



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DEL TAXO (*Passiflora tripartita*) Y
ALBAHACA (*Ocimum basilicum*), EN FOTOTIPOS III (*Homo sapiens*) PARA LA
ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR”.**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

PRESENTADO POR

VERÓNICA PAOLA OROZCO MONTERO

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

DEDICATORIA

A mis queridos padres Clarita y Rubén por ser mi mejor ejemplo de superación y apoyarme incondicionalmente en cada momento de mi vida.

A mi hijo Marlito Alexander, por fortalecer mi alma con todo su amor y permitir que mi corazón lata cada día con solo mirar su sonrisa. Este logro es tuyo mi peque gracias por todo el sacrificio que te tocó hacer mientras yo estudiaba.

A mi esposo que ha sido el impulso durante toda mi carrera y el pilar principal para la culminación de la misma. T.A.M.

A mis hermanos Mario, Clarita, Fabricio, Vinicio, Ruby, José por apoyarme siempre.

A mis queridos sobrinos por su apoyo y confianza.

A todas aquellas personas que forman parte de mi vida y hacen de ella más llevadera ya que con su apoyo y afecto permiten que en mí siga creciendo el deseo de superación.

Los amo.

AGRADECIMIENTO

A Dios quién supo guiarme, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por el apoyo brindado en la realización del trabajo investigativo.

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

A mi esposo, padres, suegros y 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 DEL TAXO (*Passiflora tripartita*) Y ALBAHACA (*Ocimum basilicum*), EN FOTOTIPOS III (*Homo sapiens*) PARA ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR**”, de responsabilidad de la señora egresada Verónica Paola Orozco Montero, 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. CARLOS ESPINOZA
MIEMBRO DE TRIBUNAL

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, Verónica Paola Orozco Montero, 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.

VERÓNICA PAOLA OROZCO MONTERO

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
TAT	Azoleccitina Tripticasa caldo con Tween
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
FPS	Factor protección solar
USP	Farmacopea de los Estados Unidos
PAL	Fenilalanina amonio liasa
PEP	Fosfoenolpiruvato
f.f	Forma farmacéutica
°C	Grados Celcius
G	Gramo
FG	Grupo fototipo
UVI	Indice ultra violeta
IP	Indice de protección
KNMI	Instituto meteorologico del clima en holanda
Kg	Kilogramos
Th1	Linfocito helper 1
Th2	Linfocito helper 2
UV	Luz ultravioleta
MED	Mínima dosis eritémica
NMP	Número mas probable
OMC	Octil metoxi cinamato
OMS	Organización Mundial de la Salud
SAB	Sabourad Dextrosa Agar
TSA	Tripticasa Soya Agar

INDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1	Fotoprotección.....	1
1.2.	Radiaciones solares.....	1
1.2.1.	Factores que influyen en la radiación ultravioleta.....	1
1.3.	Fotoprotector.....	6
1.3.1.	Clasificación de los fotoprotectores.....	7
1.3.1.1.	Físicos.....	7
1.3.1.2	Biológicos.....	9
1.3.1.3	Organominerales.....	10
1.3.1.4	Químicos.....	10
1.3.2.	Mecanismo de acción de los protectores solares.....	12
1.3.3	Factor de protección solar.....	12
1.3.4.	Parámetros de evaluación en fotoprotección.....	14
1.3.5.	Criterios para utilizar un filtro solar.....	15
1.3.6.	Piel.....	16
1.3.7	Fototipo.....	17
1.4.	Efectos en piel por exposición a los rayos UV.....	18
1.4.1.	Efectos agudos.....	19
1.4.1.1	Eritemas.....	19
1.4.1.2	Quemaduras.....	20
1.4.1.3	Fotoqueratitis.....	21
1.4.1.4	Fotoconjuntivitis.....	21
1.4.2	Efectos crónicos.....	21
1.4.2.1	Cáncer de piel.....	21
1.4.2.2	Tipos de cáncer de piel.....	22

1.4.2.3	Causas para cáncer de piel.....	23
1.4.2.4	Epidemiología del cáncer de piel.....	24
1.5	Drogas vegetales	25
1.5.1.	Extractos vegetales.....	25
1.5.1.1	Clasificación de los extractos.....	26
1.5.2	Proceso para obtención de extractos.....	27
1.5.3	Flavonoides en plantas.....	28
1.5.3.1	Biosíntesis.....	29
1.5.3.2	Regulación de la biosíntesis.....	29
1.5.3.3	Funciones en las plantas.....	30
1.5.3.4	Aplicaciones en Medicina.....	30
1.5.4	<i>Passiflora tripartita var.mollissima</i>	31
1.5.4.1	Clasificación científica.....	22
1.5.4.2	Descripción	32
1.5.5.	Cinamatos	34
1. 5.6	<i>Ocimum basilicum</i>	23
1. 5.6.1	Clasificación científica	34
1. 5.6.2	Descripción	35
1. 5.6.3	Composición Cualitativa y cuantitativa	35
1. 6.	Parámetros éticos que debe regir la experimentación con sujetos humanos.....	36
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	39
2.1.	Lugar de investigación.....	39
2.2.	Materiales, equipos y reactivos.....	39
2.2.1.	Materia prima.....	39
2.2.2	Material biológico.....	39
2.2.2.1	Población.....	39
2.2.2.2	Taxonomía.....	40
2.2.2.3	Descripción.....	40
2.2.2.4	Condiciones.....	40
2.2.2.5	Muestra.....	40
2.3.	Materiales y reactivos para el estudio farmacognóstico y control de calidad.....	41
2.4	Manejo específico del experimento.....	43

2.4.1	Pruebas de control de calidad de las especies vegetales <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i>	45
2.4.1.1	Análisis físico-químico.....	45
2.4.1.2.	Determinación de microorganismos contaminantes en la droga cruda	45
2.4.1.3.	Diseño experimental.....	45
2.4.1.4.	Protocolo experimental.....	45
2.4.2.	Preparación de los extractos hidroalcohólicos de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i>	48
2.4.3.	Control de calidad en los extractos.....	49
2.4.4.	Investigación Fitoquímica.....	52
2.4.5.	Cuantificación de flavonoides totales expresados como quercetina...	52
2.4.6.	Cuantificación de cinamatos.....	54
2.4.7.	Determinación de las cantidades y tipos de excipientes adecuados para la formulación de las cremas a base de taxo y alhabaca.....	54
2.4.7.1	Preparación de la crema.....	54
2.5	Control de calidad de productos terminados.....	55
2.5.1.	Descripción del producto.....	55
2.5.2	Controles físicoquímicos.....	55
2.5.3	Análisis microbiológico.....	56
2.6.	Protocolo de administración del producto a los voluntarios.....	57
2.7	Manejo específico del experimento.....	58
2.7.1	Actividad fotoprotectora de los extractos alcohólicos de <i>passiflora tripartita</i> y <i>ocimun basilicum</i>	58
2.7.1.1	Unidad de observación.....	58
2.7.1.2	Grupos de estudio.....	59
2.7.1.3	Diseño experimental.....	59
2.7.1.4	Proceso experimental.....	59
2.8.	Análisis estadístico descriptivo.....	60
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
4	CONCLUSIONES.....	80
5	RECOMENDACIONES.....	82

6	RESUMEN.....	83
	ABSTRACT.....	84
7	BIBLIOGRAFIA.....	85
8	ANEXOS.....	93

INDICE DE CUADROS

CUADRO No 1.	Materiales y reactivos para el control de calidad fisicoquímico y estudio fitoquímico.....	41
CUADRO No2	Resultado de la determinación de la humedad de las drogas secas de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba Espoch. Septiembre 2012.....	62
CUADRO No3	Resultados de la determinación de cenizas totales, de la droga seca de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> , laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba Espoch. Septiembre 2012.....	63
CUADRO No4	Resultados de la determinación de cenizas solubles en agua de la droga seca de las hojas <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba Espoch. Septiembre 2012.....	64
CUADRO No5	Resultados de la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico de las drogas secas de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba Espoch. Septiembre 2012.....	64
CUADRO No6	Resultado de la determinación de requisitos organolépticos del extracto alcohólico de hojas de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch Riobamba septiembre 2012.....	65
CUADRO No7	Parámetros físicos de calidad del extracto alcohólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.....	66
CUADRO No8	Resultado de tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico de hojas de <i>Passiflora tripartita</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba Espoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	67
CUADRO No9	Resultados de la cuantificación de flavonoides del extracto alcohólico de hojas de <i>Passiflora tripartita</i> expresados como quercetina. Laboratorio instrumental. Facultad de ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.....	68
CUADRO No10	Cuantificación de flavonoides en las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> a una longitud de onda de 258 nm. Laboratorio de Análisis instrumental. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba	

	septiembre del 2012.....	69
CUADRO No11	Resultados de la cuantificación de cinamatos del extracto alcohólico de hojas de <i>Ocimum basilicum</i> a una longitud de onda de 311 nm. Laboratorio instrumental. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.....	69
CUADRO No12	Cuantificación de cinamatos en las hojas de <i>Ocimum basilicum</i> a una longitud de onda de 311 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba Agosto 2012.....	70
CUADRO No13	Cuantificación de flavonoides en crema con extracto de <i>Passiflora tripartita</i> a una longitud de onda de 258 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.....	71
CUADRO No14	Cuantificación de cinamatos en crema con el extracto alcohólico de <i>Ocimum basilicum</i> . A una longitud de onda de 311 nm. Laboratorio instrumental. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.....	71
CUADRO No15	Cuantificación de flavonoides en crema con extracto de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> a una longitud de onda de 258 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.....	72
CUADRO No16	Cuantificación de cinamatos en crema con extracto de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> a una longitud de onda de 311 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.....	72
CUADRO No17	Resultado de la determinación de parámetros en la descripción de los productos con extractos alcohólicos de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Espoch Riobamba septiembre 2012.....	73
CUADRO No18	Parámetros físicos-químicos de los productos con extracto alcohólico de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> y combinación de ambos extractos. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.	74
CUADRO No19	Determinación microbiológica de las cremas fotoprotectoras a base de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i> laboratorio microbiología. Facultad de Ciencias Espoch. Riobamba septiembre del 2012.....	75

CUADRO No20	Nivel de eritemas en las superficies de experimentación de los productos aplicados en voluntarios. Riobamba septiembre del 2012.	76
CUADRO No21	Factor de protección solar para las superficies experimentales de las cremas aplicadas en voluntarios. Riobamba Septiembre del 2012.....	78

INDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Principales filtros físicos.....	7
TABLA No. 2	Principales filtros biológicos.....	10
TABLA No. 3	Principales filtros organominerales.....	10
TABLA No. 4	Principales filtros químicos.....	11
TABLA No. 5	Principales niveles de radiación según el fototipo de piel.....	14
TABLA No. 6	Características fototipos.....	18
TABLA No.7	Resumen de los efectos nocivos de la sobreexposición a la radiación UV en el ser humano.....	18
TABLA No. 8	Tabla utilizada para la interpretación de NMP para la determinación de Coliformes totales.....	19
TABLA No. 9	Formulación de la crema fotoprotectora.....	54
TABLA No.10	Grupos de estudio.....	58
TABLA No.11	Descripción del proceso experimental.....	60

INDICE DE GRAFICOS

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.....	68
GRAFICO No. 2	Curva de Absorbancia Vs Concentración de Cinamatos en aceite de canela para la cuantificación de cinamatos en <i>O. basilicum</i> . Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias Epoch. Riobamba Septiembre del 2012.....	70
GRAFICO No. 3	Nivel de eritemas en la superficie de experimentación de las cremas aplicadas en voluntarios hasta los 60 minutos Riobamba Septiembre 2012.....	76
GRAFICO No. 4	Nivel de eritemas en la superficie de experimentación de las cremas aplicadas en voluntarios a partir de los 75 minutos Riobamba Septiembre 2012.....	77
GRAFICO No. 5	Factor de protección solar para las superficies experimentales de las cremas aplicadas en los voluntarios. Riobamba Septiembre 2012.....	78

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Planta de Taxo (<i>Passiflora tripartita</i>).....	31
FOTOGRAFÍA No. 2	Planta de Albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>).....	34
FOTOGRAFÍA No. 3	Control de calidad <i>Passiflora Tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i>	109
FOTOGRAFÍA No. 4	Obtención extractos alcohólicos <i>Passiflora Tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i>	109
FOTOGRAFÍA No. 5	Tamizaje Fitoquímico de <i>Passiflora Tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i>	110
FOTOGRAFÍA No. 6	Espectrofotómetro Utilizado Para Cuantificación De Cinamatos Y Flavonoides.....	110
FOTOGRAFÍA No 7	Control de calidad de productos con <i>Passiflora Tripartita</i> y <i>Ocimum basilicum</i>	111
FOTOGRAFÍA No. 8	Exposición de voluntarios a la radiación solar.....	111
FOTOGRAFÍA No. 9	Tira de Test colorimétrico para medición de Nivel de Eritema por color de piel.....	111
FOTOGRAFÍA No.10	Actividad fotoprotectora.....	112

INDICE DE ANEXOS

ANEXO No 1. Técnica Utilizada En La Investigación.....	93
ANEXO No 2. Cálculos.....	100
ANEXO No 3. Formato Del Consentimiento Informado.....	105
ANEXO No 4. Fotografías.....	109
ANEXO No 5. Datos obtenidos de la evaluación fotoprotectora de los productos con los extractos de <i>Passiflora tripartita</i> , <i>Ocimum basilicum</i> y combinación de ambos extractos.	113

INTRODUCCIÓN

Debido a que las radiaciones ultravioletas principalmente las UV-A y UV-B no pueden ser absorbidas por el ozono presente en la atmósfera a causa del daño existente en la capa de ozono, hace que estas penetren directamente, en especial en la zona ecuatorial causando daños a la piel como eritemas, pitiriasis, manchas cutáneas, y por ende cáncer de piel. 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 además de facilitar la síntesis de Vitamina D (que ayuda a absorber calcio por parte de los huesos) o mejorar el estado de ánimo. (33)

Según estudios realizados por la EXA, la Agencia Ambiental Canadiense, la NASA y 2 estaciones climatológicas propias en territorio Ecuatoriano 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. (27).

En Ecuador según datos estadísticos, el número de enfermos de cáncer a la piel se ha incrementado 500 veces en los últimos cinco años, en el 2011 existió 262, mientras que 219 en el 2010 evidenciando así un crecimiento donde el cáncer de mayor frecuencia es el melanoma. Esto, de acuerdo con un estudio elaborado por la Fundación Ecuatoriana de Psoriasis-Fepso, cuyas cifras las manejan también Solca y el Ministerio de Salud. (28).

Nuestra piel dispone de diferentes mecanismos de defensa frente a las radiaciones solares, el principal de los cuales es la producción de melanina. Este pigmento es el responsable del color de nuestra piel, pelo e iris, entre otros, y tiene la capacidad de filtrar de forma natural los rayos solares perjudiciales. Cada persona tiene un nivel de melanina, que determina un tipo o fototipo de piel. En función del fototipo podemos clasificar a la población en seis grupos diferentes, desde I (el más claro, con piel muy blanca, pelo rubio y ojos azules) o VI (individuos de raza negra). Lógicamente, cuanto menor sea el fototipo, mayor riesgo de sufrir reacciones adversas a las radiaciones solares. De todos modos es preciso tener presente que la melanina no filtra toda la radiación que nos llega, por lo que incluso pieles oscuras deben protegerse, para lo cual la industria cosmética ha desarrollado infinidad de fotoprotectores con compuestos químicos como el PABA (Ácido para amino benzoico), óxido de zinc dióxido de titanio entre otros que puede producir alergias, reacciones en la piel, dermatitis, además estudios recientes realizados por la Universidad de California en los Angeles demuestran que poseen efectos cancerígenos.(22)

Por esta razón se ha visto necesario realizar investigaciones sobre compuestos orgánicos provenientes de plantas es así que estudios realizados en la actualidad revelan la capacidad antioxidante y fotoprotectora de los flavonoides al igual que de los cinamatos presentes en frutas y vegetales los cuales 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). Es así que he creído conveniente evaluar la capacidad fotoprotectora que posee el taxo (*passiflora tripartita*) por poseer flavonoides los cuales tiene la capacidad de protección ante la luz UV en estudios se dicen que en plantas captan hasta el 90% de las radiaciones UV, impidiendo los efectos nocivos de estas radiaciones en los tejidos internos, y la albahaca (*Ocimum basilicum*) por su composición en cinamatos los cuales tiene la capacidad de absorber los rayos UVB a través de la obtención de sus extractos para posteriormente realizar el control de calidad tanto de la droga cruda como de los extractos así como también lograr cuantificar los principios activos mencionados anteriormente para elaborar la crema fotoprotectora y comprobar su actividad en superficies humanas.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 FOTOPROTECCIÓN.

