



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

**“FORMULACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR A BASE DE**  
***Oreocallis grandiflora*”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**  
**TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL**

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: MARÍA JOSÉ POVEDA SUÁREZ**

**DIRECTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA, M.Sc.**

Riobamba - Ecuador  
2019

**©2019, María José Poveda Suárez**

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.

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

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo experimental:

**FORMULACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR A BASE DE *Oreocallis grandiflora***, de responsabilidad de la Señorita María José Poveda Suárez, ha sido prolijamente revisado por los miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

BQF. Diego Renato Vinueza Tapia, M.Sc.  
**DIRECTOR DE TRABAJO  
DE TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

BQF. Gisela Alexandra Pilco Bonilla, M.Sc.  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, María José Poveda Suárez, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

---

María José Poveda Suárez

C.I. 060423596-0

## **DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD**

Yo, María José Poveda Suárez soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

---

María José Poveda Suárez

## **DEDICATORIA**

### **A Dios.**

Por haberme permitido llegar a este punto y brindado las fuerzas necesarias para lograr mis objetivos, además de su infinito amor y bondad.

### **A mi madre.**

Por ser un pilar fundamental en mi vida, por el apoyo incondicional y haberme inculcado grandes valores que no sólo me formaron como persona sino como profesional, por guiarme constantemente por el camino correcto y por su inagotable amor y paciencia.

### **A mis hermanos.**

Por brindarme su cariño y apoyo incondicional.

María José Poveda S.

## **AGRADECIMIENTO**

Le agradezco a Dios por darme la sabiduría, apoyo y fortaleza necesaria en los momentos de debilidad y frustración.

A mi madre Amparo, que con su apoyo constante y sabias palabras me supo brindar el aliento para dar cada paso y poder cumplir mis metas.

A mis hermanos Patricio y Javier por su apoyo incondicional.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo que me dio la apertura para formarme como profesional. Al grupo de investigación GIPRONAF, en especial al BQF. Diego Vinueza por sus enseñanzas, valiosos conocimientos, amistad, motivación y en especial brindarme consejos que me formarán como profesional, inculcándome que la honestidad y el trabajo duro son atributos que caracterizan a grandes personas.

A mis amigos por su compañía y apoyo en todo momento.

María José Poveda S.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>XVII</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>XVIII</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>

### **CAPÍTULO I**

<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1 Luz solar</b> .....	<b>5</b>
<b>1.2 Radiación ultravioleta</b> .....	<b>5</b>
<b>1.3 Tipos de radiación UV</b> .....	<b>6</b>
<i>1.3.1 UVA</i> .....	<i>6</i>
<i>1.3.2 UVB)</i> .....	<i>6</i>
<i>1.3.3 UVC</i> .....	<i>6</i>
<b>1.4 Factores que determinan la intensidad de la radiación UV</b> .....	<b>7</b>
<i>1.4.1 Altitud</i> .....	<i>7</i>
<i>1.4.2 Latitud</i> .....	<i>7</i>
<i>1.4.3 Estación del año</i> .....	<i>7</i>
<i>1.4.4 Espesor de la capa de ozono</i> .....	<i>7</i>
<i>1.4.5 Nubosidad</i> .....	<i>7</i>
<i>1.4.6 Efecto de reflexión</i> .....	<i>7</i>
<i>1.4.7 Factores atmosféricos</i> .....	<i>7</i>
<b>1.5 Efectos de la radiación UV en la salud</b> .....	<b>7</b>
<b>1.6 Informe Hiperión</b> .....	<b>8</b>
<b>1.7 La piel</b> .....	<b>9</b>

