$$

%Concentración

$$= \frac{12.47 \mu g Querc}{1 mL} \times \frac{100 mL}{1 g Muestra} \times \frac{25 mL}{2 mL} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g} \times \frac{1 g}{1000 mg} \times 100$$

$$\%Concentración = 1.56\%$$

CÁLCULOS % CONCENTRACIÓN DE CINAMATOS EN ACEITE DE CANELA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN ISHPINGO. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = 0.003C - 0.037$$

$$C = \frac{A + 0.036}{0,003}$$

$$C = \frac{0,196 + 0.036}{0,003} = 77.33 \frac{\mu g}{mL}$$

$$\begin{aligned} & \% \text{concentración} \\ & = \frac{77.33 \mu g \text{cinamato}}{1 mL} \times \frac{250 mL}{1 mL \text{Laceitedeishpingo}} \times \frac{100 mL}{1 mL} \times \frac{50 mL}{1 mL} \times \frac{1 mL \text{Laceitedeishpingo}}{450 g \text{planta}} \times \end{aligned}$$

$$\frac{1 mg}{1000 \mu g} \times \frac{1 g}{1000 mg} \times 100$$

$$\% \text{concentración} = 21 \%$$

CÁLCULOS % CONCENTRACIÓN DE QUERCETINA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CREMA CON EXTRACTO DE *Passiflora edulis*. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = -4,30 \times 10^{-3} + 0,057775C$$

$$C = \frac{A + 0.043}{0,0578}$$

$$C = \frac{0,703 + 0.0043}{0,0578} = 12.23 \frac{\mu g}{mL}$$

$$\begin{aligned} \% \text{Concentración} &= \frac{12.23 \mu\text{g}}{1 \text{mL}} \times \frac{100 \text{mL}}{1 \text{g crema}} \times \frac{25 \text{mL}}{2 \text{mL}} \times \frac{3.7 \text{mL}}{250 \text{g crema}} \times \frac{1 \text{mg}}{1000 \mu\text{g}} \times \frac{1 \text{g}}{1000 \text{mg}} \\ &\times 100 \end{aligned}$$

$$\% \text{Concentración} = 0.022$$

CÁLCULOS % CONCENTRACIÓN DE CINAMATOS EN ACEITE DE CANELA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN CREMA CON EXTRACTO DE *O. quixos*. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = 0.003C - 0.037$$

$$C = \frac{A + 0.036}{0.003}$$

$$C = \frac{0.096 + 0.036}{0.003} = 44 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\begin{aligned} \% \text{Concentración} &= \frac{44 \mu\text{g cinamato}}{1 \text{mL}} \times \frac{100 \text{mL}}{1 \text{g crema}} \times \frac{25 \text{mL}}{1 \text{mL}} \times \frac{3.7 \text{mL}}{250 \text{g crema}} \times \frac{1 \text{mg}}{1000 \mu\text{g}} \\ &\times \frac{1 \text{g}}{1000 \text{mg}} \times 100 \end{aligned}$$

$$\% \text{Concentración} = 0.165$$

CÁLCULOS % CONCENTRACIÓN DE QUERCETINA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CREMA CON EXTRACTO DE

Passiflora edulis, Ocotea quixos. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL.
FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = -4,30 \times 10^{-3} + 0,057775C$$

$$C = \frac{A + 0.043}{0,0578}$$

$$C = \frac{0,685 + 0.0043}{0,0578} = 11.92 \frac{\mu g}{mL}$$

$$\begin{aligned} \% \text{Concentración} &= \frac{11.92 \mu g}{1 mL} \times \frac{100 mL}{1 g \text{ crema}} \times \frac{25 mL}{2 mL} \times \frac{1,8 mL}{250 g \text{ crema}} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g} \times \frac{1 g}{1000 mg} \\ &\times 100 \end{aligned}$$

$$\% \text{Concentración} = 0.010$$

CÁLCULOS % CONCENTRACIÓN DE CINAMATOS EN ACEITE DE CANELA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN CREMA CON EXTRACTO DE *Passiflora edulis, Ocotea quixos.* LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = 0.003C - 0.037$$

$$C = \frac{A + 0.036}{0,003}$$

$$C = \frac{0,070 + 0.036}{0,003} = 35.3 \frac{\mu g}{mL}$$

%Concentración

$$\begin{aligned} &= \frac{35.3 \mu g \text{ cinamato}}{1 mL} \times \frac{100 mL}{1 g \text{ crema}} \times \frac{25 mL}{1 mL} \times \frac{1,8 mL}{250 g \text{ crema}} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g} \\ &\times \frac{1 g}{1000 mg} \times 100 \end{aligned}$$

$$\%Concentración = 0.063$$

ANEXO No. 3 FORMATO DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

**HOJA DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACION EN
ESTUDIO DE INVESTIGACION**

TITULO: “ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LA MARACUYÁ (*Passiflora edulis*), ISHPINGO (*Ocotea quixos*) EN FOTOTIPOS III (*Homo sapiens*) PARA ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR”

