



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

**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
DE LAS VAINAS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*) Y
DESARROLLO DE UNA FORMA FARMACÉUTICA
SEMISÓLIDA.**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA:

ANGIE XIMENA SUÁREZ MAYACELA

Riobamba – Ecuador

2024



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
DE LAS VAINAS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*) Y
DESARROLLO DE UNA FORMA FARMACÉUTICA
SEMISÓLIDA.**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTOR: ANGIE XIMENA SUÁREZ MAYACELA

DIRECTORA: Dra. VERÓNICA MERCEDES CANDO BRITO MSc.

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Angie Ximena Suárez Mayacela

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

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

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

Riobamba, 16 de mayo del 2024

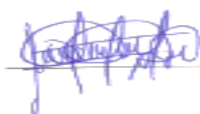



Angie Ximena Suárez Mayacela

060552599-7

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

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DE LAS VAINAS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*) Y DESARROLLO DE UNA FORMA FARMACÉUTICA SEMISOLIDA**, realizado por la señorita: **ANGIE XIMENA SUÁREZ MAYACELA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

| | FIRMA | FECHA |
|---|---|--------------|
| BQF. Aida Adriana Miranda Barros, M.Sc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL |  _____ | 2024-05-16 |
| Dra. Verónica Mercedes Cando Brito, M.Sc. DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR |  _____ | 2024-05-16 |
| Ing. Violeta Maricela Dalgo Flores, M.Sc. ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR |  _____ | 2024-05-16 |

DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación lo dedico a la persona más especial de mi vida: mi madre, Natali Mayacela. Ella es mi mejor amiga, mi maestra, mi compañera; la persona que Dios me dio para criarme y enseñarme el amor incondicional, único y real. Las palabras no alcanzan para expresar mi agradecimiento a Dios por haberme dado la mejor madre del mundo. Gracias por confiar siempre en mí, por estar presente en cada momento de mi vida y hacerlo especial. Gracias por enseñarme a no rendirme, por mostrarme que de los fracasos se aprende, por demostrarme que el amor puro existe y por nunca dejarme sola, incluso cuando no he sido la mejor hija. Te amo, querida madre. También quiero dedicar este trabajo a mi fiel compañero canino, Caramelo, quien ahora descansa en el cielo. Gracias por brindarme todo tu amor y por enseñarme el verdadero significado de la lealtad y el amor incondicional. Siempre te llevaré en mi corazón y te recordaré con cariño.

Angie

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios por otorgarme salud y vida para completar mis estudios, siendo mi fortaleza y refugio en cada paso del camino. A mi tutora de tesis, la Dra. Verónica Cando, le expreso mi más profundo agradecimiento por su orientación experta, apoyo constante y valiosas sugerencias que han enriquecido este proyecto desde su inicio hasta su conclusión. Quiero dedicar un reconocimiento especial a mi familia, especialmente a mis padres, Natali Mayacela y Ramiro Suárez, cuyo amor incondicional, comprensión y aliento constante han sido mi mayor motivación y fortaleza a lo largo de esta travesía académica. Agradezco también a mis amigos por su apoyo moral y ánimo durante momentos difíciles. Su compañía ha sido un estímulo constante para seguir adelante y superar los desafíos que surgieron en el camino. Cada uno de ustedes ha dejado una huella imborrable en este viaje, y les estoy profundamente agradecido por su contribución a mi crecimiento y éxito académico.

Angie

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|------------------------------|------|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | xi |
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES..... | xii |
| ÍNDICE DE ANEXOS..... | xiii |
| RESUMEN..... | vii |
| ABSTRACT..... | xv |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |

CAPÍTULO I

| | |
|---|---|
| 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN..... | 2 |
| 1.1. Planteamiento del problema..... | 2 |
| 1.2. Objetivos de la investigación..... | 3 |
| 1.2.1. Objetivo general..... | 3 |
| 1.2.2. Objetivos específicos..... | 3 |
| 1.3. Justificación..... | 3 |

CAPÍTULO II

| | |
|---|----|
| 2. MARCO TEÓRICO..... | 5 |
| 2.1. Antecedentes de investigación..... | 5 |
| 2.2. Referencias teóricas..... | 7 |
| 2.2.1. <i>Plantas medicinales</i> | 7 |
| 2.2.1.1. <i>Plantas medicinales en Ecuador</i> | 7 |
| 2.2.2. <i>Caesalpinia spinosa (guarango)</i> | 8 |
| 2.2.2.1. <i>Distribución y habitat</i> | 8 |
| 2.2.2.2. <i>Taxonomía</i> | 9 |
| 2.2.2.3. <i>Descripción morfológica</i> | 9 |
| 2.2.2.4. <i>Cultivo</i> | 10 |
| 2.2.2.5. <i>Composición Química del Caesalpinia spinosa</i> | 10 |
| 2.2.2.6. <i>Taninos de Caesalpinia spinosa</i> | 10 |
| 2.2.2.7. <i>Usos y aplicaciones</i> | 11 |
| 2.2.3. <i>Metabolismo de las plantas</i> | 11 |
| 2.2.3.1. <i>Metabolitos secundarios</i> | 12 |

| | | |
|-----------|---|----|
| 2.2.3.2. | <i>Compuestos Fenólicos</i> | 12 |
| 2.2.3.3. | <i>Taninos</i> | 13 |
| 2.2.4. | <i>Efecto antioxidante</i> | 15 |
| 2.2.4.1. | <i>Radicales libres</i> | 15 |
| 2.2.4.2. | <i>Estrés oxidativo</i> | 16 |
| 2.2.4.3. | <i>Síntomas de daño oxidativo</i> | 17 |
| 2.2.4.4. | <i>Radicales libres y envejecimiento prematuro</i> | 17 |
| 2.2.4.5. | <i>Antioxidantes</i> | 18 |
| 2.2.4.6. | <i>Técnicas de detección de actividad antioxidantes</i> | 18 |
| 2.2.5. | <i>Fitocosméticos</i> | 19 |
| 2.2.6. | <i>Piel</i> | 20 |
| 2.2.6.1. | <i>Definición</i> | 20 |
| 2.2.6.2. | <i>Estructura general de la piel</i> | 20 |
| 2.2.6.3. | <i>Funciones de la piel</i> | 21 |
| 2.2.7. | <i>Extracción de metabolitos</i> | 22 |
| 2.2.7.1. | <i>Métodos de extracción</i> | 22 |
| 2.2.7.2. | <i>Extractos</i> | 23 |
| 2.2.7.3. | <i>Tipos de extractos</i> | 24 |
| 2.2.8. | <i>Formas farmacéuticas de uso tópico</i> | 25 |
| 2.2.8.1. | <i>Formas farmacéuticas semisólidas</i> | 25 |
| 2.2.8.1. | <i>Definición de cremas</i> | 26 |
| 2.2.8.2. | <i>Tipos de cremas</i> | 27 |
| 2.2.9. | <i>Formulación de crema corporal</i> | 27 |
| 2.2.9.1. | <i>Fase oleosa</i> | 27 |
| 2.2.9.2. | <i>Fase acuosa</i> | 29 |
| 2.2.10. | <i>Control de calidad de las cremas</i> | 29 |
| 2.2.10.1. | <i>Ensayos microbiológicos</i> | 30 |

CAPÍTULO III

| | | |
|--------|--|----|
| 3. | MARCO METODOLÓGICO | 31 |
| 3.1. | Enfoque de investigación | 31 |
| 3.2. | Nivel de Investigación | 31 |
| 3.3. | Diseño de investigación | 31 |
| 3.3.1. | <i>Según la manipulación o no de la variable independiente</i> | 31 |
| 3.3.2. | <i>Según las intervenciones en el trabajo de campo</i> | 31 |

| | | |
|-----------|---|----|
| 3.4. | Tipo de estudio | 31 |
| 3.5. | Lugar de la investigación | 31 |
| 3.6. | Población y planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra | 32 |
| 3.6.1. | <i>Población y planificación</i> | 32 |
| 3.6.2. | <i>Selección y cálculo de la muestra</i> | 32 |
| 3.6.2.1. | <i>Criterios de inclusión</i> | 32 |
| 3.6.2.2. | <i>Criterios de exclusión</i> | 32 |
| 3.7. | Recolección del material vegetal | 32 |
| 3.7.1. | <i>Identificación botánica del Material Vegetal</i> | 33 |
| 3.8. | Variables | 33 |
| 3.9. | Materiales, equipos y reactivos | 34 |
| 3.10. | Métodos, técnicas e instrumentos de investigación | 37 |
| 3.10.1. | <i>Preparación de la materia vegetal</i> | 37 |
| 3.10.2. | <i>Control de calidad de la droga cruda</i> | 37 |
| 3.10.2.1. | <i>Determinación del contenido de humedad</i> | 38 |
| 3.10.2.2. | <i>Determinación de cenizas</i> | 38 |
| 3.10.2.3. | <i>Determinación de cenizas solubles en agua</i> | 39 |
| 3.10.2.4. | <i>Determinación de cenizas en ácido clorhídrico</i> | 39 |
| 3.11. | Tamizaje fitoquímico | 40 |
| 3.11.1. | <i>Obtención de extractos</i> | 40 |
| 3.11.2. | <i>Procedimientos del tamizaje fitoquímico</i> | 43 |
| 3.11.3. | <i>Obtención del extracto hidroalcohólico por el método de maceración en frío</i> | 45 |
| 3.11.3.1. | <i>Determinación del rendimiento</i> | 45 |
| 3.12. | Control de calidad del extracto | 45 |
| 3.12.1. | <i>Determinación del olor</i> | 46 |
| 3.12.2. | <i>Determinación del color</i> | 46 |
| 3.12.3. | <i>Determinación del pH</i> | 46 |
| 3.12.4. | <i>Determinación de la densidad</i> | 46 |
| 3.12.5. | <i>Determinación del índice de refracción</i> | 47 |
| 3.12.6. | <i>Método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)</i> | 48 |
| 3.13. | Elaboración de la crema con extracto hidroalcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> ... | 49 |
| 3.13.1. | <i>Control de calidad del producto terminado</i> | 50 |
| 3.13.1.1. | <i>Ensayos organolépticos</i> | 50 |
| 3.13.1.2. | <i>Ensayos fisicoquímicos</i> | 51 |
| 3.13.2. | <i>Control microbiológico del producto terminado</i> | 52 |
| 3.13.2.1. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 52 |

| | |
|---|----|
| 3.13.2.2. <i>Escherichia coli</i> | 52 |
| 3.13.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 52 |
| 3.13.2.4. <i>Mesófilos aerobios totales</i> | 53 |
| 3.13.3. <i>Etiquetado y envasado</i> | 53 |

CAPÍTULO IV

| | |
|--|----|
| 4. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS. | 55 |
| 4.1. Control de calidad de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> (guarango) | 55 |
| 4.2. Tamizaje fitoquímico | 56 |
| 4.3. Porcentaje de rendimiento del extracto de <i>Caesalpinia spinosa</i> | 58 |
| 4.4. Análisis organoléptico del extracto | 59 |
| 4.5. Análisis fisicoquímico del extracto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (guarango) | 59 |
| 4.6. Determinación actividad antioxidante DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) | 60 |
| 4.6.1. <i>Determinación de la actividad antioxidante del ácido ascórbico- método DDPH</i> ... | 61 |
| 4.6.2. <i>Determinación de la actividad antioxidante del extracto de vainas de guarango</i> | 62 |
| 4.7. Formulación ideal de la crema antioxidante | 63 |
| 4.7.1. <i>Determinación de la actividad antioxidante de formulación ideal-método DDPH.</i> | 64 |
| 4.8. Características organolépticas de la crema antioxidante | 66 |
| 4.9. Parámetros fisicoquímicos de la crema antioxidante | 66 |
| 4.9.1. <i>Determinación del pH</i> | 66 |
| 4.9.2. <i>Determinación de la viscosidad</i> | 67 |
| 4.9.3. <i>Determinación de la extensibilidad</i> | 67 |
| 4.9.4. <i>Determinación del signo de emulsión</i> | 67 |
| 4.10. Análisis microbiológico de la crema antioxidante | 68 |
| 4.11. Etiquetado de la crema antioxidante | 69 |
| 4.11.1. <i>Envase secundario</i> | 69 |
| 4.11.2. <i>Envase primario (etiqueta)</i> | 70 |

CAPÍTULO V

| | |
|---|----|
| 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 71 |
| 5.1. Conclusiones | 71 |
| 5.2. Recomendaciones | 71 |

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tabla 2-1: | Taxonomía de <i>Caesalpinia spinosa</i> | 9 |
| Tabla 2-2: | Composición química de <i>Caesalpinia spinosa</i> | 10 |
| Tabla 2-3: | Diferentes formas semisólidas..... | 25 |
| Tabla 2-4: | Clasificación de formas farmacéuticas semisólidas | 25 |
| Tabla 2-5: | Tipos de emulsiones cosméticas..... | 27 |
| Tabla 2-6: | Requisitos microbiológicos para las cremas..... | 30 |
| Tabla 3-1: | Control de calidad materia prima | 34 |
| Tabla 3-2: | Tamizaje fitoquímico..... | 34 |
| Tabla 3-3: | Obtención del extracto hidroalcohólico..... | 35 |
| Tabla 3-4: | Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH)..... | 35 |
| Tabla 3-5: | Formulación de la crema | 36 |
| Tabla 3-6: | Control de calidad de la crema | 36 |
| Tabla 3-7: | Control de calidad microbiológico | 36 |
| Tabla 3-8: | Análisis del extracto etéreo | 42 |
| Tabla 3-9: | Análisis del extracto alcohólico..... | 42 |
| Tabla 3-10: | Análisis del extracto acuoso | 42 |
| Tabla 3-11: | Tamizaje fitoquímico..... | 43 |
| Tabla 3-12: | Componentes para la elaboración de una crema de antioxidante | 49 |
| Tabla 4-1: | Control de calidad material vegetal | 55 |
| Tabla 4-2: | Tamizaje fitoquímico..... | 56 |
| Tabla 4-3: | Rendimiento del extracto de <i>Caesalpinia spinosa</i> | 58 |
| Tabla 4-4: | Análisis organoléptica del extracto..... | 59 |
| Tabla 4-5: | Análisis fisicoquímico del extracto de <i>Caesalpinia spinosa</i> (guarango)..... | 59 |
| Tabla 4-6: | Resultados actividad antioxidante del ácido ascórbico por el método DPPH | 61 |
| Tabla 4-7: | Resultados actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico-método DPPH ... | 62 |
| Tabla 4-8: | Formulación ideal de crema antioxidante..... | 63 |
| Tabla 4-9: | Resultados de la actividad antioxidante de la formulación ideal..... | 64 |
| Tabla 4-10: | Características organolépticas | 66 |
| Tabla 4-11: | Determinación del pH..... | 66 |
| Tabla 4-12: | Determinación de la viscosidad..... | 67 |
| Tabla 4-13: | Determinación de la extensibilidad | 67 |
| Tabla 4-14: | Determinación del signo de emulsión | 67 |
| Tabla 4-15: | Análisis microbiológico..... | 68 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

| | | |
|-------------------------|---|----|
| Ilustración 2-1: | Especie <i>Caesalpinia spinosa</i> | 8 |
| Ilustración 2-2: | Estructura química del fenol | 13 |
| Ilustración 2-3: | Radicales libres | 16 |
| Ilustración 2-4: | Efecto antioxidante | 18 |
| Ilustración 2-5: | La piel y su división en capas | 21 |
| Ilustración 2-6: | Métodos de extracción | 22 |
| Ilustración 2-7: | Tipos de emulsiones..... | 26 |
| Ilustración 3-1: | Mapa satelital de la parroquia de San Luis | 33 |
| Ilustración 3-2: | Tamizaje fitoquímico | 41 |
| Ilustración 3-3: | Método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) | 48 |
| Ilustración 4-1: | Curva de calibración del ácido ascórbico | 61 |
| Ilustración 4-2: | Curva de calibración extracto hidroalcohólico vainas de <i>C. spinosa</i> | 62 |
| Ilustración 4-3: | Curva de calibración de la formulación ideal | 65 |
| Ilustración 4-4: | Etiqueta del envase secundario del producto final..... | 69 |
| Ilustración 4-5: | Etiqueta del envase primario del producto final | 70 |

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: CERTIFICADO HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)

ANEXO B: PREPARACIÓN DE LA DROGA CRUDA

ANEXO C: CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA

ANEXO D: TAMIZAJE FITOQUÍMICO

ANEXO E: PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

ANEXO F: CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

ANEXO G: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DPPH

ANEXO H: FORMULACIÓN DE LA CREMA ANTIOXIDANTE

ANEXO I: CONTROL DE CALIDAD FISICOQUÍMICO DE CREMA ANTIOXIDANTE

ANEXO J: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA ANTIOXIDANTE

RESUMEN

El presente estudio experimental-cuantitativo evaluó la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (guarango), del cual se desarrolló una forma farmacéutica semisólida. Donde el material vegetal fue recolectado, limpiado, secado, molido y tamizado para pruebas fisicoquímicas, siguiendo la normativa INEN 2392-2007. El tamizaje fitoquímico reveló la presencia de alcaloides, taninos, saponinas y terpenos. Por otra parte, se evaluaron las características organolépticas y fisicoquímicas del extracto, que presentó los siguientes datos: humedad 10.60%, cenizas totales 3.79%, cenizas solubles en agua 3.66%, cenizas insolubles en ácido clorhídrico 1.20%. La preparación hidroalcohólica al 70% de solvente dio un rendimiento del 11.390% de extracto obtenido. Para evaluar la actividad antioxidante, se utilizó el ensayo de DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo), donde el extracto mostró un IC₅₀ de 19.134 µg/ml, comparado con 21.908 µg/ml del ácido ascórbico, lo que indica una mayor actividad antioxidante. Posteriormente, se formuló una preparación semisólida, que pasó las pruebas de control de calidad según USP#28 para ensayos organolépticos y fisicoquímicos, con valores de pH 3.72%, índice de refracción 1.50%, y densidad relativa 0.98%. También se realizaron pruebas microbiológicas según NTE INEN 2867. En conclusión, tanto el extracto hidroalcohólico como la formulación semisólida mostraron actividad antioxidante debido a la presencia de metabolitos secundarios como taninos, terpenos y saponinas, superando la capacidad antioxidante del ácido ascórbico. Asimismo, la formulación semisólida cumplió con los criterios de calidad para uso cutáneo según la normativa vigente.

Palabras clave: <BIOQUÍMICA Y FARMACIA>, <CAPACIDAD ANTIOXIDANTE>, <ENSAYO DE DPPH>, <CONTROL DE CALIDAD>, <EXTRACTO HIDOALCOHOLICO>, <TAMIZAJE FITOQUÍMICO>, <IC50>, <*Caesalpinia spinosa*>.

0696-DBRA-UPT-2025



ABSTRACT

The main objective of this experimental-quantitative study was to evaluate the antioxidant capacity of the hydroalcoholic extract of *Caesalpinia spinosa* (guarango) pods, from which a semi-solid pharmaceutical form was developed. The plant material was collected, cleaned, dried, ground and sieved for physicochemical tests, following INEN 2392-2007 regulations. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, tannins, saponins and terpenes. On the other hand, the organoleptic and physicochemical characteristics of the extract were evaluated, which presented the following data: humidity 10.60%, total ash 3.79%, and water-soluble ash 3.66%, ash insoluble in hydrochloric acid 1.20%. The hydroalcoholic preparation at 70% solvent gave a yield of 11.390% of the extract obtained. To evaluate the antioxidant activity, the DPPH (2, 2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) assay was used, where the extract showed an IC₅₀ of 19.134 µg/ml, compared to 21.908 µg/ml of ascorbic acid, indicating a higher antioxidant activity. Subsequently, a semi-solid preparation was formulated, which passed the quality control tests according to USP#28 for organoleptic and physicochemical tests, with values of pH 3.72%, refractive index 1.50%, and relative density 0.98%. Microbiological tests were also carried out according to NTE INEN 2867. In conclusion, both the hydroalcoholic extract and the semisolid formulation showed antioxidant activity due to the presence of secondary metabolites such as tannins, terpenes and saponins, exceeding the antioxidant capacity of ascorbic acid. Likewise, the semisolid formulation met the quality criteria for cutaneous use according to current regulations.

Keywords: <BIOCHEMISTRY AND PHARMACY>, <ANTIOXIDANT CAPACITY>, <DPPH ASSAY>, <QUALITY CONTROL>, <HYDROALCOHOLIC EXTRACT>, <PHYTOCHEMICAL SCREENING>, <IC₅₀>, <Caesalpinia spinosa>.



Mgs. Evelyn Carolina Macias Silva

C.I 0603239070

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas con fines medicinales es una práctica milenaria que parece estar creciendo no sólo en el Ecuador sino en todo el mundo debido al fácil acceso y a la mayor validación científica que confirma su efectividad (González et al. 2022, pp: 191-215). El uso de plantas medicinales se basa en tres principios fundamentales: eficacia, conocimiento tradicional e investigación preclínica. Para la seguridad, se deben cumplir muchos requisitos, se deben cumplir partes importantes mediante pruebas e investigaciones previas y, finalmente, se deben mantener los estándares de calidad internacionales para que el producto sea aceptable para el público a través de la seguridad (González et al. 2022, págs. 191-215).

Las grandes empresas han recurrido a la medicina natural. Hoy en día hay más empresas que quieren crear medicamentos herbarios que satisfagan las necesidades de la población y la eficacia de los Fitoterapéuticos para las enfermedades. De los 1.094 medicamentos que se comercializan actualmente en el Ecuador, el 61% pertenecen a la fitoterapia y son fabricados en laboratorios farmacéuticos ecuatorianos.

La piel es el órgano más expuesto del cuerpo y actúa como barrera contra muchos factores ambientales como la radiación solar y la contaminación. El envejecimiento cutáneo es un proceso continuo que provoca cambios morfológicos y funcionales en la piel. La actividad biológica y la capacidad de adaptarse al estrés metabólico se ven afectadas. La teoría ambiental defiende los efectos nocivos de los radicales libres producidos por el sol y las sustancias naturales. Con el tiempo, las propiedades antioxidantes disminuyen (Esther et al 2007, págs. 64-68).

En los seres humanos, muchas enfermedades están asociadas con la acumulación de radicales libres. Los antioxidantes pueden eliminar los radicales libres y minimizar su impacto. El objetivo de este estudio es contribuir a la investigación de un tipo de formulación semisólida que incluya la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de vainas de guarango (*Caesalpinia spinosa*) para quienes quieran proteger su piel. Después de realizar investigaciones sobre la planta, extracto y crema, resulta un producto cosmético eficaz y seguro, obteniendo resultados positivos para su posterior aplicación en la piel (Esther et al 2007, págs. 64-68).

Actualmente, no existen en el mercado gran variedad de cremas antioxidantes naturales que puedan reducir los efectos de los radicales libres en la piel, por lo que la gente ha estado buscando alternativas tradicionales, como las vainas de guarango, que tienen buenas propiedades antioxidantes debido a su alto contenido de polifenoles totales y taninos (Áviles et al 2010, págs. 5-11).

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

A partir de los 30 años, tu piel empieza a cambiar. La función de barrera protectora se debilita, el intercambio de oxígeno en las células disminuye, la epidermis pierde su humedad y su elasticidad. La principal causa del envejecimiento de la piel son los factores ambientales. El envejecimiento de la piel es un proceso multifactorial que afecta a casi todos los aspectos de la biología y función humana, también es causada por factores internos y externos como la exposición a los rayos UV y la contaminación. Como resultado de este proceso, la piel se vuelve más fina, rígida y seca, lo que debilita sus funciones protectoras contra el daño mecánico.

Nuestro cuerpo tiene su propio sistema antioxidante, que es responsable de mantener el equilibrio en la concentración de radicales libres y su acción oxidativa. Cuando se altera el equilibrio entre antioxidantes y radicales libres, se produce estrés oxidativo. En este caso, los radicales libres atacan y dañan las células, tejidos que provocan el envejecimiento prematuro de la piel. (Arias-Arguello, 2020 págs. 48-59). Los antioxidantes se conocen como moléculas que actúan antes o durante las reacciones en cadena de los radicales libres; ya sea en las etapas de iniciación, propagación, terminación, descomposición o en la posterior oxidación del producto (Tovar et al 2013, págs. 42-80).