<b>1.8</b>	<b>Radiación UV y cáncer de piel</b> .....	<b>9</b>
1.8.1	<i>Incidencia del cáncer en el Ecuador</i> .....	10
<b>1.9</b>	<b>Fototipos cutáneos</b> .....	<b>11</b>
<b>1.10</b>	<b>Fotoprotección</b> .....	<b>12</b>
<b>1.11</b>	<b>Factor de protección solar (FPS)</b> .....	<b>14</b>
<b>1.12</b>	<b>Filtros solares</b> .....	<b>14</b>
1.12.1	<i>Filtros físicos</i> .....	15
1.12.2	<i>Filtros químicos</i> .....	15
1.12.3	<i>Filtros biológicos</i> .....	16
<b>1.13</b>	<b>Flavonoides y actividad fotoprotectora</b> .....	<b>16</b>
<b>1.14</b>	<b>Formulaciones de fotoprotectores</b> .....	<b>17</b>
<b>1.15</b>	<b>Familia Proteaceae</b> .....	<b>18</b>
<b>1.16</b>	<b><i>Oreocallis grandiflora</i></b> .....	<b>18</b>
1.16.1	<i>Clasificación científica</i> .....	19
1.16.2	<i>Historia de <i>Oreocallis grandiflora</i></i> .....	19
1.16.3	<i>Características botánicas</i> .....	19
1.16.4	<i>Distribución botánica</i> .....	20
1.16.5	<i>Usos medicinales</i> .....	20
1.16.6	<i>Composición química</i> .....	20

## **CAPÍTULO II**

<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>22</b>
<b>2.1.</b>	<b>Lugar de la investigación</b> .....	<b>22</b>
<b>2.2.</b>	<b>Recolección del material vegetal</b> .....	<b>22</b>
<b>2.3.</b>	<b>Identificación del material vegetal</b> .....	<b>22</b>
<b>2.4.</b>	<b>Acondicionamiento de la materia vegetal</b> .....	<b>22</b>
<b>2.5.</b>	<b>Control de calidad de la droga cruda</b> .....	<b>23</b>

2.5.1.	<i>Determinación del contenido de humedad</i> .....	23
2.5.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i> .....	23
2.5.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i> .....	24
2.5.4.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i> .....	24
<b>2.6.</b>	<b>Tamizaje fitoquímico</b> .....	<b>25</b>
2.6.1.	<i>Esquema de extracción de metabolitos secundarios</i> .....	26
2.6.2.	<i>Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo</i> .....	26
2.6.3.	<i>Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico</i> .....	27
2.6.4.	<i>Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso</i> .....	27
2.6.5.	<i>Fundamento teórico de los ensayos para tamizaje fitoquímico</i> .....	27
<b>2.7.</b>	<b>Obtención y estandarización del extracto seco de las hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i></b> .....	<b>31</b>
<b>2.8.</b>	<b>Determinación de fenoles totales</b> .....	<b>31</b>
<b>2.9.</b>	<b>Determinación de flavonoides</b> .....	<b>32</b>
<b>2.10.</b>	<b>Determinación del factor de protección solar (FPS) <i>in vitro</i></b> .....	<b>33</b>
<b>2.11.</b>	<b>Desarrollo del protector solar con extracto seco de <i>Oreocallis grandiflora</i></b> .....	<b>34</b>
<b>2.12.</b>	<b>Determinación del FPS en las formulaciones</b> .....	<b>36</b>
<b>2.13.</b>	<b>Análisis de datos</b> .....	<b>36</b>
<b>2.14.</b>	<b>Control de calidad del protector solar</b> .....	<b>37</b>
2.14.1.	<i>Control de los parámetros organolépticos</i> .....	37
2.14.2.	<i>Control de parámetros físicos</i> .....	37
2.14.3.	<i>Control de los parámetros químicos</i> .....	37
2.14.4.	<i>Control microbiológico</i> .....	38
<b>2.15.</b>	<b>Etiquetado y envasado del protector solar</b> .....	<b>39</b>