INVESTIGADOR: Marlon Cazorla Martínez

LUGAR: Riobamba – Ecuador

Esta hoja de consentimiento puede contener palabras que usted no entienda. Por favor pregunte al investigador encargado o cualquier palabra o información que usted no entienda claramente. Usted puede llevarse a su casa una copia de este consentimiento para pensar sobre este estudio o para discutir con su familia o amigos antes de tomar su decisión.

I- INTRODUCCION

Usted ha sido invitado a participar en un estudio de investigación. Antes de que usted y su hijo decidan participar en el estudio por favor lea este consentimiento cuidadosamente. Haga todas las preguntas que usted tenga, para asegurarse de que entienda los procedimientos del estudio, incluyendo los riesgos y los beneficios.

II- PROPÓSITO DEL ESTUDIO:

La razón por la cual se realiza esta investigación, es para comprobar el conocimiento popular de dos plantas en los hogares riobambeños, como lo es el ishpingo y la maracuyá, que

mencionan entre sus beneficios, como protector solar natural, y debido a que en los últimos tiempos, la exposición al sol y el uso de varias sustancias químicas han complicado nuestra salud.

III- PARTICIPANTES DEL ESTUDIO:

El estudio es completamente voluntario. Usted puede abandonar el estudio en cualquier momento al no sentirse cómodo con el tratamiento.

Se espera que participen 10 personas voluntarias.

IV- PROCEDIMIENTOS:

En el estudio se procederá inicialmente con la entrega de la hoja de consentimiento informado, y con la aceptación de ser parte de la experiencia, luego se dará charlas sobre los riesgos de exposición prolongada al sol y se explicara el modo de aplicación de los productos en la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, posteriormente la entrega de los envases con los productos y sus respectivas indicaciones, la experiencia tiene una duración de 300 minutos, con evaluación de aparición de eritema según el tono de piel cada 15 minutos el cambio del color de piel será evaluado por el investigador, al finalizar, se realizará un seguimiento para determinar que no exista efectos adversos por la exposición solar. Su participación culmina con este paso.

V-RIESGOS O INCOMODIDADES:

La exposición solar puede causar, mareos, fatiga, eritemas, insolación.

Solamente usted puede administrarse los productos en estudio. El mismo debe mantenerse fuera del alcance de los niños y de personas que no entiendan sus instrucciones.

VI- BENEFICIOS

Es probable que usted no reciba ningún beneficio personal por participar en este estudio.

Su condición podría mejorar como resultado de su participación en este estudio, aunque no hay ninguna garantía de que esto suceda.

VII- COSTOS

El tratamiento será provisto por el investigador y en caso de insolación los costos en su recuperación son totalmente gratuitos para las personas voluntarias

VIII- INCENTIVO PARA EL PARTICIPANTE

A usted no se le pagará nada por ser parte de este estudio.

IX - PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Si usted elige estar en este estudio, el investigador del estudio conseguirá información personal sobre usted. Esto puede que incluya la información que puede identificarle a usted.

El investigador puede también conseguir información sobre la salud suya incluyendo:

- Expedientes médicos de ahora y el pasado (pueden incluir resultados de laboratorios, placas o exámenes físicos).

Información sobre usted y sobre su salud que puede identificarle a usted podría ser brindada a otros para realizar este estudio de investigación

Los resultados de esta investigación pueden ser publicados en revistas científicas o ser presentados en las reuniones médicas, pero la identidad suya no será divulgada.

La información de salud suya será mantenida tan confidencial como sea posible bajo la ley.

Esta autorización servirá hasta el final del estudio, a menos que usted la cancele antes. Usted puede cancelar esta autorización en cualquier momento enviando un aviso escrito al Investigador en la dirección siguiente:

Marlon Cazorla Martínez, Larrea 17-53 y Chile. Riobamba - Ecuador, 032967524-0998717640

Si usted cancela esta autorización, el Investigador Principal no usará ni divulgará su información personal ni de su salud bajo la autorización para este estudio. Esta información sólo se divulgará en caso que se necesite la información personal de su salud para preservar la integridad científica del estudio.

La autorización para el uso y el acceso de la información protegida de la salud para los propósitos de la investigación es totalmente voluntaria. Sin embargo, de no firmar este documento usted no podrá participar en este estudio. Si en el futuro usted cancela esta autorización, no podrá continuar participando en este estudio.