Los antioxidantes ayudan a prevenir la oxidación de las moléculas producidas por los radicales libres, que son moléculas inestables generadas endógenamente a través de reacciones biológicas presentes en los procesos metabólicos y de defensa normales. Los radicales libres pueden adquirirse de forma exógena a través de radiaciones como la luz ultravioleta (UV), el humo del tabaco, la contaminación ambiental, etc., cuyas causas desencadenan la oxidación de biomoléculas presentes en nuestro organismo como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos dando lugar al desarrollo de inflamación, envejecimiento y aparición de enfermedades (Ruiz 2020, págs. 1-7).

Los cambios que se producen en la piel debido al envejecimiento cutáneo, así como el número de personas que desean rejuvenecer su aspecto físico, son dos factores que actualmente están en aumento, por lo que la formulación de productos cosméticos anti-envejecimiento tiene garantizado su futuro (Arias 2020, págs. 48-59).

Los antioxidantes derivados de plantas desde una perspectiva fitoquímica pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavonas, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas que, por sus propiedades redox, pueden actuar como donadores de hidrógeno y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas (Ruchi et al 2007, págs. 465-470).

En este contexto, se ha demostrado que las vainas de guarango (*Caesalpinia spinosa*) contienen compuestos con potencial antioxidante, lo que brinda la oportunidad de estudiar su aplicación en terapias antioxidantes y cosméticas. Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo abordar estas brechas y desafíos mediante la realización de una investigación integral que incluya la evaluación de la actividad antioxidante del extracto de vaina de guarango y el desarrollo de una forma farmacéutica semisólida con potencial aplicación clínica y cosmética. Resolver este problema es de gran relevancia ya que puede contribuir al desarrollo de nuevos productos farmacéuticos y cosméticos que exploten el potencial antioxidante de las vainas de guarango y aporten importantes beneficios para la salud y el bienestar humano.

1.2. Objetivos de la investigación

1.2.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante del extracto de las vainas de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y desarrollo de una forma farmacéutica semisólida.

1.2.2. Objetivos específicos

- Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las vainas de guarango *Caesalpinia spinosa*.
- Determinar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de guarango (*Caesalpinia spinosa*) a través del método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).
- Desarrollar una forma farmacéutica semisólida incorporando el extracto de vainas de guarango y evaluación de su eficacia y seguridad para aplicación tópica.

1.3. Justificación

Últimamente, el interés por los antioxidantes naturales ha aumentado dramáticamente, principalmente por tres razones: (1) la baja seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes

sintéticos, (2) la potencia antioxidante de varios agentes fitoquímicos y (3) la percepción generalizada de que el consumo de ciertos fitoquímicos puede influir positivamente en la patología de las enfermedades crónicas y en el proceso de envejecimiento; Además, existe la creencia de que los compuestos naturales son inherentemente más seguros que los compuestos sintéticos y, por lo tanto, es más probable que sean aceptados comercialmente (Dorman et al 2004, págs. 193-199).

La presencia de taninos, flavonoides y gomas hacen que esta planta sea útil con fines medicinales. Los taninos y flavonoides son sustancias vegetales secundarias con efecto protector frente al daño oxidativo. Por este motivo, la tara o guarango podría considerarse una planta con propiedades antioxidantes. La vaina es la parte más importante del fruto del guarango ya que es donde se concentran la mayor cantidad de taninos, que se obtienen pulverizando la cáscara de la vaina (López et al., 2011, pág.2).

Las propiedades fisicoquímicas (actividad antioxidante, polifenoles totales y taninos) de extractos obtenidos por maceración en varios solventes y método Soxhlet de vainas de tara han sido reportadas en estudios previos, especialmente de extractos acuosos, lo que indica una buena actividad antioxidante dependiendo de los métodos más utilizados como ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) y DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) (Callohuari et al 2017, págs. 6-61).

El fundamento de este estudio es la necesidad de investigar y desarrollar productos que aprovechen el potencial antioxidante del extracto de vaina de guarango (*Caesalpinia spinosa*) para abordar los problemas de salud y bienestar. El estrés oxidativo es un factor importante en diversas enfermedades crónicas y procesos de envejecimiento, y la búsqueda de fuentes naturales de antioxidantes se ha convertido en un área importante de investigación biomédica y farmacéutica.

Por lo tanto, el guarango brinda la oportunidad de desarrollar tratamientos y productos cosméticos innovadores que puedan mejorar la calidad de vida de las personas y ofrecer soluciones sostenibles basadas en recursos naturales. Así, esta investigación tiene un propósito relevante e importante en la búsqueda de enfoques terapéuticos y cosméticos más saludables y eficaces.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de investigación

En un estudio titulado “Antioxidant properties of aqueous and ethanolic extracts of tara (*Caesalpinia spinosa*) pods in vitro and in model food emulsions” plantea que las vainas de (*Caesalpinia spinosa*) es una rica fuente de compuestos fenólicos y flavonoides. Estos compuestos se pueden extraer eficientemente usando agua o una combinación de etanol y agua. La cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides extraídos, así como su capacidad antioxidante, varía según el disolvente y el método de extracción utilizado. Se ha establecido que la mayor cantidad de flavonoides se obtiene mediante maceración durante 24 horas en agua a temperatura ambiente. Por otro lado, el extracto con mayor actividad antioxidante medida por el método FRAP se logró con una maceración de 24 horas en etanol al 50%. Además, se ha demostrado que los extractos de tara preparados con etanol al 75% son eficaces como antioxidantes en emulsiones de aceite en agua (Skowrya et al. 2014, pág. 5).

En un estudio titulado “Actividades antioxidantes in vitro de extractos metanólicos de *Caesalpinia volkensii* Harms., *Vernonia lasiopus* O. Hoffm. y *Acacia hockii* De Wild” su estudio se centró en su capacidad para mitigar el estrés oxidativo, una condición caracterizada por un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes que puede contribuir a enfermedades degenerativas como la artritis, el Alzheimer, el cáncer y los problemas cardiovasculares. Mediante pruebas in vitro se midió la efectividad de los extractos de estas plantas para neutralizar los radicales libres y su capacidad antioxidante reductora en comparación con el ácido L-ascórbico. Se descubrió que estos extractos tienen un efecto antioxidante notable, lo que probablemente se debe a la presencia de fitoquímicos como flavonoides, fenoles, terpenoides y saponinas, conocidos por sus efectos antioxidantes. Estos resultados sugieren que estas plantas podrían ser una fuente prometedora para el desarrollo de tratamientos fitoterapéuticos contra enfermedades asociadas al estrés oxidativo. El estudio también subraya la importancia de la verificación científica del uso tradicional de plantas medicinales y sugiere que se realicen más bioensayos con estos extractos para investigar sus posibles beneficios terapéuticos (Muthoni et al. 2020, pág. 10).

En una investigación titulado “Efecto gastroprotector y capacidad antioxidante del extracto acuoso de las vainas de *Caesalpinia spinosa* ‘tara’, en animales de experimentación” plantea sobre cómo la capacidad de un extracto para neutralizar los radicales libres podría estar relacionada con sus

propiedades antioxidantes resultantes de sus componentes. Este mecanismo podría explicar el efecto protector del extracto frente al daño gástrico provocado por el etanol. La actividad antioxidante del extracto, conocido como EAVT (extracto acuoso de vainas de tara), se evaluó in vitro y se comparó con un control antioxidante positivo, el ácido ascórbico. Los resultados utilizando el método DPPH mostraron que EAVT tiene un valor de IC₅₀ más alto (1,12 µg/ml) para inhibir el radical DPPH en comparación con el estándar (1,72 µg/ml). Este efecto antioxidante podría deberse al alto contenido de fenoles totales (Callohuari et al. 2017, pág. 12).

Se realizó un estudio en Arequipa, Perú para examinar cómo la temperatura, el solvente y el tipo de vaina afectan la extracción de taninos de la vaina de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y determinar su capacidad antioxidante. Esto se realizó utilizando un percolador especial a temperaturas de 25 y 40°C, con solventes de agua, 50% etanol y 80% etanol, y se evaluaron dos tipos de vainas: las adheridas al árbol y las que habían caído. Para medir los polifenoles totales se utilizó el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu y se encontró que el mejor tratamiento fue a 25°C, vaina adherida a la madera y 80% de etanol, arrojando 717,8423 mg polifenoles/g de muestra. Adicionalmente, se midió la capacidad antioxidante de los extractos mediante el método DPPH, el cual nuevamente resultó en el mismo tratamiento mencionado anteriormente con 35.1935 mg de Trolox/g de muestra y una inhibición de radicales libres de 75.25% (Cepedes et al 2023, págs. 30-88).

En el departamento de Ayacucho, Perú, se han realizado análisis en profundidad para determinar las propiedades fisicoquímicas, incluyendo actividad antioxidante, contenido total de polifenoles y taninos, de extractos obtenidos por dos métodos de extracción: maceración y Soxhlet, a partir de muestras recolectadas de diferentes partes del mundo de la fruta de tara, como polvo, fibra, cubierta de la semilla y el interior de la semilla. Se observó que todos los extractos mostraron una destacada actividad antioxidante, con valores de IC₅₀ entre 10 y 121 µg/mL, así como una variabilidad significativa en el contenido de polifenoles totales (40-150 mg EAG/g de muestra) y taninos (22-80%) (Avilés et al. 2010, págs. 5-11).

En un estudio realizado en la ciudad de Riobamba, Ecuador; el autor se centró en evaluar los efectos antioxidantes y antiinflamatorios de cinco tinturas de guarango (*Caesalpinia spinosa*) y sangre de drago (*Croton lechleri*). Se utilizaron técnicas espectrofotométricas para cuantificar fenoles y flavonoides, encontrándose la mayor concentración en la tintura de *Croton lechleri*. La actividad antioxidante se midió in vitro mediante el ensayo DPPH, siendo la mezcla de 30% *Croton lechleri* y 70% *Caesalpinia spinosa* la más efectiva con una notable concentración inhibitoria media. Por otro lado, la actividad antiinflamatoria in vivo se evaluó en ratas *Wistar*

mediante la prueba de inducción de edema plantar, y todas las tinturas mostraron una eficacia baja incluso en comparación con el diclofenaco sódico como control (Chávez 2016, pág.2).

2.2. Referencias teóricas

2.2.1. Plantas medicinales

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que la medicina natural y tradicional, que incluye el tratamiento con plantas medicinales, es una forma de medicina segura, eficaz y rentable, además de asequible y ampliamente aceptada por la población. La OMS destaca la importancia de garantizar la seguridad y calidad de este tipo de medicamentos, que podrían ser eficaces como tratamiento de primera línea y prevención de enfermedades comunes como resfriados, diarrea, dolor de estómago y febrículas (Soria 2018, págs. 7-8).

Hoy en día, los tratamientos curativos y preventivos derivados de la medicina tradicional siguen siendo populares y han perdurado en el tiempo debido a su transmisión generacional. El consumo de plantas medicinales ha aumentado significativamente en los últimos años y se utiliza tanto con fines preventivos como curativos e incluso en combinación con otros medicamentos para reducir las dosis de los medicamentos prescritos (López 2008, págs. 82-87).

Si bien existe la percepción de que los productos de fitoterapia no son peligrosos, es importante recordar que además de tener actividad farmacológica, estos productos también pueden causar efectos secundarios e interacciones con otros medicamentos. Sin embargo, estas plantas también tienen usos importantes en la medicina moderna. Constituyen una fuente directa de agentes terapéuticos y se utilizan como materia prima para la fabricación de fármacos semisintéticos más complejos. Además, la estructura química del ingrediente activo puede ser un modelo para la producción de drogas sintéticas, y este principio puede usarse como marcador taxonómico en la búsqueda de nuevas drogas (Bermúdez et al 2005, págs. 453-459).

2.2.1.1. Plantas medicinales en Ecuador

En Ecuador, país que se distingue por su riqueza biológica, se han registrado propiedades medicinales en más de 3.118 especies de plantas pertenecientes a 206 familias botánicas. En particular, en la región amazónica ecuatoriana, el uso de plantas medicinales está muy extendido y se encuentra entre los más altos de América del Sur, debido en parte a la limitada disponibilidad de servicios de salud tradicionales en la zona (Caballero et al. 2019, págs. 2-22).

En muchos países en desarrollo, aproximadamente el 80% de la población utiliza plantas medicinales como fuente primaria para satisfacer sus necesidades de salud, a veces incluso como la única opción de tratamiento disponible. En consecuencia, la salud humana puede estar indisolublemente ligada a la conservación de la diversidad de plantas medicinales, incluidas las cultivadas en huertos familiares con especies nativas (Caballero et al. 2019, págs. 2-22).

2.2.2. *Caesalpinia spinosa* (guarango)

Caesalpinia spinosa, comúnmente conocida como Tara (Perú) o Guarango (Ecuador), es una leguminosa que se encuentra naturalmente en Perú, Ecuador, Colombia y Chile, de hábito de crecimiento arbóreo o arbustivo. Esta especie se cultiva principalmente por su contenido en taninos, además de utilizarse como alimento para animales, y por su valor ornamental gracias a sus vistosas flores e inflorescencias. Pertenece a la familia *Fabaceae* y se distribuye en el norte de Sudamérica y África. Perú se destaca como el principal productor mundial de tara, representando el 80% de la producción global. La recolección de tara se realiza principalmente en bosques naturales y en algunas zonas mediante sistemas agroforestales. En este contexto, Perú tiene la mayor expansión de bosques de tara en la región andina, seguido por Bolivia, Chile, Ecuador y Colombia, aunque en menores cantidades (Naturalist 2010, pág. 10).



Ilustración 2-1: Especie *Caesalpinia spinosa*

Fuente: (AGROPERÚ, 2022)

2.2.2.1. Distribución y hábitad

C.spinosa se encuentra predominantemente en las regiones estacionalmente secas de Bolivia, Perú y el norte de Chile, tanto en las laderas occidentales de los Andes como en los valles interandinos. Además, la especie se distribuye en Venezuela, Colombia, Ecuador, Antillas y Cuba, donde se cultiva ampliamente. También ha sido introducida y cultivada en el norte y este de África, Estados Unidos, Brasil y Argentina. En la naturaleza, esta especie se desarrolla en

zonas semiáridas con una precipitación media anual de 230 a 500 mm y temperaturas medias anuales. La tara se utiliza a menudo como cerca viva o árbol de sombra en cultivos e incluso como árbol ornamental. La esperanza de vida media ronda los 60 años y puede llegar hasta los 100 años. Aunque esta planta tiene un crecimiento joven muy lento con un crecimiento anual de sólo 5 a 15 cm en los primeros años, una vez establecida muestra una alta resistencia a la sequía fisiológica. Estas adaptaciones le permiten crecer en condiciones de crecimiento de árboles marginales y en altitudes superiores a los 3.000 m (Dostert et al. 2009, págs. 3-7).

2.2.2.2. Taxonomía

Tabla 2-1: Taxonomía de *Caesalpinia spinosa*

| | |
|----------------|----------------------------|
| Reino | Plantae |
| Clase | <i>Magnoliophyta</i> |
| Orden | <i>Fabales</i> |
| Familia | <i>Fabaceae</i> |
| Género | <i>Caesalpinia</i> |
| Especie | <i>Caesalpinia spinosa</i> |

Fuente: (KULTRALKO, 2021)

Realizado por: Suárez A., 2024

2.2.2.3. Descripción morfológica

Caesalpinia spinosa es un árbol de hoja perenne que puede alcanzar los 12 metros de altura, conocido con diversos nombres regionales como tara, algarroba, huarango, guarango, tanino, taya y caranca. El tronco es redondo, espinoso y a veces curvado, con corteza gris y ramas muy extendidas, a menudo desde la base, dando la impresión de varios troncos. Las hojas son de color verde oscuro, lisas o ligeramente espinosas y constan de 2-3 pares de hojas, cada una con 5-8 pares de hojas opuestas, de elípticas a ovoides y miden de 1,4 a 4 cm de diámetro y 2,5 cm de ancho. Las flores están dispuestas en racimos terminales abigarrados, finamente pubescentes y ligeramente espinosos, que pueden alcanzar los 15 cm de longitud. Es de color rojo amarillento, con pétalos que miden de 8 a 9 mm de largo y estambres amarillos, generalmente del mismo tamaño que los pétalos o un poco más cortos. El fruto es de color marrón rojizo, plano y, a menudo, finamente pubescente; Son nueces rugosas que no se agrietan, de 6 a 10 cm de largo y de 1,5 a 2,5 cm de ancho, que contienen de 5 a 8 semillas redondas y negras cuando están maduras (Dostert et al. 2009, págs. 3-7).

2.2.2.4. Cultivo

- Elevación: La *Caesalpinia spinosa* puede encontrarse a una elevación de hasta 3,000 metros (9,800 pies) sobre el nivel del mar.
- Precipitación: se adapta a áreas con niveles de lluvia entre 100 y 300 mm (4-12 pulgadas), y puede resistir períodos prolongados de sequía que van de 6 a 10 meses.
- Tipos de suelo: es capaz de tolerar una amplia gama de condiciones, incluyendo suelos pobres, secos, alcalinos o ácidos.
- Rango de temperatura: su rango óptimo se sitúa entre los 14° y 28 °C (57° - 82 °F) (Dostert et al. 2009, págs. 3-7).

2.2.2.5. Composición química de *Caesalpinia spinosa*

Tabla 2-2: Composición química de *Caesalpinia spinosa*

| | |
|-------------------------|--------|
| Humedad | 11.70% |
| Proteínas | 7.17% |
| Cenizas | 6.24% |
| Fibra Bruta | 5.30% |
| Extracto Etéreo | 2.01% |
| Carbohidratos | 67.58% |
| Taninos (vainas) | 62% |

Fuente: (De la Cruz Lapa, 2004)

Realizado por: Suárez A., 2024

2.2.2.6. Taninos de *Caesalpinia spinosa*

Los frutos de la tara contienen taninos y se presentan como vainas aplanadas de color naranja. Cada árbol de tara puede producir entre 20 y 40 kg de vainas al año, con concentraciones de taninos que varían entre el 40% y el 60% en peso. La tara en polvo se obtiene triturando las vainas, lo que produce un aserrín fino de color amarillo claro con un contenido de taninos del 52% al 54% en peso. A continuación, mediante un proceso de concentración se obtiene el extracto de tara o extracto de taninos. Los taninos presentes en la tara son del tipo hidrolizable y son principalmente galotaninos, que consisten en una unidad básica de ácido gálico unida mediante un enlace éster al ácido quínico. Las vainas de tara son una excelente fuente para la producción de ácido tánico, galotánico y gálico. Estas vainas contienen principalmente galotaninos, que están compuestos por ésteres poligaloólicos del ácido quínico (Chambi et al. 2013, págs. 168-175).

2.2.2.7. Usos y aplicaciones

Los usos tradicionales más famosos de las vainas de tara han sido para curtir cuero, impermeabilizar vasijas de barro y fabricar tintes para textiles, cerámica y escritura. También se utiliza en la industria alimentaria, la construcción, el combustible y la medicina, principalmente debido a las propiedades astringentes de sus vainas. Hoy en día, los usos más comunes y económicamente importantes incluyen el uso de vainas secas para obtener taninos en la industria del cuero y el uso de semillas para producir caucho como aditivo alimentario (De la Torre 2018, págs. 4-30).

Debido a su alto poder calorífico, la madera de guarango se utiliza en la construcción de viviendas para vigas, postes y otros materiales, así como para mangos de herramientas, postes para cercas, leña y carbón vegetal. De los frutos procesados se obtienen diversos productos y subproductos, especialmente los extractos de taninos obtenidos de las cáscaras de las vainas molidas. Estos taninos tienen una variedad de aplicaciones industriales, como curtir cuero, clarificar vino y cerveza, producir plásticos y adhesivos y producir productos farmacéuticos. (Arguello et al. 2017, págs. 43-50).

En la medicina popular, el uso de la tara se recomienda para aliviar dolores de garganta, infecciones de los senos nasales, infecciones vaginales, lavado de ojos inflamados, heridas crónicas y diarreas infecciosas, y también se considera un limpiador del colesterol (Arguello et al. 2017, págs. 43-50).

2.2.3. Metabolismo de las plantas

Como organismos no móviles, las plantas han desarrollado una serie de mecanismos para sobrevivir en su entorno, particularmente en lo que respecta a la dispersión de semillas y la defensa contra diversos depredadores. A lo largo de su evolución se han enfrentado a amenazas como virus, bacterias y hongos, así como a presas de vertebrados y herbívoros, que los utilizan como fuente de nutrientes (Camacho et al. 2020, págs. 43-453).

En respuesta a estos desafíos externos que podrían afectar su desarrollo, las plantas han desarrollado una amplia gama de mecanismos de defensa, que van desde adaptaciones anatómicas hasta la producción de compuestos químicos. Las adaptaciones anatómicas implican modificaciones en sus estructuras físicas para disminuir o evitar el consumo por parte de los depredadores (Camacho et al. 2020, págs. 43-453).

Cuando se trata de defensas químicas, las plantas producen muchas sustancias con diferentes funciones. Estas sustancias pueden inhibir los patógenos y evitar que ataquen, o provocar efectos negativos en diversos niveles del organismo, como irritación al contacto, náuseas o malestar estomacal. Algunos de estos compuestos incluyen saponinas y compuestos fenólicos, que incluyen ácidos fenólicos y polímeros complejos como taninos y lignina. Estos fitoquímicos pueden tener efectos farmacológicos y toxicológicos en animales y también desempeñar un papel bactericida o bacteriostático contra el microbiota ruminal y los inhibidores de la fermentación (Camacho et al. 2020, págs. 43-453).

2.2.3.1. Metabolitos secundarios

Las plantas utilizan una parte importante del carbono y la energía que absorben para sintetizar moléculas orgánicas conocidas como metabolitos secundarios o productos naturales. Estos compuestos no parecen estar directamente involucrados en procesos fundamentales como la fotosíntesis, la respiración, la absorción de nutrientes o la síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos. Además, ciertos grupos de metabolitos secundarios tienen una distribución limitada en el reino vegetal, es decir, no están presentes en todas las plantas y su producción se limita a determinados géneros, familias o incluso determinadas especies. Su síntesis se produce en pequeñas cantidades y de forma selectiva dentro de la planta (Ávalos et al. 2009, págs. 119-145).

Hasta ahora se han descubierto más de 50,000 metabolitos secundarios en las plantas. La enorme diversidad vegetal existente es proporcional a la gran variedad de metabolitos secundarios descubiertos. Estos compuestos químicos producidos por las plantas que no son esenciales para su crecimiento o desarrollo inmediato, pero desempeñan roles importantes en la adaptación y la supervivencia de las plantas en su entorno. Estos metabolitos se clasifican en dos grandes grupos según sus propiedades bioquímicas: Metabolitos Nitrogenados: Estos metabolitos contienen átomos de nitrógeno en su estructura química. Algunos ejemplos incluyen: Alcaloides, Aminas, Glucósidos cianogénicos. Metabolitos no Nitrogenados: Estos metabolitos carecen de átomos de nitrógeno en su estructura química. Algunos ejemplos incluyen: Terpenoides, Compuestos fenólicos incluyen cumarinas, varios flavonoides, azúcares estructurales, lignina y taninos (Camacho et al. 2020, págs. 43-453).

2.2.3.2. Compuestos fenólicos

Las plantas producen una variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol, llamados compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides. Estas sustancias se derivan del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. En términos de estructura química, este grupo

es muy diverso e incluye desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. Además, en este grupo también se encuentran los pigmentos flavonoides (Ávalos et al. 2009, págs. 119-145).

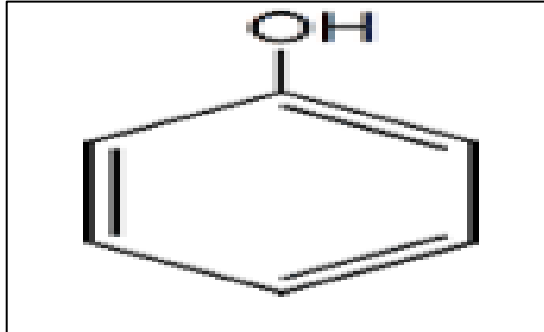


Ilustración 2-2: Estructura química del fenol

Fuente: (Ávalos García, y otros, 2009 págs. 119-145)

2.2.3.3. *Taninos*

- *Generalidades*

Los taninos son compuestos fenólicos con un peso molecular relativamente alto, que se dividen en taninos condensados e hidrolizables. Estos constituyen un grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas como proteínas, alcaloides, celulosa y gelatina. Para que una estructura polifenólica se considere tanino, debe tener un peso molecular comprendido entre aproximadamente 500 y 3000 Da. Fuera de estos valores, la estructura no se intercala adecuadamente entre las macromoléculas o, si lo hace, no forma estructuras estables (Kuklinaki 1999, págs. 112-117).