## CAPÍTULO III

<b>3.</b>	<b>MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1.</b>	<b>Control de calidad de la droga cruda.....</b>	<b>41</b>
3.1.1.	<i>Determinación del contenido de humedad.....</i>	<i>41</i>
3.1.2.	<i>Determinación de cenizas totales.....</i>	<i>41</i>
3.1.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua .....</i>	<i>42</i>
3.1.4.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico .....</i>	<i>42</i>
<b>3.2.</b>	<b>Tamizaje fitoquímico .....</b>	<b>42</b>
<b>3.3.</b>	<b>Obtención y estandarización del extracto seco de las hojas de <i>Oreocallis</i> <i>grandiflora</i> .....</b>	<b>44</b>
<b>3.4.</b>	<b>Cuantificación de fenoles totales.....</b>	<b>44</b>
<b>3.5.</b>	<b>Cuantificación de flavonoides .....</b>	<b>46</b>
<b>3.6.</b>	<b>Factor de protección solar <i>in vitro</i> .....</b>	<b>48</b>
<b>3.7.</b>	<b>Formulaciones de los fotoprotectores.....</b>	<b>49</b>
<b>3.8.</b>	<b>Determinación del factor de protección solar en las formulaciones. ....</b>	<b>50</b>
<b>3.9.</b>	<b>Análisis estadístico .....</b>	<b>50</b>
<b>3.10.</b>	<b>Control de calidad del gel-crema .....</b>	<b>52</b>
3.10.1.	<i>Control microbiológico de la formulación ideal .....</i>	<i>53</i>
<b>3.11.</b>	<b>Envasado y etiquetado del fotoprotector .....</b>	<b>53</b>
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>55</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>56</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Tipo de radicación según la longitud de onda.....	5
<b>Tabla 2-1:</b>	Efectos nocivos en la salud por sobreexposición a radiación UV.....	9
<b>Tabla 3-1:</b>	Clasificación de los fototipos cutáneos.....	12
<b>Tabla 4-1:</b>	Propiedades fotoprotectoras de los agentes naturales.....	13
<b>Tabla 5-1:</b>	Clasificación del FPS según COLIPA.....	14
<b>Tabla 6-1:</b>	Sustancias usadas habitualmente como filtros físicos.....	15
<b>Tabla 7-1:</b>	Sustancias usadas habitualmente como filtros químicos.....	16
<b>Tabla 8-1:</b>	Flavonoides con propiedades fotoprotectoras.....	17
<b>Tabla 9-1:</b>	Principales vehículos de protectores solares.....	18
<b>Tabla 10-1:</b>	Clasificación científica de <i>Oreocallis grandiflora</i> .....	19
<b>Tabla 1-2:</b>	Variaciones de las formulaciones a base de <i>Oreocallis grandiflora</i> .....	35
<b>Tabla 1-3:</b>	Control de calidad de las hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i> .....	40
<b>Tabla 2-3:</b>	Resultados del tamizaje fitoquímico de las hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i> .....	42
<b>Tabla 3-3:</b>	Extracto seco de hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i> .....	43
<b>Tabla 4-3:</b>	Absorbancias del estándar de Ácido Gálico.....	44
<b>Tabla 5-3:</b>	Contenido de fenoles totales en las hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i> .....	44
<b>Tabla 6-3:</b>	Absorbancias del estándar de quercetina.....	45
<b>Tabla 7-3:</b>	Contenido de flavonoides en las hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i> .....	46
<b>Tabla 8-3:</b>	Absorbancias obtenidas en un rango de 290-320 nm.....	47
<b>Tabla 9-3:</b>	Resultados del Factor de protección solar (FPS).....	48
<b>Tabla 10-3:</b>	Resultados del FPS determinado en formulaciones.....	49
<b>Tabla 11-3:</b>	Análisis de varianza ANOVA.....	49
<b>Tabla 12-3:</b>	Test de Tukey, factor de protección solar.....	50
<b>Tabla 13-3:</b>	Control de calidad de los fotoprotectores.....	52
<b>Tabla 14-3:</b>	Resultado del análisis microbiológico.....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b>	Escala de radiación emitida en la zona ecuatorial.....	8
<b>Figura 2-1:</b>	Esquema de los mecanismos moleculares desencadenados por la radiación UV.....	10
<b>Figura 3-1:</b>	Tasa de incidencia de cáncer en el Ecuador en hombres.....	11
<b>Figura 4-1:</b>	Tasa de incidencia de cáncer en el Ecuador en mujeres.....	11
<b>Figura 5-1:</b>	Características estructurales de los principales tipos de flavonoides.....	16
<b>Figura 6-1:</b>	<i>Oreocallis grandiflora</i> .....	18
<b>Figura 7-1:</b>	Composición química de <i>Oreocallis grandiflora</i> .....	21
<b>Figura 1-2:</b>	Esquema de extracción de metabolitos secundarios.....	26
<b>Figura 2-2:</b>	Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo.....	26
<b>Figura 3-2:</b>	Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico.....	27
<b>Figura 4-2:</b>	Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso.....	27
<b>Figura 5-2:</b>	Relación entre el efecto eritemal y la intensidad de la radiación.....	33
<b>Figura 6-2:</b>	Límites microbiológicos según NTE-INEN 2867.....	38
<b>Figura 1-3:</b>	Etiqueta del protector solar.....	54