Fotoprotección es la protección frente a los posibles efectos adversos de la luz ultravioleta.

Fotoprotección intrínseca de la piel.

Para protegerse de las radiaciones externas, la piel posee mecanismos intrínsecos de defensa, entre los que se encuentran el engrosamiento de sus capas más superficiales (epidermis y dermis) y la síntesis de melanina (pigmento que origina el bronceado).

Estos mecanismos van a variar según el fototipo, resultando insuficientes para prevenir el fotoenvejecimiento y la fotocarcinogénesis.

Fotoprotección exógena.

La fotoprotección exógena la constituyen todas aquellas estrategias encaminadas a disminuir los efectos adversos de las radiaciones solares sobre la piel. (ropa, sombrillas, gafas de sol, evitar la exposición, filtros solares, etc.) (42).

1.2 RADIACIONES SOLARES

La energía solar llega a la tierra en forma de radiaciones electromagnéticas. Su distribución espectral en función de las longitudes de onda es:

- Infrarrojos (>760 nm)

- Visible (400-760nm)
- Ultravioleta A o UVA (320-400 nm)
- Ultravioleta B o UVB (290-320 nm)

Las radiaciones solares terrestres, están constituidas por un 5% de las ultravioletas, frente a un 95% por el visible e infrarrojos.

Las radiaciones UVA representan el 98% de las radiaciones ultravioletas. La cantidad de UVB de la radiación solar, disminuye sustancialmente de verano a invierno, mientras que la cantidad de UVA disminuye en mucha menor proporción. También hay que tener en cuenta que los UVA no son retenidos por el cristal de las ventanas, coches etc. No ocurriendo lo mismo con los UVB que son retenidos en más del 90%. Incluso con el cielo cubierto, recibimos radiación UVA. Las UVA presentan también mayor capacidad de penetrar en el agua que las UVB. Así aunque las UVB poseen mayor energía, penetran poco en la piel, mientras que las UVA poseen mayor longitud de onda y menor energía, inciden de forma constante sobre la dermis. Ésta es la radiación que penetra más profundamente en la piel y además está presente en cantidades importantes a lo largo de todo el día y de todo el año. (3)

Radiación UVB

- desencadena el proceso de bronceado.
- Produce el engrosamiento del estrato córneo.
- Necesaria para la síntesis de vitamina D.
- Es responsable del enrojecimiento de la piel y del eritema actínico.
- Produce alteraciones del sistema inmunitario.
- Responsable de la fotocarcinogénesis.

Radiación IR

- Posee acción calorífica.
- Es responsable del enrojecimiento de la piel.
- Produce aumento de temperatura.
- Potencia los efectos negativos de la radiación UV.
- Es responsable de la pérdida de agua cutánea.

Efectos biológicos y patológicos de las radiaciones

- Radiación UVA
- Produce pigmentación inmediata
- Tiene escaso poder eritematígeno
- Produce alteraciones del ADN.
- Causa daños sobre el colágeno y la elastina, y con ello el fotoenvejecimiento de la piel.
- Responsable de la fotocarcinogénesis.
- Es responsable de reacciones fototóxicas y fotoalérgicas.
- Produce alteraciones del sistema inmunitario

Actualmente, con el daño sufrido por la capa de ozono, que se encuentra tan sólo a 40 km de la superficie de la Tierra, se ha presentado mayor transmisión de la radiación solar.

La calidad y la cantidad de radiación ultravioleta se relacionan con diferentes factores, como la hora del día, la temporada, la altitud y la latitud del sitio. La mayor radiación solar durante el día se detecta entre las 10 a.m. y las 4 p.m.

La capa de ozono no es uniforme; a mayor altitud es más delgada, lo que resulta en un aumento entre 8% y 10% de la radiación por cada 1.000 metros de altura, mientras que, con cada grado de latitud que se aleje, se aumenta en 3% la radiación UVB. Según la estación, verano o invierno, y las superficies, como la nieve, el hielo, la playa, el concreto y el vidrio, se puede reflejar hasta 90% de la radiación ultravioleta.

La radiación puede penetrar hasta 60 cm por debajo de la superficie del agua. La UVA no es filtrada por el vidrio, por lo que se cree que hasta 50% de este espectro se recibe en la sombra.

Mientras que el ozono es el mayor agente fotoprotector en la estratosfera, la piel es el órgano protector de los efectos solares, ya que los rayos no pueden penetrar más allá de ella. La profundidad de penetración en la piel depende de la longitud de onda. La UVB penetra hasta la epidermis y la UVA lo hace hasta la dermis.

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. (3)

El cromóforo, como molécula que absorbe radiaciones (rangos máximos de 260 nm a 280 nm) cuando se expone a la radiación ultravioleta, pasa a un estado de excitación. Las reacciones biológicas producidas pueden modificar el cromóforo y desencadenar fotosensibilidad; las células de la piel reaccionan, lo que puede producir eritema, edema e hiperpigmentación, seguidos por bronceado prolongado y engrosamiento de la epidermis y la dermis. Hay aumento de la síntesis de vitamina D y con la exposición crónica se puede inducir daño, envejecimiento y cáncer de piel.

La capacidad de inducir eritema se debe atribuir a la UVB y algo a la UVA. El eritema inducido por la UVB alcanza picos entre 6 y 12 horas, después de la exposición solar, pero la exposición con dosis altas de UVA produce eritema de forma inmediata. La UVA es más eficiente produciendo oscurecimiento de la piel y actúa de manera bifásica. En las primeras dos horas de exposición hay un oscurecimiento pigmentario inmediato, producto de la oxidación de la melanina existente; posteriormente, el oscurecimiento pigmentario persistente después de 72 horas es causado por un aumento en la actividad de la tirosinasa y la formación de nueva melanina, lo que aumenta el número de melanocitos. La radiación UV causa daño del ADN por estrés oxidativo; el oxígeno reactivo interacciona con fotosensibilizantes endógenos y causa un daño indirecto al ADN, las proteínas y las membranas, lo cual aumenta la síntesis de melanina y produce un daño directo en las células del tejido conjuntivo dérmico. Hay aumento de la actividad mitótica, que persiste por semanas.

La exposición a la luz solar no eritematógena, de manera repetida y crónica, puede inducir daño del ADN que, con sus bases aromáticas y heterocíclicas, absorbe fuertemente la radiación ultravioleta y forma dímeros de pirimidinas, fotoproductos que causan hipersensibilidad retardada, además de la formación de especies reactivas de

oxígeno, oxidación de lípidos y proteínas, que inducen metaloproteinasas que degradan el colágeno y la elastina e, incluso, producen despigmentación. Tiene un papel muy importante en la patogénesis de las enfermedades por fotosensibilidad, y puede producir lentigos, envejecimiento y neoplasias benignas y malignas.

En la actualidad, el bronceado se percibe como un sinónimo de belleza, lo que ha popularizado el exceso de exposición solar, y se encuentran daños irreversibles en personas cada vez más jóvenes. Para prevenir los daños ocasionados por la radiación ultravioleta, se debe evitar el exceso de sol, usando protectores solares adecuados, que actúen sobre los diferentes espectros, y cubrir el cuerpo con ropas adecuadas; no obstante, lo más importante es tener conciencia y adquirir una cultura de fotoprotección. (42)

1.2.1. Los niveles de radiación ultravioleta dependen de varios factores

El nivel de radiación ultravioleta que llega a la superficie de la tierra puede variar en función de una gran variedad de factores. Cada uno de los siguientes factores puede aumentar el riesgo de exposición excesiva a la radiación ultravioleta y de sus efectos sobre la salud.

El ozono estratosférico

La capa de ozono absorbe la mayoría de la radiación ultravioleta, pero el nivel de absorción varía según la época del año y los cambios climáticos. Además, esta absorción ha disminuido a medida que la capa de ozono se ha ido reduciendo a consecuencia de la emisión industrial de sustancias que destruyen el ozono.

La hora del día

El sol está en su punto más alto en el cielo alrededor del mediodía. A esa hora, la distancia que recorren los rayos solares dentro de la atmósfera es más corta y los niveles de UVB son los más altos. Temprano en la mañana y al final de la tarde, los rayos solares atraviesan la atmósfera de forma oblicua, lo cual reduce en gran medida su intensidad.

Época del año

El ángulo de incidencia de la luz solar varía según las estaciones, con lo cual varía también la intensidad de los rayos ultravioleta. La intensidad de la radiación ultravioleta es más alta durante los meses de verano.

Latitud

La intensidad de los rayos solares es más fuerte en el ecuador, ya que el sol pasa por la parte más alta del cielo y la distancia recorrida por los rayos ultravioleta dentro de la atmósfera es más corta. Además, el espesor de la capa de ozono es menor en los trópicos que en las latitudes medias y altas, por lo que hay menos ozono para absorber la radiación ultravioleta mientras atraviesa la atmósfera. A latitudes más altas, el sol está más bajo en el cielo, por lo que los rayos ultravioleta deben recorrer una distancia mayor a través de las capas de la atmósfera en donde hay más ozono, y en consecuencia la radiación ultravioleta es menor en esas latitudes.

Altitud

La intensidad de la radiación ultravioleta aumenta con la altitud, ya que hay menos atmósfera para absorber los rayos dañinos del sol. Por lo tanto, el riesgo de exposición excesiva al sol aumenta con la altitud.

Condiciones climáticas

Las nubes reducen el nivel de radiación ultravioleta, pero no la eliminan completamente. Según el espesor de las nubes, es posible sufrir quemaduras en un día nublado (y aumentar el riesgo de cáncer de piel y daños a la vista a largo plazo) aunque no haga mucho calor.

Luz reflejada

Algunas superficies, como la nieve, la arena, la hierba y el agua pueden reflejar gran parte de la radiación ultravioleta que reciben. Debido a la reflexión, la intensidad de la radiación ultravioleta puede ser mayor de lo que parece, incluso en zonas de sombra (31).

1.3 FOTOPROTECTOR

Se denomina protectores solares o fotoprotectores a todos aquellos productos (cremas, lociones, leches, etc.) que se aplican sobre la piel con el fin de protegerla de los efectos perjudiciales de las radiaciones solares ultravioleta A (UVA) y/o ultravioleta B (UVB). Esto es posible porque en su composición llevan unas sustancias denominadas filtros, capaces de frenar la acción de uno y/u otro tipo de radiación (11).

1.3.1 CLASIFICACIÓN

1.3.1.1 Físicos

Son impermeables a la radiación solar y actúan sobre ella por reflexión. Son de amplio espectro controlan el UV, visible e IR. Son los más utilizados en niños.

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 fotodermatitis 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 (TiO₂). 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 (18).

TABLA No 1 PRINCIPALES FILTROS FISICOS

Filtros físicos	Radiación a la que actúan
Dióxido de titanio	UVA,UVB, Visible e IR
Óxido de zinc	UVA,UVB, Visible e IR
Mica	UVA,UVB, Visible e IR

- **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.

- **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.

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. (30).

1.3.1.2 Biológicos

Son antioxidantes que evitan la formación de radicales libres por lo que aumentan el sistema inmunológico.

Llamados también inmunoprotectores solares, son sustancias que estimulan el sistema inmunitario cutáneo para hacer frente a las radiaciones ultravioleta (UV). Activan los mecanismos internos de la propia piel, lo que supone un nuevo enfoque de la protección, por lo que en la actualidad son motivo de numerosos trabajos científicos. Los protectores solares biológicos contribuyen a proteger la piel sin ser filtros solares, es decir, carecen de capacidad para reflejar o absorber las radiaciones solares. Por tanto, sirven como complemento, pero no sustituyen los filtros solares físicos y químicos de las formulaciones cosméticas. Un ejemplo de este tipo de sustancias lo constituye un activo comercial obtenido de la semilla de soja, que ha demostrado in vitro una alta capacidad de activación de las proteínas implicadas en la supresión de tumores p53 y p14ARF, así como una activación de la eficacia reparadora del ADN y menor actividad de la enzima elastasa5. Así pues, estos activos también contribuyen a frenar el proceso de fotoenvejecimiento cutáneo. (10).

TABLA No 2. PRINCIPALES FILTROS BIÓLOGICOS

Filtros biológicos	Acción
Tocofenil Acetato	ANTIOXIDANTE(Bloque formación de radicales libres
Retinil Palmitato	ANTIOXIDANTE(Bloque formación de radicales libres
Pantenol	ANTIOXIDANTE(Bloque formación de radicales libres
Ascórbico Ácido	ANTIOXIDANTE(Bloque formación de radicales libres
Zinc	ANTIOXIDANTE(Bloque formación de radicales libres
Magnesio	ANTIOXIDANTE(Bloque formación de radicales libres

FUENTE. Ribera M, Paradelo C. El sol y la piel. Fotoprotección y filtros solares. Medicina integral 1997

1.3.1.3 Organominerales

Son un hallazgo reciente y consisten en filtros químicos insolubles. “Combinan el efecto cosmético de los filtros químicos con la seguridad de los filtros físicos, ya que no penetran en la piel. Además, actúan por un triple sistema de filtro: por absorción, por reflexión y por dispersión, poseen gran capacidad filtrante de UVA. (24).

TABLA No 3. PRINCIPALES FILTROS ORGANOMINERALES

Filtros organominerales	Radiación sobre la que actúan
Metileno	UVA, UVB
Bis-benzotriazolil	UVA, UVB
Tetrametilbutil	UVA, UVB
Butilfenol	UVA, UVB

FUENTE. Ribera M, Paradelo C. El sol y la piel. Fotoprotección y filtros solares. Medicina integral 1997

1.3.1.4 Químicos

Son sustancias químicas que absorben longitudes de onda del espectro UV (UVB o UVA) y las transforman impidiendo que las radiaciones afecten a las estructuras

cutáneas. Actualmente se investigan nuevas moléculas inocuas con capacidad de filtración del UVA-lejano, causante de las reacciones de fototoxia y fotoalergia. El uso de fotoprotectores con filtros UVB aumenta la exposición a radiación UVA, ya que al evitar el eritema alargan la exposición al sol sin filtrar el UVA. Es preciso recordar que esta radiación es la causante de los daños seniles más significativos de la dermis. (24).

TABLA No 4. PRINCIPALES FILTROS QUÍMICOS

Filtros químicos	Radiación sobre la que actúan
PABA	UVB
CINAMATOS	UVB
SALICILATOS	UVB
BENZOFENONAS	UVA,UVB
ANTRALINATOS	UVA
DIBENZOILMETANOS	UVA

FUENTE. Ribera M, Paradelo C. El sol y la piel. Fotoprotección y filtros solares. Medicina integral 1997

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. (44).

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 cáncer 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. (44).

1.3.2 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. (37)

1.3.3 FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR

El factor de protección solar o índice de protección solar indica cuánto tiempo más un fotoprotector aumenta la capacidad de defensa natural de la piel antes de llegar a quemarse una persona, usando un producto de protección frente a un eritema o enrojecimiento de la piel previo a la quemadura. Por ejemplo, una persona de piel clara que normalmente empieza a quemarse después de 10 minutos al sol, tardaría 15 veces ese tiempo con un SPF 15 (150 minutos o 2.5 horas). (5).

Factor adecuado

El **FP**, **IP** y **SPF** son el índice o factor de protección cuyo número indica el tiempo que puede exponerse la piel protegida sin quemarse frente a la radiación ultravioleta.

TIPO DE FOTOPROTECTOR	FPS
Bajo	2-4-6
Medio	8-10-12
Alto	15-20-25
Muy alto	30-40-50
Ultra	50+

En la práctica, la protección de un protector solar en particular depende de factores tales como:

- Tipos de bloqueador solar
- El tipo de piel de la persona
- La cantidad aplicada de protector solar y la frecuencia de aplicación.
- Actividades realizadas durante la exposición al sol (por ejemplo, nadar lleva a la pérdida del protector solar de la piel en menor tiempo).
- Cantidad de protector solar que la piel ha absorbido.

Las pieles claras son mucho más sensibles al sol que las oscuras. Se definen principalmente estos dos fototipos de piel:

- **Piel clara:** piel levemente pigmentada, que se quema algunas veces y se broncea ligeramente.
- **Piel oscura:** piel que no suele quemarse y que siempre se broncea.(5)

TABLA No5. NIVELES DE RADIACIÓN SEGÚN EL FOTOTIPO DE PIEL

Nivel de radiación (UVI)	Piel Clara		Piel Oscura	
	Exposición máx.sin protección	Índice protección indicado	Exposición máx. sin protección	Índice protección indicado
0-2 (bajo)	80 minutos	15	110 minutos	8
3-5 (moderado)	40 minutos	25	60 minutos	15
6-7 (alto)	25 minutos	30	35 minutos	25
8-10 (muy alto) Verano	20 minutos	50+	30 minutos	30
11+ (extremo) Verano	15 minutos	50+	25 minutos	50+

FUENTE. RECOMENDACIONES ORIENTATIVAS DEL DEPARTAMENTO DE SANIDAD Y SEGURIDAD SOCIAL SEGÚN EL UVI (NIVEL DE RADIACIÓN).

1.3.4 PARÁMETRO DE EVALUACIÓN EN FOTOPROTECTORES

EFICACIA

La eficacia se mide con el factor de protección solar, especialmente en dosis eritematógenas de rayos UVB y UVA II, hasta 340 nm. Una medida que complementa el factor de protección solar, es la de espectrofotometría in vitro. Con ésta se establece como parámetro la longitud de onda, entre 290 nm y 400 nm, a la cual el protector solar absorbe 90% de la radiación UV.

Un consenso de la *American Academy of Dermatology* establece que el protector solar de amplio espectro debe cubrir una longitud de onda de más de 370 nm y un factor de protección contra UVA mayor de 4.

Para evaluar la eficacia de los protectores contra la UVA, se valoran la pigmentación inmediata producida por la UVA y el espectro visible formado por la melanina existente. Estos parámetros tienen el inconveniente de que son difíciles de medir en pacientes con piel de fototipo I y II. Es diferente a la respuesta pigmentaria tardía, evaluada después de dos horas de exposición, ya que esta última es más fácil de reproducir.

SEGURIDAD

La seguridad se evalúa según los efectos después de la aplicación del producto en la piel, como irritación, sensibilidad, penetración dérmica y déficit de vitamina D, que podría llevar a poca absorción de calcio.

El uso de protectores solares puede hacer que las personas se confíen y aumenten el tiempo de exposición solar, lo cual, a su vez, aumenta el riesgo de carcinoma de piel.

SUSTANTIVIDAD

Es la característica de los protectores solares de reflejar su efectividad ante eventos o situaciones adversas, como la exposición al agua y al sudor.

Un protector solar se considera resistente al agua sólo si puede mantener su factor de protección solar original después de dos inmersiones de 20 minutos y, muy resistente al agua, si mantiene su efectividad después de cuatro inmersiones de 20 minutos cada una.

FACTORES QUE AFECTAN LA EFICACIA

La cantidad de protector aplicada es el factor más importante, porque las personas se aplican cantidades menores a las utilizadas en la prueba (2 mg/cm^2), y se olvidan de aplicarlo en sitios como la espalda, el cuello y las orejas. Los protectores inorgánicos se aplican en menor cantidad que los orgánicos, debido a la apariencia de mimo que puede dejar, la cual generalmente disgusta al usuario. (9)

1.3.5 CRITERIOS DE UTILIZACIÓN DE UN FILTRO SOLAR

El filtro solar debe ser seguro, eficaz, y cosméticamente aceptable. A la hora de recomendar un filtro solar deberemos tener en cuenta tres consideraciones:

- El fototipo frente al sol.
- El factor de protección solar (FPS) del filtro recomendado
- El tipo de piel (9).

1.3.6 LA PIEL

La piel humana es nuestra cubierta exterior, una delgada frotetra que nos protege del entorno y de las agresiones. Pone de manifiesto nuestra identidad y sirve a la vez de barrera y de órgano de intercambio y comunicación. La piel es el espejo de nuestra vida interior (tanto orgánica como física) y un órgano fundamental dentro de la razón del ser humano. Esta estructura no es sencilla y merece que se detallen sus constituyentes, la epidermis en la superficie y la dermis en su parte más profunda. (8)

- **Epidermis**

Es la capa más superficial de la piel y tiene un espesor variable, máximo en las regiones palmo plantares (1mm) y mínimo en los párpados (50um).

La epidermis asegura una triple función de protección: es una barrera impermeable frente a la penetración de sustancias químicas y de líquidos gracias a la capa córnea constituida como consecuencia de la maduración de los queratinocitos, es una protección frente al sol gracias a la presencia de melanocitos y además es una barrera inmunológica debido a la presencia de las células de Langerhans.

- **Dermis**

La dermis es la capa de la piel situada bajo la epidermis y firmemente conectada a ella. La cara interna de la membrana basal de la epidermis se le une a la dermis. Desempeña una función protectora, representa la segunda línea de defensa contra los traumatismos (su grosor es entre 20 y 30 veces mayor que el de la epidermis). Está formada por 2 capas:

- **La papilar, o dermis superior**

Es una zona superficial de tejido conectivo laxo, que contacta con la membrana basal, cuyas fibras colágenas y elásticas se disponen en forma perpendicular al epitelio, determinando la formación de papilas que contactan con la parte basal de la epidermis.

En este nivel encontramos receptores de presión superficial o tacto (corpúsculos de Meissner).

- **La reticular, o dermis profunda**

Contiene la mayoría de los anexos de la piel. Está constituida por tejido conectivo con fibras elásticas que se disponen en todas las direcciones y se ordenan en forma compacta, dando resistencia y elasticidad a la piel. Posee fibras musculares lisas que corresponden a los músculos erectores de los pelos. (6).

1.3.7 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 si 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. (5).

1.3.7.1 Características Fototipos.

TABLA No 6 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>

1.4 EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN A LOS RAYOS ULTRAVIOLETA UV

La radiación UV tiene efectos positivos sobre el ser humano, ya que favorece la síntesis de vitamina D, pero puede ser enormemente perjudicial cuando se sobrepasan unos límites de seguridad. La exposición excesiva a la radiación UV solar puede dar lugar a efectos tanto agudos como crónicos, especialmente para la piel y los ojos, que son los órganos más expuestos. Los efectos agudos incluyen desde eritema (enrojecimiento) y quemaduras en la piel hasta fotoqueratitis (inflamación de la córnea y el iris) y fotoconjuntivitis (inflamación de la conjuntiva). Los efectos crónicos incluyen el cáncer de piel y su fotoenvejecimiento (envejecimiento prematuro), y en el caso de los ojos, las cataratas (opacidad del cristalino) y el cáncer de conjuntiva. También el sistema

inmunológico puede resultar afectado por la sobreexposición, a través de una disminución de su funcionamiento general y de las defensas naturales de la piel, por lo que aumentan la sensibilidad de ésta al sol, el riesgo de infecciones y las reacciones alérgicas a ciertos medicamentos, a la vez que se reduce la efectividad de las vacunas. (3).

TABLA No 7. RESUMEN DE LOS EFECTOS NOCIVOS DE LA SOBREEXPOSICIÓN A LA RADIACIÓN UV SOLAR EN EL SER HUMANO.

	Efectos agudos	Efectos crónicos
Piel	Eritema (enrojecimiento) Quemaduras	Cáncer de piel Fotoenvejecimiento
Ojos	Fotoqueratitis	Cataratas
Sistema inmunitario	Fotoconjuntivitis Disminución general de la respuesta inmunitaria Mayor riesgo de infecciones y reacciones alérgicas Reducción de la efectividad de las vacunas	Cáncer de conjuntiva

FUENTE. UNIRIOJA.ES/ECOPHYS/RADIACIOYSALUD.

1.4.1 EFECTOS AGUDOS

1.4.1.1 Eritemas

Es un enrojecimiento de la piel que va acompañado de sensaciones de calor, picor, y a veces de inflamación, vértigo, náuseas y ampollas. Lo causa la acción directa de la radiación solar sobre los vasos sanguíneos de la dermis, que provoca una vasodilatación. Generalmente se manifiesta al cabo de seis horas y alcanza su punto álgido pasadas 24 horas. Su desaparición es progresiva al cabo de unos días de descamación. (35).

1.4.1.2 Quemaduras

Las quemaduras solares son muy comunes en el período vacacional. Si se mantiene una exposición inadecuada, sin protector solar y por un espacio de tiempo desmesurado, la piel pasa de adquirir un color rosado (eritema) a un color rojo vivo, e incluso pueden aparecer ampollas (quemaduras). Además de estas alteraciones de la piel, que en el contacto con la ropa genera picores y molestias de distinta consideración, las quemaduras solares elevan significativamente las posibilidades de desarrollar melanoma (el cáncer de piel más agresivo), cuya incidencia ha aumentado progresivamente en los últimos tiempos. Se sabe que las quemaduras solares que ocurren durante los primeros 15 años de vida son las más graves. Esto ha provocado que el principal objetivo de las campañas de prevención sean los adolescentes y los niños. Hay zonas del cuerpo especialmente sensibles a las radiaciones nocivas del sol. Para evitar quemaduras en partes como los labios, los ojos, el escote, el pecho y las manos, hay que utilizar protectores solares específicos. Para los labios, un protector labial con filtros solares; para los ojos, unas gafas resistentes a los rayos UVA; y en cuanto a las manos, el escote y el pecho, es recomendable utilizar una protección muy alta para evitar quemaduras, debido a que es una zona especialmente sensible al no estar expuesta a los rayos solares durante el invierno. El color de la piel está determinado por una combinación de pigmentos producidos en la piel y los colores naturales de las capas más externas de la misma. Sin pigmentación, la piel tendría un color blanco pálido con varias gamas de color rosa, debido a la sangre que fluye a través de ella. El principal pigmento de la piel es la melanina, de color pardo oscuro, y está producida por unas células (melanocitos), distribuidas entre las demás células de la capa superior de la piel (epidermis).

La exposición continuada al sol, sin tomar las precauciones necesarias, puede causar la aparición de las denominadas manchas solares. Su aparición es consecuencia de una producción alterada de melanina por parte de los melanocitos.

Para prevenirlas, se debe tomar el sol con cautela, limitando el número de horas y usando cremas con factor de protección solar durante la exposición. (36)

1.4.1.3 Fotoqueratitis

La fotoqueratitis se puede definir como una "quemadura de sol de los ojos". Puede ser muy doloroso e incómodo, y viene acompañado de síntomas como ojos rojos, una sensación de tener un cuerpo extraño o arena en el ojo. Afortunadamente, por lo general es de carácter temporal y rara vez causa daños permanentes en los ojos. (12)

1.4.1.4 Fotoconjuntivitis

Es una inflamación de la conjuntiva o de la córnea.

1.4.2 EFECTOS CRÓNICOS

1.4.2.1 Cáncer De La 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 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. (12)

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: lunares y otras marcas de nacimiento que aumenten de tamaño o cambien de color.

El cáncer de la piel no melanoma puede tener el aspecto de diversas marcas en la piel. Las señales de aviso principales son la aparición de una nueva masa, una mancha o protuberancia que esté creciendo (en el transcurso de unos meses, o de 1 a 2 años), o bien una úlcera que no sane en un plazo de 3 meses. (15).

1.4.2.2 Tipos de Cáncer de Piel

Para hablar sobre el cáncer de piel debemos establecer claramente que a groso 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). (15)

- **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 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. (22)

- **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. (22).

- **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. (37)

1.4.2.3 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 nomelanoma.
- 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. (7)(13)

1.4.2.4 Epidemiología 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 EURO CARE-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. El púrpura, o de úlceras (llagas) localizadas en la cara, o, con menos frecuencia, en los brazos o las piernas.(23)

1.5. 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”.(19).

1.5.1 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.

(13)

1.5.1.1 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. (10).

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:

- **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. (14).

1.5.3 FLAVONOIDES EN PLANTAS

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.

Las enzimas de la biosíntesis de los flavonoides aparentemente derivaron de enzimas del metabolismo primario de las plantas, que tenían genes duplicados, lo que habrá permitido la adaptación de algunas esas enzimas a otras funciones específicas.

La vía biosintética de los flavonoides se ha conservado enormemente en el transcurso de la evolución de las plantas, pero ha habido considerable divergencia tanto en los roles que fueron cumpliendo sus productos finales, como en los mecanismos que regulan su expresión. (4).

Flavonoides: son pigmentos naturales presentes en los vegetales que protegen del daño producido por agentes oxidantes como los rayos ultravioletas o la polución ambiental, entre otros. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras, así como en diversas bebidas, y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana.

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y poseen excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo. En cuanto a sus efectos fotoprotectores, los flavonoides de un lado absorben la radiación UV, de otro poseen actividad antioxidante directa e indirecta y, por último, modulan diversas vías de señalización.(8).

1.5.3.1. Biosíntesis

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.

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.

1.5.3.2. 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. (33)

1.5.3.3 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.

1.5.3.4 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.

Sus efectos en los humanos pueden clasificarse en:

Propiedades anticancerosas: muchos han demostrado ser tremendamente eficaces en el tratamiento del cáncer. Se sabe que muchos inhiben el crecimiento de las células cancerosas. Se ha probado contra el cáncer de hígado

Propiedades cardiotónicas: tienen un efecto tónico sobre el corazón, potenciando el músculo cardíaco y mejorando la circulación. Atribuidas fundamentalmente al flavonoide quercetina aunque aparece en menor intensidad en otros como la genisteína y la luteolina. Los flavonoides disminuyen el riesgo de enfermedades cardíacas.

Fragilidad capilar: mejoran la resistencia de los capilares y favorecen el que éstos no se rompan, por lo que resultan adecuados para prevenir el sangrado. Los flavonoides con mejores resultados en este campo son la hesperidina, la rutina y la quercetina.

Propiedades antitrombóticas: la capacidad de estos componentes para impedir la formación de trombos en los vasos sanguíneos posibilita una mejor circulación y una prevención de muchas enfermedades cardiovasculares.

Disminución del colesterol: poseen la capacidad de disminuir la concentración de colesterol y de triglicéridos.

Protección del hígado: algunos flavonoides han demostrado disminuir la probabilidad de enfermedades en el hígado. Fue probado en laboratorio que la silimarina protege y regenera el hígado durante la hepatitis. Junto con la apigenina y la quercetina, son muy útiles para eliminar ciertas dolencias digestivas relacionadas con el hígado, como la sensación de plenitud o los vómitos.

Antimicrobianos: isoflavonoides, furanocumarinas y estilbenos han demostrado tener propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas. (4)

1.5.4. *Passiflora tripartita var. mollissima*



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

FOTOGRAFÍA No. 1 PLANTA DE TAXO

1.5.4.1 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Orden: Apriétales

Familia: Pasiflorácea

Género: Pasiflora

Subgénero: Tacsonia

Especie: Tripartita

1.5.4.2 DESCRIPCIÓN:

El Taxo (*Passiflora tripartita var. mollissima*) es una planta leñosa, trepadora, pubescente, con tricomas rectos u ondulados, amarillo verdosos o incoloros, con promedio de 0,4 m. de largo.

Su **raíz** es muy superficial poco profunda y fibrosa.

Las **hojas** son tri, tetra o penta lobuladas, alternas, coriáceas, elípticas u oblongo elípticas, sus bordes, son aserrados, dentados u ondulados entre 7 y 10 cm de largo y 3 a 6 cm de ancho.

Su tallo es cilíndrico, de color verde cuando joven y café claro cuando maduro, glarbo.

Las flores son de color rosado fuerte, muy vistosas y con aroma. Están compuestas por brácteas opérculo, hipantio, corona, androginóforo, cinco pétalos, cinco sépalos, cinco estambres, tres estigmas de color rojizo en la base y más claro hacia arriba, el ovario es súpero, las anteras son dorsifijas, oblongas y de color amarillo.

El fruto es una baya oblonga de color amarillo – anaranjado al madurar, muy oloroso y de forma elíptica. El epicarpio es coriáceo, el mesocarpo es de color blanco y esponjoso, el arilo es transparente y de sabor ácido. Posee abundantes semillas, punteadas y con los bordes levantados.

El taxo o curuba es una fruta típica de la zona fría, crece bien entre 2.000 y 3.000 metros sobre el nivel del mar con temperaturas de 8°C a 16°C. Toda la parte vegetativa de la planta es cubierta por un vello suave que la protege mejor contra oscilaciones marcadas de temperatura. La humedad relativa no debe ser muy alta, 65% a 75%, especialmente por el problema de antracnosis que es la enfermedad más limitante en este cultivo. Las precipitaciones deben estar entre 1.500 y 2.000 mm anuales, bien repartidas, porque la floración y fructificación ocurren durante todo el año. La planta requiere una luminosidad entre 1.300 a 1.600 horas / brillo solar / año, razón por la cual se debe disponer de un buen sistema de tutorado para aprovechar al máximo este factor climático. (1)

El taxo necesita suelos sueltos y muy bien drenados, textura franco - arenosa o franco – arcillosa, con pH entre 5.5 y 6.5. Es aconsejable que la zona este libre de heladas y vientos fuertes que puedan aumentar el número de flores caídas y por consiguiente, El

taxo produce frutos durante varios años, por lo que es necesario mantenerla mediante podas adecuadas que favorecen la producción por lo menos durante ocho a diez años. La recolección del fruto debe hacerse cuando esté pintón pues el taxo es una fruta climatérica. Debe cortarse por el pedúnculo con tijeras de podar y no se debe torcer, ni golpear ya que se producen daños que disminuyen su valor comercial. (27).

Origen y Localización

Originaria de las tierras frías del norte de Suramérica, se cultiva por sus frutos que se consumen principalmente en bebida refrescante. El taxo se encuentra desde el norte de Argentina hasta México. Es cultivada principalmente en Ecuador, Perú, Bolivia, Colombia y Venezuela. (1).

Uso medicinal: El taxo tiene propiedades comprobadas científicamente, los extractos del género *Passiflora* tienen efectos depresores sobre el sistema nervioso central y actúan como sedantes, tranquilizantes, calmantes y contra el insomnio. Dentro de las principales características de algunos polifenoles tenemos el efecto fotoprotector antioxidantes, antimicrobianos y fitoalexinas (compuestos antimicrobianos que se acumulan en algunas plantas en altas concentraciones, después de infecciones bacterianas o fúngicas y ayudan a limitar la dispersión del patógeno). Aunque dentro de estos se encuentran los flavonoides los cuales han sido empleados desde mucho tiempo como colorantes pero podemos citar protección contra la incidencia de rayos ultravioleta y visible ya que pueden absorber la radiación. También se utiliza como antiespasmódico, diaforético, hipotensor, diurético, febrífugo. La cocción de las hojas se emplean para el dolor de cabeza y tratar afecciones de hígado y riñones.

Principios activos

Flavonoides (quercetol, kampferol, apigenol, luteolol), C-heterósidos (vitexina, saponarósido, escaftósido, isoescraftósido, isovitexina, isoorientina) y fitoesteroles (sitosterol, estigmasterol, maltol). Trazas de alcaloides indólicos (harmano, harmol, harmina), de heterósidos cianogénicos (ginocardina) y de aceite esencial. (27).

1.5.5. 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. Uno de los mayores inconvenientes que tiene es su incompatibilidad con la avobenzona (filtro contra UVA); se hace inestable y fotolábil, y se degrada a un fotoproducto cuando se expone a radiación ultravioleta por corto tiempo. El cinoxato cubre un espectro de hasta 289 nm y es un filtro poco usado. (16).

1.5.6. *Ocimum basilicum L.*



FUENTE: www.elicriso.it

FOTOGRAFIA N° 2 PLANTA DE ALBAHACA

1.5.6.1 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Subfamilia: Nepetoideae

Tribu: Ocimeae

Género: *Ocimum*

Especie: *Ocimum Sp.*

1.5.6.2 DESCRIPCIÓN:

La especie *Ocimum basilicum* es una planta herbácea, rústica, arbustiva, vivaz; de tallo erecto, cuadrangular y ramoso, que crece de 30 a 90 cm de altura; posee hojas opuestas, largamente pecioladas, ovales, enteras o ligeramente dentadas y flores blancas o rosadas. Es una planta muy aromática que despidе una fragancia suave a clavo o limón.

Pertenece a la familia de las Labiadas (Labiatae) y es nativa de Persia y Asia tropical, aunque ha sido naturalizada en toda América tropical y las Antillas.

Las hojas son jugosas, aromáticas, pecioladas opuestas, finamente dentadas o aserradas y ovaladas. Tallos erguidos, ramillados, de hasta 50 cm. de alto, cuadrangulares. Las flores dispuestas en la parte superior del tallo o en el extremo de las ramas, son de color blanco aunque existen púrpuras pálido, se hallan dispuestas en espigas axilares. Cáliz ovoide, labio superior de la corola con cuatro hendiduras. Fruto formado por cuatro aquenios, lisos y pequeños. (2).

1.5.6.3. Composición Cualitativa y Cuantitativa: Aceite esencial (0.2-1%). Sus componentes químicos han sido estudiados en varias ocasiones y entre ellos se han encontrado las siguientes sustancias: alfa-pineno, beta-pineno, 1,8-cineol, linalol, canfor, metil chavicol (estragol), metil cinamato, etil cinamato, eugenol, beta-elemeno, Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico como, beta-cariofileno, beta-cubebeno, beta-bisaboleno, y alfa-murolol.

Los flavonoides: quercetrósido, kenferol, esculósido, Acido caféico y los compuestos fenólicos de la albahaca son potentes antioxidantes. (26)

- **USOS MEDICINALES**

Protegen a nuestras células del proceso de envejecimiento, cáncer y enfermedad del corazón.

Cicatrizante: El extracto acuoso al 10% de Albahaca, como ungüento favorece la regeneración del tejido de la piel al cicatrizar las heridas superficiales provocadas en la piel, propiedades antibacteriales, además de los flavonoides, la albahaca también es fuente de beta carotenos, vitamina C y magnesio, todos los cuales favorecen la salud cardiovascular. (2)

1.6. 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 elevado que no pueda ser razonablemente.

CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE INVESTIGACION

La presente investigación se llevó a cabo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Laboratorio de Productos Naturales.

2.2. MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIA PRIMA

La materia prima que se utilizó fueron las hojas de *Passiflora tripartita* y las hojas de albahaca *Ocimum basilicum* secas.

La materia vegetal de *Passiflora tripartita*, se lo recolecto en el cantón Guano, Provincia de Chimborazo y las hojas de *Ocimum basilicum* se adquirió en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba a los niveles de 3400 msnm con una humedad de 74 y temperatura de 18 °C.

2.2.2 MATERIAL BIOLÓGICO

2.2.2.1 Población

Personas, género masculino o femenino con características de fototipo III

2.2.2.2 Taxonomía

- **Reino:** *Animalia* (Animal)
- **Filo:** *Chordata*
- **Sub-filo:** *Vertebrata*
- **Clase:** *Mamalia*
- **Orden:** *Primates*
- **Familia:** *Hominidae*
- **Género:** *Homo*
- **Especie:** *sapiens*
- **Nombre científico:** *Homo sapiens*

2.2.2.3 Descripción

- **Sexo:** Masculino o Femenino
- **Edad:** 20-25 años
- **Peso promedio:** 70+/- 5 kg.
- **Características fototipos III:** pelo castaño claro, ojos marrones, tono de piel clara
- **Habitat:** Zona sierra centro Ecuador (Riobamba)

2.2.2.4 Condiciones

- **Temperatura:** (30-34 °C) ± 2
- **Lugar geográfico:** Zona Ecuador.
- **Hora del día:** Entre 11:30 y 15:00
- **Altitud:** 2 754 msnm
- **Índice UV:** 11.3

2.2.2.5 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.
- * Con extracto alcohólico de *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*.

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

CUADRO N°1. MATERIALES Y REACTIVOS PARA EL CONTROL DE CALIDAD FISICOQUÍMICO Y ESTUDIO FITOQUÍMICO

MATERIALES	REACTIVOS	EQUIPOS
Vasos de precipitación de 50, 100, 250, 500ml	Agua destilada	Balanza analítica (BOECO)
Pipetas graduadas de 5, 10 ml	Alcohol 96%	Estufa (MEMMERT)
Pipetas volumétricas de 1, 5mL	Hexano	Mufla (OPTIC IVYMEN SYSTEM)
Probetas de 10,50,100,250 ml	Cloroformo	Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-VAP)
Balones aforados de 10,25,50,100 ml	Éter etílico	pH-metro
Balones esmerilados de 500,1000 mL	Reactivo de Dragendorff	Densímetro (SELECTA)
Embudos simples	Reactivo de Mayer	Espectrofotómetro
Embudos de separación de 100, 250 ml	Reactivo de Baljet	Refractómetro
Embudo Buchner	Hidróxido de sodio	Congelador
Trípode	Hidróxido de potasio	Molino
Varilla de agitación	Amonio al 5% en agua	Desecador
Espátula	Anhídrido acético	
Tubos de ensayo	Ácido sulfúrico concentrado	
Gradilla	Solución de carbonato de sodio	
Papel aluminio	Reactivo de Fehling	
Cápsulas de porcelana	Cloruro Férrico al 5%	
Crisoles de porcelana	Acetato de sodio	
Pipetas Pasteur	Solución al 2% de Ninhidrina en agua	
Picnómetro	Ácido clorhídrico concentrado	
Termómetro	Magnesio metálico	
Vidrio reloj	Reactivo de Sudan III	
Piceta	Metanol	
Pinzas para tubos		
Refrigerante		
Mangueras		

2.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

2.4.1 PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LAS ESPECIES VEGETALES *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*

El control de calidad de las droga 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 la droga cruda se realizan las siguientes pruebas:

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

2.4.1.1 Análisis Físico – Químico

Determinación del contenido de humedad

Método Gravimétrico

Se pesó 2g. ± 0.5 mg de droga cruda y se transfirieron a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105°C hasta masa constante; seguidamente deseca a 105°C durante 3 horas. La cápsula de porcelana se colocó en un desecador donde se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se pesó; colocando nuevamente en la estufa durante 1h, y se repitió el procedimiento hasta obtener masa constante. El ensayo se realizó por triplicado.

Expresión de resultados:

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M} \times 100$$

Donde:

H = Porcentaje de Humedad

M = masa de la capsula vacía (g).

M₁ = masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g).

M₂ = masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g).

100 = factor matemático para los cálculos.

Los resultados se aproximan a las décimas.

Determinación de cenizas totales

Se determina la masa de no menos de 2.0 g. ni más de 3.0 g. de la porción de ensayo pulverizada y tamizada con una desviación permisible de 0.5 mg en un crisol de porcelana o platino (en dependencia de la sustancia analizada) previamente tarado. Caliente suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinere en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante 2 horas.

Se enfría el crisol en un desecador y se pesa, se repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5mg por g (masa constante)

Para obtener la masa constante los niveles entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrogeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.

Expresión de los resultados:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

C = Porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M= masa del crisol vacío (g).

M₁= masa del crisol con la poción de ensayo (g).

M₂= masa del crisol con la ceniza (g)

100= factor matemático para los cálculos.

Los valores se aproximan hasta las décimas.

Determinación de cenizas solubles en agua

A las cenizas totales obtenidas en A, se les añade de 15 a 20ml de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5min. La solución se filtra a través del papel filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 700-750°C, durante 2h. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados:

$$Ca = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} \times 100$$

Ca=porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

M₂= masa del crisol con las cenizas totales (g).

Ma= masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M₁= masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M= masa del crisol vacío.

100= factor matemático

Los valores se aproximan a las décimas.

Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

A las cenizas totales obtenidas según la técnica, se le añaden de 2-3mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10 min. Se lava el vidrio reloj con 5ml de agua caliente y se une al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico p.a.; al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1mol/L, no muestre presencia de cloruros. El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105°C, se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750°C durante 2h (si no se señala otra temperatura en la norma específica). Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados:

$$B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

B = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático

Los resultados se aproximan a las décimas. (10)(21)

2.4.1.2 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.

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.8 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: Control de Calidad Microbiológico de Materia Prima y Productos Fitofarmacéuticos.

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.

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 asadas 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.

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
(19)

2.4.2 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE *Passiflora tripartita*, y *Ocimum basilicum*

Las técnicas de extracción de metabolitos de una planta son varias y se aplican de acuerdo a las características de cada especie. Es así que tenemos la maceración, lixiviación o percolación, digestión, destilación y extracción continua.

Para la extracción de los extractos de *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* se utilizó el método de percolación que se desarrolla en tres fases las cuales se detallan a continuación:

- a) Humectación: La droga seca y molida 100g obtenida exclusivamente de las hojas fue embebida en una cantidad al 96% p/v de solución alcohólica (200mL) y mezclada suavemente para obtener una masa vegetal homogénea que se dejó descansar durante una hora.
- b) Maceración: Se prepara el percolador y se coloca en el fondo algodón. La muestra humectada fue percolada, prensada suavemente para obtener una masa homogénea y se le agrego una cantidad de solvente suficiente para cubrirla hasta superar un nivel de 3-4cm se cubre con papel filtro y se lo envuelve con papel aluminio, luego permaneció en maceración durante 24 horas.
- c) Percolación: La muestra sometida a percolación pasa por un proceso lento, este consiste en un constante flujo de solvente a través de la droga que baja goteando y se enriquece más de principio activo, porque reemplaza desde arriba al solvente

fresco que se vuelve a extraer y optimiza el proceso cada vez que lo hace. El solvente baja a 30 gotas/minuto; en general se separan los primeros 85 mL de solvente por cada 100 g de droga (primera fracción), la percolación sigue y separa otra cantidad de líquido (segunda fracción) que se concentra a un volumen igual o inferior a 15mL, se agrega a la primera fracción para llegar al volumen de 100 mL por 100g de solvente (relación peso D/volumen E= 1/1).

El extracto que se obtiene se deja descansar 3-4 días a 4 °C para decantar la clorofila, separar y filtrar. (19)

2.4.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*

Determinación de los Requisitos Organolépticos

- **Determinación del olor:** se toma una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto.
- **Determinación del color:** se toma un tubo de ensayo bien limpio y seco y se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas. Se informa los resultados.
- **Determinación del pH**

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrogeno, pH. El pH es por lo tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrogeno. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$\text{pH} = - \log a[\text{H}^+]$$

$a[\text{H}^+]$ = actividad de los iones hidrógeno

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de diferencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Se ajusta el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizara la determinación. Posteriormente determínese el valor del pH de la muestra.

- **Determinación de la Densidad Relativa**

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25 °C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

Primeramente pésese el picnómetro vacío y secos 2 °C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25 °C (± 1 °C) durante 15 minutos y ajústese el líquido a nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro.

Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con agua destilada a 25 °C.

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25 °C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Dónde:

M_1 = peso del picnómetro con la muestra (g)

M_2 = peso del picnómetro con agua (g)

M = peso del picnómetro vacío (g)

- **Determinación del Índice de Refracción**

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Esta relación viene dada por la siguiente ecuación:

$$n = \frac{\text{Sen}_i}{\text{Sen}_x}$$

Así los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente.

Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada. Utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajusta el equipo seleccionado la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro.

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma y se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma indica sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua.

Expresión de resultados:

Se hace tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0,002.

Si las lecturas no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$N_{d25} = N_{dt} + 0,00044 (t-25)$$

Donde:

N_{d25} = índice de refracción a 25 °C.

N_{dt} = valor leído a la escala del aparato a la temperatura.

T = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C).

0,00044 = factor de correlación por Grados Celsius.

Los valores se aproximan hasta las milésimas.

Determinación de Sólidos Totales

La determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la

porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales. 5,0 mL del extracto se lleva a una capsula previamente tarada a 105 °C, se evapora sobre un baño de agua hasta que el residuo este aparentemente seco. Se pasa entonces hacia una estufa y se deja hasta peso constante (aproximadamente 3 horas). Se retira la capsula de la estufa y se coloca, en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente.

Para obtener la más constante entre una pesada y otra se mantendrá un tiempo de secado de 60 minutos.

Expresión de resultados:

La cantidad de sólidos totales, expresados en % R, se calcula por la siguiente fórmula:

$$St = ((Pr - P) / (V)) \times 100$$

Dónde:

Pr = masa de la cápsula más el residuo (g).

P = masa de la cápsula vacía (g).

V = volumen de la porción de ensayo.

2 factor matemático para el cálculo. (10)(21)

2.4.4 INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA

Se ejecutó el tamizaje fitoquímico para los extractos de *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* con el objetivo de buscar grupos de metabolitos secundarios permisibles con interés. (10)(13)

2.4.5 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO QUERCETINA EN EL EXTRACTO DE *Passiflora tripartita*

Para la droga seca y producto final:

1. Pesar 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. Enfriar y filtrar a través del filtro Buchner, utilizando papel filtro.

5. Lavar el residuo con 10mL de etanol al 50% para desecharlo totalmente.
6. El filtrado evaporar con baño de agua hasta la mitad del volumen inicial.
7. Enfía sobre un baño de agua fría durante 30 minutos.
8. A continuación filtrar, el papel con el residuo se lava con 70 ml de etanol al 96% caliente a 50 °C.
9. Transvasar a un balón volumétrico de 100mL y se afora con etanol al 96% V/V.
10. Posteriormente leer 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). (18)

2.4.6 CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN EL EXTRACTO DE *Ocimum basilicum*

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 258 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 258 nm."

2.4.7 DETERMINACIÓN DE LAS CANTIDADES Y TIPOS DE EXCIPIENTES ADECUADOS PARA LA FORMULACIÓN DE LAS CREMAS A BASE DE *Passiflora tripartita* Y *Ocimum basilicum*

TABLA No. 9: FORMULACIÓN DE LA CREMA FOTOPROTECTORA AL 100%

INGREDIENTE	CANTIDAD	UNIDAD
Extracto alcohólico	15	ml
Glicerina	10	ml
Agua destilada y purificada	700	ml
Espesante Deighton	57	ml
Ácido ascórbico	5	g
Alcohol cetílico	130	G

Para preparar un lote de 1L al 100%

2.4.7.1 Preparación de la crema fotoprotectora.

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 CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS TERMINADOS

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.

2.5.1 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

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

- Forma cosmética
- Contenido neto
- Aspecto
- Características organolépticas

2.5.2 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.
- **VISCOSIDAD APARENTE:** Se mide en 12 g de producto a 25° C, utilizando el viscosímetro adaptado para pequeño volumen.
- **PESO ESPECÍFICO:** Se determina por pesada de un picnómetro con producto (P), con agua (A) y vacío (V):
$$\text{Peso específico} = (P - V)/(A - V)$$
- **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.

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

- **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.

- **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)

2.5.3 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.

- **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 (Trypticase 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.

- **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.

2.6 PROTOCOLO DE ADMINISTRACIÓN DEL PRODUCTO A LOS VOLUNTARIOS

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

- Seleccionar 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.
- Lavarse 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.
- Tomar una cantidad de 2mg con una micropipeta codificado adecuadamente y se coloca en la zona T 15 minutos antes de la exposición a la radiación UV, luego se continua aplicando cada una de las cremas en el resto de las zonas etiquetadas en la parte anteroposterior del brazo.
- Observar la evolución de cada voluntario durante 2 horas 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.

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

2.7 MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

2.7.1 ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE *Passiflora tripartita* Y *Ocimum basilicum*.

La comprobación del efecto fotoprotector se desarrollara en base la técnica COLIPA.

(Ver Anexo No. 1)

2.7.1.1 Unidad de observación

Personas fototipos III, a las cuales se aplicó por vía tópica en la zona anteroposterior del brazo las diferentes formulaciones realizadas con los extractos de *Passiflora tripartita* y albahaca *Ocimum basilicum*.

2.7.1.2 Grupos de estudio

TABLA No 10. 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 <i>Passiflora tripartita</i>
E ₂	X ₅	Dosis (2 mg/ cm ² /día) de crema con extracto de <i>Ocimum basilicum</i>
E ₃	X ₆	Dosis (2 mg/ cm ² /día) de crema con extracto de <i>Passiflora tripartita</i> más extracto de <i>Ocimum basilicum</i>

2.7.1.3 Diseño experimental

El experimento se procedió con diez personas 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.

2.7.1.4 Proceso experimental

Para el estudio se utilizó personas fototipos III cuyo peso corporal osciló entre 70 ± 5 kg. Las personas fototipos III durante 15 días previos a la experimentación debieron adecuar su piel sin aplicación de fotoprotectores para obtener una piel con condiciones de laboratorio.

La temperatura se mantuvo en 30 ± 2 °C, índice UV 11.3 por dos horas de radiación (UV.) proveniente del sol.

Toda la manipulación de las personas fototipos III se realizó de acuerdo con los principios éticos para el uso de humanos en laboratorio. (38).

Se realizó el estudio fotoprotector en personas fototipos III, para lo cual se administró por vía tópica a los individuos las dosis en volúmenes equivalentes a $2\text{mg}/\text{cm}^2/\text{día}$. Durante 2 horas los voluntarios estuvieron expuestos a la radiación ultravioleta solar provistos de alimento y agua para evitar efectos secundarios como insolación y deshidratación.

Después de 3 horas de exposición UV la evidencia de eritema se valoró mediante una tira colorimétrica lo cual se evaluó cada 15 minutos durante 2 horas.

Se procedió a determinar el factor de protección solar para cada superficie experimental.

TABLA No 11. 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: OROZCO VERÓNICA. 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 una micropipeta con dosis específica.

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

2.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO (Tablas de frecuencias)

Se aplicó el análisis estadístico descriptivo ya que se llevó acabo 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 donde el estudio 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 estadístico descriptivo es:

- H_0 : Los extractos de las hojas de *Passiflora tripartita*, y *Ocimum basilicum* conjuntamente no presentan mejor efecto fotoprotector en personas fototipos III que los extractos individuales.
- H_1 : Al menos uno de los extractos alcohólicos de las hojas de *Passiflora tripartita*, y *Ocimum basilicum* presenta actividad fotoprotectora en personas fototipos III.

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 posterior, de que extractos proviene esas diferencias.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA (Drogas secas).

Para este análisis la materia vegetal de *Passiflora tripartita* se recolectó en la provincia de Chimborazo, cantón Guano y la materia prima de *Ocimum basilicum* se adquirió en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba. 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 hipoclorito al 0,5%.

El control de calidad de las drogas vegetales es fundamental para obtener productos seguros para realizar la experimentación en el caso de las drogas secas de *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* se obtuvo resultados muy buenos que nos indican que se encuentran en condiciones óptimas para la obtención de sus extractos alcohólicos.

3.1.1. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

CUADRO No2. RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DE LAS DROGAS SECAS DE LAS HOJAS DE *Passiflora tripartita* Y *Ocimum basilicum* LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

DROGAS SECAS	% HUMEDAD	LÍMITE DE HUMEDAD
<i>P. tripartita</i>	8.03 ± 0,42	Hasta 14%
<i>O. basilicum</i>	7.48± 0,42	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 2) indican que el contenido de humedad de las hojas de *Passiflora tripartita* es de 8.03% y de las hojas de *Ocimum basilicum* es de 7.48 % de planta seca con variación de $\pm 0,42$ %, en ambos casos, cuyos valores se compara con el valor máximo aceptable por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos que es (14%), por lo tanto estos porcentajes nos indican que las drogas se pueden conservar libres de proliferación bacteriana o micótica 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 taxo (*Passiflora tripartita*), albahaca (*Ocimum basilicum*) se utilizó el método gravimétrico de la determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en HCl se obtuvieron los siguientes resultados.

CUADRO No 3. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES, DE LA DROGA SECA DE LAS HOJAS DE *Passiflora tripartita* Y *Ocimum basilicum*, LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

DROGA SECA	% CENIZAS	ESPECIFICACIÓN
	TOTALES	
<i>P. tripartita</i>	9.4% \pm 0,19	HASTA 12%
<i>O. basilicum</i>	10.03% \pm 0,19	HASTA 12%

El resultado expresado en el (Cuadro No. 3) indica el contenido de cenizas totales (%C.T) de las drogas secas de *Passiflora tripartita*, y *Ocimum basilicum* que es de 9.4% y 10.03% respectivamente, por lo cual se acepta estos porcentajes ya que están dentro de los límites según la USP (12%).

Estos análisis en condiciones rigurosas, es constante y nos permite descubrir falsificaciones por otras drogas, tierras u otros minerales. Además esta determinación es primordial ya que la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacología no deseada. Si en la determinación ha sido elevado el contenido de cenizas

puede ser indicador que en la recolección existió contaminación de material mineral (tierra).

CUADRO No 4. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA DE LA DROGA SECA DE LAS HOJAS *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

PLANTA SECA	%CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	ESPECIFICACIÓN
<i>P. tripartita</i>	5.85%± 0,03	HASTA 7%
<i>O. basilicum</i>	6.48± 0,03	HASTA 7%

En el (Cuadro No. 4), indica que el porcentaje de cenizas solubles en agua fue de $5,85 \pm 0,03$ para *Passiflora tripartita* y para *Ocimum basilicum* $6.48 \pm 0,03$ que corresponde al material de tipo orgánico presente en la muestra, cuyos valores obtenidos nos indican que se encuentran dentro de los límites establecidos por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos que es del 7%.

CUADRO No 5. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO DE LAS DROGAS SECAS DE LAS HOJAS DE *Passiflora tripartita* Y *Ocimum basilicum* LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. SEPTIEMBRE 2012.

DROGAS SECAS	%CENIZAS INSOLUBLES EN HCl	ESPECIFICACIÓN
<i>P. tripartita</i>	2.38%± 0,10	HASTA 5%
<i>O. basilicum</i>	3.21% ± 0,10	HASTA 5%

El porcentaje de cenizas insolubles en HCl indicado en el (Cuadro No. 5), demuestra que el valor encontrado es $2,38 \pm 0,10$ para *Passiflora tripartita* y $3.21\% \pm 0,10$ para *Ocimum basilicum* los cuales se encuentran dentro de los límites aceptados en la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos cuyo valor de especificación es 5% , lo que indica que la droga seca no indica presencia considerable de materia arenosa.

3.2. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE LAS HOJAS DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*.

El análisis de control de calidad se realizó a partir del extracto obtenido por percolación con alcohol al 70% de las hojas de *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*.

3.2.1. PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS

CUADRO No 6. RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH RIOBAMBA SEPTIEMBRE 2012.

Características	Ext. alcohólico <i>Passiflora tripartita</i>	Ext. Alcohólico <i>Ocimum basilicum</i>
Olor	Herbal	Aromático dulce
Color	Verde oscuro	Verde oscuro
Sabor	Amargo	Dulce
Aspecto	Líquido turbio	Líquido

Los resultados que se observan en el (Cuadro No 6) son las características organolépticas de los extractos alcohólicos donde podemos citar que el extracto de *Passiflora tripartita* posee un aspecto líquido turbio, de color verde oscuro, sabor amargo y olor característico de la planta, el extracto de *Ocimum basilicum* presenta características similares con excepción del sabor y aspecto debido a que este extracto presenta un sabor dulce con un aspecto líquido sin turbidez.

3.2.2. PARÁMETROS FÍSICOS

CUADRO No 7. PARÁMETROS FÍSICOS DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*. LABORATÓRIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Parámetros	Ext. Alcohólico <i>P. tripartita</i>	Ext. Alcohólico <i>O.basilicum</i>
pH	5,13	5.48
Índice de refracción	1,589	1,50
Densidad relativa	0,97	0,95
Sólidos totales	9.25%	7.71%

En el (Cuadro No. 7), se observa que los extractos de *P. tripartita* y *O. basilicum* presentan un pH ácido de 5,13 y 5.48 respectivamente.

En cuanto al índice de refracción del extracto de *P. tripartita* fue de 1,589 y del extracto de *O. basilicum* fue 1,50 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 es de 0,97 para el extracto de *P. tripartita* y de 0,98 para *O. basilicum* lo cual indica que es menos denso que el agua; el porcentaje de sólidos totales que abarca sales, metabolitos y residuos orgánicos fue de 9,25% para el extracto de *P. tripartita* y 7.71% para el extracto de *O. basilicum*, obtenido por la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor. Los datos obtenidos para el extracto de *O. basilicum* fueron comparados con la investigación desarrollada por Cemena 2012 (23).

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. (10)

CUADRO No.8. RESULTADO DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Passiflora tripartita*. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. RIOBAMBA ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012

ENSAYO	METABOLITO	Ext. Alcohólico <i>P. tripartita</i>	Ext. Alcohólico <i>O. basilicum</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	+++	+++

+++ : EVIDENCIA PRONUNCIADA
 ++ : EVIDENCIA
 + : EVIDENCIA LEVE
 - : NEGATIVO

En el (Cuadro N° 8) se puede apreciar los resultados obtenidos en el screening fitoquímico del extracto de las hojas de *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* el cual evidenció la existencia de los metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides compuesto principal de estudio, compuestos fenólicos y/o taninos y azúcares entre otros de igual manera los resultados obtenidos para *O. basilicum* presentan metabolitos como compuestos fenólicos, los cuales son de estudio farmacológico en esta investigación, compuestos triterpénicos, flavonoides, taninos, resinas con menor evidencia cuyos resultados de *O. basilicum* fueron comparados con investigaciones realizadas por Cemena (2010). En cuanto a *Passiflora tripartita* los resultados se los compara con los de la familia de las Passifloráceas.(22)(43).

3.4 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO QUERCETINA.

CUADRO N°9. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Passiflora tripartita* 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: OROZCO VERONICA, 2012

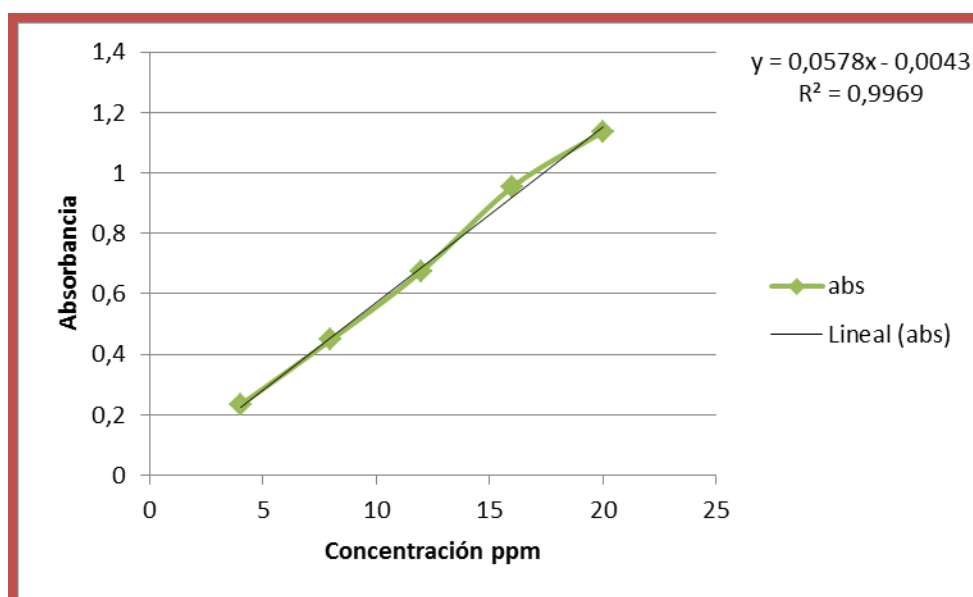


GRAFICO No1. CURVA DE ABSORBANCIA Vs CONCENTRACIÓN DE QUERCETINA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Las lecturas obtenidas, sirven para la gráfica de la curva de absorción en función de la concentración de quercetina, para la obtención de la ecuación de la recta, la cual nos sirve para la cuantificación de los flavonoides totales.

CUADRO No 10. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN LAS HOJAS DE *Passiflora tripartita* A UNA LONGITUD DE ONDA DE 258 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

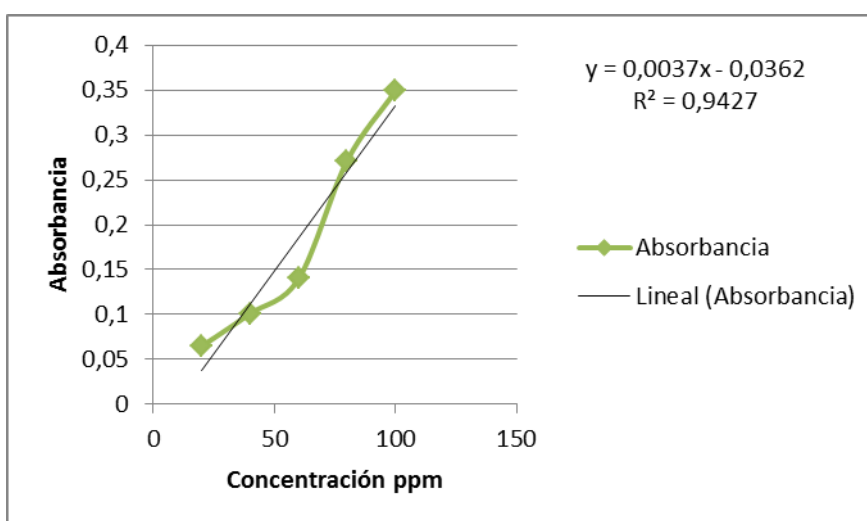
Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Droga seca	0.645	11.23	1.40

En el (Cuadro No. 10), se indica que la absorbancia del extracto de *Passiflora tripartita* fue de 0,645 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de la quercetina (Gráfico No 1), se obtuvo una concentración de 11.23 ppm lo cual traduciéndolo a porcentaje es 1.40% de flavonoides totales o 14,0 mg/ g de planta.

3.4.1 CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS.

CUADRO N°11. RESULTADOS DE LA CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Ocimum basilicum* 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 OROZCO VERONICA,2012

GRAFICO No 2. CURVA DE ABSORBANCIA Vs CONCENTRACIÓN DE CINAMATOS EN ACEITE DE CANELA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN *Ocimum basilicum*, 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, para la obtención de la ecuación de la recta, la cual nos sirvió para la cuantificación de los cinamatos.

CUADRO No 12. CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN LAS HOJAS DE *Ocimum basilicum* A UNA LONGITUD DE ONDA DE 311 nm. LABORATÓRIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA AGOSTO DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Droga seca	0,148	61,33ppm	17

En el (Cuadro No. 12), se indica que la absorbancia del extracto de *Ocimum basilicum* fue de 0,148 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de cinamatos (Gráfico No 2), se obtuvo una concentración de 61.33 ppm dando como resultado un porcentaje de cinamatos del 17% o 17 mg/g de planta. *Ocimum basilicum* en datos bibliográficos señala la presencia de cinamatos en un porcentaje no superior al 19 %.(9).

3.4.2 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CREMA CON EXTRACTO DE *Passiflora tripartita*.

CUADRO No 13. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CREMA CON EXTRACTO DE *Passiflora tripartita* A UNA LONGITUD DE ONDA DE 258 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Crema	0,605	10,54 ppm	0,019

En el (Cuadro No. 13), se indica que la absorbancia de flavonoides totales en crema con extracto de *P. tripartita* fue de 0,605 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de la quercetina (Gráfico No 1), se obtuvo una concentración de 10.54 ppm dando como resultado un porcentaje de flavonoides totales del 0,019% o 0,19 mg/g de crema.

3.4.3 CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN CREMA CON EXTRACTO DE *Ocimum basilicum*.

CUADRO No 14. CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN CREMA CON EL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Ocimum basilicum*. A UNA LONGITUD DE ONDA DE 311 nm. LABORATORIO INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Crema	0,074	36.66 ppm	0,135

En el (Cuadro No. 14), se indica que la absorbancia de cinamatos en el producto con extracto de *O. basilicum* de 0,074 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de los cinamatos (Gráfico No 2), se obtuvo una concentración de 36.66 ppm dando como resultado un porcentaje de cinamatos del 0,135% o 1,35 mg/g de crema.

3.4.4 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CREMA CON EXTRACTO DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*.

CUADRO No 15. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CREMA CON EXTRACTO DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* A UNA LONGITUD DE ONDA DE 258 nm. LABORATÓRIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Crema	0,639	11,13 ppm	0,010

En el (Cuadro No. 15), se indica que la absorbancia de flavonoides totales en el producto con extracto de *P. tripartita* y *O. basilicum* fue de 0,639 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de la quercetina (Gráfico No 1), se obtuvo una concentración de 11.13 ppm dando como resultado un porcentaje de flavonoides totales del 0,010% o 0,10 mg/g de crema.

3.4.5 CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN CREMA CON EXTRACTO DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*.

CUADRO No 16. CUANTIFICACIÓN DE CINAMATOS EN CREMA CON EXTRACTO DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* A UNA LONGITUD DE ONDA DE 311 nm. LABORATÓRIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	%
Crema	0,059	31.66 ppm	0,056

En el (Cuadro No. 16), se indica que la absorbancia de cinamatos en el producto con extracto de *P. tripartita*, *O. basilicum* fue de 0,059 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de cinamatos (Gráfico No 2), se obtuvo una concentración de 31.66 ppm dando como resultado un porcentaje de cinamatos del 0,056% o 0,56 mg/g de crema.

3.5 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS PRODUCTOS CON LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE HOJAS DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*

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 DE LAS CREMAS

CUADRO No17. RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS EN LA DESCRIPCIÓN DE LOS PRODUCTOS CON EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH RIOBAMBA SEPTIEMBRE 2012.

PARÁMETRO	EHA <i>P. tripartita</i>	EHA <i>O. basilicum</i>	EHA <i>P. tripartita</i> , <i>O. basilicum</i>
Olor	Herbal	Herbal dulce	Herbal dulce
Color	Verde pastel	Verde pálido	Verde claro
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 No17) son los parámetros en la descripción de las diferentes cremas con los extractos alcohólicos. Para la crema con hojas de *Passiflora tripartita*, se describe como una crema homogénea en su aspecto, de color verde pastel, olor herbal característico de la planta, sin presencia de grumos, con un peso de 100g. De igual manera en la descripción de la crema con extracto alcohólico de las hojas de *Ocimum basilicum* los resultados que se observan son cremoso en su aspecto, de

color verde pálido, sabor dulce y olor característico de la planta. En cuanto a la descripción de la crema con la combinación de los dos extractos, presenta un aspecto cremoso, de color verde claro, olor característico de las plantas herbal dulce sin presencia de grumos.

3.5.2 PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS

CUADRO No 18. PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS DE LOS PRODUCTOS CON EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* Y COMBINACIÓN DE AMBOS EXTRACTOS. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

Parámetro	EA P. <i>tripartita</i>	EA O. <i>basilicum</i>	EA P. <i>tripartita</i> EA O. <i>basilicum</i>	ESPECIFICACIÓN
pH	5,75	5,25	5,4	5.5-5.9
Viscosidad Aparente	55.40cp	54.30cp	52.75cp	50-56
Peso específico	0,962	0,922	0,931	No hay especificación
% Residuo seco	1.7	1.5	1.8	No hay especificación
Extensibilidad o Esparcimiento	4.2mm	4.4mm	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 es adecuado para el uso en la piel ya que el pH de la piel es 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. (14).

3.5.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUADRO No.19 DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA CREMAS FOTOPROTECTORAS A BASE DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* LABORATORIO MICROBIOLOGIA. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

	CREMA <i>P. tripartita</i>	CREMA <i>O. basilicum</i>	CREMA <i>P. tripartita</i> <i>O. basilicum</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	21 NMP/g	25 NMP/g	22 NMP/g	0-100 NMP/g	ACEPTABLE
Coliformes fecales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	< 10 NMP/g	ACEPTABLE
Salmonella sp	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	ACEPTABLE

FUENTE OROZCO VERÓNICA 2012

NMP: Número más probable

UFC: Unidades formadoras de Colonias

En el cuadro No. 19 podemos ver que existe un análisis microbiológico aceptable por lo que nuestro producto se encuentra en óptimas condiciones y es seguro su uso. Además de ello este análisis nos indica que su elaboración se realizó con buena asepsia.

3.5.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LAS CREMAS DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*, EN FOTOTIPOS III.

El análisis descriptivo se realizó en la ciudad de Riobamba provincia de Chimborazo cuya población fueron personas con tipo de piel III. Se tomó una muestra de 10 voluntarios cuya edad oscila entre 18-30 años. Luego se realizó el test colorimétrico para determinar la ausencia de eritema, así mismo se indica que cantidad debe ser necesaria para la aplicación. La experimentación tuvo una duración de 2 horas a una temperatura de 25 ± 2 °C, UVI 14,8 altura de 2754 msnm según la agencia espacial civil ecuatoriana.

Los niveles de eritema comienzan desde nivel uno ya que al encontrarnos en la zona cercana a la línea ecuatorial tenemos incidencia directa a la radiación ultravioleta teniendo ya una pigmentación en la piel motivo por el cual no podemos comenzar el test colorimétrico desde nivel cero. En el nivel dos tenemos la presencia de eritema leve o inicial con un cambio ligero en el tono de la piel, con el nivel de eritema tres se evidencia un cambio de la coloración de la piel más notorio (eritema moderado), con el nivel cuatro

(eritema agresivo) el nivel de eritema es más evidente con un color rojo indicando que la piel ha llegado a su máximo en cuanto a los eritemas causados por la radiación UV.

CUADRO No 20. NIVEL DE ERITEMAS EN LAS SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN DE LOS VOLUNTARIOS. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

SUPERFICIE EXPERIMENTAL (1cm ²)	NIVEL DE ERITEMA (por intensidad de color en piel)							
	15min.	30min.	45min.	60min.	75min.	90min.	105min.	120min.
Blanco	2	2	3	4	4	4	4	4
Crema Placebo	2	2	3	4	4	4	4	4
Crema Fps 15	1	1	1	1	1	1	1	1
Crema extracto <i>P.tripartita</i>	1	1	2	3	3	4	4	4
Crema extracto. <i>O.basilicum</i>	1	1	1	1	2	3	4	4
Crema extracto. <i>P. tripartita. O. basilicum</i>	1	1	1	1	1	1	2	3

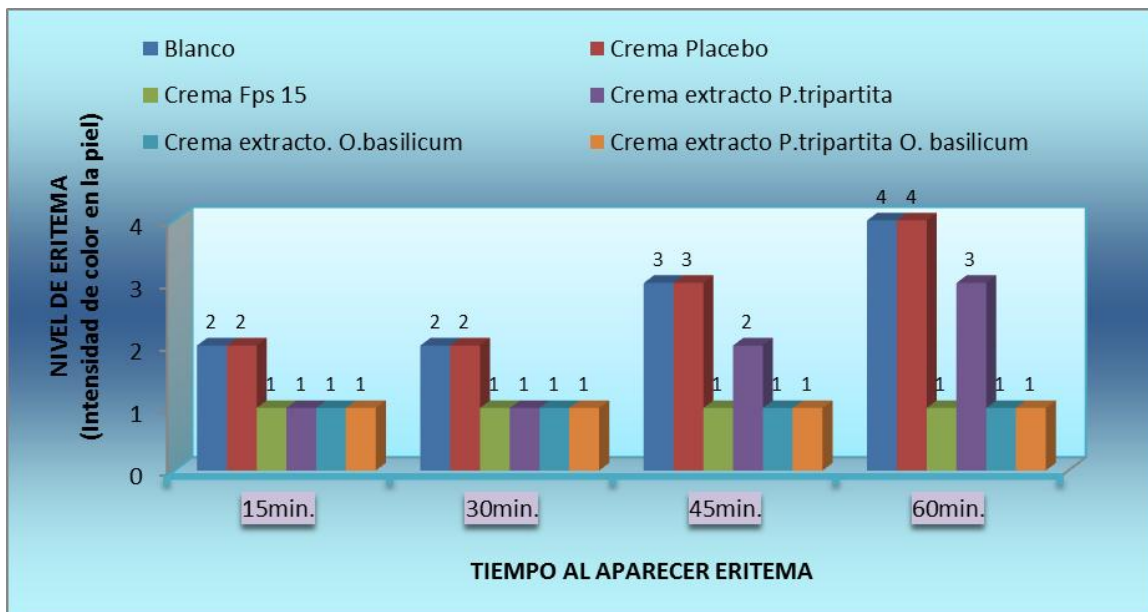


GRAFICO No. 3 NIVELES DE ERITEMAS EN LAS SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN DE LOS PRODUCTOS APLICADOS EN VOLUNTARIOS HASTA LOS 60 min. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012

El Cuadro No. 20 y en la Gráfica No. 3, se indica la presencia de los niveles de eritemas hasta los 60 minutos de exposición solar, observando que en las superficies experimentales del blanco y de la crema placebo presenta eritema 2 (eritema leve) a los

15 minutos el cual progresa hasta llegar a un eritema 4 (eritema agresivo) a los 60 minutos, a los 45 min. se evidencia eritema leve en la superficie con crema de *P. tripartita* 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.

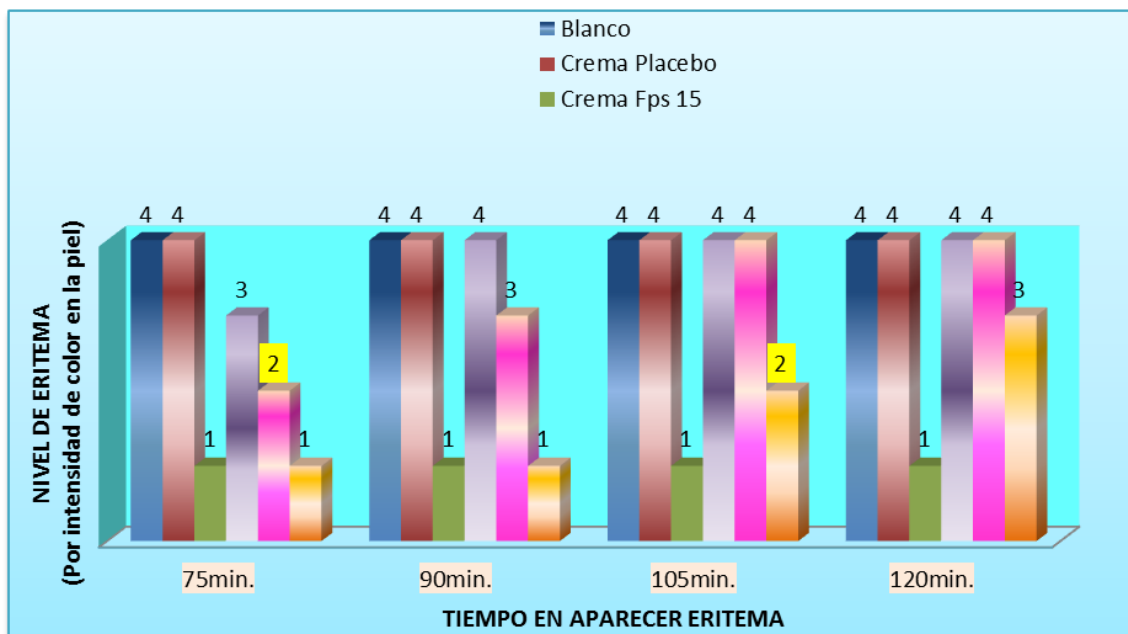


GRAFICO No. 4 NIVELES DE ERITEMAS EN LAS SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN DE LOS PRODUCTOS APLICADOS EN VOLUNTARIOS A PARTIR DE LOS 75 MIN. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012

El Cuadro No. 20 y en la Gráfica No.4 Nos indica que a los 75 minutos de exposición solar, la superficie con crema de *P. tripartita* presenta eritema 2 denominado eritema leve, en la superficie de la crema con la combinación de ambos extractos se evidenció eritema leve a los 105 minutos, en las demás superficies se evidenció un incremento del nivel de eritema a medida que transcurre el tiempo. En la crema comercial FPS15 se puede observar que durante la experimentación fue muy estable puesto a que no presentó eritema alguno de acuerdo a la escala del test colorimétrico.

CUADRO No 21. FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR PARA LAS SUPERFICIES EXPERIMENTALES DE LAS CREMAS APLICADAS EN VOLUNTARIOS. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

SUPERFICIES DE EXPERIMENTACIÓN (1cm ²)	FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR
Blanco	1
Crema placebo	1
Crema cosmética	15
Crema con extracto de <i>Passiflora tripartita</i>	3
Crema con extracto de <i>Ocimum basilicum</i>	5
Crema con extracto de <i>P. tripartita, O. basilicum</i>	7

FUENTE OROZCO VERONICA 2012

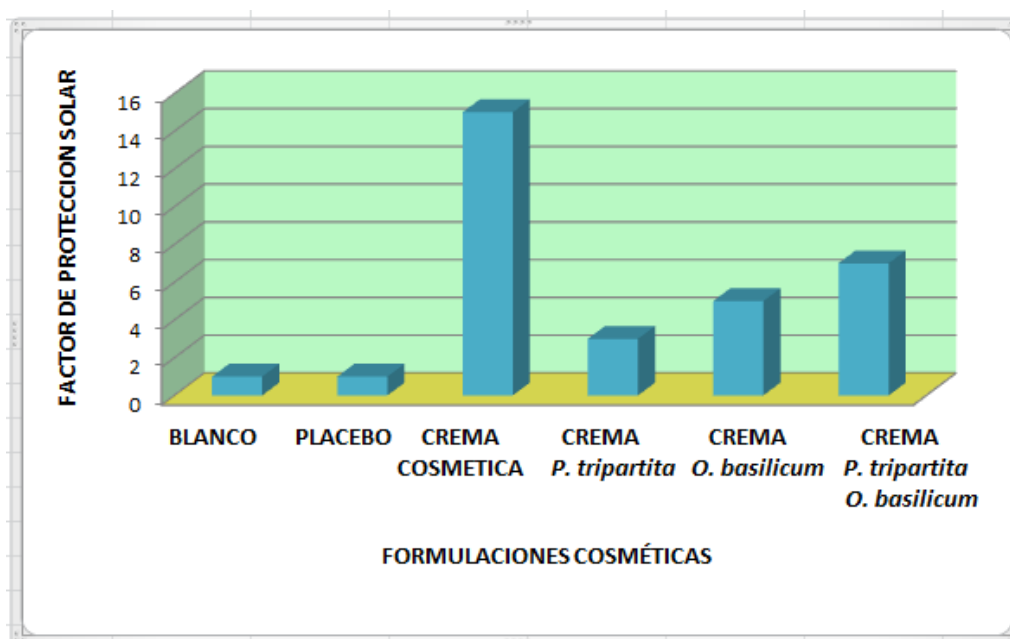


GRÁFICO No 5. FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR PARA LAS SUPERFICIES EXPERIMENTALES DE LOS PRODUCTOS APLICADOS EN LOS VOLUNTARIOS. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

ANALISIS DE RESULTADOS

El (Cuadro No.21) y la (Gráfica No.5), muestran los niveles de FPS obtenidos con sus respectivas superficies de experimentación al final del tratamiento.

El blanco y la crema placebo no producen ninguna actividad fotoprotectora frente a la radiación ultravioleta emanada por el sol.

La crema con extracto de *P. tripartita* presentó un FPS 3 lo cual demuestra que existe actividad fotoprotectora siendo esta un nivel de protección baja frente a la radiación ultravioleta es decir que su eficacia como fotoprotector solo tiene una duración limitada. En cuanto a la crema con extracto de *O. basilicum* el FPS fue de 5 el cual es un nivel de protección media frente a la radiación ultravioleta por lo tanto podemos decir que los cinamatos poseen mayor estabilidad frente a la radiación UV obteniendo así un tiempo mayor de protección que el que se obtuvo con la crema con *Passiflora tripartita*.

La crema con la combinación de los extractos de *P. tripartita* y *O. basilicum* demostró tener mayor efecto fotoprotector en personas fototipos III que los extractos individuales puesto que su FPS fue 7 por lo tanto se puede decir que la función antioxidante de los flavonoides muestra efectos sinérgicos con los cinamatos. Los cinamatos reduce la oxidación de los flavonoides, de manera tal que combinado con ella permite al flavonoide mantener sus funciones antioxidantes durante más tiempo potenciando su actividad evidenciándose en un incremento es su FPS a lo cual se lo conoce como efecto sinérgico.

Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se dice que existe sinergismo entre los dos extractos lo cual potencializa su efecto de fotoprotección, aceptando así la hipótesis alternativa que dice que los extractos conjuntos presentan mayor efecto fotoprotector.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

1. Los resultados del control de calidad de las drogas crudas, extractos alcohólicos y los productos terminados (cremas) de *Passiflora tripartita* (taxo) , *Ocimum basilicum* (albahaca), cumplen con los parámetros establecidos por la USP, Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos. Acotándolo además el análisis microbiológico en los productos terminados obteniendo resultados favorables, por lo tanto se dice que los productos fotoprotectores obtenidos son seguros para usarlos.
2. La cuantificación de flavonoides se lo realizó mediante espectrofotometría en el extracto y el producto terminado a base de hojas de *Passiflora tripartita* (taxo), obteniendo así 1.40 % de flavonoides totales o 14.0 mg/g de planta, y 0.019% o 0.19mg/g para la crema fotoprotectora y en la crema fotoprotectora combinada fue de 0.010% o 0.10mg/g. La cuantificación de cinamatos se lo realizó mediante espectrofotometría en el extracto y el producto terminado a base de *Ocimum basilicum* (albahaca) obteniendo un porcentaje de cinamatos en planta de 17% o 17mg/g de planta, 0.135% o 1.35mg/g en crema, y 0.056 o 0.56mg/g en crema combinada con los dos extractos.
3. Los grupos fitoquímicos determinados para nuestro estudio en los extractos alcohólicos de las hojas de *Passiflora tripartita*, fueron principalmente los flavonoides los cuales confieren la actividad fotoprotectora, y en el extracto alcohólico de las hojas *Ocimum basilicum* fueron los cinamatos.
4. Las cremas con los extractos de *Passiflora tripartita*, *Ocimum basilicum*, y la crema con la combinación de ambos extractos producen efecto fotoprotector en personas

con tipo de piel III; por lo tanto la utilización de *Passiflora tripartita*, *Ocimum basilicum* resultará beneficiosa en el empleo de fotoprotectores.

5. Finalizada la investigación conforme a los resultados obtenidos al realizar el análisis estadístico descriptivo la actividad de las tres cremas administradas por vía tópica ($2\text{mg}/\text{cm}^2$) tienen actividad fotoprotectora demostrando así su efectividad la cual varía en función del tiempo. Es así que para la crema fotoprotectora con *P. tripartita* su tiempo máximo de fotoprotección es de 45 minutos, 75 minutos para la crema fotoprotectora con *Ocimum basilicum* y 105 minutos para la crema fotoprotectora con la combinación de los extractos evidenciando así mayor fotoprotección en la crema fotoprotectora combinada lo cual se traduce a que existe un efecto sinérgico. Por esta razón se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Para obtener extractos de calidad se recomienda realizar todo extracto herbario siguiendo las normas establecidas para dichos productos.
2. Realizar más investigaciones sobre los beneficios que presenta la *Passiflora tripartita* puesto a que existe referencias bibliográficas escasas sobre esta planta.
4. Complementar estudios en cuanto a fotoprotección se trata mediante la innovación en sus formas farmacéuticas utilizando las plantas presentadas en este estudio como son *Passiflora tripartita*, y *Ocimum basilicum*.
5. Se recomienda comprobar la actividad fotoprotectora de la *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum* en diferentes fototipos.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Se llevó a cabo la comprobación de la actividad fotoprotectora de los extractos de *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*, para elaborar un protector solar en los Laboratorios de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, mediante la aplicación del método de experimentación científica y observación.

Los principios activos de interés fueron cinamatos y flavonoides cuantificados en los extractos fluidos y cremas de cada planta 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.

La comprobación in vivo se realizó en voluntarios con tipo de piel III con protector de antebrazo dividido en áreas con 6 superficies experimentales expuestos a la radiación solar con UVI de 14.8 por un tiempo de 120 minutos a 25 ± 2 °C. La evaluación de eritema se lo realizó después de 3 horas mediante controles cada 15 minutos por visualización de eritema con Tira colorimétrica y por comparación con una crema comercial con FPS 15.

La investigación concluye que existe una considerable actividad fotoprotectora, FPS 3 para *Passiflora tripartita*, FPS 5 *Ocimum basilicum* y FPS 7 para la combinación de ambos extractos existiendo además efecto sinérgico en la crema con la combinación de los extractos potenciando así su actividad evidenciándose en su factor de protección.

Se recomienda tener los extractos almacenados a temperatura ambiente además se debería realizar la comprobación de estos extractos en diferentes fototipos.

ABSTRACT

It was carried out the verification of photo-protective activity of *Passiflora tripartite* and *Ocimum basilicum* extracts, in order to elaborate a sun protector in Phyto-chemistry Labs-Facultad de Ciencias at Escuela Superior Politécnica de Chimborazo through experimental scientific method and observation .

Active principles of interest were constituted by cinnamic and flavonoids products which were quantified in that related to fluid extracts and creams coming from each plant using spectrophotometer technique; raw material, fluid extracts and final product were evaluated on quality control in accordance to specifications from Ecuadorian Law on Phyto-medicines and the American Pharmacopeia XXXI.

In vivo verification was performed in volunteers with III skin type using forearm protector divided in areas with 6 experimental surfaces exposed to UVI 14.8 sun radiation during 120 minutes to 25 ± 2 ° C. Evaluation on erythema was carried out after 3 hours by means of controls every 15 minutes by erythema visualization using colorimetric strip and by comparison with a FPS 15 commercial cream.

Through this research it is concluded the existence of a considerable photo-protective activity, FPS 3 for *Passiflora tripartite*, FPS 5 *Ocimum basilicum* and FPS 7 for the combination of both extracts, there is besides a synergic effect in the cream with the combination of extracts powering their activity that is evidenced in its protective factor.

It is recommended to maintain extracts stored at environment temperature and to carry out the verification of these extracts on different photo-types.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍAS

1. **ANGULO R.**, Frutales exóticos de Clima Frío., Bayer Crop Science S.A., Bogotá- Colombia., Editorial Isnaya., 2003., Pp. 120 – 131
2. **BAREÑO P.**, Últimas tendencias en hierbas aromáticas., s. ed. Bogotá.- Colombia D.C., Editorial Produmedios., 2006., Pp. 86-87
3. **CABRERA S. Y OTROS.**, Radiación ultravioleta y Salud. 1a ed., Santiago de Chile., Editorial Universitaria., 2005., Pp. 88-89,98-104
4. **CORINNE T.**, El gran libro de las curas milagrosas., 6a.ed., Madrid-España., Editorial EDAF, S.L., 2000., Pp. 133-134,308
5. **FITZPATRICK.**, Dermatología en Medicina General., 7a.ed., Buenos Aires - Argentina., Editorial Médica Panamericana., 2008., Pp. 2137-2138.
6. **GARCIA A. Y OTROS.**, La piel., 1a.ed., Madrid-España., Editorial Díaz de santos., Tomo II., 2012., Pp. 98-100.
7. **GOLAN E.**, Principle of Pharmacology., 3a.ed., Philadelphia., Editorial Lippincot Willians and Wilkins., 2008., Pp. 38-41.
8. **GONZÁLEZ S. Y OTROS.**, The latest on skin photo protection., s.ed., New York., Edition clindermatol., 2008 Pp. 614.

9. **GONZÁLEZ J, ZUÑIGA H**, Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. var *basilicum*., s. ed., México., Editorial Fac. Farm Vol. 22., 2012., Pp.19-24
10. **JATIVA C.**, Texto Básico Fitoquímica., Facultad de Ciencias., ESPOCH., Riobamba-Ecuador., 2000., Pp. 19-21.
11. **RIBERA M. Y OTROS.**, El sol y la piel., 3a.ed., Madrid-España., Editorial Medifam., 2003., Pp. 64-71
12. **MIRANDA M. Y OTROS.**, Farmacognosia y Productos naturales., 1a.ed., Habana-Cuba., Editorial Universidad de la Habana., 2000., Pp. 40-60.
13. **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.
14. **PALOMINO M.**, Dermatología Fisiología de la Piel., 2a. ed., Lima-Perú., Editorial Universidad de San Marcos., 2001., Vol. 11., Pp. 2
15. **SALINAS N.**, Canelo de los Andaquíes., Colombia., Editorial Secab., 2007., Vol. 4., Pp. 115-117
16. **SHARAPIN, N.**, Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos., 1a. ed., Bogotá Colombia., Editorial Quebecor., 2000., Pp. 28-57
17. **VERSCHOOTEN L.**, Nuevas estrategias de fotoprotección., s.ed. Guanajuato-México., Editorial Photochem., 2006., Pp.82

18. **WAGNER H.Y OTROS.**, Análisis de plantas y drogas., 2a.ed., Berlín-Alemania., Editorial Springer Verlag., 1996., Pp. 334-347.
19. **TELEGUARIO C.**, Caracterización y cuantificación de flavonoides., Título de Química Farmacéutica., Unidad de Investigación de la Facultad de CIENCIAS QUÍMICAS., Guatemala, TESIS, 2008., Pp 14

Bibliografía de Internet

20. ANTECEDENTES DE LOS FOTOPROTECTORES

<http://www.bellezaenvena.com/2010/08/garnier-delial-ambre-solaire-el-primer.html>
2012/04/17

21. CARACTERÍSTICAS 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
2012/05/27

22. CARACTERÍSTICAS RADIACIÓN UV

<http://www.tecnun.es/asignaturas/Ecologia/Hipertexto/10CAtm1/364UltrViol.htm>
2012/04/12

23. CARACTERIZACION FISICA QUIMICA DE *Ocimum basilicum*

http://issuu.com/cemena/docs/aislamiento_y_caracterizaci_n_del_aceite_esencial
2012/06/20

24. CARCINOMA ESCAMOCELULAR Y BASOCELULAR

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

2012/06/11

25. CANCER DE PIEL:EPIDEMIOLOGIA

www.infopiel.org.ar/tupiel/cancer.shtm

2012/02/12

<http://www.dmedicina.com/enfermedades/cáncer/cáncer-piel>

2012/02/14

26. COMPOSICIÓN QUÍMICA ALBAHACA

<http://www.plantasparacurar.com/composicion-de-la-albahaca/>

2012/04/17

27. COMPOSICIÓN QUÍMICA TAXO

http://www.iica.int/prociandino/curuba_passiflora_mollisima.htm

<http://www.fonaiap.gov.ve/publica/divulga/fd59/curuba.html>

2012/04/20

28. DATOS ESTADISTICOS DE INDICE DE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

http://www.tutiempo.net/IndiceUV/Riobamba_Chimbor/SERB.htm

2012/09/28

<http://www.eluniverso.com/0001/18/4EB6C7A0AE904EA2BE28F4F239CB5734.html>

2012/09/30

29. DIOXIDO DE TITANIO

http://www.ehowenespanol.com/efectos-salud-del-dioxido-titanio-presente-cremas-piel-lista_127726/

www.cancer.ucla.edu

2012/08/24

30. FACTORES DE LOS QUE DEPENDE LOS NIVELES DE RADIACIÓN UV

http://www.epa.gov/sunwise1/es/radiacion_uv.html Aire y Radiación (6205J); Septiembre de 2001; EPA430-F-01-035

2012/09/23

31. FOTOPROTECCION

<http://es.scribd.com/doc/55142085/36/FOTOPROTECCION>

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

2012/08/10

32. 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

2012/04/02

33. FLAVONOIDES BIOSINTESIS

farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf

2012/04/18

34. LESIONES DE PIEL

http://www.pulevasalud.com/ps/subcategoria.jsp?ID_CATEGORIA=1110

<http://www.prohealthcare.org/wellness/self-care/adult/espanol/piel-sintomas-dispersados/quemadura-de-sol/>

2012/06/25

35. MECANISMO DE ACCION DE FOTOPROTECTORES

www.revistasocolderma.com/numeros/.../Fotoproteccion.pd
2012/06/18.

36. MELANOMA MALIGNO

<http://conexioncancer.es/tipos-de-cancer/informacion-general-sobre-el-melanoma/>
2012/08/16

37. NORMAS GENERALES PARA EXPERIMENTOS EN SERES HUMANOS

<http://www.mailxmail.com/curso-etnociencias-yage/normas-generales-experimentos-seres-humanos>
2012/08/20

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

http://investigacion.us.es/docs/cetico/Principios_eticos_para_humanos.pdf
2012/09/28

39. RADIACIÓN UV EN ECUADOR

<http://www.exa.ec/bp21/index-es.html>
2012/09/28

40. 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+INCARN>

[ATA+L.+PARA+SU+USO+EN+LA+INDUSTRIA+FARMAC%C3%89UTICA&source=web&cd=1&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2012/07/16](http://www.asturias.es/Astursalud/Ficheros/AS_ASAC/AS_Consumo/%89UTICA&source=web&cd=1&ved=0CCsQFjAA&url=http%3A%2012/07/16)

41. TIPOS DE FOTOPROTECCION

http://www.asturias.es/Astursalud/Ficheros/AS_ASAC/AS_Consumo/Fotoproteccion.pdf8&ei=eJC1UKaKFY2o8ATJkYGYCg&usg=AFQjCNF9MBzO3AdyMPNBmEIaKf5ioGEQ9g&cad=rja

2012/07/16

42. TIPOS PROTECTOR SOLAR

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

2012/05/28

43. TODO SOBRE RADIACIÓN UV

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

2012/07/15

44. TODO SOBRE PABA

http://www.ehowenespanol.com/peligros-del-paba-sobre_74253/

2012/05/24

45. TODO SOBRE PROTECCION CONTRA EL CANCER Y EL CANCER

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

2012/03/26

**46. TODO SOBRE PRUEBAS DE CONTROL DE CALIDAD EN
CREMAS COSMETICAS**

[http://prontus.uv.cl/pubacademica/pubprofesores/s/pubsanchezvirgini
a/site/artic/20080411/asocfile/laboratorio_ccalidad.pdf](http://prontus.uv.cl/pubacademica/pubprofesores/s/pubsanchezvirgini
a/site/artic/20080411/asocfile/laboratorio_ccalidad.pdf)

2012/09/17

CAPÍTULO VIII

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 proteja de la radiación ultravioleta a través de absorción, dispersión o reflejar la radiación".

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 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.

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 expuesto 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 Medpi / MEDui. 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.

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 30cm², el 30 por 60cm²) 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.

6. 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.

7. 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.

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = 0.0578C - 0.0043$$

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

$$C = \frac{0.645 + 4,30 \times 10^{-3}}{0,057775} = 11.23 \frac{\mu g}{mL}$$

%Concentración

$$= \frac{11.23 \mu g Querc}{1 mL} \times \frac{100 mL}{1 g Muestra} \times \frac{25 mL}{2 mL} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g} \times \frac{1 g}{1000 mg} \times 100$$

$$\%Concentración = 1.40\%$$

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

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = 0.003C - 0.037$$

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

$$C = \frac{0,148 + 0.036}{0,003} = 61.33 \frac{\mu g}{mL}$$

$$\begin{aligned} & \% \text{concentración} \\ & = \frac{61.33 \mu g \text{cinamato}}{1 mL} \times \frac{250 mL}{1 mL \text{Laceite } O. \text{basilicum}} \times \frac{100 mL}{1 mL} \times \frac{50 mL}{1 mL} \times \frac{1 mL \text{Laceite } O. \text{basilicum}}{450 g \text{planta}} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g} \times \frac{1 g}{1000 mg} \times 100 \end{aligned}$$

$$\% \text{concentración} = 17\%$$

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

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

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

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

$$C = \frac{0,605 + 0.0043}{0,0578} = 10.54 \frac{\mu g}{mL}$$

$$\begin{aligned} & \% \text{Concentración} \\ & = \frac{10.54 \mu g}{1 mL} \times \frac{100 mL}{1 g \text{crema}} \times \frac{25 mL}{2 mL} \times \frac{3,7 mL}{250 g \text{crema}} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g} \times \frac{1 g}{1000 mg} \\ & \times 100 \end{aligned}$$

$$\% \text{Concentración} = 0.019$$

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

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = 0.003C - 0.036$$

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

$$C = \frac{0,074 + 0.036}{0,003} = 36.66 \frac{\mu g}{mL}$$

%Concentración

$$\begin{aligned} &= \frac{36.66 \mu g \text{ cinamato}}{1 mL} \times \frac{100 mL}{1 g \text{ crema}} \times \frac{25 mL}{1 mL} \times \frac{3,7 mL}{250 g \text{ crema}} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g} \\ &\times \frac{1 g}{1000 mg} \times 100 \end{aligned}$$

$$\% \text{ Concentración} = 0.135$$

CÁLCULOS % CONCENTRACIÓN DE QUERCETINA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CREMA COMBINADA CON LOS EXTRACTOS DE *Passiflora tripartita*, *Ocimum basilicum*. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. RIOBAMBA SEPTIEMBRE DEL 2012.

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

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

$$C = \frac{A + 0,043}{0,0578}$$

$$C = \frac{0,639 + 0,0043}{0,0578} = 11,13 \frac{\mu g}{mL}$$

%Concentración

$$= \frac{11,13 \mu g}{1 mL} \times \frac{100 mL}{1 g \text{ crema}} \times \frac{25 mL}{2 mL} \times \frac{1,8 mL}{250 g \text{ crema}} \times \frac{1 mg}{1000 \mu g} \times \frac{1 g}{1000 mg} \times 100$$

$$\%Concentración = 0,010$$

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

$$Y = a + b \times$$

$$A = a + bC$$

$$A = 0,003C - 0,037$$

$$C = \frac{A + 0,036}{0,003}$$

$$C = \frac{0,059 + 0,036}{0,003} = 31,66 \frac{\mu g}{mL}$$

$$\begin{aligned} \% \text{Concentración} &= \frac{31.66 \mu\text{g cinamato}}{1 \text{ mL}} \times \frac{100 \text{ mL}}{1 \text{ g crema}} \times \frac{25 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \times \frac{1,8 \text{ mL}}{250 \text{ g crema}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \mu\text{g}} \\ &\times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \end{aligned}$$

$$\% \text{Concentración} = 0.056$$

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 DEL TAXO (*Passiflora tripartita*), ALBAHACA (*Ocimum basilicum*) EN FOTOTIPOS III (*Homo sapiens*) PARA ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR”

INVESTIGADOR: Verónica Paola Orozco Montero

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:

Verónica Orozco Montero, Larrea 17-53 y Chile. Riobamba - Ecuador, 032967524-0998743131

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:

Verónica Orozco Montero, Larrea 17-53 y Chile. Riobamba - Ecuador, 032967524-0998743131

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

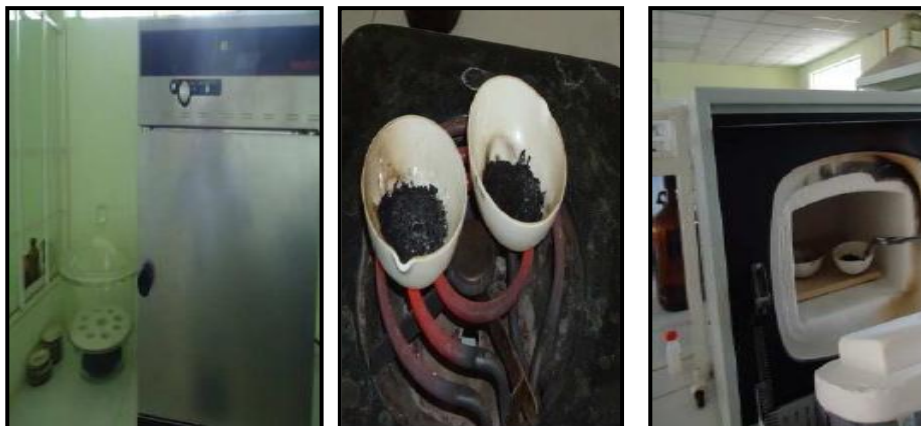
Firma de la Madre

Fecha

Firma del representante legal autorizado

Fecha

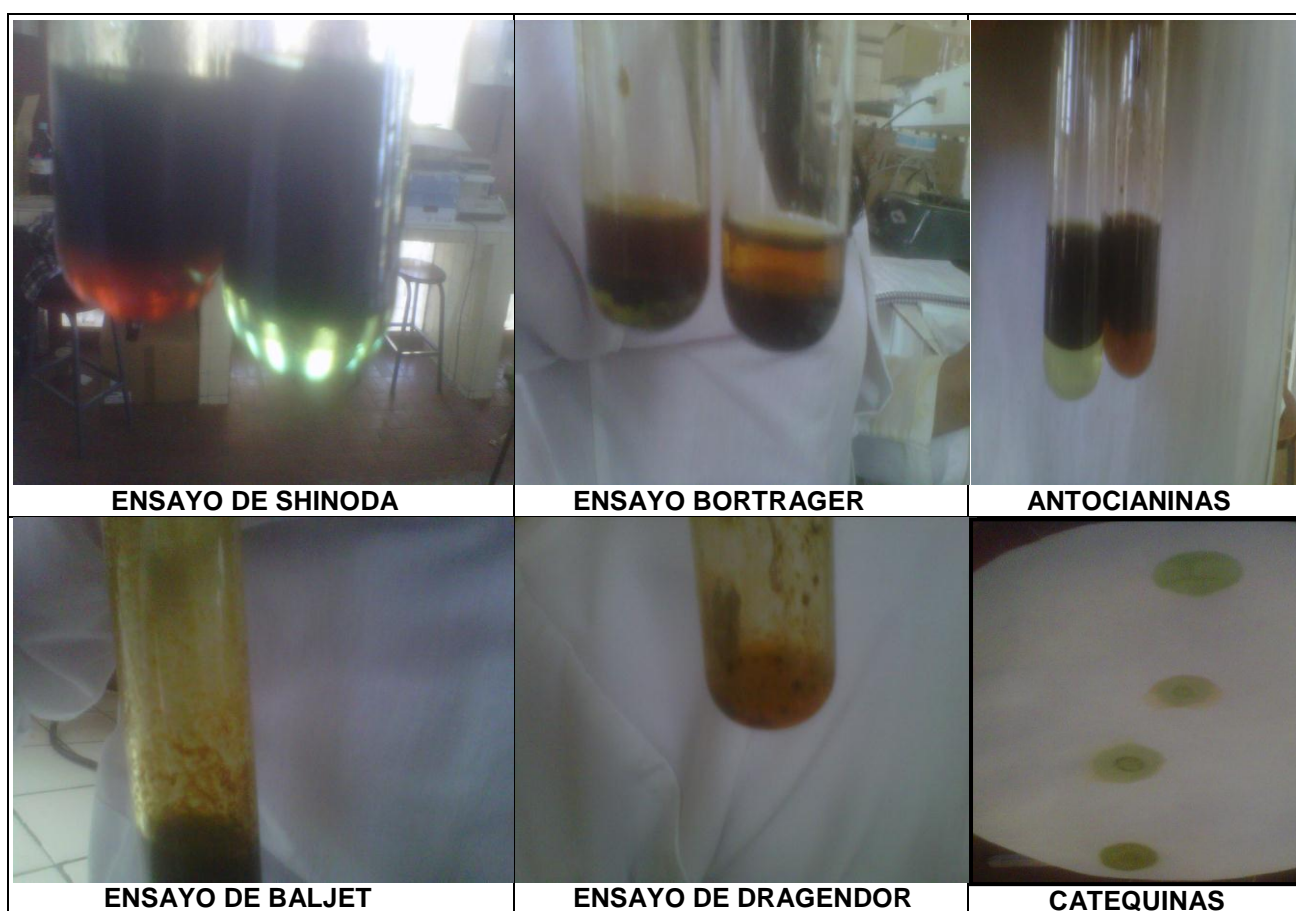
Anexo N_o 4 FOTOGRAFÍAS.



FOTOGRAFÍA No 3. CONTROL DE CALIDAD DE *Passiflora tripartita*, *Ocimum basilicum*.



FOTOGRAFÍA No 4. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICOS DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*.



FOTOGRAFÍA No 5. TAMIZAJE FITOQUIMICO DE *Passiflora tripartita* y *Ocimum basilicum*.



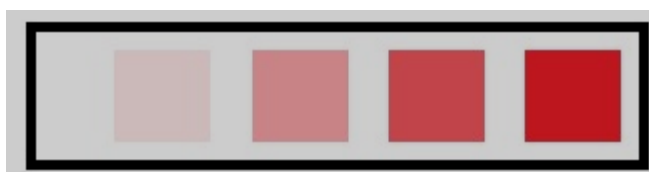
FOTOGRAFÍA No 6. ESPECTROFOTÓMETRO UTILIZADO PARA CUANTIFICACION DE CINAMATOS Y FLAVONOIDES



**FOTOGRAFÍA No 7. CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS CON *Passiflora tripartita*,
Ocimum basilicum.**



FOTOGRAFÍA No 8. EXPOSICION DE VOLUNTARIOS A LA RADIACION SOLAR



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



Aparición de eritema a los 15 minutos (desde la izquierda blanco. placebo, taxo, albahaca, combinación de ambos y crema comercial)



Aparición de eritema a los 45 minutos (desde la izquierda blanco. placebo, taxo, albahaca, combinación de ambos y crema comercial)



Aparición de eritema a los 75 minutos (desde la izquierda blanco. placebo, taxo, albahaca, combinación de ambos y crema comercial).



Aparición de eritema a los 120 minutos (desde la izquierda blanco. placebo, taxo, albahaca, combinación de ambos y crema comercial).

**FOTOGRAFÍA No 10. ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA EN SUPERFICIES
EXPERIMENTALES DE VOLUNTARIOS FOTOTIPOS III.**

ANEXO No 5. DATOS OBTENIDOS DE LA EVALUACIÓN FOTOPROTECTORA DE LOS PRODUCTOS CON LOS EXTRACTOS DE *Passiflora tripartita*, *Ocimum basilicum* Y COMBINACIÓN DE AMBOS EXTRACTOS.

S.EXPERIMENTAL (cm2)		x1						x2						x3						x4						x5						x6																				
T. EVALUACIÓN(mi)		p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10					
15min	R1	1	2	2	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1						
	R2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	R3	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
30min	R1	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	R3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
45min	R1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	R2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	R3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
60min	R1	4	3	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	R2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	R3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
75min	R1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	R2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	R3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
90min	R1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	R2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	R3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
105min	R1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	R2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	R3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
120min	R1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	R2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	R3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

10 personas con 6 zonas de experimentación en tres áreas de la parte anteroposterior de los brazos (dos en el izquierdo y uno en el derecho)
 p=fototipolll (persona de piel blanca) R1=área de experimentación prueba 1
 x1= superficie sin producto R2=área de experimentación prueba 2
 x2= superficie producto placebo 2mg/cm2 piel R3=área de experimentación prueba 3
 x3= superficie crema con fps 15 2mg/cm2 piel (1) no hay eritema
 x4= superficie crema con extracto de *Passiflora tripartita* 2mg/cm2 de piel (2) eritema leve
 x5= superficie crema con extracto de *Ocimum basilicum* 2 mg/ cm2 de piel (3) eritema moderado
 x6= superficie crema con extracto de *P. tripartita* más *O. basilicum* 2 mg/ cm2 de piel (4) eritema intenso

Los niveles de eritema comienzan desde nivel uno ya que al encontrarnos en la zona cercana a la línea ecuatorial tenemos incidencia directa a la radiación ultra violeta teniendo ya una pigmentación en la piel motivo por el cual no podemos comenzar el test colorimétrico desde nivel cero. En el nivel dos tenemos la presencia de eritema leve o inicial con un cambio ligero en el tono de la piel, con el nivel de eritema tres se evidencia un cambio de la coloración de la piel más notorio (eritema moderado), con el nivel cuatro (eritema agresivo) el nivel de eritema es más evidente con un color rojo indicando que la piel ha llegado a su máximo en cuanto a los eritemas causados por la radiación UV.