X- PARTICIPACIÓN Y RETIRO VOLUNTARIOS

La participación suya en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento. La decisión suya no resultará en ninguna penalidad o pérdida de beneficios para los cuales tenga derecho. De ser necesario, su participación en este estudio puede ser detenida en cualquier momento por el investigador del estudio o por el patrocinador sin su consentimiento.

XI- PREGUNTAS

Si tiene alguna pregunta sobre este estudio o sobre su participación en el mismo, o si piensa que ha sufrido alguna lesión asociada al tratamiento en estudio, usted puede contactar a:

Marlon Cazorla Martínez, Larrea 17-53 y Chile. Riobamba - Ecuador, 032967524-0998717640

No firme este consentimiento a menos que usted haya tenido la oportunidad de hacer preguntas y recibir contestaciones satisfactorias para todas sus preguntas.

Si usted firma aceptando participar en este estudio, recibirá una copia firmada, con la fecha de esta hoja de consentimiento para usted.

XIII- CONSENTIMIENTO:

He leído la información de esta hoja de consentimiento, o se me ha leído de manera adecuada. Todas mis preguntas sobre el estudio y mi participación han sido atendidas.

Yo autorizo el uso y la divulgación de mi información de salud a las entidades antes mencionadas en este consentimiento para los propósitos descritos anteriormente.

Al firmar esta hoja de consentimiento, no se ha renunciado a ninguno de los derechos legales.

Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

Firma del Investigador Principal

Fecha

Firma del Padre

Fecha

Firma de la Madre

Fecha

Firma del representante legal autorizado

Fecha

Anexo No4. FOTOGRAFÍAS



FOTOGRAFÍA No. 3 HOJAS DE *Ocotea quixos*



FOTOGRAFÍA No. 4 HOJAS DE *Passiflora edulis*



FOTOGRAFÍA No 5. CONTROL DE CALIDAD DE *Passiflora edulis*, *Ocotea quixos*



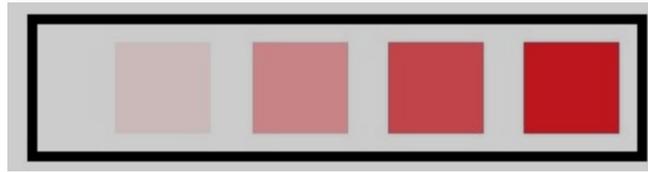
FOTOGRAFÍA No 6. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ALCÓHOLICOS DE *Passiflora edulis*, *Ocotea quixos*



FOTOGRAFÍA No 7. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE *Passiflora edulis*, *Ocotea quixos*



FOTOGRAFÍA No 8. CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS CON *Passiflora edulis*, *Ocotea quixos*

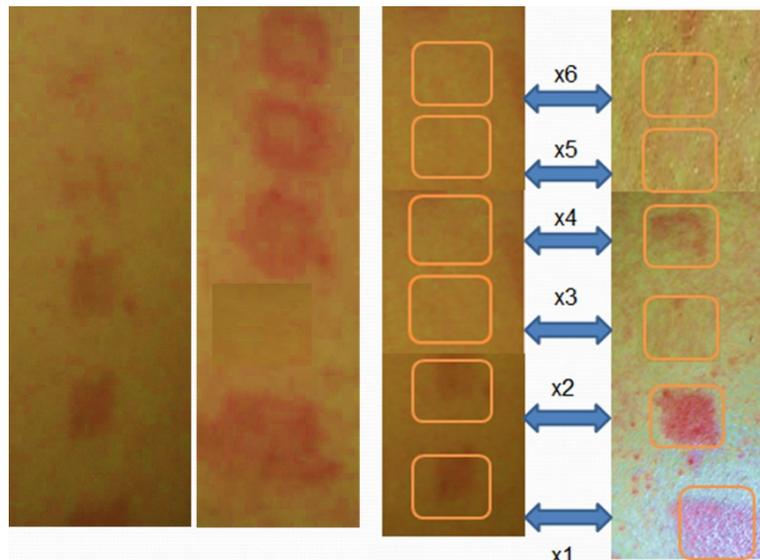


FOTOGRAFÍA No 9. TIRA DE TEST COLORIMÉTRICO PARA MEDICIÓN DE NIVEL DE ERITEMA POR COLOR DE PIEL



FOTOGRAFÍA No 10. VOLUNTARIO EN LA EXPERIMENTACIÓN

90 minutos 120 minutos 15 minutos 60 minutos



FOTOGRAFÍA No 11. ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA