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Curva de calibración del Ácido Gálico .....	44
<b>Gráfico 2-3:</b>	Curva de calibración de Quercetina .....	46

## ÍNDICE DE ANEXOS

**Anexo A.** Marco legal para el uso y recolección de la planta

**Anexo B.** Identificación de la especie vegetal de estudio

**Anexo C.** POES de referencia para el control de calidad de las formulaciones

**Anexo D.** Prueba de Tukey

**Anexo E.** Secado y control de calidad de las hojas de *Oreocallis grandiflora*

**Anexo F.** Tamizaje fitoquímico de las hojas de *Oreocallis grandiflora*

**Anexo G.** Obtención del extracto seco, determinación de fenoles y flavonoides

**Anexo H.** Formulaciones y control de calidad

**Anexo I.** Envasado y etiquetado

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**UV:** Ultravioleta

**UVA:** Ultravioleta tipo A

**UVB:** Ultravioleta tipo B

**UVC:** Ultravioleta tipo C

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**IVU:** Índice ultravioleta

**EXA:** Agencia Espacial Civil Ecuatoriana

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**ROS:** Especies reactivas de oxígeno

**COLIPA:** Asociación Europea de Cosméticos, Productos de Tocador y Perfumería

**FPS:** Factor de Protección Solar

**INEN:** Servicio Ecuatoriano de Normalización

**MED:** Dosis mínima de eritema

**INCI:** Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos

**GAE:** Equivalentes de ácido gálico

**EqQ:** Equivalentes de quercetina

**HCl:** Ácido clorhídrico

**mL:** Mililitros

**nm:** Nanómetros

**rpm:** Revoluciones por minuto

**ppm:** Partes por millón

## RESUMEN

El presente trabajo de titulación tuvo como finalidad formular un protector solar a base de *Oreocallis grandiflora*. Para lo cual se realizó la recolección, acondicionamiento y control de calidad de la droga vegetal, posterior a ello, mediante el tamizaje fitoquímico se evaluó cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal denotando cantidades apreciables de compuestos fenólicos. Se obtuvo el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oreocallis grandiflora* y se concentró en el rotavapor hasta obtener el extracto seco. Mediante espectrofotometría se cuantificaron las concentraciones de fenoles y flavonoides obteniendo resultados de  $208.33 \pm 12.58$  mg/g y  $286.29 \pm 7.39$  mg/g de planta, respectivamente. Los valores elevados de los metabolitos mencionados podrían ser responsables de la actividad fotoprotectora ante la radiación UV nociva. Según la metodología descrita por Mansur se determinó el factor de protección solar (FPS) *in vitro* con un resultado de 48.789 a una concentración de 3000 ppm de extracto seco de *Oreocallis grandiflora*. Posteriormente, se realizaron las formulaciones de los fotoprotectores, en los cuales se varió la cantidad de emulgentes con el fin de evaluar si el FPS podría variar en dependencia de aquel cambio, de manera que las formulaciones con mayor cantidad de lecitina presentaron un mejor rendimiento, igualmente se estimó las características organolépticas, físicas, químicas y microbiológicas de los fotoprotectores con el fin de destacar a la mejor formulación. Finalmente, se realizó el envasado y etiquetado bajo las normas NTE INEN 2867 para brindar la información del producto al consumidor. Por tanto, se seleccionó a la formulación 2 como ideal dado que presenta características sensoriales agradables, pH óptimo, es inocuo, extensibilidad adecuada y FPS elevado. Se recomienda efectuar pruebas de estabilidad del producto para determinar el periodo de tiempo y las condiciones de almacenamiento en las cuales se conserva las especificaciones de seguridad, calidad e inocuidad.

**Palabras clave:** <CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES>, <BIOQUÍMICA>, <FOTOPROTECCIÓN>, <FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR (FPS) >, <RADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV)>, <EXTRACTO SECO>, <Cucharilla (*Oreocallis grandiflora*)>, <FOTOPROTECTORES>

## SUMMARY

The main objective of this work was to formulate a sunscreen based on *Oreocallis grandiflora*. To this end, the collection, conditioning and quality control of the vegetable drug was carried out, after which, through the phytochemical screening, the secondary metabolites present in the plant species were evaluated qualitatively, denoting appreciable amounts of phenolic compounds. The hydroalcoholic extract of the leaves of *Oreocallis grandiflora* was obtained and it was concentrated in the rotavapor until obtaining the dry extract. Through spectrophotometry, the concentrations of phenols and flavonoids were quantified, obtaining results of  $208.33 \pm 12.58$  mg/g and  $286.29 \pm 7.39$  mg/g of plant, respectively. The high values of the mentioned metabolites could be responsible for the photoprotective activity against harmful UV radiation. According to the methodology described by Mansur, the solar protection factor (SPF) was determined in vitro with a result of 48 789 at a concentration of 3000 ppm of dry extract of *Oreocallis grandiflora*. Subsequently, the photoprotector formulations were made, in which the amount of emulsifiers was varied in order to evaluate if the SPF could vary depending on that change, so that the formulations with the highest amount of lecithin presented a better performance. Likewise, the organoleptic, physical, chemical and microbiological characteristics of the photoprotectors were estimated in order to highlight the best formulation. Finally, the packaging and labeling was carried out under the NTE INEN 2867 standards to provide the product information to the consumer. Therefore, formulation 2 was selected as ideal since it has pleasant sensory characteristics, optimum pH, is safe, adequate extensibility and high SPF. It is recommended to carry out product stability tests to determine the period of time and storage conditions in which the safety, quality and safety specifications are conserved.

**Key Words:** <EXACT AND NATURAL SCIENCES>, <BIOCHEMISTRY>, <PHOTOPROTECTION>, <SOLAR PROTECTION FACTOR (FPS)>, <ULTRAVIOLET RADIATION (UV)>, <DRY EXTRACT>, <Cucharilla (*Oreocallis grandiflora*)>, <PHOTOPROTECTORS>.

## INTRODUCCIÓN

La capa de ozono es un sistema complejo que se expande por completo alrededor del planeta Tierra, su principal función es preservar la vida y actuar como filtro de la radiación ultravioleta nociva, absorbiendo del 97 al 99 % de ella (Thangavel y Kumar Reddy, 2011, p. 30).

El estudio de la radiación solar surgió en 1669 con Isaac Newton, quien descubrió el espectro de la luz visible en los colores del arcoíris, posterior a ello William Herschel en 1800 identifica la luz infrarroja y finalmente Johannn Wilhelm Ritter determina la radiación ultravioleta en 1801 (Radiacion Ultravioleta Y Salud, 2005, pp. 143–144).

Siendo las investigaciones antes mencionadas el punto de partida para la identificación de las clases de radiación UV existentes. Si bien en épocas pasadas no existía preocupación alguna por la incidencia de rayos UV sobre el planeta, hoy en día es uno de los principales problemas que le atañe a la humanidad, debido al deterioro de la capa de ozono (Mendoza et al., 2018, pp. 116–117).

Se han identificado tres tipos de radiación solar: UVA, UVB y UVC. El tipo UVB es parcialmente filtrada y por ende la responsable principal de los daños en la salud de los individuos y de los impactos negativos en el medio ambiente (PNUMA, n.d., p. 2).

El rápido agotamiento de las moléculas de ozono por sustancias generadas irresponsablemente por el hombre, hace que la capa se deteriore y pierda su actividad protectora y aumente la probabilidad de padecimientos como: eritema inmediato, fotoinmunosupresión, pigmentación de la piel y melanoma (Mansur et al., 2016, pp. 251–252).

En 1995 la Organización Mundial de la Salud (OMS) conjuntamente con otras entidades, determina el Índice Ultravioleta Solar Mundial y llegan a la conclusión que mientras más elevado sea éste, la probabilidad de padecer lesiones cutáneas y oculares aumenta (Mendoza et al., 2014, pp. 243–244). La exposición continua a rayos ultravioleta puede dar lugar al cáncer de piel, provocando alteraciones anómalas a nivel de las células escamosas y basales, desencadenando mutaciones o defectos genéticos y dando lugar a tumores malignos. Debiéndose principalmente al estrés oxidativo que da origen a radicales libres que pueden inducir modificaciones a nivel celular y fotoenvejecimiento (Blitz and Norton, 2008, p. 898).

En el mundo se diagnostican aproximadamente 5.4 millones de casos de cáncer de piel al año (Smith et al., 2018), en el Ecuador alrededor de 650 casos se presentan anualmente, los sectores de

la región Sierra tienen elevada probabilidad de padecer dicha afección, ya que la zona se encuentra a mayor altura y están expuestos perpendicularmente a los rayos UV (“Espinosa,” n.d., p. 51).

Según la OMS, el índice máximo de exposición solar ultravioleta para los humanos es 11 IVU, en el Ecuador la Agencia Espacial Civil Ecuatoriana, a través del Informe Hiperión indicó que en los sectores de Quito y Guayaquil al medio día, el índice promedia entre 14 y 24 IVU, valores muy elevados en dependencia de la tolerancia humana y potencialmente peligrosos para los individuos (Vinueza et al., 2018, pp. 276–277).

Diversos son los estudios que se han enfocado en el diseño y elaboración de productos que ayuden a prevenir modificaciones a nivel celular por la continua exposición a rayos ultravioleta. Sin embargo, dichas formulaciones están perdiendo eficacia, a causa de la necesidad de un factor de protección solar cada más elevado. Publicaciones recientes han demostrado que determinados metabolitos de especies vegetales pueden ayudar a absorber la radiación solar y estabilizar los radicales libres que se generan, estos compuestos han tomado gran importancia en investigaciones de fotoprotección, debido a que previenen el fotoenvejecimiento impidiendo que se originen especies reactivas de oxígeno y además son de bajo impacto ambiental (Inocente-Camones et al., 2014, pp. 66–67).

Si bien es cierto que las sustancias químicas proporcionan un efecto elevado de fotoprotección, no cabe duda que el uso de sustancias de origen vegetal podría cambiar la perspectiva de los fotoprotectores convencionales ya que, por medio del aprovechamiento de los recursos naturales, son varios los beneficios que se logran tanto para el individuo como para el medio ambiente.

Una investigación realizada por el Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (“IMEDEA - Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados,” n.d.), menciona que el uso de protectores solares se ha incrementado en los últimos años, creando un potencial impacto negativo sobre los ecosistemas marinos por los contaminantes químicos orgánicos e inorgánicos presentes en dichos productos. A pesar de ser cosmecéuticos (producto que contiene entre sus componentes principios con actividad farmacéutica) presentan sustancias que son generadoras de secuelas ecológicas, afectando el fitoplancton marino, los crustáceos, las algas, corales y los peces (Coppini, 2018).

La importancia de la investigación radica en crear una alternativa, que mediante el uso de plantas con propiedades fotoprotectoras como *Oreocallis grandiflora* conocida por poseer un alto índice de componentes útiles, se elabore un producto con un factor de protección elevado y destinado a

prevenir las posibles alteraciones celulares que puedan surgir por la radiación solar nociva (D. Vinueza et al., 2018, pp. 6–7).

*Oreocallis grandiflora* perteneciente a la familia Proteaceae, posee gran diversidad de metabolitos con actividades medicinales. Los estudios de dicha especie han revelado la presencia de compuestos polifenólicos, como los flavonoides que son los principales responsables de la actividad fotoprotectora contra la radiación UVB (D. Vinueza et al., 2018, pp. 6–7).

Los flavonoides están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y poseen actividades biológicas únicas, como antioxidantes y fotoprotectores, debido a su similitud estructural con los filtros químicos, los extractos de las plantas se han convertido en una importante investigación por las moléculas que presentan (Batista et al., 2018, pp. 3–4).

Los componentes seleccionados para la formulación del protector solar son de bajo impacto ambiental, altamente compatibles con la piel de los individuos, inocuos y de calidad.

En el análisis experimental se evalúa la calidad de la planta y del producto terminado, con el fin de garantizar que el fotoprotector se encuentre bajo las normas pertinentes y sea seguro para los consumidores.

La presente investigación tiene por objeto la formulación de un protector solar a base de *Oreocallis grandiflora*, cuyos estudios se realizaron en el Laboratorio de Productos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en la Facultad de Ciencias.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Formular un protector solar a base de *Oreocallis grandiflora*.

### **Objetivos Específicos**

- Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Oreocallis grandiflora*.
- Cuantificar el contenido de fenoles y flavonoides totales presentes en el extracto seco, mediante espectrofotometría.
- Evaluar el factor de protección solar del biocomplejo y del producto terminado según la metodología descrita por Mansur.
- Formular un fotoprotector a base del extracto seco de *Oreocallis grandiflora* con factor de protección elevado.
- Valorar los parámetros de calidad organolépticos, físico-químicos y microbiológicos del protector solar.
- Realizar el envasado y etiquetado del protector solar optimizado bajo las normas pertinentes.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

### 1.1 Luz solar

La luz solar es energía radiante electromagnética, constituida principalmente por el espectro de luz ultravioleta (100 a 400 nm), luz visible (400 a 760 nm) e infrarroja (760 a 1.800 nm), también están presentes longitudes de onda corta (ionizantes), y onda larga (microondas y radiofrecuencia), solo dos tercios de la energía mencionada, ingresa a la Tierra (Morales et al., 2006, p. 27).

La luz solar que llega está compuesta por 40% visible, 50% infrarroja y 10% ultravioleta. La luz visible e infrarroja son generalmente inocuas para el hombre (González, 2012).

**Tabla 1–1** Tipos de radiaciones según la longitud de onda

Clase de radiación	Longitud de onda
Rayos gamma	< 0.1 nm
Rayos X	0.1 – 100 nm
Ultravioleta C (UVC)	100 – 280 nm
Ultravioleta B (UVB)	280 – 320 nm
Ultravioleta A (UVA)	320 – 400 nm
Visible	400 – 700 nm
Infrarrojo A (IRA)	700 nm – 1.4 $\mu$ m
Infrarrojo B (IRB)	1.4 - 3.0 $\mu$ m
Infrarrojo C (IRC)	3.0 $\mu$ m – 1 mm

**Fuente:** (Ester, 2014, p. 237)

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

### 1.2 Radiación ultravioleta

La luz UV es una parte de la energía radiante que proviene del sol y constituye la porción más energética del espectro electromagnético que incide en la superficie terrestre (González-Púmariega Et Al., 2009, P. 70).

El sol es una fuente de energía muy importante para la vida, ya que es un componente importante para cumplir ciertas funciones del organismo humano, como aumentar el estado de ánimo, producción de endorfinas, regulación de la melatonina y la serotonina, sin embargo según datos del Instituto Nacional de Ciencias de Salud Ambiental y UV, la radiación se ha convertido en el

principal agente causante de lesiones en la piel debido al evidente deterioro de la capa de ozono que estamos atravesando en la actualidad (Costa et al., 2015, p. 413).

Cuando la radiación UV alcanza la piel, una parte es reflejada y otra se filtra a diferentes capas celulares hasta que el rayo se disperse, por lo tanto, la porción absorbida es la responsable de los daños tisulares. El grado de afectación producida por la irradiación UV, depende de factores como la intensidad de la radiación, tiempo de exposición y fototipo de cada individuo (Gilaberte and González, 2010, pp. 17–19).

La radiación ultravioleta se ha convertido en una gran amenaza para los seres que habitamos en la Tierra, la exposición continua a estos rayos puede generar cambios en el funcionamiento bioquímico del cuerpo humano, provocando daños a corto o largo plazo como el cáncer de piel (Sarkany, 2018).