- *Clasificación*

Los taninos se dividen en dos grandes grupos:

Los taninos hidrolizables son compuestos esterificados formados por una molécula de azúcar, normalmente glucosa, unida a varias moléculas de ácidos fenólicos como el ácido gálico o su dímero, el ácido elágico. Son característicos de las plantas dicotiledóneas y pueden sufrir hidrólisis ácida, básica o enzimática. La destilación seca de estos taninos produce pirogalol. Cuando se tratan con cloruro férrico adquieren un color azul (Kuklinaki 1999, págs. 112-117).

Los taninos condensados, también conocidos como catequinas o proantocianidinas, son dímeros o polímeros de flavano que forman enlaces carbono-carbono entre diferentes unidades de flavan-3-ol. Se forman como resultado de la polimerización de catequinas y leucoantocianidinas. Estos taninos se encuentran no sólo en las dicotiledóneas, sino también en los helechos y las gimnospermas. Son muy resistentes a la hidrólisis y sólo les afecta la hidrólisis ácida o enzimática, que rompe ciertos enlaces convirtiéndolos en antocianidinas. Estas antocianidinas pueden polimerizarse para formar flobafenos insolubles, que tienen un color rojo intenso. La destilación seca de estos taninos produce catecol. Por este motivo, también se les conoce como taninos de catequina. Al tratarse con cloruro férrico adquieren un color verde (Kuklinaki 1999, págs. 112-117).

- *Taninos hidrolizados*

Los taninos hidrolizables son susceptibles a la hidrólisis por ácidos, básica o enzimas (como las tannasas), convirtiéndolos en un azúcar o un alcohol polihídrico relacionado (poliol) y un ácido carboxílico fenólico. Estos taninos se dividen en galotaninos y ácido elágico según el tipo de ácido carboxílico fenólico formado durante la hidrólisis: los galotaninos se hidrolizan a ácido gálico, mientras que el ácido elágico se descompone en ácido hexahidroxidifénico, que se presenta como ácido elágico. Además de su capacidad para formar complejos con metales reactivos, los taninos hidrolizables se consideran potentes antioxidantes de origen vegetal. Estos taninos tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres, previniendo así el daño oxidativo a las membranas celulares y al ADN. Su acción antioxidante proviene de su capacidad para limpiar los radicales libres del organismo y neutralizarlos antes de que puedan causar daño celular (Chambi et al. 2013, págs. 168-175).

- *Acciones y usos*

Las propiedades farmacológicas de los taninos están estrechamente relacionadas con sus principales acciones y usos:

- Antídoto contra la intoxicación por metales pesados y alcaloides: Los taninos tienen la capacidad de formar complejos con estas sustancias, por lo que pueden actuar como antídoto si se produce una intoxicación.
- Astringentes: Debido a su capacidad para precipitar proteínas, los taninos se utilizan externamente para curtir cueros e internamente como agentes antidiarreicos. Este efecto se debe a su capacidad para depositar proteínas en la piel y mucosas, ayudando así a detener la diarrea. Para evitar la irritación del estómago se combina con albúmina o gelatina para que los taninos se liberen en el intestino donde el medio es alcalino (Kuklinaki 1999, pp: 112-117).

- Antiséptico: Los taninos tienen propiedades bactericidas y bacteriostáticas, además de efectos antifúngicos.
- Protectora: El tanino aplicado externamente en forma de pomada impermeabiliza la piel y la protege de los agentes externos. También mejoran la regeneración de la piel y tienen propiedades analgésicas. Aparte de eso, este material también tiene un efecto hemostático cuando se aplica sobre heridas sangrantes. Los taninos condensados son útiles como protectores de las paredes de las venas y se utilizan en supositorios antihemorroidales (Kuklinaki 1999, págs. 112-117).
- Antioxidantes: Los taninos tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica.
- Inhibe la autooxidación del ácido ascórbico (vitamina C).
- Efecto hipocolesterolémico: los taninos pueden reducir los niveles de colesterol en sangre y aumentar el metabolismo (Kuklinaki 1999, págs. 112-117).
- Factores antinutricionales: algunos taninos pueden reducir la eficacia de los alimentos al inhibir las enzimas endógenas o precipitar las proteínas de los alimentos, afectando así la absorción y el metabolismo (Kuklinaki 1999, págs. 112-117).

2.2.4. Efecto antioxidante

2.2.4.1. Radicales libres

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen electrones libres o desapareados, lo que los hace muy reactivos porque intentan estabilizarse capturando electrones de otras moléculas estables. Cuando los radicales libres ganan electrones de otras moléculas, estas moléculas se convierten en nuevos radicales libres, lo que desencadena una reacción en cadena que puede causar daños a nuestras células, membranas celulares y tejidos. Aunque la vida media biológica de un radical libre es muy corta, su capacidad para reaccionar con su entorno puede provocar un daño molecular extenso. Es importante destacar que los radicales libres son esencialmente inofensivos; de hecho, el cuerpo humano lo produce en cantidades moderadas como parte de su respuesta natural para combatir bacterias y virus (Avello et al 2006, págs. 161-172).

Los radicales libres pueden estar presentes tanto dentro como fuera de las células, e incluso pueden extenderse por todo el cuerpo. Conservan actividad biológica cuando se oxidan, lo que produce daños principalmente en el tejido conectivo, proteínas, enzimas, lípidos, membranas celulares, fibras de colágeno, ADN y ARN, entre otros componentes. Además, su acción puede influir en la activación anormal de los leucocitos, lo que contribuye a la producción de

enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. (Zamora 2007, págs. 17-26).

Durante el funcionamiento normal de nuestro organismo, se generan radicales libres como parte del proceso metabólico. El cuerpo puede utilizar estos radicales libres para producir energía y combatir virus y bacterias en ciertas células. Sin embargo, si se produce en cantidades excesivas, su alta energía puede causar daño al tejido normal (Zamora 2007, págs. 17-26).



Ilustración 2-3: Radicales libres

Fuente: (San Millán, 2022)

2.2.4.2. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un fenómeno que se produce en el organismo cuando hay un exceso de radicales libres y una cantidad insuficiente de antioxidantes para neutralizarlos. Este desequilibrio conduce a la oxidación de las células, lo que perjudica su función y las daña (Guerra 2001, págs. 50-59).

En determinadas condiciones, la formación de radicales libres puede aumentar de forma incontrolable, fenómeno conocido como estrés oxidativo. Este término describe un desequilibrio entre la producción y eliminación de moléculas tóxicas, lo que conduce a un aumento en la concentración de radicales libres a nivel celular. Se ha observado una conexión entre el estrés oxidativo y el desarrollo de varias enfermedades. Por ejemplo, las células fagocíticas del sistema inmunológico producen grandes cantidades de radicales libres como parte de su función de defensa contra patógenos. Aunque esta respuesta es esencial para combatir infecciones, ciertas enfermedades como la artritis reumatoide pueden surgir debido a la activación excesiva de las células fagocíticas y el daño tisular resultante (Guerra 2001, págs. 50-59).

2.2.4.3. Síntomas de daño oxidativo

A continuación, se detallan los signos de estrés oxidativo que se presentan cuando hay un exceso de radicales libres y una cantidad insuficiente de antioxidantes para contrarrestar sus efectos:

- **Envejecimiento prematuro de la piel:** Las arrugas y manchas aparecen precozmente en la piel y ésta pierde su elasticidad habitual.
- **Problemas de memoria:** Pueden ocurrir dificultades cognitivas, como olvidos frecuentes y pérdida de memoria.
- **Cambios físicos:** Puede producirse aumento de la rigidez de las articulaciones, pérdida de masa muscular y problemas de movilidad.
- **Problemas cardiovasculares:** El estrés oxidativo celular puede provocar arritmias cardíacas y cambios en la presión arterial (Guerra 2001, págs. 50-59).

2.2.4.4. Radicales libres y envejecimiento prematuro

La lucha contra el envejecimiento es una batalla constante en el cuerpo humano, pues estudios indican que los radicales libres pueden causar daño celular vinculado a cambios patológicos relacionados con el proceso de envejecimiento. Diversas enfermedades y trastornos, así como el propio proceso de envejecimiento, están directa o indirectamente relacionados con estas moléculas reactivas, que pueden ser destructivas. Se cree que la principal causa del envejecimiento es la acumulación de daño celular y funcional en el ADN. Disminuir la producción de radicales libres o reducir su actividad puede retardar el proceso de envejecimiento. Algunos antioxidantes nutricionales pueden ayudar a retardar el proceso de envejecimiento y prevenir enfermedades. Se ha observado que el estrés oxidativo aumenta durante el proceso de envejecimiento y que el estado antioxidante puede tener un impacto significativo a la hora de atenuar los efectos del daño oxidativo relacionado con la edad. Investigaciones recientes sugieren que los radicales libres juegan un papel importante en el envejecimiento y que es posible controlar el daño que causan mediante defensas antioxidantes adecuadas y una ingesta óptima de nutrientes antioxidantes, que mejoran y, según algunos estudios, incluso aumentan la expectativa de vida (Lobo et al. 2010, págs. 118-126).

2.2.4.5. Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia que puede contrarrestar los efectos oxidativos de los radicales libres liberando electrones en nuestra sangre que son utilizados por los radicales libres, evitando que causen daño celular. Los antioxidantes pueden clasificarse en dos categorías principales: Antioxidantes endógenos: Son producidos naturalmente por el cuerpo humano. Ejemplos incluyen enzimas antioxidantes como el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y el glutatión peroxidasa, que ayudan a descomponer y neutralizar los radicales libres. Antioxidantes exógenos: Son obtenidos a través de la dieta y de suplementos. Incluyen vitaminas como la vitamina C, vitamina E, y el betacaroteno (un precursor de la vitamina A), así como minerales como el selenio y el zinc (Avello et al. 2006, págs. 161-172).

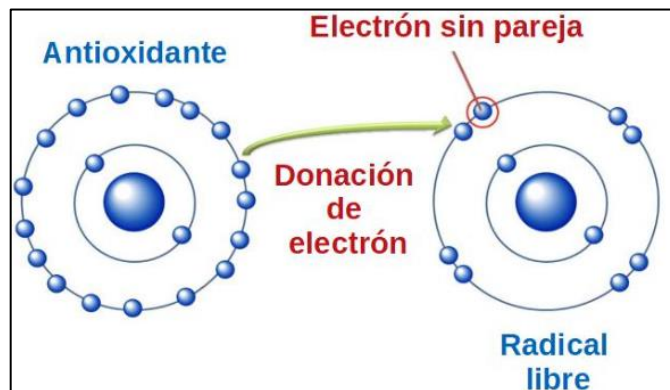
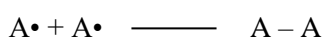
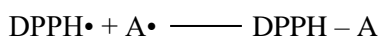
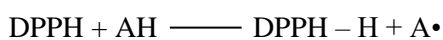


Ilustración 2-4: Efecto antioxidante

Fuente:(Talavera, 2018, p.2).

2.2.4.6. Técnicas de detección de actividad antioxidante

Técnica de decoloración del radical DPPH: El radical DPPH•, un radical nitrógeno orgánico estable de color violeta intenso no requiere pregeneración. El método propuesto por Brand-Williams se utiliza para evaluar la capacidad antioxidante midiendo la disminución de la intensidad del color violeta a 517 nm provocada por la presencia de un compuesto antioxidante. Esta actividad antioxidante también se puede evaluar mediante resonancia de espín electrónico. A continuación, se muestra una descripción reformulada del modelo de reacción de eliminación entre el radical DPPH• y el antioxidante (Rodríguez 2015, págs 21-36).



Durante la interacción entre el radical DPPH y el antioxidante, se forma un nuevo radical, y las reacciones secundarias generan compuestos estables (Rodríguez 2015, págs. 21-36).

Coeficiente de inhibición (IC_{50}): La concentración inhibidora media máxima (IC_{50}) es un indicador importante y ampliamente utilizado para evaluar la eficacia de un fármaco. Este indicador refleja la cantidad de fármaco necesaria para inhibir un proceso biológico en un 50%, lo que permite evaluar la eficacia del fármaco antagonista en estudios farmacológicos. (Aykul y Martínez 2016, pág.12).

El cálculo del coeficiente de inhibición (CI_{50}) se realiza utilizando la ecuación de línea recta, que se obtiene de la curva de referencia de cada estándar analizado (por ejemplo, ácido ascórbico y rutina) en el método de degradación radicalaria DPPH•. El método de blanqueo radical ABTS•+ utiliza ácido ascórbico, rutina y Trolox. Para determinar el IC_{50} , reemplace el valor (y) en la ecuación con 50 y luego calcule la concentración requerida. Este cálculo también se puede realizar usando un análisis de regresión que relaciona el porcentaje de absorción de DPPH• o el porcentaje de inhibición de radicales ABTS•+ con la concentración requerida de extractos para una inhibición de 50% de DPPH•+ o ABTS•+ (Rodríguez 2015, págs. 21-36).

2.2.5. *Fitocosméticos*

La cosmética natural se centra en el uso de materias primas de origen vegetal (fitoingredientes) en la elaboración de productos cosméticos, de higiene o de cuidado personal para conseguir beneficios cosméticos. Debido a la demanda de cosméticos con una concentración mínima o nula de ingredientes sintéticos, existe un interés creciente en desarrollar formulaciones naturales. Sin embargo, es prácticamente imposible conseguir un cosmético completamente natural porque se requiere la adición de conservantes para asegurar su durabilidad. Cuanto más naturales sean los ingredientes utilizados, más importante será la protección contra el deterioro bacteriano, que puede requerir más conservantes, siempre dentro de los límites permitidos por la normativa vigente. En resumen, la cosmética natural contiene una proporción de ingredientes naturales, pero también otros que, aunque no son naturales, contribuyen a mantener su calidad. (Ferraro et al. 2012, págs. 43-60).

La clasificación de la cosmética natural incluye ingredientes incluidos en listas positivas de sustancias naturales (fitoingredientes, derivados animales y minerales), sustancias cuasi naturales (como la glicerina y sus derivados, hidrolizados de proteínas, ésteres, ceras, ácidos grasos, etc.) y similares a naturales (conservantes y colorantes sintéticos idénticos a los naturales). Estos ingredientes deben obtenerse y procesarse según procesos aprobados y no deben provenir de

organismos genéticamente modificados y deben corresponder a una filosofía ética de los fabricantes (Ferraro et al. 2012, págs. 43-60).

2.2.6. Piel

2.2.6.1. Definición

La piel es un órgano de tamaño considerable y es el de mayor tamaño del cuerpo humano, con una superficie aproximada de 2 m², que puede variar en función de la altura y el peso de cada individuo. También constituye alrededor del 6% del peso corporal total, con un peso promedio de 4 kg. Su función principal es servir como barrera protectora contra diversas influencias externas como fuerzas mecánicas, productos químicos, toxinas, fluctuaciones de temperatura, radiación ultravioleta y microorganismos nocivos. Además de su papel como barrera física, la piel desempeña un papel fundamental en el mantenimiento del equilibrio de los fluidos corporales, regulando la pérdida de agua a través de la piel, controlando la temperatura corporal y transmitiendo una variedad de estímulos sensoriales como el tacto, la presión, la temperatura y dolor (Buendía et al. 2020, págs. 2-27).

La piel está formada por tres capas de tejido, cada una con un origen embriológico muy diferente. Estas capas son: epidermis, dermis (también conocida como corion) y tejido subcutáneo (llamado hipodermis o subcutis) (Buendía et al. 2020, págs. 2-27).

2.2.6.2. Estructura general de la piel

La epidermis, cubriendo toda la superficie corporal, consiste en un epitelio plano poliestratificado y queratinizado, siendo la capa de piel con la mayor densidad celular y un rápido recambio celular. Su grosor varía, con un promedio de 0,1 mm y alcanzando hasta 1 o 2 mm en áreas como las plantas de los pies y las palmas de las manos (Jesús et al. 2020, págs. 1-7).

Los queratinocitos, que componen la epidermis, sintetizan queratina, una proteína estructural resistente al agua, cambios de pH y altas temperaturas, y son divididos en queratinas duras o α (alfa), presentes en pelo y uñas o β (beta), esenciales en la capa córnea (Jesús et al. 2020, págs. 1-7).

Además de los queratinocitos, la epidermis incluye otros tipos celulares como melanocitos, productores de melanina para el color y protección UV; células de Langerhans, parte del sistema inmunológico; y células de Merkel, sensoriales transmitiendo información táctil (Jesús et al. 2020, págs. 1-7).

La dermis, proporcionando soporte y elasticidad, está compuesta principalmente de tejido conectivo fibroelástico con una matriz extracelular rica en colágeno, elastina y reticulina, y es vascularizada para nutrir la epidermis (Jesús et al. 2020, págs. 1-7).

La hipodermis, variable en espesor según la localización, peso, sexo y edad, está formada por tejido adiposo que sirve como reserva energética, aislamiento térmico y protección mecánica (Jesús et al. 2020, pp: 1-7).

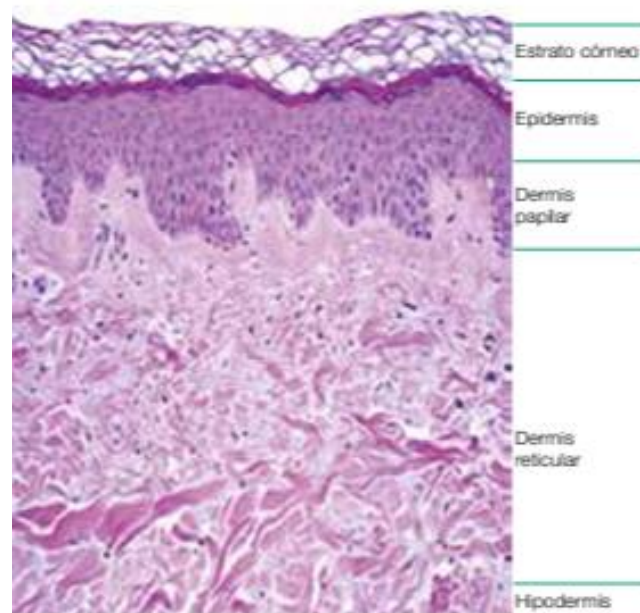


Ilustración 2-5: La piel y su división en capas

Fuente: (Jesús et al. 2020, págs. 1-7).

2.2.6.3. *Funciones de la piel*

La piel realiza una variedad de funciones vitales, que incluyen protección, termorregulación, sensibilidad, secreción, inmunidad, producción y excreción de vitamina D.

Protección: La piel protege los órganos internos de daños mecánicos, físicos y químicos, y previene la pérdida de agua y electrolitos. Las capas dérmica e hipodérmica, así como el engrosamiento del epitelio, brindan protección contra lesiones mecánicas y físicas, como la radiación ultravioleta (Buendía et al. 2020, págs. 2-27).

La piel regula la temperatura mediante vasodilatación, constricción y la secreción de sudor extremo, que enfría la superficie de la piel.

La piel percibe el tacto, la presión, la vibración, la temperatura, el dolor y la picazón a través de receptores sensoriales, que envían esta información al cerebro (Buendía et al. 2020, págs. 2-27).

Las glándulas sudoríparas ecrinas, apocrinas y sebáceas de la piel secretan sudor y sebo para mantener la piel húmeda y saludable.

Los queratinocitos y los histiocitos dérmicos desempeñan un papel en la defensa inmunitaria de la piel al producir citocinas y participar en interacciones celulares con células inmunitarias como los linfocitos T y las células de Langerhans (Buendía et al. 2020, págs. 2-27).

Producción de vitamina D: la piel convierte el 7-deshidrocolesterol en calcitriol (vitamina D) en respuesta a la radiación UVB, que regula el crecimiento y la diferenciación de los queratinocitos.

Excreción: Aunque la piel excreta pocas sustancias, la excreción cutánea incluye la pérdida diaria de agua a través de la superficie de la piel, así como la pérdida de azufre y proteínas en situaciones patológicas (Buendía et al. 2020, págs. 2-27).

2.2.7. Extracción de metabolitos

2.2.7.1. Métodos de extracción

Dependiendo de las características de los componentes a extraer, se pueden utilizar diferentes tipos de procesos de extracción, como se muestra en la siguiente ilustración:

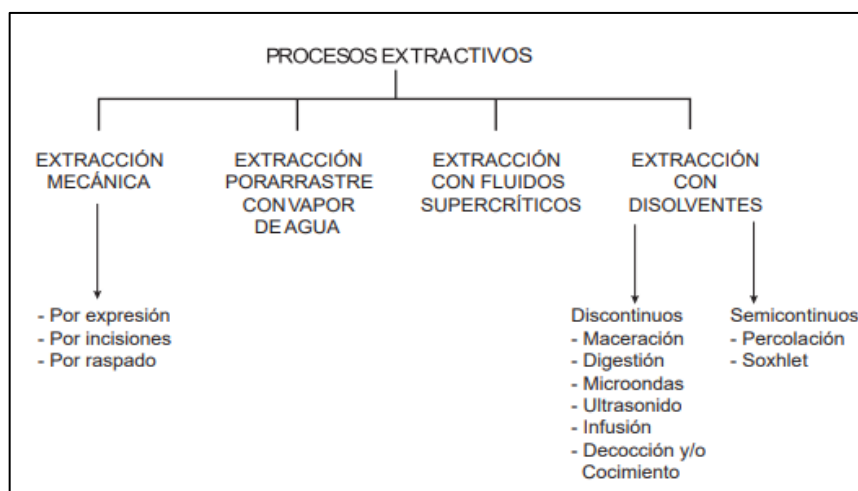


Ilustración 2-6: Métodos de extracción

Fuente: (Ferraro et al. 2012, págs. 43-60).

El método de infusión y decocción implica el uso de agua. Una infusión consiste en colocar el medicamento en agua fría o caliente durante 15 minutos, mientras que una decocción consiste en hervir el medicamento en agua durante 30 minutos. Ambos métodos extraen no sólo los principios activos, sino también una gran cantidad de sustancias acompañantes o inactivas (Álvarez et al. 2012, págs. 50-85).

La maceración implica remojar la droga en una cantidad predeterminada de líquido a temperatura ambiente en un recipiente cerrado durante 2 a 14 días. Si no se conoce el tiempo requerido, se recomienda un promedio de 7 días. El líquido de extracción se obtiene normalmente por decantación, con lo que se presan los residuos de extracción. Se prefiere este método si los principios activos pueden alterarse mediante calor, aire o si son solubles en un medio no volátil a temperatura ambiente. La digestión es similar a la maceración, pero en este caso, el principio activo puede ser sometido al calor (Álvarez et al. 2012, págs. 50-85).

El método de extracción por microondas utiliza irradiación por microondas para facilitar la extracción con disolventes. Esta irradiación induce el movimiento molecular a través de la migración de iones y la rotación de dipolos, acelerando así la transferencia de energía al solvente y al material vegetal. El agua contenida en las estructuras del material vegetal es particularmente sensible a esta frecuencia, lo que facilita la exposición de los compuestos al cartucho de extracción. La extracción asistida por ultrasonido utiliza sonidos de alta frecuencia para liberar compuestos específicos del material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas se hacen vibrar y acelerar mediante ultrasonido, lo que resulta en una rápida transferencia de soluto desde la fase sólida al cartucho (Álvarez et al. 2012, págs. 50-85).

La percolación es un proceso en el que se utiliza una percoladora para extraer compuestos del material vegetal. El material se humedece con un cartucho y se deja macerar durante un tiempo determinado. Luego se coloca en la cafetera y se añaden cartuchos nuevos. Tras un nuevo periodo de maceración, se recoge el líquido reteniéndose las primeras fracciones. Se continúan agregando solventes hasta que desaparezca el material vegetal. Finalmente, el líquido recolectado se analiza para determinar si ya no contiene los compuestos deseados, indicando el final del proceso de percolación (Ferraro et al. 2012, págs. 43-60).

2.2.7.2. *Extractos*

Los extractos son preparaciones altamente concentradas que pueden tener una consistencia líquida, semisólida, plástica o en polvo. Estos extractos se obtienen a partir de una parte importante del material vegetal mediante soluciones extractivas utilizando disolventes adecuados,

que pueden evaporarse parcial o totalmente para adaptar el residuo al tipo específico de cada preparación. La preparación del extracto implica dos procesos principales: la obtención del líquido extractivo y su posterior concentración. Una vez obtenida la solución extractiva, que puede conseguirse por percolación, maceración u otros métodos, se procede a su concentración rápidamente hasta conseguir la consistencia deseada en cada caso, evitando la exposición prolongada al calor. Generalmente es preferible eliminar el disolvente mediante destilación a baja presión usando una temperatura que no exceda de 40-60°C (Ferraro et al. 2012, págs. 43-60).

2.2.7.3. Tipos de extractos

Extracto fluido: En este tipo de extracto, el solvente se evapora hasta que el peso del extracto sea equivalente al peso de la droga inicial, lo que significa que 1 gramo de extracto fluido contiene aproximadamente la misma cantidad de principios activos que 1 gramo de la droga seca original. Sin embargo, estos extractos son susceptibles a las alteraciones cuando están expuestos a la atmósfera y la luz, especialmente debido a la alcalinidad del vidrio de los envases. Por lo tanto, deben almacenarse en frascos completamente llenos, bien cerrados y en un ambiente fresco, seco y protegido de la luz. Son utilizados en la preparación de formas líquidas como es el caso de jarabes, gotas y pociones, debido a su facilidad y comodidad de manipulación (Álvarez et al. 2012, págs. 50-85).

Extractos blandos: Estos extractos tienen una concentración superior a la de la droga inicial y se obtienen evaporando el solvente hasta obtener un producto de textura semisólida que no moja el papel de filtro. Sin embargo, son difíciles de conservar y manipular, por lo que actualmente se utilizan muy poco (Álvarez et al. 2012, págs. 50-85).

Extractos secos: Estos extractos se obtienen evaporando completamente el solvente hasta obtener una textura en polvo. Son productos altamente concentrados en comparación con la droga inicial, con concentraciones que pueden ser de 4 a 10 veces más altas (Álvarez et al. 2012, págs. 50-85).

Extractos glicólicos se elaboran para su uso en dermatología, mediante la extracción de la droga seca con un disolvente a base de propilenglicol y agua. Tienen una concentración moderada de principios activos, lo que los hace adecuados para la aplicación en la piel debido a la baja capacidad de absorción dérmica. El propilenglicol, bien tolerado por la piel, ejerce una acción higroscópica, lo que lo hace adecuado para formulaciones cutáneas (Álvarez et al. 2012, págs. 50-85).

2.2.8. Formas farmacéuticas de uso tópico

Las formas farmacéuticas semisólidas incluyen una amplia gama de productos farmacéuticos cuya principal característica es que son más viscosos que el agua. Estas formas son útiles cuando se aplican sobre la piel ya que su objetivo principal es lograr una penetración eficaz del fármaco. Estas preparaciones constan de una base, que puede ser simple o compleja, también conocida como excipiente, que se encarga de disolver los principios activos. La principal diferencia entre las distintas formas semisólidas es el contenido de agua.

Tabla 2-3: Diferentes formas semisólidas

| Forma Farmacéutica | Contenido de agua |
|--------------------|--|
| Ungüento | No posee ningún contenido de agua |
| Pomada | Nivel de contenido de agua superior al de un ungüento, pero inferior al de una crema |
| Crema | Contiene una proporción mayor al 50% de agua en su composición |

Fuente: (López García, Ortonobes Roig y Rebollar, 2015)

Realizado por: Suárez A., 2024

2.2.8.1. Formas farmacéuticas semisólidas

Tabla 2-4: Clasificación de formas farmacéuticas semisólidas

| F. Farmacéutica | Descripción |
|-----------------|--|
| Emulsión | Una emulsión es una crema ligera que contiene más agua que aceite, siendo ideal para pieles mixtas, grasas, acnéicas y como hidratante diario durante el verano. Proporciona humectación e hidratación, manteniendo la piel suave, protegida e hidratada. Ofrece beneficios similares a una crema hidratante, pero en una fórmula más liviana, adecuada para hidratar, nutrir, proteger y calmar la piel, siendo también apropiada para pieles normales a secas al permitir que la piel respire. |
| Loción | Las lociones tienen una consistencia intermedia entre los geles y las cremas/emulsiones. Contienen menos del 50% de aceite o incluso no contiene aceite, lo que les permite penetrar mejor en la piel debido a su estructura molecular más pequeña. Son ideales para pieles sensibles, reactivas y secas, ya que se absorben rápidamente sin dejar sensación grasa. Además, pueden utilizarse durante el día y se pueden aplicar en capas para mejorar la efectividad de otros productos. |
| Cremas | Las cremas tienen una consistencia más espesa en comparación con las emulsiones o lociones, con menos contenido de agua en su formulación. Debido a su mayor densidad, su absorción en la piel es más lenta. Las cremas ayudan a sellar la hidratación, protegiendo y manteniendo la piel hidratada. Contienen una proporción elevada de aceite mezclado con agua, lo que les confiere una textura más rica y pesada. Debido a su estructura molecular más grande, se recomienda utilizarlas |

| | |
|--|--|
| | después de aplicar una emulsión o loción. Su textura semisólida y densa las hace más humectantes, ideal para retener la humedad en la piel. |
| Gel | El gel está formulado principalmente con agua, lo que les confiere una textura ligera. Suelen contener agentes hidratantes como el ácido hialurónico, que se absorbe fácilmente por la piel gracias a su rápida absorción. No dejan sensación grasas ni brillos en la piel, y su textura suave y ligera permite una penetración inmediata. |
| Fuente: (Grupta 2020, pp: 281-289). | |
| Realizado por: Suárez A., 2024 | |

2.2.8.2. Definición de cremas

Las cremas son preparaciones tópicas utilizadas en cosmética y productos terapéuticos. Se definen como emulsiones líquidas viscosas o semisólidas del tipo aceite en agua o agua en aceite. Sus usos cosméticos incluyen limpieza, embellecimiento, protección de la piel y su función terapéutica incluye la administración localizada de fármacos a la piel o membranas mucosas para el tratamiento de enfermedades de la piel. Considerados productos farmacéuticos, se fabrican utilizando tecnologías desarrolladas en la industria farmacéutica y pueden ser medicinales o no medicinales. Las cremas pueden ser ayurvédicas, herbarias o alopáticas y contener una o más sustancias farmacológicas disueltas o dispersadas en una base adecuada. Dependiendo de su composición se clasifican en emulsiones de aceite en agua (O/W) o agua en aceite (W/O) (Grupta 2020, págs. 281-289).

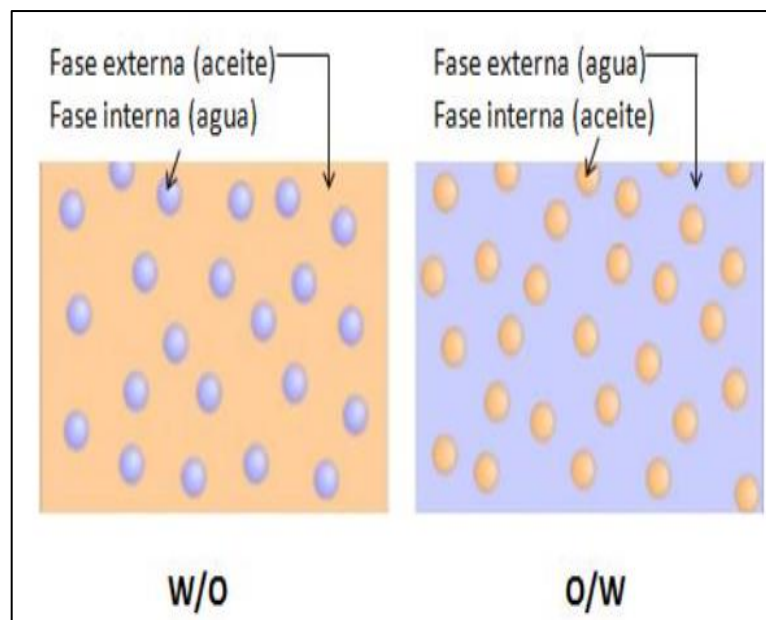


Ilustración 2-7: Tipos de emulsiones

Fuente: (Grupta 2020, págs. 281-289).

2.2.8.3. Tipos de cremas

Existen dos tipos de emulsiones cosméticas adecuadas para el tratamiento de las afecciones de la piel:

Las cremas lipófilas, también conocidas como emulsiones de agua en aceite (W/O), son ideales para formular medicamentos liposolubles. Cuando se aplica sobre la piel, el agua se evaporará para que las partes grasas puedan absorberse y proporcionar una sensación refrescante. Esta crema tiene un efecto oclusivo moderado, por lo que está recomendada para pieles secas. La fase continua o externa de esta crema es lipófila, gracias a la presencia de un emulsionante tipo W/O en su composición (Agencia Española de medicamentos y sanitarios 2020, p. 94).

Las cremas hidrofílicas, también llamadas emulsiones de aceite en agua (O/W), son adecuadas para formular medicamentos solubles en agua. Después de aplicarse sobre la piel, el agua se evapora rápidamente, mientras que el aceite se absorbe inmediatamente. Esta crema tiene un ligero efecto oclusivo, por lo que es adecuada para pieles grasas. La fase externa de estas cremas es acuosa, debido a la presencia en su composición de emulsionantes de tipo O/W, como jabón sódico o trietanolamina, alcoholes grasos sulfatados y polisorbatos, combinados en ocasiones en proporciones adecuadas con emulsionantes de tipo W/O (Agencia Española de medicamentos y sanitarios 2020, pág. 94).

Tabla 2-5: Tipos de emulsiones cosméticas

| | Emulsiones de agua en aceite (W/O) % | Emulsiones de aceite en agua (O/W) % |
|-------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Fase oleosa | 10-50 | 10-30 |
| Fase acuosa | 40-85 | 60-85 |

Fuente: (Agencia Española de medicamentos y sanitarios 2020, p. 94).

Realizado por: Suárez A., 2024

2.2.9. Formulación de crema corporal

2.2.9.1. Fase oleosa

- *Alcohol cetílico*

INCI: Cetyl alcohol

El alcohol cetílico es un alcohol graso de alto peso molecular utilizado en la industria cosmética debido a su capacidad para estabilizar y espesar emulsiones. Además, tiene propiedades emolientes y capacidad de absorber agua. Su uso mejora la estabilidad de los productos cosméticos, les confiere una textura agradable y al mismo tiempo aumenta su consistencia. Estas propiedades se deben a que la epidermis absorbe y almacena el alcohol cetílico, lo que da como resultado una piel hidratada y suave con una textura aterciopelada (Mujica et al. 2010, pp: 119-131).

- *Glicerina*

INCI: Glycerin

Es un líquido de consistencia similar a la de un jarabe, suave al tacto, incoloro o casi incoloro, muy claro e higroscópico. En términos de solubilidad, es miscible con agua y alcohol, pero difícil de disolver en acetona y prácticamente insoluble en aceites grasos y aceites esenciales. Aplicado tópicamente actúa como agente emoliente, protegiendo la piel frente a agentes físicos y actuando como lubricante (Agencia Española de medicamentos y sanitarios 2020, pág. 94).

En formulaciones cosméticas como emulsiones y geles, este líquido sirve para evitar que la fase acuosa se evapore. También se utiliza como vehículo y disolvente de principios activos para incorporarlos a preparados farmacéuticos tópicos (Acofarma 2019, pág. 1).

- *Nipagin*

INCI: Methylparaben

Es un polvo cristalino blanco o casi blanco, o cristales incoloros, muy poco soluble en agua, pero fácilmente soluble en etanol y metanol. Su punto de fusión es de aproximadamente 131°C. El mecanismo de su acción es actuar directamente sobre la membrana del microorganismo, compitiendo con las coenzimas presentes en ella. Este compuesto exhibe una actividad antimicrobiana más pronunciada contra bacterias grampositivas que contra hongos y levaduras (Acofarma 2019, pág. 1).

- *Nipasol*

INCI: Propylparaben

Se describe como un polvo cristalino blanco o casi blanco con baja solubilidad en agua, pero fácilmente soluble en etanol al 96% y en metanol. Muestra actividad contra bacterias Gram positivas, hongos y levaduras. Nipasol parece exhibir una mayor actividad bacteriostática y fungistática. Sin embargo, esta ventaja se ve compensada por una disminución de la solubilidad en agua. El máximo permitido para productos cosméticos es del 0,4% (Mujica et al. 2010, págs. 119-131).

- *DEHYQUART*

INCI: Cetrimonium Chloride

Dehyquart es un componente líquido ligeramente amarillento que se utiliza como acondicionador, antiestático, antimicrobiano y conservante. Dehyquart es un agente catiónico con un pH de 3 a 5. Actúa como un buen emulsionante y se utiliza principalmente para hidratar la piel (Mujica et al. 2010, págs. 119-131).

2.2.9.2. Fase acuosa

- *Agua destilada*

El agua destilada está constituida por moléculas formadas por dos átomos de hidrógeno y un átomo de oxígeno, representados químicamente por la fórmula H₂O. Este tipo de agua líquida ha pasado por un proceso de destilación en el que se eliminan las impurezas y los iones están presentes en el agua de origen, dando como resultado agua purificada y sin impurezas (Mujica et al. 2010, págs. 119-131).

2.2.10. Control de calidad de las cremas

Los parámetros para seguir deben ser determinados por el formulador y dependen de las características específicas de la formulación en estudio, así como de los componentes utilizados en la misma (Mujica et al. 2010, págs. 119-131).

Las características organolépticas son importantes para evaluar rápidamente el estado de una muestra mediante análisis comparativos. Esto se hace para comprobar cambios como la separación de fases. Se valoran aspectos como el aspecto, el color y el olor.

Por otro lado, las propiedades fisicoquímicas permiten a los formuladores detectar problemas futuros que puedan afectar la estabilidad y calidad del producto.

En cuanto a las características microbiológicas, es necesario someter el producto a pruebas microbiológicas para garantizar su seguridad.

2.2.10.1. Ensayos microbiológicos

El control microbiológico de los productos destinados al consumo humano es muy importante porque cualquier signo de crecimiento y proliferación bacteriana puede tener un impacto negativo en el producto y poner en peligro la salud de los consumidores.

De acuerdo con la norma principales microorganismos que deben ser evaluados junto con sus respectivos límites de aceptabilidad son los siguientes (NTE INEN 2015, págs. 1-5):

Tabla 2-6: Requisitos microbiológicos para las cremas

| Microorganismo | Límites permitidos |
|-------------------------------|---|
| Mesófilos aerobios totales | Límite máximo 5x 10 ² UFC*/g o mL |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Ausencia obligatoria de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml |
| <i>Escherichia coli</i> | Ausencia obligatoria de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml. |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Ausencia obligatoria de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g o ml |

Fuente: (INEN, 2015 págs. 1-5)

Realizado por: Suárez A., 2024

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque de investigación

El presente trabajo tiene un enfoque cuantitativo porque está sujeta a una variable respuesta correspondiente a la actividad antioxidante de las vainas de *Caesalpinia spinosa*.

3.2. Nivel de investigación

La investigación fue de tipo experimental debido a que se examina intencionalmente el impacto que tiene la concentración del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* sobre su efecto antioxidante.

3.3. Diseño de investigación

3.3.1. *Según la manipulación o no de la variable independiente*

Es una investigación de tipo experimental ya que se manipula la variable independiente

3.3.2. *Según las intervenciones en el trabajo de campo*

Es una investigación de tipo longitudinal, porque la toma se realiza en un solo momento y en un periodo de tiempo determinado

3.4. Tipo de estudio

La investigación consiste en poder manipular variables sin dejar de ser experimental. Además, el estudio tiene carácter explicativo ya que mide en qué medida la actividad antioxidante está relacionada con la concentración del extracto hidroalcohólico de las vainas.

3.5. Lugar de la investigación

La investigación se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, en los Laboratorios de Fórmulas Magistrales y

oficinales, Investigación, Productos Naturales, Análisis Instrumental, Tecnología Farmacéutica y Microbiología.

3.6. Población y planificación, selección y cálculo del tamaño de la muestra

3.6.1. Población y planificación

La población objeto de estudio constituye las vainas de *Caesalpinia spinosa*, posterior se obtiene el extracto hidroalcohólico.

3.6.2. Selección y cálculo de la muestra

Se realiza un muestreo al azar de la materia prima y se seleccionan 5kg de vainas de *Caesalpinia spinosa* considerando los siguientes criterios:

3.6.2.1. Criterios de inclusión

- Vainas que se encuentren en buen estado
- Vainas que sean de una misma temporada de recolección
- Vainas de una ubicación geográfica

3.6.2.2. Criterios de exclusión

- Vainas deterioradas
- Vainas con residuos vegetales
- Vainas en proceso de descomposición
- Vainas con contaminación microbiológica

3.7. Recolección del material vegetal

La recolección de los materiales vegetales se realizó en la siguiente ubicación:

Provincia: Chimborazo

Cantón: Riobamba

Parroquia: San Luis

Longitud Occidental: 78° 38' 39"

Latitud Sur: 1° 42' 19"

Clima: Templado Sub andino

Temperatura: máxima 18° C, mínima 10° C, promedio 14° C.

Precipitación: máxima 1000mm, mínima 43mm, promedio 520mm

Humedad relativa: 75-80%

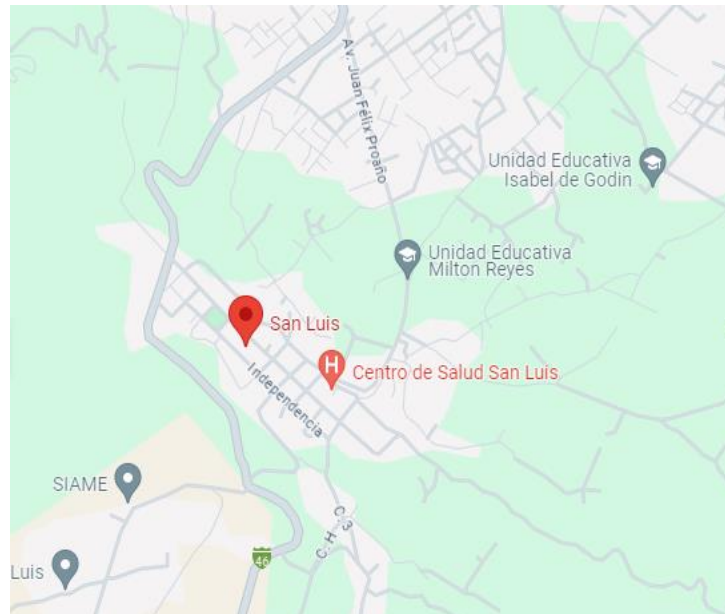


Ilustración 3-1: Mapa satelital de la parroquia de San Luis

Fuente:(Google Maps, 2024)

3.7.1. *Identificación botánica del material vegetal*

Las muestras vegetales recolectadas fueron identificadas en el Herbario Politécnico CHEP, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por el Msc. Jorge Caranqui Aldaz considerando la base de datos disponible (Anexo A).

3.8. Variables

Variable Dependiente

Extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (guarango)

Variable Independiente

Actividad Antioxidante que evalúa el IC₅₀ del extracto.

3.9. Materiales, equipos y reactivos

Tabla 3-1: Control de calidad materia prima

| | |
|-------------------------|--------------------------------------|
| Materiales | Cápsulas de porcelana |
| | Pera de succión |
| | Pinzas para cápsulas |
| | Pipeta graduada de 1mL |
| | Reverbero Vidrio reloj |
| | Crisoles de porcelana |
| | Desecador |
| | Embudo |
| | Espátula |
| Papel filtro | |
| Material vegetal | Vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> |
| Equipos | Balanza analítica |
| | Estufa |
| | Molino |
| | Mufla |
| Reactivos | Ácido clorhídrico al 10% |
| | Agua destilada |
| | Nitrato de plata 0,1 mol/L |

Realizado por: Suárez A., 2024

Tabla 3-2: Tamizaje fitoquímico

| | |
|-------------------|--------------------------------|
| Materiales | Embudo Espátula |
| | Papel filtro |
| | Pera de succión |
| | Pinzas para tubo |
| | Frascos ámbar de 1000mL |
| | Gradilla |
| | Reverbero |
| | Tubos de ensayo |
| | Vasos de precipitación |
| | Capilar |
| | Pipetas graduadas de 1mL y 5mL |
| Equipos | Balanza analítica |
| | UV-visible |
| | Sorbona |
| Reactivos | Acetato de sodio |
| | Ácido clorhídrico concentrado |
| | Ácido sulfúrico concentrado |
| | Agua destilada |
| | Alcohol amílico |

Anhídrido acético
 Carbonato de sodio
 Cinta de magnesio metálico
 Cloruro de Sodio en polvo
 Etanol al 96%
 Éter
 Hidróxido de sodio al 5%
 Reactivo de Baljet
 Reactivo de Dragendorff A y B
 Reactivo de FeCl₃
 Reactivo de Fehling A y B Reactivo
 de Mayer Reactivo de Sudan III
 Reactivo de Wagner

Realizado por: Suárez A., 2024

Tabla 3-3: Obtención del extracto hidroalcohólico

| | |
|-------------------|-----------------------|
| Materiales | Embudo |
| | Espátula |
| | Frasco ámbar de 500mL |
| | Papel aluminio |
| | Papel filtro |
| Equipos | Balanza analítica |
| | Estufa |
| | Rotavapor |
| Reactivos | Agua destilada |
| | Etanol al 96% |

Realizado por: Suárez A., 2024

Tabla 3-4: Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH)

| | |
|-------------------|--|
| Materiales | Tubos de ensayo |
| | Balón volumétrico de 100mL |
| | Balones volumétricos de 10mL |
| | Balones volumétricos de 25mL |
| | Vaso de precipitado de 20 mL |
| | Vasos de precipitado |
| | Varilla de vidrio |
| | Gradilla |
| Equipos | Reverbero |
| | Espectrofotómetro de absorción UV Visible |
| | Balanza analítica |
| Reactivos | Extracto de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> |
| | Etanol |
| | 1,1-difenil-2-picril hidracilo (DPPH) |

Agua destilada

Realizado por: Suárez A., 2024

Tabla 3-5: Formulación de la crema

| | |
|-------------------|--|
| Materiales | Vaso de precipitación de 250 ml Varilla de agitación Espátula de silicona Envases de plástico Pipetas |
| Equipos | Reverbero |
| Reactivos | Alcohol cetílico Propano-1,2,3-triol (Glicerina) Parahidroxibenzoato de propilo (Nipasol) Parahidroxibenzoato de metilo (Nipagín) Cloruro de cetrimonio (Deyquart) Agua destilada Extracto de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> |

Realizado por: Suárez A., 2024

Tabla 3-6: Control de calidad de la crema

| | |
|-------------------|---|
| Materiales | Pipetas Micropipetas |
| Equipos | pH-metro Picnómetro |
| Reactivos | Agua destilada Formulaciones de cremas en diferentes concentraciones |

Realizado por: Suárez A., 2024

Tabla 3-7: Control de calidad microbiológico

| | |
|-------------------|---|
| Materiales | Cajas Petri de vidrio Puntas azules y amarillas Micropipetas Tubos de ensayo Matraz erlenmeyer 250 ml Algodón Gasas Asa de siembra Digrafsky |
| Equipos | Autoclave Balanza analítica Cámara de flujo laminar Incubadora |

Mechero

| | |
|------------------|-----------------|
| Reactivos | Agua destilada |
| | Agua de peptona |
| | Alcohol |
| | Agar cetrimida |
| | Agar PCA |
| | Agar sangre |
| | Agar Sabouraud |
| | Agar EMB |

Realizado por: Suárez A., 2024

3.10. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

3.10.1. Preparación de la materia vegetal

- Selección: La materia prima fue obtenida de una única zona de cultivo, en un estado óptimo de conservación, y se encontró libre de cualquier tipo de plaga o enfermedad
- Limpieza: Durante esta fase, se procedió a la eliminación de cualquier partícula extraña que estuviera adherida a la materia vegetal.
- Secado: Las vainas de material vegetal fresco fueron secadas al aire libre en un área sombreada y bien ventilada, protegidas de la luz solar directa. Una vez que el material vegetal estuvo completamente seco, se procedió a separar las vainas de las semillas.
- Molienda: El material vegetal fue molido en un molino eléctrico
- Tamizaje: Durante esta etapa, el material previamente molido fue tamizado a través de un tamiz de acero inoxidable con una malla de 355 micrómetros
- Pesado: Se obtuvieron 500 gramos de la droga pulverizada derivada de vainas.

3.10.2. Control de calidad de la droga cruda

Se realizaron diversas pruebas para verificar la adecuada calidad de la materia prima vegetal de acuerdo con los lineamientos establecidos por la norma ecuatoriana "Fitoterapia: materias primas medicinales. Métodos de prueba". Estas pruebas incluyen los siguientes análisis: (Dehesa 2002, págs. 139-152).

3.10.2.1. Determinación del contenido de humedad

El procedimiento se realizó pesando de 2 a 5 gramos de la planta seca y luego colocándola en una cápsula previamente pesada hasta alcanzar un peso constante. Esta cápsula se colocó en un horno a 105°C durante 3 horas. Luego se transfirió la cápsula al desecador y se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de pesarla nuevamente. Este proceso se repitió cada hora hasta alcanzar un peso constante (Miranda et al. 2001, págs. 30-110).

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

Ecuación 3-1: Cálculos de humedad

Donde:

%H = porcentaje de humedad

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

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

M = masa de la cápsula vacía (g)

100 = factor matemático

3.10.2.2. Determinación de cenizas

Se procedió a pesar de 2 a 5 gramos de materia vegetal en un crisol previamente tarado a peso constante. Luego se carbonizó la muestra y se colocó en un horno de mufla a una temperatura de aproximadamente 650 a 700°C durante un período de 2 horas o hasta que la muestra adquiriera un color claro. Luego se transfirió el crisol a un desecador a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de volver a pesarlo. Este procedimiento se repitió después de quemar la muestra, pesando el crisol cada media hora hasta lograr un peso constante (Miranda et al. 2001, págs. 30-110).

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

Ecuación 3-2: Cálculos de cenizas totales

Donde:

%C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada

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

M2 = masa del crisol con las cenizas (g)

M = masa del crisol vacío (g)

100 = factor matemático

3.10.2.3. Determinación de cenizas solubles en agua

A la ceniza total obtenida en el proceso anterior se le agregaron 15-20 ml de agua destilada y se cubrió el crisol con un vidrio de reloj. Luego la muestra se hirvió en un baño de agua usando un reverbero durante 5 minutos. A continuación, se filtra la solución y el residuo resultante se coloca en el crisol original. Luego se carbonizó el crisol y se quemó durante dos horas. Finalizado este proceso, el crisol se colocó en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesó. Este procedimiento se repitió después de quemar cada 30 minutos hasta lograr un peso constante (Miranda et al. 2001, págs. 30-110).

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

Ecuación 3-3: Cálculos de cenizas solubles en agua

Donde:

%Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua y en base hidratada

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

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

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

M = masa del crisol vacío (g)

100 = factor mecánico

3.10.2.4. Determinación de cenizas en ácido clorhídrico

Al crisol se le agregaron de 2 a 3 ml de ácido clorhídrico (HCl) al 10% con todas las cenizas. Luego se cubrió el crisol con un reloj de vidrio y se calentó en un baño de agua durante 10 minutos. El vidrio de reloj se lavó con 5 ml de agua caliente y se añadió al contenido del crisol. Luego se filtró la mezcla y se lavó el residuo con agua caliente. Para excluir la presencia de cloruros, se añadieron dos gotas de nitrato de plata 0,1 M. El residuo y el filtrado se colocaron en un horno a 100 °C y luego se transfirieron al crisol original para su combustión en un horno de mufla a una temperatura de 650 a 700 °C durante 2 años. El crisol se colocó en una estufa mantenida en el desecador a temperatura ambiente y se pesó. Este proceso se repitió cada 30 minutos desde la combustión hasta alcanzar un peso constante (Miranda et al. 2001, págs. 30-110).

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

Ecuación 3-4: Caluros de cenizas en ácido clorhídrico

Donde:

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

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

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

Ms = masa del crisol con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (g)

M = masa del crisol vacío (g)

100 = factor matemático

3.11. Tamizaje fitoquímico

3.11.1. Obtención de extractos

- Pesarse 30-50 g de la droga seca y molido, extraer con 90-150 ml de éter etílico mediante maceración durante 48 horas. Se obtienen extracto etéreo y residuo sólido (secar y pesar).
- Extraer la droga gastada con éter etílico mediante maceración con metanol (3 veces el peso del volumen residual) durante 48 horas. Se obtuvieron el extracto metanólico y el residuo sólido (secar y pesar).
- A la droga ahogada con metanol, extraer por maceración con agua destilada (volumen 3 veces el peso del residuo) durante 48 horas. Extracto acuoso y residuo sólido obtenido (secar, pesar y desechar)
- Aplicar una marcha fitoquímica preliminar, con cada extracto para determinar el grupo de elementos químicos presentes en la planta medicinal analizada.

Se realizó un tamizaje fitoquímico a la especie vegetal guarango (*Caesalpinia spinosa*), para determinar los metabolitos secundarios presentes en la especie, utilizando los solventes pertinentes y expresando los resultados de acuerdo con la reacción producida (precipitación o cambio de color). El proceso de obtención de los extractos se presenta a continuación en la Ilustración 3-2:

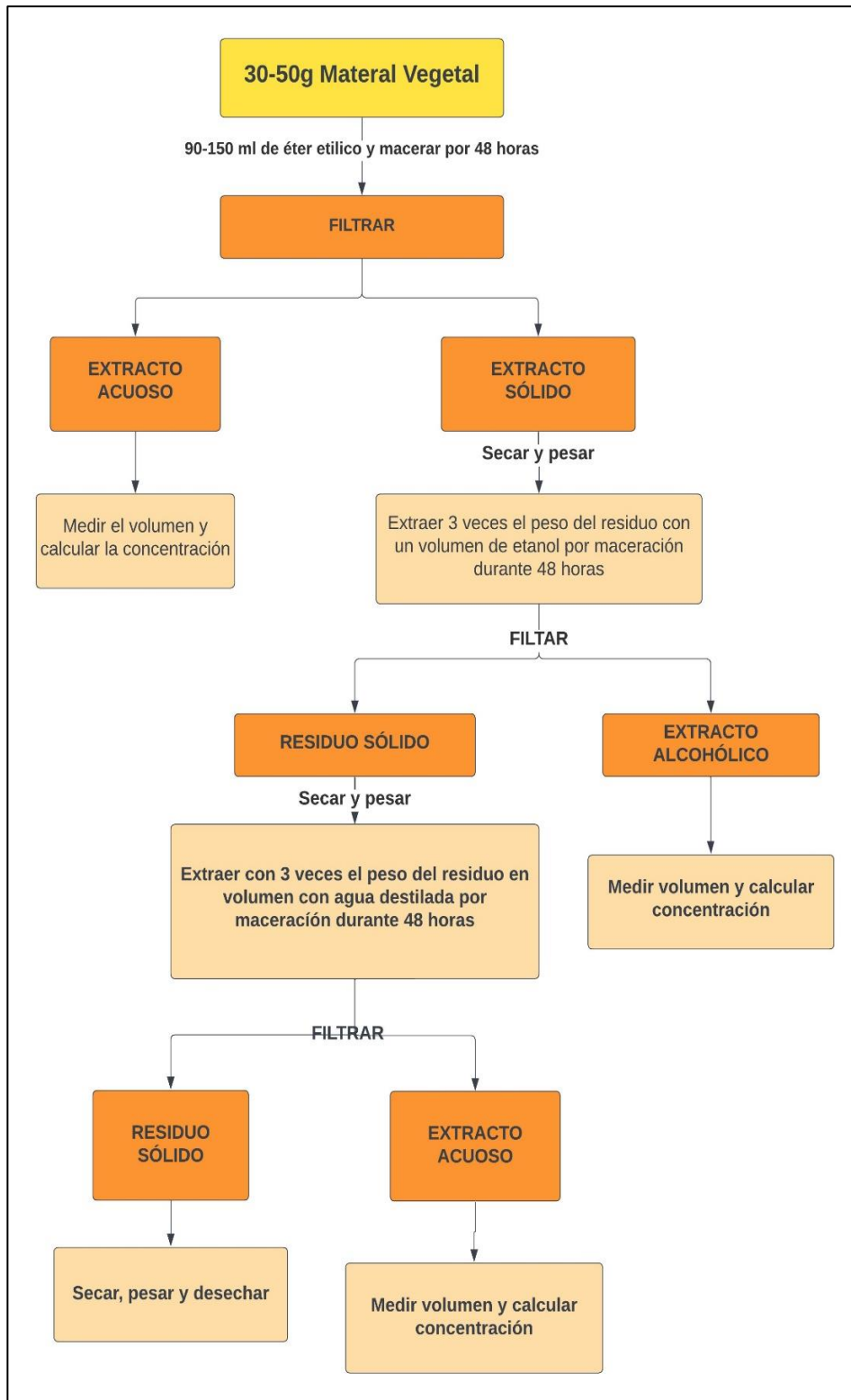


Ilustración 3-2: Tamizaje fitoquímico

Fuente: (Miranda Martínez, y otros, 2001 págs. 30-110)

Realizado por: Suárez A., 2024

Una vez obtenido los extractos de la especie, se realiza los análisis pertinentes según el tipo de extracto.

Tabla 3-8: Análisis del extracto etéreo

| | Ensayo | Metabolito secundario |
|------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Extracto etéreo | Ensayo de Sudan | Aceites y grasas |
| | Ensayo de Baljet | Lactonas y Cumarinas |
| | Ensayo de Dragendorff | Alcaloides |
| | Ensayo de Mayer | Alcaloides |
| | Ensayo de Wagner | Alcaloides |
| | Ensayo de Libermann-Bucharl | Triterpenos-Esteroides |

Fuente: (Miranda Martínez, y otros, 2001 págs. 30-110)

Realizado por: Suárez A., 2024

Tabla 3-9: Análisis del extracto alcohólico

| | Ensayo | Metabolito secundario |
|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Extracto alcohólico | Ensayo de Catequinas | Catequinas |
| | Ensayo de Resinas | Resinas |
| | Ensayo de Fehling | Azúcares Reductores |
| | Ensayo de Baljet | Lactonas |
| | Ensayo de Libermann-Bucharl | Triterpenos-Esteroides |
| | Ensayo de Cl_3Fe | Fenoles y Taninos |
| | Ensayo de Espuma | Saponinas |
| | Ensayo de Ninhidrina | Aminoácidos |
| | Ensayo de Bortrager | Quinonas |
| | Ensayo de Shinoda | Flavonoides |
| | Ensayo de Antocianidina | Antocianinas |
| | Ensayo de Dragendorff | Alcaloides |
| | Ensayo de Mayer | Alcaloides |
| | Ensayo de Wagner | Alcaloides |

Fuente: (Miranda Martínez, y otros, 2001 págs. 30-110)

Realizado por: Suárez A., 2024

Tabla 3-10: Análisis del extracto acuoso

| | Ensayo | Metabolito secundario |
|--|--------------------|------------------------------|
| | Ensayo de Fehling | Azúcares Reductores |
| | Ensayo de Cl_3Fe | Fenoles y Taninos |
| | Ensayo de Espuma | Saponinas |

| | | |
|------------------------|------------------------------|--------------------|
| Extracto acuoso | Ensayo de Shinoda | Flavonoides |
| | Ensayo de Dragendorff | Alcaloides |
| | Ensayo de Mayer | Alcaloides |
| | Ensayo de Wagner | Alcaloides |
| | Ensayo de Mucílagos | Mucílagos |
| | Ensayo de Principios amargos | Principios amargos |

Fuente: (Miranda Martínez, y otros, 2001 págs. 30-110)

Realizado por: Suárez A., 2024

3.11.2. Procedimientos del tamizaje fitoquímico

Tabla 3-11: Tamizaje fitoquímico

| ENSAYO | METABOLITO | PROCEDIMIENTO | RESULTADO |
|--------------------|---------------------------------------|--|---|
| Sudan | Compuestos grasos | Se le añade 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente. | (+) Presencia de gotas o una película coloreada de rojo |
| Dragendorff | Alcaloides | Si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, éste debe evaporarse, en un baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo. | (+) Opalescencia (++) Turbidez (+++) Precipitado |
| Wagner | Alcaloides | Se parte de igual manera en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 o 3 gotas del reactivo | (+) Opalescencia (++) Turbidez (+++) Precipitado |
| Mayer | Alcaloides | Se parte de igual manera en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 o 3 gotas del reactivo | (+) Opalescencia (++) Turbidez (+++) Precipitado |
| Baljet | Compuestos con agrupamiento lactónico | Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1ml). En estas condiciones se adiciona 1ml del reactivo. | (++) Aparición de una coloración (+++) Precipitado rojo |
| Borntreger | Quinonas | Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1ml de cloroformo. Se | Si la fase acuosa alcalina se colorea: (++) Coloración rosada (+++) Coloración roja. |

| | | | | |
|--------------------------------|----------------------------------|-----|--|--|
| | | | adiciona 1ml hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación | |
| Lieberman-Buchard | Triterpenos Esteroides | y/o | Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. | 1. Rosado 2. Verde intenso – visible 3. Verde oscuro – negro |
| Catequinas | Catequinas | | Tome una gota de la fracción alcohólica, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio | Verde carmelita a la luz UV |
| Resinas | Resinas | | Adicione a 2ml de la solución alcohólica, 10ml de agua destilada | Precipitado |
| Fehling | Azúcares reductores | | Si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 – 2 ml de agua. Se adicionan 2mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5 – 10 min la mezcla. | Solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo |
| Espuma | Saponinas | | Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 – 10 min | Si aparece espuma en la superficie del líquido |
| Cloruro Férrico (FeCl3) | Compuestos Fenólicos y/o taninos | | Si el extracto es acuoso se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica A una alícuota del extracto alcohólico se adiciona el reactivo | Coloración roja – vino, verde intenso, azul |
| Shinoda | Flavonoides | | Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico, se espera 5 minutos, se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen | Cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos. |
| Antocianidinas | Flavonoides | | Se calientan 2 ml del extracto etanólico 10 minutos con 1 ml de HCl concentrado. Se deja enfriar y se adiciona 1mL de agua y 2 ml de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. | La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica |

| | | | | |
|---------------------------|----------------------------|------|---|-------------------------|
| Mucílagos | Estructura polisacárido | tipo | Una alícuota del extracto en agua se enfría a 0 - 5 C | Consistencia gelatinosa |
| Principios Amargos | | | Saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal reconociendo el sabor de cada uno de los principios, bien diferenciado por el paladar | |

Fuente: (Miranda Martínez, y otros, 2001 págs. 30-110)

Realizado por: Suárez A., 2024

3.11.3. *Obtención del extracto hidroalcohólico por el método de maceración en frío*

La elaboración del extracto hidroalcohólico comienza con 100 gramos de vainas secas de la planta *Caesalpinia spinosa*. Estas vainas se colocaron en una botella ámbar de 1000 ml y se agregaron 500 ml de una solución hidroalcohólica al 70% para asegurar un remojo adecuado. La mezcla se maceró durante siete días para facilitar la extracción de los compuestos disueltos. Transcurrido el tiempo de maceración, el extracto se filtra mediante una bomba de vacío para asegurar una eficiente separación del líquido y los sólidos restantes. A continuación, se concentra el extracto líquido mediante un rotavapor. Durante este proceso, la velocidad de rotación se controló a 55 rpm y la temperatura se mantuvo por debajo de 40 °C, condiciones óptimas para evitar la degradación térmica de los componentes del extracto.

3.11.3.1. *Determinación del rendimiento*

Para calcular el rendimiento de un extracto es necesario conocer la cantidad inicial de material utilizado y la cantidad final de extracto obtenida tras el proceso. La potencia generalmente se calcula como un porcentaje y se determina mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Cantidad de materia inicial}}{\text{Cantidad de extracto obtenido}} \times 100$$

Ecuación 3-5: Determinación del rendimiento

3.12. **Control de calidad del extracto**

No existe una normativa específica que detalle los estudios necesarios que se deben realizar a los extractos. Por lo tanto, nos basamos en artículos y estudios realizados previamente. Uno de los estudios de referencia que sirve de guía sobre los procedimientos a seguir es el de (Charco 2015, págs. 50-55).

3.12.1. *Determinación del olor*

Se inserta en la muestra de prueba un extremo de una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho y 10 cm de largo. Luego se evalúa el olor y si corresponde a las propiedades esperadas del producto (Charco 2015, págs. 50-55).

3.12.2. Determinación del color

Se llena aproximadamente tres cuartas partes de un tubo de ensayo limpio y seco con la muestra de ensayo. Luego observamos el color, la transparencia, la presencia de partículas y la posible separación en capas de la muestra (Charco 2015, págs. 50-55).

3.12.3. Determinación del pH

Para determinar el valor del pH se transfirieron a un vaso de precipitados 25 ml del extracto obtenido en el procedimiento anterior. Luego se insertó el electrodo del medidor de pH en el extracto para asegurar que el sensor estuviera suficientemente sumergido. Posteriormente se registró el valor del pH utilizando el valor del medidor de pH (Charco 2015, págs. 50-55).

3.12.4. Determinación de la densidad

Primero, se vacía el picnómetro, se seca y luego se llena con la porción de prueba. El picnómetro se mantiene a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 minutos y se ajusta el nivel del líquido, si es necesario, usando un trozo de papel para eliminar el exceso y se seca cuidadosamente el exterior del picnómetro. A continuación, se vuelve a pesar el picnómetro junto con la pieza de ensayo y se repite el proceso con agua destilada, tras lo cual se limpia el picnómetro. La densidad relativa se calcula mediante la siguiente fórmula (Charco 2015, págs. 50-55):

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

Ecuación 3-6: Determinación de la densidad

M1 = peso del picnómetro con la muestra (g)

M2 = peso del picnómetro con el agua (g)

M = peso el picnómetro vacío (g)

3.12.5. Determinación del índice de refracción

El proceso comienza colocando una gota de agua destilada sobre un prisma medidor utilizando una varilla de vidrio sin bordes cortantes. Luego se ajusta el equipo seleccionando el área del

espectro visible que coincide con la línea límite del campo de visión, moviendo el compensador cromático y alineando la intersección de la retícula con la línea límite entre los campos claro y oscuro. Una vez finalizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra de prueba sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma y la luz se enfoca con un espejo de modo que incida en la abertura de entrada del prisma de medición. Este proceso se realiza de forma similar al que se realiza con agua destilada. Los resultados se obtienen tomando tres lecturas y calculando el promedio. Se considera aceptable una diferencia de hasta 0,002 entre dos o más lecturas. Si la determinación no se realiza a una temperatura de referencia, se utiliza la siguiente fórmula para ajustar los resultados:

$$N_{d25} = N_{dt} + 0.00044 (t-25)$$

Ecuación 3-7: Determinación del índice de refracción

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

N_{dt} = Valor leído en 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.

3.12.6. Método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

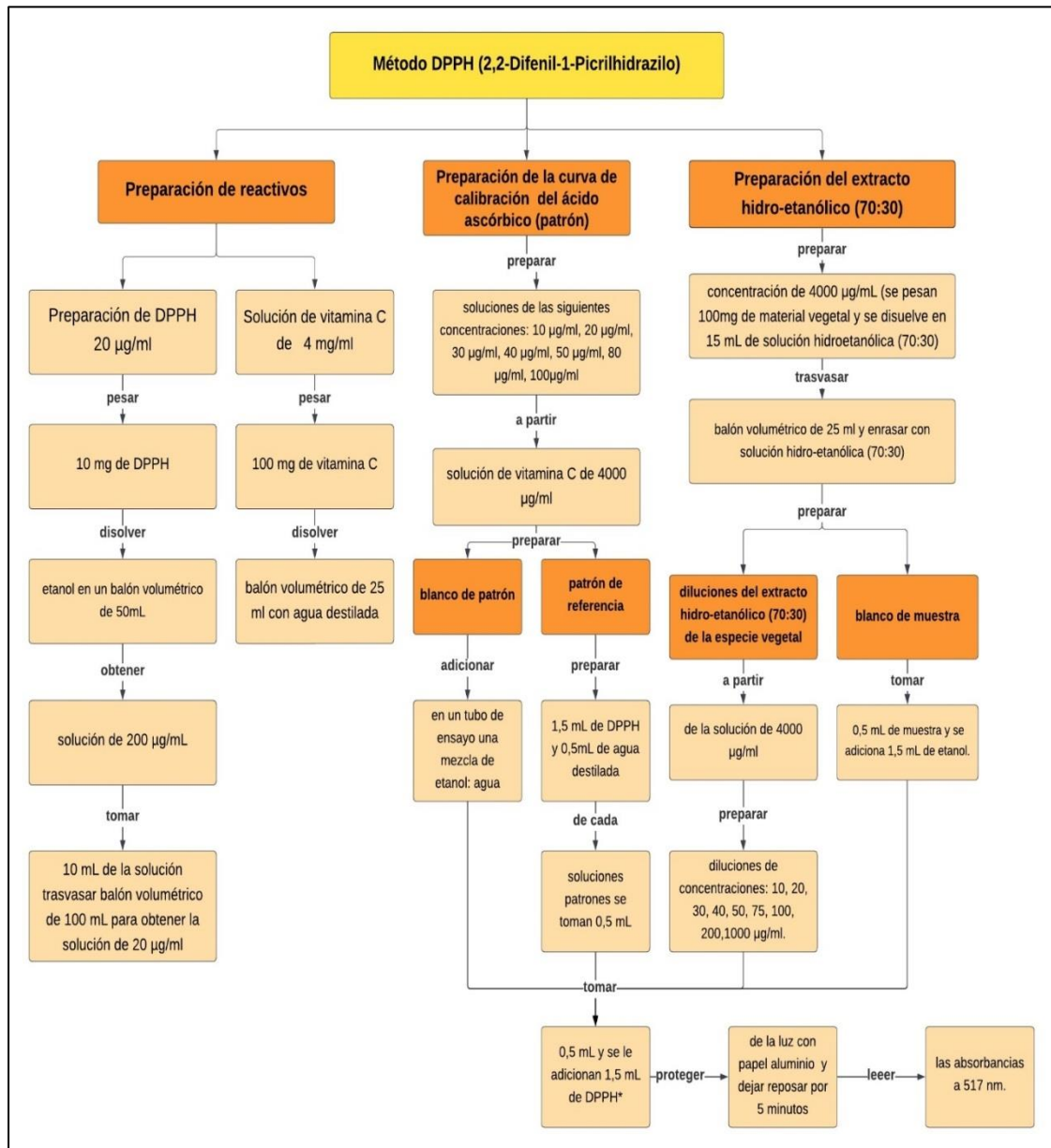


Ilustración 3-3: Método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

Fuente: (Williams, 1995)

Realizado por: Suárez A., 2024

Cálculos:

Cálculo del IC50:

Con las absorbancias obtenidas y la concentración de cada solución ensayada, se obtiene por regresión lineal una ecuación que nos permitirá obtener el IC50.

De esta forma se compara la capacidad antioxidante entre el ácido ascórbico y el extracto de la especie vegetal. Todos los análisis se hacen por duplicado.

Cálculo del % de DPPH inhibido El % de DPPH inhibido se calcula con la siguiente ecuación:

$$\%DPPH\ Inhibido = \frac{A_c - A_m}{A_c} \times 100$$

Ecuación 3-8: Calculo del IC50

Donde:

Ac: Absorbancia del patrón de referencia

Am: Absorbancia de cada una de las soluciones diluidas del extracto de la especie vegetal y las diluciones del ácido ascórbico

3.13. Elaboración de la crema con extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa*

Tabla 3-12: Componentes para la elaboración de una crema de antioxidante

| Componentes | |
|-------------------------|--|
| Principio Activo | Extractos de vaina de <i>Caesalpinia spinosa</i> |
| Fase Oleosa | Alcohol cetílico |
| | Propano-1,2,3-triol (Glicerina) |
| | Parahidroxibenzoato de propilo (Nipasol) |
| | Parahidroxibenzoato de metilo (Nipagin) |
| | Cloruro de cetrimonio (Deyquart) |
| Fase Acuosa | Agua Destilada |

Fuente: (Camero, y otros, 2004 pág. 12)

Realizado por: Suárez A., 2024

El orden de adición de los ingredientes en la fase oleosa es importante para garantizar una mezcla homogénea y estable. La secuencia de adición sería la siguiente:

- Parahidroxibenzoato de propilo (Nipasol) y parahidroxibenzoato de metilo (Nipagin) (conservantes)
- Alcohol cetílico (emoliente)
- Cloruro de cetrimonio (Deyquart) (tensioactivo)

- Glicerina (vehículo)

Mezclar estos ingredientes a 65°C en baño maría hasta que estén completamente disueltos y la mezcla sea homogénea. La fase acuosa se prepara calentando agua destilada a 65°C en baño maría. Una vez que ambas fases alcanzan la misma temperatura, se añade la fase acuosa a la fase oleosa. Este paso es crucial para evitar la separación de fases y garantizar una emulsión estable. La adición gradual y la agitación constante son importantes para lograr una mezcla homogénea.

Después de obtener una crema unibase preparada y homogénea, se puede agregar gradualmente el extracto a la crema y mezclar hasta lograr una consistencia uniforme. La adición gradual del extracto ayuda a garantizar una distribución uniforme en la formulación. Una vez que se ha obtenido la crema final, se envasa y etiqueta adecuadamente. Es importante mantener las medidas de esterilidad para evitar la contaminación del producto final por microorganismos patógenos (Camero 2004, pág. 12).

3.13.1. Control de calidad del producto terminado

El control de calidad del producto final tiene como objetivo determinar si el producto cumple con las características de calidad predeterminadas para las que fue desarrollado.

Según las indicaciones del formulario nacional español, se utilizaron diferentes parámetros para realizar los diferentes procedimientos de control del producto final.

3.13.1.1. Ensayos organolépticos

Color: Tomar un tubo de ensayo muy limpio y seco, llenarlo hasta las tres cuartas partes con la muestra problema y observar el color, transparencia y presencia de partículas.

Olor: Se retiró una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho y 10 cm de largo y se insertó un extremo en la muestra de prueba. Para este análisis se utiliza nuestro sentido del olfato.

Presencia de grumos: Tomar una pequeña cantidad de producto unos 0,25 g extenderla sobre el dorso de la mano limpia y seca. Observa si hay grumos o no.

Untuosidad: Se toma una pequeña cantidad del producto, unos 0,25 g, entre el dedo índice y el pulgar y palpando se puede llegar a determinar si la crema es lipófila o hidrófila (Camero 2004, pág. 12).

3.13.1.2. Ensayos fisicoquímicos

Determinación del pH: El equipo se ajustó utilizando una solución tampón de pH adecuada en el rango en el que se determinó el valor de pH de la muestra. Se insertaron detectores de pH directamente en la muestra y se tomaron lecturas (Charco 2015, pp: 50-55).

Determinación de la viscosidad: La viscosidad se determinó usando un viscosímetro. Para la formulación, la viscosidad se midió en el tiempo cero y en varios intervalos de tiempo. Se encendió el equipo, se seleccionó el número de giros (64), se seleccionó la velocidad (10 rpm).

Determinación del signo de emulsión: El signo de la emulsión se puede determinar mediante el método de coloración:

Colorante: Algunos usan un tinte soluble en agua (como el azul de metileno). Si la emulsión es tipo O/W el tinte se esparce, pero si es la emulsión tipo W/O el tinte no se esparce, sino que lo repele. Se aplica una pequeña cantidad de la emulsión a analizar sobre un portaobjetos de vidrio.

A continuación, añada una gota de azul de metileno sin remover.

- Si la emulsión es O/W, el color se dispersa.
- Si la emulsión es W/O, el tinte no se esparce, sino que lo repele (Charco 2015, pp: 50-55).

Extensibilidad:

- Para realizar esta prueba utilizamos dos placas de vidrio entre las que se colocan, por ejemplo, 4 g del producto.
- Coloque la placa de vidrio inferior sobre una hoja de papel cuadriculado. Se cuadra el plato y se dibujan diagonales.
- Coloque la muestra del preparado en el punto de intersección.
- La placa superior se pesa y se coloca sobre la placa inferior. Por ejemplo, después de 1 minuto, bajo la influencia de la presión, el preparado se esparcirá aproximadamente en un círculo.
- Se registran los valores de ambos diámetros y se calcula el diámetro promedio que forma la superficie circular.

- Esta operación se repite con pesas sucesivas (por ejemplo, 50, 100, 200 y 500 g) colocadas en el centro del plato. La capacidad de ampliación se presenta en mm² en relación con el peso utilizado (Agencia española de medicamentos y productos sanitarios, 2020, pág.1)

3.13.2. Control microbiológico del producto terminado

Según la Normativa son: Mesófilos aerobios totales, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Para realizar la muestra, tomar 10 g del producto final y disolver en 99 ml de agua de peptona hasta obtener una disolución 1:10 (10⁻¹) y 2:10 (10⁻²), la técnica a utilizar para la siembra es vertido en placa.

3.13.2.1. *Staphylococcus aureus*

- Dispensar agar sangre esterilizado en dos placas de Petri de vidrio para realizar las pruebas por duplicado, asegurándose de cubrir toda la superficie y luego dejar enfriar.
- Sembrar las placas con el asa de Digrafsky y colocarlas en la incubadora a una temperatura de 35 ± 2°C durante 24 horas, manteniéndolas invertidas.
- Todo el procedimiento debe llevarse a cabo en condiciones asépticas dentro de una campana de flujo laminar, y se debe encender el mechero al momento de sembrar.

3.13.2.2. *Escherichia coli*

- Dispensar agar EMB esterilizado en dos placas de Petri de vidrio para realizar las pruebas por duplicado, asegurándose de cubrir toda la superficie y luego dejar enfriar.
- Sembrar las placas con el asa de Digrafsky y colocarlas en la incubadora a una temperatura de 35 ± 2°C durante 24 horas, manteniéndolas invertidas.
- Todo el procedimiento debe llevarse a cabo en condiciones asépticas dentro de una campana de flujo laminar, y se debe encender el mechero al momento de sembrar

3.13.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

- Dispensar agar Cetrimida esterilizado en dos placas de Petri de vidrio para realizar las pruebas por duplicado, asegurándose de cubrir toda la superficie y luego dejar enfriar.

- Sembrar las placas con el asa de Digralesky y colocarlas en la incubadora a una temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas, manteniéndolas invertidas.
- Todo el procedimiento debe llevarse a cabo en condiciones asépticas dentro de una campana de flujo laminar, y se debe encender el mechero al momento de sembrar

3.13.2.4. Mesófilos aerobios totales

- Dispensar agar PCA esterilizado en dos placas de Petri de vidrio para realizar las pruebas por duplicado, asegurándose de cubrir toda la superficie y luego dejar enfriar.
- Sembrar las placas con el asa de Digralesky y colocarlas en la incubadora a una temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas, manteniéndolas invertidas.
- Todo el procedimiento debe llevarse a cabo en condiciones asépticas dentro de una campana de flujo laminar, y se debe encender el mechero al momento de sembrar

3.13.3. Etiquetado y envasado

El envase primario debe tener una boca ancha para que el producto sea fácil de dosificar, fácil de manejar y pueda almacenarse (Yambay 2012, pág. 60).

Las etiquetas de los envases primarios y secundarios deben estar redactadas en idioma castellano y en caracteres claramente legibles e indelebles (ARCSA 2015, págs. 7-10).

El envase secundario consta de:

- Nombre del medicamento
- Denominación Común Internacional (DCI) cuando corresponda o nombre del principio activo cuando no exista DCI
- Vía de administración
- Forma farmacéutica del producto
- Contenido neto del envase, expresado en unidades SI
- Fórmula cuali-cuantitativa
- Número de lote
- Temperatura y condiciones de conservación
- Fecha de elaboración y expiración
- Modo de empleo
- Advertencia general

El envase primario (etiqueta) consta de (ARCSA 2015, págs. 7-10):

- Nombre del medicamento
- Nombre común internacional o nombre de la sustancia activa si no hay DCI
- Forma farmacéutica
- Concentración del principio activo por dosis o por volumen
- Contenido/volumen (por presentación)
- Vía de administración
- Temperatura y condiciones de conservación
- Fecha de expiración (obligatoria)
- Fecha de elaboración (opcional)
- Nombre (o logotipo) del titular del registro o el fabricante
- Número o código de lote

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Después de realizar los diferentes análisis a la droga seca descritos en el capítulo anterior se obtuvieron los siguientes resultados:

4.1. Control de calidad de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (guarango)

Tabla 4-1: Control de calidad material vegetal

| Parámetro | Vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> (%) | Límite de referencia (INEN 2392-2007) |
|--|---|--|
| Contenido de Humedad (%) | 10.60 | 7-14% |
| Contenido de Cenizas Totales (%) | 3.79 | 12% |
| Contenido de Cenizas Solubles en Agua (%) | 3.66 | 7% |
| Contenido de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico | 1.20 | 2% |

Realizado por: Suárez A., 2024

La Tabla 4-1 muestra los resultados del control de calidad de *Caesalpinia spinosa* (guarango) que arrojó los siguientes resultados:

El contenido de humedad es del 10,60%, mientras que investigaciones realizadas (Charco, 2015 pág. 70) reportan un porcentaje ligeramente inferior, concretamente del 9,67%. Aunque existen diferencias entre estos valores, ambos se encuentran dentro de los límites aceptables establecidos por la (INEN, 2007 pág. 2), lo que indica estabilidad suficiente para evitar la degradación por microorganismos o actividad enzimática (Hidalgo 2019, págs. 37-40).

Respecto al total de cenizas se encontró que es de 3.793%, frente al 3.60% reportado (Charco, 2015 pág. 70). Ambos valores son inferiores al límite máximo de la INEN, es decir 12%, lo que indica una cantidad aceptable de materiales inorgánicos y una baja posibilidad de contaminación inorgánica externa (Hidalgo 2019, págs. 37-40).

Para las cenizas hidrosolubles el porcentaje es del 3,656%, frente al 3,1% obtenido en la investigación (Charco 2015, págs. 70). Estos resultados, aunque ligeramente diferentes, son

consistentes con la norma de calidad (INEN, 2007 pág. 2) y reflejan la presencia de minerales alcalinos y alcalinotérreos. Esto puede tener implicaciones importantes para su uso en nutrición y medicina, ya que estos minerales juegan un papel importante en la salud humana y el crecimiento y desarrollo de las plantas (Álvarez 2018, págs. 19-27).

Respecto a las cenizas insolubles en ácido clorhídrico, se reporta como 1,20%, mientras que (Charco 2015, pág. 70) muestra 1,11%. Pese a ligeras variaciones, ambos valores se encuentran por debajo del límite máximo del 5% fijado por la (INEN, 2007 pág. 2) para sustancias de origen vegetal, lo que indica que la cantidad de contaminantes inorgánicos en las muestras es aceptable (Álvarez 2018, págs. 19-27).

Estos parámetros son importantes para garantizar la calidad de la droga cruda de *Caesalpinia spinosa* y asegurar su idoneidad para otras aplicaciones, como en la fabricación de productos farmacéuticos o cosméticos.

4.2. Tamizaje fitoquímico

Tabla: 4-2: Tamizaje fitoquímico

| Ensayo | Metabolito | Ex. Etéreo | Ex. Alcohólico | Ex. Acuoso |
|--------------------------------|-------------------------------|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Sudán | Aceites y grasas | + | N/A | + |
| Dragendorff | Alcaloides | - | +++ | N/A |
| Mayer | Alcaloides | - | ++ | ++ |
| Wagner | Alcaloides | - | ++ | ++ |
| Baljet | Lactonas y Cumarinas | - | - | N/A |
| Liebermann- Buchard | Triterpenos y/o esteroides | - | +dragendor | N/A |
| Catequinas | Catequinas | N/A | - | N/A |
| Resinas | Resinas | N/A | - | N/A |
| Fehling | Azúcares reductores | N/A | - | - |
| Espuma | Saponinas | N/A | + | - |
| Cl3Fe | Taninos | N/A | +++ Coloración azul intensa | +++ Coloración azul intensa |
| Borntrager | Quinonas | N/A | - | N/A |
| Shinoda | Flavonoides | N/A | - | - |
| Antocianidina | Flavonoides | N/A | - | N/A |
| Mucílagos | Mucílagos | N/A | N/A | - |
| Principios Amargos | Principios amargos | N/A | N/A | + |

Donde: +++ (Abundante); ++ (Moderado); + (Escaso); - (Negativo); N/A (No aplica)

Realizado por: Suárez A., 2024

El tamizaje fitoquímico es una herramienta importante para evaluar el potencial biológico y farmacológico de diversas especies de plantas. Este proceso se lleva a cabo mediante extracción con diversos disolventes, como alcohol, éter y agua. El objetivo principal de esta técnica es identificar y evaluar los compuestos químicos presentes, centrándose en los grupos químicos específicos a los que corresponde cada molécula bioactiva. Esta determinación cualitativa de metabolitos secundarios se basa en una serie de manuales y guías de farmacognosia, que facilitan el análisis detallado de las propiedades de las plantas (Pujol et al. 2020, págs. 1209-1214).

La Tabla 4-2 muestra los resultados del análisis fitoquímico de los extractos de vaina de *Caesalpinia spinosa*, el análisis mostró la presencia de grasa en el extracto etéreo, alcaloides, saponinas y taninos en el extracto alcohólico y la presencia de grasa, alcaloides, taninos y principios amargos en el extracto acuoso.

El extracto alcohólico y acuoso mostraron la mayor diversidad de metabolitos secundarios, lo que indica que los extractos hidroalcohólicos son los más adecuados para formular cremas antioxidantes. Además, en un estudio realizado por (Blanco et al. 2023, págs. 49-55) se evaluó el efecto de la extracción acuosa e hidroalcohólica sobre los metabolitos secundarios, como los compuestos polifenólicos, y la actividad antioxidante de las vainas de “tara” de *Caesalpinia spinosa*, este estudio reveló la presencia de compuestos polifenólicos, taninos, flavonoides y glucósidos en ambos tipos de extractos, destacando la mayor concentración de compuestos fenólicos y mayor capacidad antioxidante en el extracto hidroalcohólico.

Otros estudios han explorado los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en el extracto acuoso de tara utilizando el método DPPH (Callohuari 2017, págs. 6-61). Aunque no se identificaron ciertos compuestos específicos, la detección de principios amargos sugiere la presencia de otros metabolitos secundarios que tienen potencial antioxidante.

Un estudio adicional, aunque se centró en las hojas de tara y no en las vainas, encontró altas concentraciones de taninos en extractos de hojas (Álvarez 2018, págs. 19-27). Estos hallazgos concuerdan con los resultados obtenidos con extractos alcohólicos de las vainas y apoyan la hipótesis de que varias partes de la planta de tara contienen compuestos con actividad antioxidante.

Finalmente, los estudios sobre las propiedades fisicoquímicas de la harina de la vaina de tara muestran variaciones en la concentración de taninos entre diferentes variedades (Sánchez et al. 2018, pág. 77).

Esto sugiere que la concentración de taninos en los extractos alcohólicos puede variar dependiendo de la variedad de tara y el método de extracción utilizado.

4.3. Porcentaje de rendimiento del extracto de *Caesalpinia spinosa*

Tabla 4-3: Rendimiento del extracto de *Caesalpinia spinosa*

| | |
|---------------------------------------|----------|
| Cantidad del extracto obtenido | 11.390 g |
| Cantidad de material inicial | 100 g |
| Rendimiento (%) | 11.390% |

Realizado por: Suárez A., 2024

Se utilizó la metodología de maceración en frío para obtener un extracto hidroalcohólico al 70% de *Caesalpinia spinosa* con un rendimiento del 11,390%. Este método ha demostrado ser eficaz porque conserva los metabolitos secundarios presentes en el extracto, como se detalla en la Tabla 4-3.

Otro estudio evaluó las actividades antioxidantes y antiinflamatorias de las flores de *Spartium junceum*. Se decidió que la mejor metodología y concentración de etanol era utilizar el método Soxhlet al 70% seguido de extracción por maceración al 70%.

Como se mencionó, el etanol se ha destacado como un solvente preferido sobre otros solventes orgánicos polares como el metanol, acetato de etilo y acetona debido a su seguridad para el consumo humano y su efectividad en la extracción de fitoquímicos y compuestos bioactivos del material vegetal (Salas et al. 2022, págs. 113-120).

La extracción con solventes sigue siendo el método más utilizado, principalmente debido a su bajo costo, facilidad de uso y amplia aplicabilidad. La elección del solvente es crítica ya que influye en el rendimiento de la extracción y la posterior actividad antioxidante de los extractos de plantas, dado que diferentes solventes tienen diferentes capacidades para solubilizar compuestos antioxidantes con diferentes estructuras a nivel químicas y polaridades (Salas et al. 2022, págs. 113-120).

4.4. Análisis organoléptico del extracto

Tabla 4-4: Análisis organoléptica del extracto

| Parámetros | Descripción |
|------------|---|
| Aspecto | El extracto de las vainas de guarango presenta una consistencia viscosa y gelatinosa. |
| Color | Posee un color amarillo caramelo, típico de los taninos y otros compuestos fenólicos que pueden estar presentes en el extracto. |
| Olor | El extracto tiene un olor no muy pronunciado, pero con notas ligeramente dulces, lo que sugiere la presencia de azúcares o compuestos volátiles de baja intensidad aromática. |

Realizado por: Suárez A., 2024

La evaluación de las características sensoriales en la industria farmacéutica es un aspecto fundamental del control de calidad del producto, aunque no existen estándares de referencia específicos en la literatura científica para su comparación o diferenciación. En lugar de depender de estándares preestablecidos, esta evaluación se basa en la percepción sensorial del individuo, como lo muestran los resultados en la Tabla 4-4. El análisis sensorial es importante porque proporciona una evaluación directa e individualizada de las propiedades sensoriales de los productos farmacéuticos. Sin embargo, la falta de estándares cuantitativos puede crear problemas al comparar la calidad de diferentes productos.

El color de las soluciones y líquidos debe corresponder al esperado para cada producto en particular y debe estar libre de turbiedad, a menos que ésta sea una característica inherente al producto. En cambio, el olor del producto debe ser distintivo y no mostrar signos de deterioro o contaminación (Martini 2005, pág.300).

4.5. Análisis fisicoquímico del extracto de *Caesalpinia spinosa* (guarango)

Tabla 4-5: Análisis fisicoquímico del extracto de *Caesalpinia spinosa* (guarango)

| Parámetros | <i>Caesalpinia spinosa</i> (guarango) |
|--------------------------|--|
| pH | 3.72 |
| Índice de refracción | 1.50 |
| Densidad relativa (g/mL) | 0.98 |

Realizado por: Suárez A., 2024

La Tabla 4-5 enfoca su análisis en parámetros fisicoquímicos esenciales de los extractos de Guarango (*Caesalpinia spinosa*). Uno de estos parámetros es el pH, que indica la concentración de iones hidronio [H₃O⁺] en la solución. Para el guarango, se registró un pH de 3.72, mientras que un estudio demostró un pH de 6.05 en los extractos hidroalcohólicos de ÑACHAG (*Bidens andicola*), ALCACHOFA (*Cynara cardunculus L.*), CAFÉ (*Coffea arabica*) Y ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) (Urgiles 2019, pág. 17). Este nivel de pH, ácido, es adecuado para aplicaciones cutáneas y se atribuye a la presencia de metabolitos secundarios propios de la especie.

En cuanto al índice de refracción, un valor de 1.50 en el extracto de Guarango es notablemente más alto que en sustancias como el agua y la mayoría de los líquidos orgánicos. Según Mettler, este alto índice de refracción sugiere que la luz viaja a una velocidad considerablemente menor dentro del extracto en comparación con el vacío, lo que puede indicar una alta concentración de compuestos con estructuras moleculares complejas y/o pesadas. Esto refleja la composición única del extracto y su posible pureza.

Respecto a la densidad relativa, el guarango presenta 0.98 g/ml, comparado con 0.789 g/ml para el etanol. Esta mayor densidad sugiere que el guarango es más denso, posiblemente debido a una variedad de sustancias disueltas que incrementan su masa por unidad de volumen. Un estudio de (Charco 2015, pág. 70) encontró un valor de densidad relativa similar de 0,996 g/ml para el guarango, lo que confirma esta observación.

4.6. Determinación de la actividad antioxidante DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

En este estudio se evaluó la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (guarango) centrándose en el valor IC₅₀, que indica la concentración requerida para reducir a la mitad la absorción inicial en pruebas con DPPH, utilizando una cantidad fija de dicho compuesto. Los resultados de la investigación muestran que cuanto menor es el valor de IC₅₀, mayor es el potencial antioxidante del extracto que se está evaluando. (Naspud, 2018 págs. 24-28)

Se ha demostrado ampliamente que el ácido ascórbico es eficaz para neutralizar diversas especies reactivas de oxígeno y reducir los radicales libres. También se ha observado que puede actuar como sinérgico antioxidante primario. Debido a estas propiedades, la vitamina C se utilizó como estándar de referencia en este estudio, obteniendo un valor de IC₅₀ de 21,908 µg/ml, lo que indica su fuerte actividad antioxidante.

4.6.1. Determinación de la actividad antioxidante del ácido ascórbico mediante el método de DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

Tabla 4-6: Resultados actividad antioxidante del ácido ascórbico por el método DPPH

| Concentración de ácido ascórbico (ug/mL) | Promedio de absorbancia | Inhibición % |
|---|-------------------------|-----------------|
| 10 | 0.175 | 38.380 |
| 20 | 0.115 | 59.507 |
| 30 | 0.058 | 79.577 |
| 40 | 0.029 | 89.789 |
| 50 | 0.026 | 90.845 |
| 80 | 0.024 | 91.549 |
| 100 | 0.022 | 92.254 |
| Abs. DPPH | 0.284 | |

Realizado por: Suárez A., 2024

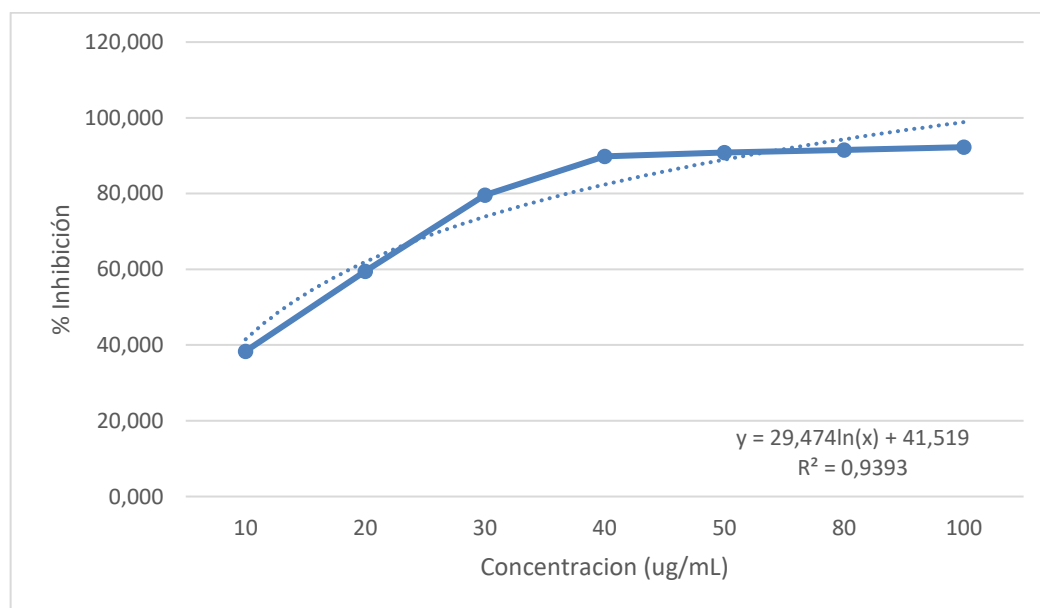


Ilustración 4-1: Curva de calibración del ácido ascórbico

Realizado por: Suárez A., 2024

En la Tabla 4-6 se presenta el valor IC₅₀ de 21,908 µg/ml del ácido ascórbico. En un estudio realizado por (Hossain et al. 2016, págs. 594-604) se utilizó ácido ascórbico como control, lo que dio como resultado un valor de IC₅₀ de 18,14 µg/ml, lo que indica su fuerte capacidad antioxidante. Estos datos confirman la fuerte actividad antioxidante del ácido ascórbico. Es importante tener en cuenta que el valor IC₅₀ puede verse influenciado por factores como la pureza de la sustancia, el método de prueba utilizado y las condiciones ambientales durante el experimento.

4.6.2. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de vainas de guarango mediante el método de DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

Tabla 4-7: Resultados de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico-método DPPH

| Concentración del extracto hidroalcohólico (ug/mL) | Promedio de absorbancia | Inhibición % |
|--|-------------------------|--------------|
| 10 | 0.165 | 41.901 |
| 20 | 0.116 | 59.155 |
| 30 | 0.089 | 68.662 |
| 40 | 0.068 | 76.056 |
| 50 | 0.06 | 78.873 |
| 75 | 0.056 | 80.282 |
| 100 | 0.044 | 84.507 |
| 200 | 0.040 | 85.915 |
| Abs. DPPH | | 0.284 |

Realizado por: Suárez A., 2024

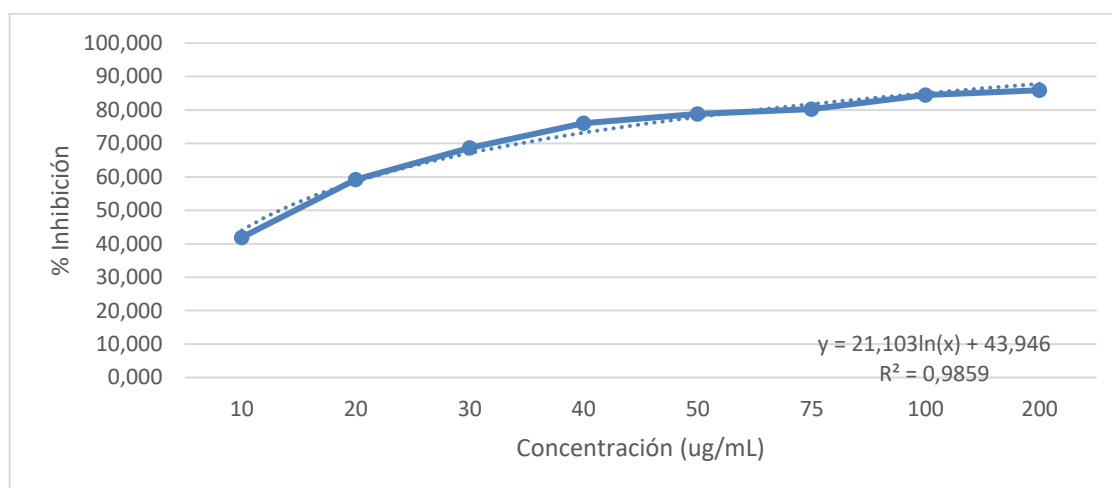


Ilustración 4-2: Curva de calibración extracto hidroalcohólico vainas de *Caesalpinia spinosa*

Realizado por: Suárez A., 2024

Como se indica en la Tabla 4-7, el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* mostró un valor de IC₅₀ de 19,134 µg/ml. Cabe señalar que el extracto hidroalcohólico de guarango tiene una buena actividad antioxidante, siendo incluso superior al control positivo: el ácido ascórbico. Esta similitud en los valores de IC₅₀ aumenta la capacidad antioxidante del extracto, poniéndolo a la par del ácido ascórbico, conocido por sus potentes efectos antioxidantes. Se sabe que las plantas medicinales producen diversas sustancias que tienen propiedades antioxidantes y pueden proteger al cuerpo humano de la oxidación celular. Los antioxidantes son sustancias vitales que pueden proteger al cuerpo del daño causado por los radicales libres, que causan estrés oxidativo (Hossain et al. 2016, págs. 594-604).

En un estudio realizado por (Áviles 2010, págs. 5-1) destacaron la notable actividad antioxidante de varios componentes de la vaina de tara con un IC₅₀ de 10 µg/ml y un contenido significativo de polifenoles totales y taninos. Estos resultados respaldan el potencial del guarango como una rica fuente de compuestos antioxidantes.

El estudio realizado se centró en la actividad antioxidante y anticolagenasa in vitro de un extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa*, conocido como “tara”. Utilizando métodos como ABTS y DPPH, se descubrió que el extracto de tara exhibe una actividad antioxidante sobresaliente, superior al control positivo Trolox en ambos ensayos, lo que se atribuyó a la interacción sinérgica de sus componentes bajo la influencia micro ambiental. Además, se observó una actividad anticolagenasa significativa con un IC₅₀ de 196,752 µg/ml, que fue superior a la del compuesto de referencia EGCG (Núñez 2015, págs. 90). Este efecto se explicó por la presencia de taninos condensados en el extracto, que forman precipitados con iones metálicos como el zinc, componente metálico del sitio activo de la colagenasa, inhibiendo su unión al sustrato. Estos resultados resaltan el potencial de la Tara como agente antioxidante y antienvjecimiento y sugieren su utilidad en productos cosméticos y farmacéuticos destinados a prevenir el envejecimiento de la piel. Sin embargo, se reconoce que las diferencias en los resultados con otros estudios pueden deberse a diversos factores que afectan la producción y la productividad del extracto, como la altitud y la radiación del entorno de la fuente y la complejidad de la interacción entre los componentes del extracto para la actividad antioxidante.

Se proporciona información adicional sobre el efecto de la temperatura sobre la actividad antioxidante de los extractos de tara. Los resultados a diferentes temperaturas, 80 °C y 50 °C mostraron valores de IC₅₀ de 430,055 µg/ml y 452,450 µg/ml, respectivamente, lo que sugiere que las condiciones de extracción pueden tener un impacto significativo en la efectividad de los antioxidantes extraídos (Áviles 2018, pág. 38).

4.7. Formulación ideal de la crema antioxidante

Tabla 4-8: Formulación ideal de crema antioxidante

| Componentes | Formulación para 100 g | Función |
|---|---------------------------|--------------|
| Extracto de <i>Caesalpinia spinosa</i> | 3 g | Antioxidante |
| Alcohol cetílico | 18 g | Emoliente |
| Glicerina | 10 g | Vehículo |

| | | |
|---|-------|--------------|
| Parahidroxibenzoato de propilo (Nipasol) | 0.1 g | Conservante |
| Parahidroxibenzoato de metilo (Nipagin) | 0.2 g | Conservante |
| Cloruro de cetrimonio (Deyquart) | 3 ml | Tensioactivo |
| Agua Purificada | c.s.p | Vehículo |

Realizado por: Suárez A., 2024

Para la elaboración de la crema antioxidante se basa en el libro formulación magistral en la práctica profesional de Camero & Orejarena, 2004 nos indica los componentes a utilizar y sus cantidades.

4.7.1. Determinación de la actividad antioxidante de la formulación ideal mediante el método DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

El extracto obtenido de las vainas de guarango fue compatible con los excipientes enumerados en la Tabla 4-9. La actividad antioxidante atribuida a la crema se debe a los compuestos taninos contenidos en el extracto. Se realizó un correcto tamizaje fitoquímico el cual arrojó un resultado positivo en taninos y por lo tanto ideal para la formulación.

Tabla 4-9: Resultados de la actividad antioxidante de la formulación ideal

| Concentracion (ug/mL) | Promedio de absorbancia | Inhibición % |
|-----------------------|-------------------------|-----------------|
| 10 | 0.182 | 79.435 |
| 20 | 0.159 | 82.034 |
| 30 | 0.151 | 82.938 |
| 40 | 0.14 | 84.181 |
| 50 | 0.131 | 85.198 |
| 75 | 0.12 | 86.441 |
| 100 | 0.113 | 87.232 |
| 200 | 0.106 | 88.023 |
| Abs. DPPH | 0.885 | |

Realizado por: Suárez A., 2024

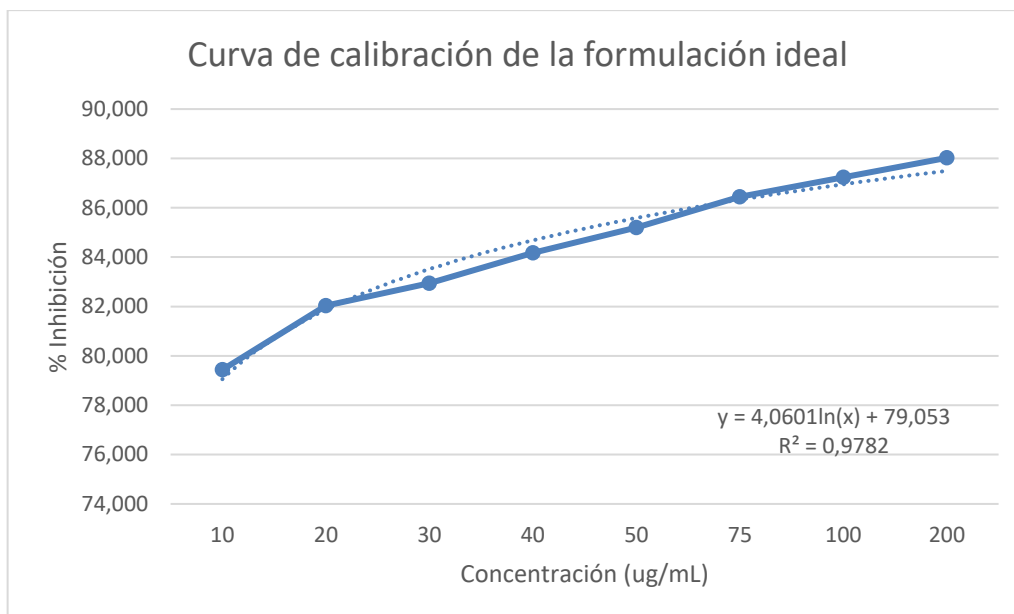


Ilustración 4-3: Curva de calibración de la formulación ideal

Realizado por: Suárez A., 2024

En este estudio, el CI_{50} de la formulación ideal de crema antioxidante a base de *Caesalpinia spinosa* se calculó en 28.962 $\mu\text{g/ml}$. Se observó que el extracto hidroalcohólico del fruto de guarango tiene una buena actividad antioxidante con una CI_{50} de 19,134 $\mu\text{g/ml}$. Esto puede deberse algunos factores como son: La estabilidad de los componentes es el factor principal que afecta el valor IC_{50} . Algunas formulaciones pueden ser más susceptibles a la degradación de los antioxidantes debido a la exposición al aire, la luz o el calor, lo que puede reducir su eficacia antioxidante. Además, la compatibilidad de los diferentes ingredientes de la crema afecta su estabilidad y eficacia antioxidante general.

Se investigó la capacidad antioxidante in vitro y la actividad regenerativa in vivo de una crema de belleza que contiene extracto hidroalcohólico de Camu Camu. La crema de belleza que contiene extracto hidroalcohólico de Camu Camu tiene una IC_{50} de 64,260 $\mu\text{g/ml}$, lo que indica su actividad antioxidante. La diferencia en los valores de IC_{50} entre el extracto hidroalcohólico de Camu camu y la crema puede deberse a la interacción de los excipientes de la crema con los principios activos, como la vitamina C y los compuestos fenólicos.

Del extracto hidroalcohólico se pueden haber extraído compuestos moderadamente polares que reaccionan lentamente con los excipientes de la crema, lo que puede afectar a su capacidad antioxidante (Ramos 2017, pág. 57).

4.8. Características organolépticas de la crema antioxidante

Tabla 4-10: Características organolépticas

| Parámetros | Formulación Ideal |
|---------------------|---------------------------|
| Color | Beige |
| Olor | Olor agradable, amaderado |
| Presencia de grumos | No presenta grumos |
| Untuosidad | Buena (Penetrante) |

Realizado por: Suárez A., 2024

En la Tabla 4-10 se comprobó mediante los sentidos que la crema tiene un color y olor agradable. El color era beige, el olor era similar a las cremas comerciales. Tiene una apariencia uniforme, al aplicarlo sobre la piel notamos que no quedan grumos, tiene buena capacidad de penetración, lo que significa que se absorbe fácilmente. Todas estas características nos convencen de que se trata de una fórmula ideal para su uso y consumo.

4.9. Parámetros fisicoquímicos de la crema antioxidante

4.9.1. Determinación del pH

Tabla 4-11: Determinación del pH

| Parámetro | Formulación Ideal | Límite USP #28 |
|-----------|-------------------|-------------------|
| pH | 5.12 | 4-7 |

Realizado por: Suárez A., 2024

La Tabla 4-11 muestra el valor de pH alcanzado con la formulación ideal. Dado que el pH inicial de esta formulación es extremadamente ácido y puede provocar quemaduras o lesiones en la piel al usarse, se neutralizó con 0,9 ml de hidróxido de sodio al 1N según el Diario Oficial de la Unión Europea, Sustancias que no podrán contener los productos cosméticos salvo con las restricciones establecidas, con estas especificaciones se procedió al uso de esta base utilizada como regulador de pH incluye la restricción que nos aplica de que la formulación debe tener un valor de $\text{pH} < 11$, logrando que esta formulación se incline más a la alcalinidad encontrando el valor de las

formulación dentro de las especificaciones dadas por la USP#28 siendo favorable para la piel ya que el pH se encuentra en los 5.12 destacando que el producto cosmético elaborado muestra compatibilidad con nuestra piel.

4.9.2. *Determinación de la viscosidad*

Tabla 4-12: Determinación de la viscosidad

| Parámetro | Formulación Ideal |
|------------|-------------------|
| Viscosidad | 10540 cP |

Realizado por: Suárez A., 2024

La Tabla 4-12 muestra la viscosidad de la formulación ideal, que es 10540 cP. La viscosidad dinámica de las cremas cosméticas está entre 4000 y 18000 cP (Mujica et al. 2010, pág. 10).

En las cremas corporales, la viscosidad indica la resistencia al flujo de la crema, es decir, qué tan espesa es la textura de la crema. Una crema corporal de alta viscosidad es más espesa y requiere más trabajo para extenderse sobre la piel, mientras que una crema de baja viscosidad es más fina y fácil de extender. La viscosidad afecta la sensación de la crema cuando se aplica, su capacidad para ser absorbida por la piel y su capacidad para retener la humedad en la piel.

4.9.3. *Determinación de la extensibilidad*

Tabla 4-13: Determinación de la extensibilidad

| Parámetro | Formulación Ideal | Límite USP#28 |
|----------------|-------------------|---------------|
| Extensibilidad | 4,5 | Máximo 5 cm |

Realizado por: Suárez A., 2024

La Tabla 4-13 muestra la capacidad de extensión de la formulación ideal 4,5; no excede el límite máximo de 5 cm según USP #28. Estos valores indican que el producto tiene una alta capacidad de esparcimiento y capacidad de esparcirse uniformemente sobre la piel.

4.9.4. *Determinación del signo de emulsión*

Tabla 4-14: Determinación del signo de emulsión

| Parámetro | Formulación Ideal |
|-------------------|-------------------|
| Signo de emulsión | Emulsión O/W |

Realizado por: Suárez A., 2024

La Tabla 4-14 muestra el tipo de emulsión O/W, lo que significa que las gotas de aceite se dispersan en agua. En el caso de las emulsiones destinadas a ser aplicadas sobre la piel, se utilizan ambos tipos: O/W y W/O. Se denomina emulsión O/W a una forma farmacéutica que consta de dos fases: lipófila y acuosa, porque la fase externa es acuosa debido a la presencia de emulsionante O/W en su composición. Se prefieren las emulsiones O/W porque tienen una sensación menos aceitosa, generalmente son más aceptables para los consumidores y son más fáciles de aplicar y eliminar (Vila 2001, pág. 261).

Por otro lado, la emulsión W/O tiene cierto efecto oclusivo, reduciendo la evaporación del agua y previniendo más eficazmente la sequedad de la piel. Sin embargo, la desventaja es la sensación aceitosa (Vila 2001, p. 261).

4.10. Análisis microbiológico de la crema antioxidante

Tabla 4-15: Análisis microbiológico

| | Microorganismo | Resultados | Límites permitidos NTE INEN 2867 | Criterio de aceptación |
|----------------------|-----------------------------------|------------|--|---------------------------|
| Formulación Ideal | Mesófilos aerobios totales | Ausencia | Límite máximo 5×10^2 UFC*/g o ml | Aceptable |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | Ausencia | Ausencia obligatoria de <i>Staphylococcus aureus</i> | Aceptable |
| | <i>Escherichia coli</i> | Ausencia | Ausencia obligatoria de <i>Escherichia coli</i> | Aceptable |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Ausencia | Ausencia obligatoria de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Aceptable |

Realizado por: Suárez A., 2024

El análisis microbiológico del producto terminado se realiza de acuerdo con los microorganismos y límites permisibles establecidos en la norma INEN 2867:2015 para cosméticos. Según esta normativa, el límite permisible para el número total de Mesófilos aerobios es 5×10^2 UFC*/g o ml. En la formulación ideal, la ausencia de estos microorganismos es aceptable.

Para *Staphylococcus aureus* la norma (INEN 2867:2015) exige la ausencia obligatoria de este microorganismo. En la formulación ideal existe la ausencia total de *Staphylococcus aureus* es un criterio aceptable.

La norma (INEN, 2015 págs. 1-5) especifica la ausencia obligatoria de *Escherichia coli*. Luego de realizar la prueba correspondiente se confirma la ausencia total de este microorganismo, lo que representa un resultado aceptable para la formulación.

La norma (INEN, 2015 págs. 1-5) prescribe la ausencia obligatoria de *Pseudomonas aeruginosa*. Tras realizar el correspondiente ensayo se obtiene el resultado de ausencia total en nuestra formulación. Al realizar todas las pruebas requeridas para los cosméticos de acuerdo con (INEN, 2015 págs. 1-5) y obtener resultados positivos que confirman la ausencia total de los microorganismos especificados en la normativa, se concluye que la formulación es apta para el consumo y no presenta riesgo para la salud.

4.11. Etiquetado de la crema antioxidante

4.11.1. Envase secundario

El etiquetado se realiza siguiendo el formato de etiqueta de la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA), el cual debe estar escrito en idioma español y con caracteres de fácil lectura e imborrables (ARCSA 20015, págs. 7-10).

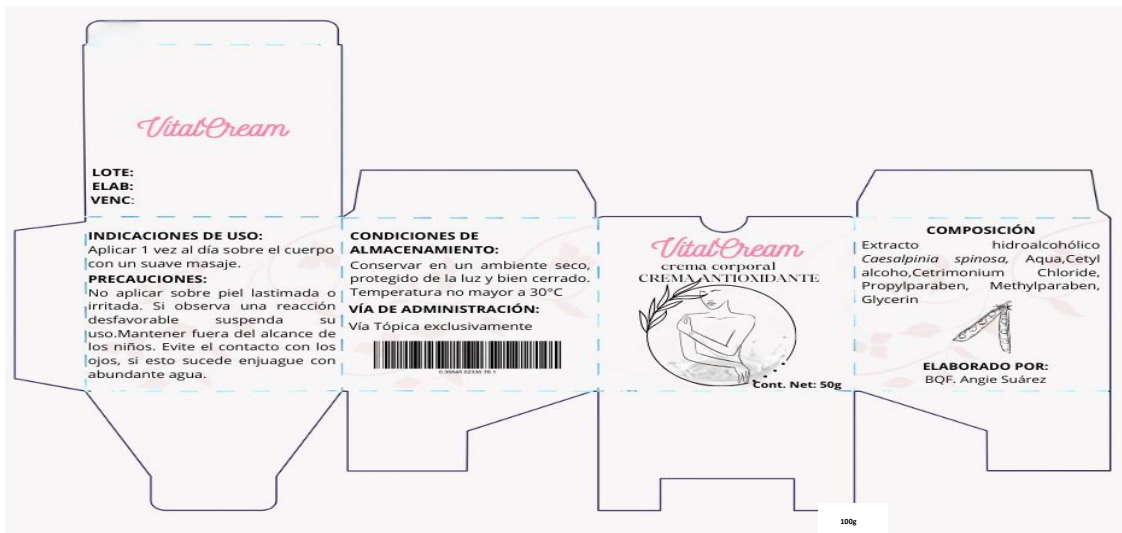


Ilustración 4-4: Etiqueta del envase secundario del producto final

Fuente: ARCSA 2015, p.10.

Realizado por: Suárez A., 2024

4.11.2. Envase primario (etiqueta)

En el envase primario (etiqueta) se incluye: Nombre del medicamento, Nombre del principio activo, forma farmacéutica, concentración del principio activo por dosis o por volumen, contenido por presentación, vía de administración, temperatura y condiciones de almacenamiento, fecha de expiración, fecha de elaboración, nombre del titular del registro o el fabricante, número de lote.

Además, la etiqueta del envase primario deberá estar escrito en español y en caracteres legibles e indelebles (ARCSA 2015, p. 10).



Ilustración 4-5: Etiqueta del envase primario del producto final

Fuente: ARCSA 2015, p.10.

Realizado por: Suárez A., 2024

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Una vez realizado el control de calidad de la planta y obteniendo resultados favorables, posteriormente se realiza el tamizaje fitoquímico que nos proporcionó información valiosa sobre la presencia de metabolitos secundarios. Se identificó la presencia de varios compuestos fitoquímicos pero los más importantes y de nuestro interés los taninos, los cuales son conocidos por su potencial efecto antioxidante, ideal para la realización de una forma farmacéutica semisólida.
- Se concluye que la concentración máxima de la media inhibitoria IC_{50} del extracto fue de 19.134 $\mu\text{g/ml}$ y el IC_{50} de nuestro control positivo el ácido ascórbico fue de 21.908 $\mu\text{g/ml}$ son las cantidades necesarias para disminuir la concentración inicial de DPPH* al 50%. Estos resultados nos indican que el extracto hidroalcohólico de guarango (*Caesalpinia spinosa*) tienen mayor capacidad antioxidante que ácido ascórbico y por lo tanto es ideal para nuestra formulación, comprobando de esta manera la eficacia del producto.
- La formulación idónea fue sometida a varias pruebas de control de calidad del producto terminado, se analizó desde las características organolépticas, parámetros fisicoquímicos hasta microbiológicos, todas las pruebas cumplieron los requisitos establecidos por la USP#28 y NTE INEN 2867 para cosméticos, por lo tanto, la crema antioxidante se encuentra en condiciones óptimas, adecuadas y seguras para el uso y consumo humano.

5.2. Recomendaciones

- Realizar estudios de estabilidad a largo plazo de la crema antioxidante elaborada a base del extracto hidroalcohólico de las vainas de guarango (*Caesalpinia spinosa*), con el objetivo de asegurar la completa estabilidad del producto y determinar que es apto para el consumo humano.
- Continuar con estudios de la actividad antioxidante de la crema, buscar métodos cromatográficos para cuantificar el porcentaje de taninos presentes en las vainas de guarango y comparar los métodos realizados con otros métodos de determinación, para de esta forma asegurar la eficacia de la crema.

- Realizar un mayor número de investigaciones de esta especia vegetal con el objetivo de realizar nuevas formas farmacéuticas que contribuyan con el incremento de Fito cosméticos en nuestro país y por ende un aumento en la economía.

BIBLIOGRAFÍA

ACOFARMA. *Fichas de información técnica.* [blog] España: Acofarma, 2019. [Consulta 12 noviembre 2023]. Disponible en: <https://formulasmagistrales.acofarma.com/idb/descarga/3/fe433ef274cc0c0e.pdf>

AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y SANITARIOS. *Formulario nacional.* [blog] España: AEMPS, 2020 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/formulario-nacional/>

ALMAZÁN, Diana. *Gel, emulsión, loción y crema ¿cuál es la diferencia? Chok chok.* [blog] Colombia: Chok chok, 2022 [Consulta 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://chokchokbeauty.com/blogs/skincareblog/gel-emulsion-locion-y-crema-cual-es-la-diferencia>

ÁLVAREZ, Adrienne. Nuevos aportes al perfil farmacognóstico y farmacológico de la especie *boldoa purpurascens*. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Central Marta Abreu de las Villas. Cuba. 2018, págs. 19-27. [Consulta 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/server/api/core/bitstreams/d5fd6594-9a19-4cfb-b81c-21a9ed1357f2/content>

ÁLVAREZ, Néstor. *Fitocosméticos* [en línea] 1ra ed. España: AMV Ediciones, 2012 [Consulta 21 noviembre 2023]. Disponible en: <https://amvediciones.com/inicio/357-fitocosmeticos.html>

ARCSA. *Guía de estabilidad de productos cosméticos. ANVISA* [blog] Ecuador: ARCSA, 2005 [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.virtualpro.co/biblioteca/guia-de-estabilidad-de-productos-cosmeticos>

ARCSA. *Instructivo externo requisitos para la inscripción, reinscripción, homologación y modificación del registro sanitario de medicamentos.* [en línea] 3ra ed. Ecuador, 2021 [Consulta 4 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2022/04/IE-B.3.2.1-MG-01_Requisitos-para-la-inscripcion-reinscripcion-homologacion-modificacion-del-registro-sanitario-de-medicamentos-en-general-Version-3.0.pdf

ARGUELLO, Stalin et al. "El guarango en el cantón guano de la provincia de Chimborazo – Ecuador". *Redalyc* [en línea] 2017, (Ecuador), vol. 20 (1), págs. 43-50. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/816/81652135005.pdf>

ARIAS, Andrea. "Revisión el exposoma, entendiendo el envejecimiento cutáneo. Crónicas científicas". *Crónicas científicas* [en línea] 2020, (México), vol. 14(4), págs. 48-59 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.cronicascientificas.com/images/ediciones/edicion14/exposoma.pdf>

ÁVALOS, Adolfo et al. "Metabolismo secundario de plantas". *Reduca (Biología)*. [en línea] 2009, (España), vol. 2(3), págs. 119-145. [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/26b94db5-92de-4aaf-8822-8f063c180904/content>

AVELLO, Marcia et al. "Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección". *Scielo*. [en línea] 2006. (Chile), vol. 2(1), págs. 161-172 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/atenea/n494/art10.pdf>

AVILÉS, Renata et al. "Actividad antioxidante, polifenoles totales y contenido de taninos de extractos de tara, caesalpinia spinosa". *Revista peruana de química e ingeniería química*. [en línea] 2010, (Perú), vol. 13(2), págs. 5-11. [Consulta 10 noviembre 2023]. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4588/3668>

AVILÉS, Rosa. Estudio químico y biológico de extractos de la hoja de tara (*Caesalpinia spinosa*). [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Nacional Mayor San Marcos. Perú. 2018, pág. 38. [Consulta 21 noviembre 2023]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/10894/Aviles_or.pdf?sequence=3&isAllowed=y

BERMUDEZ, Alexis et al. "La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales". *Scielo*. [en línea] 2005, (Venezuela), vol. 30(8), págs. 453-459. [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005000800005

BLANCO, Misael. Efecto de la extracción acuoso e hidroalcohólica sobre la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara". [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Peruana de los Andes. Perú. 2023, págs. 49-55.

[Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en:
<https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/5416>

BUENDÍA, Agustín et al. "Anatomía y fisiología de la piel" *Grupo Aula Médica* [en línea] 2020, (España), vol. 2(1), págs. 2-27. [Consulta 28 noviembre 2023]. Disponible en:
[https://www.berri.es/pdf/MANUAL%20DE%20DERMATOLOGIA%E2%80%9A%20%20Vols.%20\(Tapa%20Dura\)/9788478856282](https://www.berri.es/pdf/MANUAL%20DE%20DERMATOLOGIA%E2%80%9A%20%20Vols.%20(Tapa%20Dura)/9788478856282)

CABALLERO, Verónica et al. "Traditional ecological knowledge and medicinal plant diversity in ecuadorian amazon home gardens". *Global ecology and conservation. Science Direct.* [en línea] 2019. (España), vol. 17(1), págs. 2-22 [Consulta 26 noviembre 2023]. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2351989418303524>

CALLOHUARI, Rosalía et al. "Efecto gastroprotector y capacidad antioxidante del extracto acuoso de las vainas de caesalpinia spinosa ‘tara’, en animales de experimentación". *Scielo.* [en línea] 2017, (Perú), vol. 78(1), págs. 6-61. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832017000100010&script=sci_abstract

CAMACHO, Marco et al. "Las defensas físico-químicas de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes". *Scielo* [en línea] 2020, (México), vol. 38(2), págs. 443-453. [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en:
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792020000300443

CAMERO, Lirio. *Formulación magistral en la práctica profesional. Barquisimeto* [en línea] 1ra ed. Perú: Fundación Buría, 2004. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en:
<https://isbn.cloud/9789806087286/formulacion-magistral-en-la-practica-profesional/>

CEPEDES, Andrea. Influencia de la temperatura, solvente y tipo de vaina en la extracción de taninos de *Caesalpinia spinosa* (tara) por percolación y relación con su actividad antioxidante. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Católica de Santa María. Perú, 2023, págs. 30-88. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en:
<https://repositorio.ucsm.edu.pe/server/api/core/bitstreams/1d3a38c8-5902-4869-b46a-420eac28c5db/content>

CHAMBI, Flor et al. "Antioxidant potential of hydrolyzed polyphenolic extracts from tara (*Caesalpinia spinosa*) pods". *Industrial crops and products. Science direct.* [en línea] 2013,

(Estados Unidos), vol. 47(2), págs. 168-175. [Consulta 28 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092666901300126X>

CHARCO, Jhony. Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de guarango (*Caesalpinia spinosa*), nogal (*Juglans regia*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) en ratones (*Mus musculus*). [en línea] (Trabajo de titulación). ESPOCH. Ecuador, 2015, págs. 50-55. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3945/1/56T00517%20UDCTFC.pdf>

DEHESA, Marco. Control de calidad de los fitofármacos: ecuador uso y comercio de plantas medicinales. Situación actual y aspectos importantes para su conservación. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador, 2002, págs. 139-152. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8404/1/Control%20de%20calidad.pdf>

DE LA TORRE, Lucía. *La tara: beneficios ambientales y recomendaciones para su manejo sostenible en relictos de bosque y sistemas agroforestales.* [en línea] 1ra ed. Perú: condesan, 2018 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://condesan.org/wp-content/uploads/2018/10/Libro-Tara-Condesan-2.pdf>

DORMAN, Hilman y HILTUNEN, Rose. "Reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*satureja hortensis* L.) Extract and subfractions". *Science Direct. unsult* [en línea] 2004, (Estados Unidos). vol. 88(2), págs. 3-7. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814604000895>

DOSTERT, Nicolas et al. "Factsheet: datos botánicos de tara. *Caesalpinia spinosa* (molina) kuntze". *Botcunsult* [en línea] 2009, (Perú), vol. 1(1), págs. 3-7. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: http://www.botconsult.com/downloads/Tara_factsheet_final.pdf

ESTHER, Didac et al. "Envejecimiento cutáneo". *Elsevier* [en línea] 2007, (España), vol. 21(3), págs. 64-68. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-envejecimiento-cutaneo-13100395>

FERRARO, Graciela et al. *Fitocosmética : fitoingredientes y otros productos naturales.* [en línea] 1ra ed. Argentina: EPUB, 2015 [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en:

<https://books.google.co.ve/books?id=9uBDDAAAQBAJ&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>

GONZALEZ, Leyla et al. "Productos naturales en Ecuador: revisión fitoquímica y análisis". *Scielo*. [en línea] 2022. (Ecuador), vol. 1(1), págs. 191-215 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://books.scielo.org/id/4kqtv/pdf/tatiana-9789978108260-10.pdf>

GUERRA, Elejalde. "Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes". *Scielo* [en línea] 2001, (España), vol. 18(6), págs. 50-59. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>

GUPTA, Shalini. "Creams: a review on classification, preparation methods, evaluation and its". *Journal of drug delivery & therapeutics*. [en línea] 2020, (México), vol. 10(5), págs. 281-289. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/4430>

HIDALGO, Bryan. Evaluación de la seguridad in vitro de los extractos de *Oreocallis grandiflora* (lam.) R.br. Y *Passiflora manicata* (juss.) Pers., para su potencial aplicación en protectores solares. [en línea] (Trabajo de titulación). ESPOCH. Ecuador, 2019, págs. 10-35. [Consulta 2 diciembre 2023]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/9707/1/56T00841.pdf>

HOSSAIN, Nazmul. Y AFRIN, Shadia. "Phytochemical investigation of oroxyllum indicum bark". *Daffodil International University* [en línea] 2016. (Bangladesh), vol. 3(6), págs. 594-600 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/308688292_PHYTOCHEMICAL_INVESTIGATION_OF_OROXYLLUM_INDICUM_BARK

INATURALIST. *Guarango tara spinosa*. [blog] Ecuador, 2020 [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/768539-tara-spinosa>.

INEN. Requisito para las hierbas aromáticas [en línea] 2007, (Ecuador) pág. 2. [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://faolex.fao.org/docs/pdf/ecu69280.pdf>

KUKLINSKI, Claudia. *Farmacognosia*. 1999. 3ra ed. España: OMEGA, 1999, págs. 112-117.

LOBO, Valeria et al. "Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. PubMed Central". *PGCOF Revista* [en línea] 2010, (India), vol. 4(8), págs. 118-126. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249911/pdf/PRev-4-118.pdf>

LÓPEZ, Tadeo. "Plantas medicinales". *Elsevier*. [en línea] 2008. (México), vol. 2(1), págs. 82-87 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-plantas-medicinales-13120069>

MARTINI, Marie. *Introducción a la dermofarmacia y a la cosmetología*. [en línea] 2da ed. España: Editorial Acribia, 2005, pág. 300 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.editorialacribia.com/libro/introduccion-a-la-dermofarmacia-y-a-la-cosmetologia_54319/

MERINO, Jesús. "La piel: estructura y funciones". *Universidad de Cantabria* [en línea] 2020, (Perú), vol. 1(1), págs. 1-7. [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/715/course/section/397/Tema%252011-Bloque%2520II-La%2520Piel.%2520Estructura%2520y%2520Funciones.pdf>

METTLER, Toledo. *Índice de refracción: definición y cómo calcularlo* [blog] España: MT, 2020. [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.mt.com/es/es/home/applications/Application_Browse_Laboratory_Analytics/Refractive_index/definition_and_measurement.html

MIRANDA, Migdalia et al. *Farmacognosia y productos naturales*. [en línea] 1ra ed. Cuba: Editorial poligráfica Félix Varela, 2001, págs. 30-110 [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://isbn.cloud/9789592581296/farmacognosia-y-productos-naturales/>

MUJICA, Viky et al. "Formulación de un producto cosmético con propiedades antiarrugas a partir del aceite de semilla de merey (*Anacardium occidentale L*)". *Scielo*. [en línea] 2010, (Venezuela), vol. 25(2), págs. 119-131. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0798-40652010000200013&script=sci_abstract

MUTHONI, Beatrice et al. "In vitro antioxidant activities of methanolic extracts of caesalpinia volkensii harms., vernonia lasiopus o. Hoffm., and acacia hockii de wild". *Hindawi Based Complementary and Alternative Medicine* [en línea] 2020, (Kenya), vol. 2(1), pág. 10. [consulta

29 noviembre 2023]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7537683/pdf/ECAM2020-3586268.pdf>

NASPUD, Maritza. Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólicos del fruto de mora (*rubus glaucus benth*) obtenidos con tres pretratamientos térmicos. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador, 2018, págs. 24-28. [Consulta 2 diciembre 2023]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16411/1/UPS-CT007983.pdf>

NTE INEN. INEN 2867: Productos cosméticos-requisitos. [en línea] 2015, (Ecuador) pág. 5. [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.scribd.com/document/436803423/NTE-INEN-2867>

NUÑEZ, Wilder y QUISPE, Raomir. Evaluación antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de la caesalpinia spinosa "Tara". [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú, 2015, pág. 90. [Consulta 2 diciembre 2023]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/4484/Nu%c3%b1ez_ew.pdf?sequence=1&isAllowed=y

PUJOL, Anairis et al. "Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta *Sapindus saponaria* que crece en Cuba". *Revista Bionatura* [en línea] 2020. (Cuba), vol. 5(3), págs 1209-1215 [Consulta 7 noviembre 2023]. Disponible en: https://revistabionatura.com/files/2020_nplxrc67.05.03.7.pdf

RAMOS, Irene. Capacidad antioxidante in vitro y actividad regeneradora in vivo de una crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (kunth) MC Vaugh Camu Camu. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú, 2017, pág. 57. [Consulta 2 diciembre 2023]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6997/Ramos_gi.pdf?sequence=2&isAllowed=y

RODRÍGUEZ, Oscar. "Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* S L. (PAPAVERACEAE)". *Revista de tecnología*, [en línea] 2005, (Colombia), vol. 14(2), págs. 21-26. [Consulta 12 noviembre 2023]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6041492>

RUCHI, Gabriel et al. "Capacidad antioxidante de algunas plantas comestibles y cicatrizantes en omán.oman". *Food chemistry*. [en línea] 2004, (Perú), vo. 2(1), págs. 465-470. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/tesis/QF1182.pdf>

RUIZ, Martha. Determinación de la actividad antioxidante. Guía de laboratorio [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Simón Bolívar. Venezuela, 2020, págs. 1-7. [Consulta 2 diciembre 2023]. Disponible en: <https://bonga.unisimon.edu.co/bitstream/handle/20.500.12442/7986/Gu%c3%ada%20de%20Determinaci%c3%b3n%20de%20la%20actividad%20antioxidante.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

SALAS, Lilia et al. Composición fitoquímica y actividad antioxidante en tres variedades de albahaca por efecto de distintos solventes. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* [en línea] 2022, (México), vol. 28(2), págs. 113-120. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v13nspe28/2007-0934-remexca-13-spe28-113.pdf>

SAN MILLÁN, Raquel. *Los antioxidantes de nuestras bebidas*. [blog] Chile: Raw organic hydration, 2022 [Consulta 7 noviembre 2023]. Disponible en: <https://rawsuperdrink.com/blogs/news/los-antioxidantes-de-nuestras-bebidas>

SÁNCHEZ, Pamela. Estudio y caracterización fisicoquímica de harina de la vaina de tara (caesalpinia spinosa) como insumo industrial, para mercados de exportación. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Nacional de San Agustín. Perú, 2018, pág. 77. [Consulta 2 diciembre 2023]. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNSA_a12f7ca7f45a41ae63aaae4349913cd1

SKOWYRA, Mónica et al. "Antioxidant properties of aqueous and ethanolic extracts of tara (caesalpinia spinosa) pods in vitro and in model food emulsions". *Journal of the science of food and agriculture* [en línea] 2014, (Estados Unidos), 94(5), págs. 911-918. [Consulta 28 noviembre 2023]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23929224/>

SORIA, Nélica "Las plantas medicinales y su aplicación en la salud pública". *Scielo* [en línea] 2018, (Paraguay), vol. 8(1), págs. 7-8. [Consulta 2 noviembre 2023]. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/rspp/v8n1/2307-3349-rspp-8-01-7.pdf>

TOVAR, Jennifer. Determinación de la actividad antioxidante por dpph y abts de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera. [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Tecnológica

de Pereira. Colombia, 2013, págs. 42-80. [Consulta 2 diciembre 2023]. Disponible en: <https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/28bb3599-16cd-4c41-9c48-0a0dc4a9b5e2/content>

URGILES, Katherine. Elaboración de una crema celulolítica con distintas concentraciones de extractos hidroalcohólicos de ñachag (*Bidens andicola*), alcachofa (*Cynara cardunculus l.*), café (*Coffea arabica*) y romero (*Rosmarinus officinalis*). [en línea] (Trabajo de titulación). ESPOCH. Ecuador, 2019, pág. 59 [Consulta 21 diciembre 2023]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/9710/1/56T00844.PDF>

VILA, José. *Tecnología farmacéutica volumen I: aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas.* [en línea] 1ra ed. España: Editorial Síntesis, 1999 [Consulta 7 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.academia.edu/25711431/TECNOLOGIA_FARMACEUTICA_Volumen_I_Aspectos_fundamentales_de_los_sistemas_farmac%C3%A9uticos_y_operaciones_b%C3%A1sicas

YAMBAY, Ruth. Elaboración y control de calidad de una pomada antiinflamatoria a base de *Aristeguietia glutinosa* [en línea] (Trabajo de titulación). ESPOCH. Ecuador, 2022, pág. 60 [Consulta 21 diciembre 2023]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17390/1/56T01094.pdf>

ZAMORA, Juan. "Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud". *Revista chilena de nutrición* [en línea] 2007, (Chile), vol. 34(1), págs. 17-26. [Consulta 29 noviembre 2023]. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002

ANEXOS

ANEXO A: CERTIFICADO HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)



Ofc.No.031.CHEP.2021

08 de febrero del 2024

A QUIEN CORRESPONDA

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente certifico solicitado por Angie Ximena Suárez Mayacela con CI: 0605525997, tesista de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias, Carrera de Bioquímica y Farmacia, con el tema: **ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DE LAS VAINAS DE GUARANGO (*Caesalpinia spinosa*) Y DESARROLLO DE UNA FORMA FARMACÉUTICA SEMISÓLIDA**, se identificó la especie: *Caesalpinia spinosa*., pertenece a la familia *Fabaceae*, en base de los registros de herbario; las muestras depositadas se archivarà en un año para los fines pertinentes. Es todo cuanto puedo decir en honor a la verdad y el interesado puedo usar el presente certificado como crea conveniente.

Atte.



Ing. Jorge Caranqui Msc.
RESPONSABLE
HERBARIO ESPOCH

HERBARIO
FACULTAD DE
RECURSOS
NATURALES

ANEXO B: PREPARACIÓN DE LA DROGA CRUDA



Moler la droga cruda



Tamizar la droga cruda

ANEXO C: CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA



Determinación de humedad



Determinación de cenizas

ANEXO D: TAMIZAJE FITOQUÍMICO



Tubos con muestra y reactivo

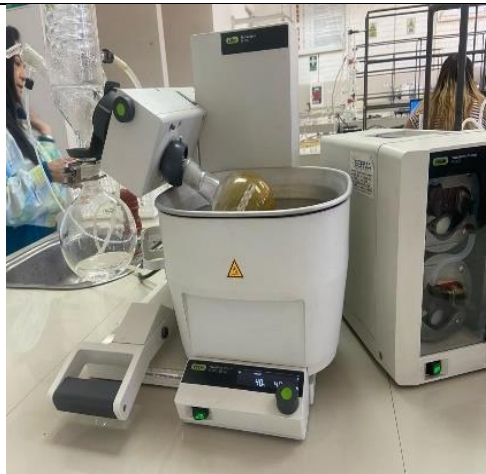


Coloración verde intensa en el tubo con Cl_3Fe

ANEXO E: PREPARACIÓN DEL EXTRACTO



Filtrar la droga cruda

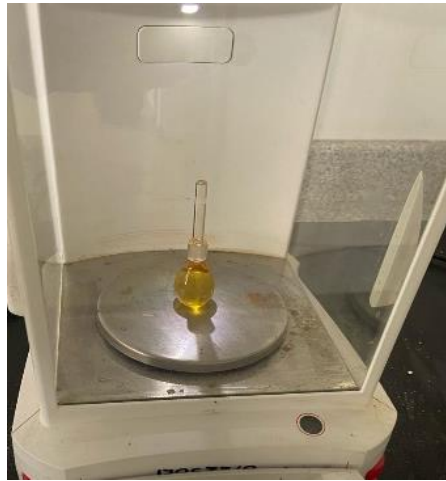


Poner el extracto en el rotavapor

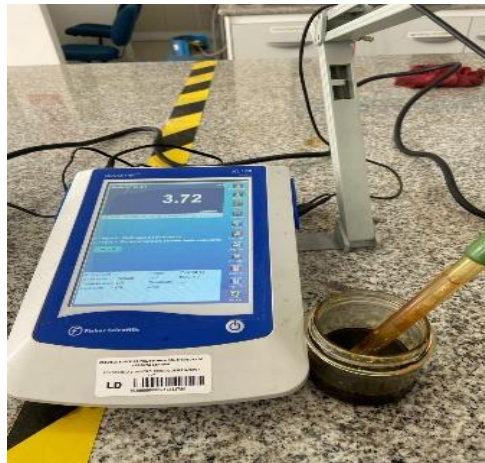


Pesar el extracto hidroalcohólico

ANEXO F: CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO



Densidad relativa del extracto



pH del extracto

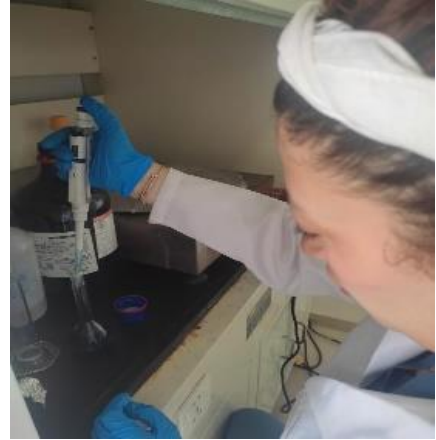


Índice de refracción del extracto

ANEXO G: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DPPH



Reactivo DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)



Preparación del reactivo de DPPH



Preparación del ácido ascórbico



Preparación del extracto Hidroalcohólico



Medición de las absorbancias

ANEXO H: FORMULACIÓN DE LA CREMA ANTIOXIDANTE



Preparación de la crema base



Colocar el extracto de guarango en la crema base

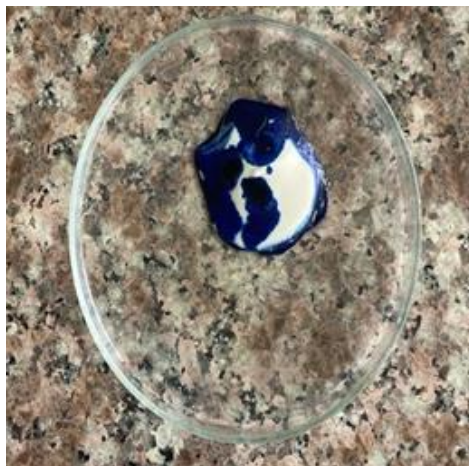
ANEXO I: CONTROL DE CALIDAD FISICOQUÍMICO DE LA CREMA ANTIOXIDANTE



Determinación del pH



Modificación del pH con hidróxido de sodio

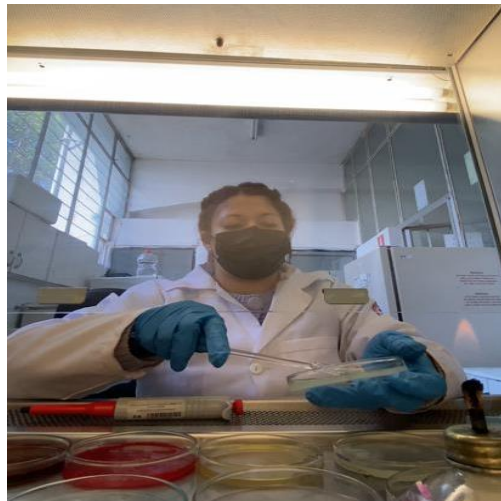


Determinación del signo de emulsión

ANEXO J: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA ANTIOXIDANTE



Preparación de agares



Sembrado en los agares PCA, EMB, Cetrimida y sangre





Observación de resultados en los medios de cultivo



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 29/ 05 / 2024

| |
|---|
| INFORMACIÓN DEL AUTOR |
| Nombres – Apellidos: Angie Ximena Suárez Mayacela |
| INFORMACIÓN INSTITUCIONAL |
| Facultad: Ciencias |
| Carrera: Bioquímica y Farmacia |
| Título a optar: Bioquímica Farmacéutica |
| <p style="text-align: center;"> Dra. Verónica Mercedes Cando Brito, M.Sc. Director del Trabajo de Titulación</p> <p style="text-align: center;"> Ing. Violeta Maricela Dalgo Flores, M.Sc. Asesor del Trabajo de Titulación</p> |