### **1.3 Tipos de radiación UV**

Las radiaciones solares más cortas no llegan completamente a la atmósfera, de manera que a nivel de superficie terrestre solamente llega una parte y entre estas radiaciones se encuentran UVA, UVB y UVC (Katiyar et al., 2017, pp. 2–4).

**1.3.1 UVA.-** Banda de los 320 a los 400 nm, es la más cercana al espectro visible y no es absorbida por el ozono (Cortinas, 2013, p. 517).

**1.3.2 UVB.-** Banda de los 280 a los 320 nm, es absorbida casi totalmente por el ozono, algunos rayos llegan a la superficie de la Tierra, pero es un tipo de radiación dañina, especialmente para el ADN, provoca melanoma y otros tipos de cáncer de piel (Cortinas, 2013, p. 517).

**1.3.3 UVC.-** Banda de las radiaciones UV menores de 280 nm, este tipo de radiación es altamente peligroso, pero es absorbido casi completamente por el ozono y el oxígeno (Cortinas, 2013, p. 517).

Los niveles de penetración de los rayos UVB y UVA a nivel de la piel son diferentes. El 70% de la radiación UVB es absorbida por el estrato córneo de la epidermis, a diferencia de la radiación UVA que es absorbida entre el 70-80% por células de la dermis y melanocitos de la epidermis basal (Cabrera Morales y López-Nevot, 2006, pp. 26–27).

## **1.4 Factores que determinan la intensidad de la radiación UV**

- 1.4.1 Altitud.-** La intensidad de los rayos ultravioletas se incrementan con la altura, cada 300 metros de altitud aumenta 4% la capacidad eritematogena y por ende el riesgo de quemaduras (IDERMA, 2015).
- 1.4.2 Latitud. -** En la zona ecuatorial la radiación ultravioleta es superior debido a que incide perpendicularmente a la superficie terrestre. En el hemisferio norte los rayos solares inciden con mayor intensidad entre mayo y septiembre y en un espacio de tiempo comprendido entre el medio día y las primeras horas del atardecer (IDERMA, 2015).
- 1.4.3 Estación del año.-** Verano es la estación con mayor riesgo, ya que aumenta la perpendicularidad de la incidencia de los rayos (IDERMA, 2015).
- 1.4.4 Espesor de la capa de ozono.-** Las moléculas de ozono son las que absorben la radiación ultravioleta, así que la cantidad de estas sobre cada sector tiene relación directa con la intensidad de los rayos (IDERMA, 2015).
- 1.4.5 Nubosidad.-** Las nubes reducen escasamente los rayos ultravioleta que inciden en la superficie terrestre, así pues, el riesgo de sobreexposición a los rayos es mayor en los días nublados porque la sensación de calor es menor (IDERMA, 2015).
- 1.4.6 Efecto de reflexión. -** La incidencia directa de la radiación ultravioleta y la incidencia de la radiación reflejada, además de ciertas superficies hacen que se incremente la exposición a los rayos UV. Los tejidos blancos absorben y dejan pasar una alta proporción de la luz ultravioleta particularmente cuando están mojados (IDERMA, 2015).
- 1.4.7 Factores atmosféricos.-** La humedad, el viento, la contaminación son unos de los pocos factores que pueden afectar a la cantidad de radiación ultravioleta que incide sobre la superficie terrestre (IDERMA, 2015).

## **1.5 Efectos de la radiación UV en la salud**

La exposición continua a radiación ultravioleta A y B, pueden causar daños irreversibles en la piel, como el cáncer y generar un daño significativo tanto a la dermis como a las capas de la epidermis, la formación de radicales libres generados por la luz solar son los responsables de la degradación de los componentes celulares esenciales como el ADN y las proteínas, en los ácidos grasos se produce un daño oxidativo y la desestabilización de la membrana se convierte en una consecuencia irreversible, de igual manera puede dañar los ojos, especialmente la córnea que absorbe muy fácil estas radiaciones (Silva et al., 2016, p. 509).

La lesión por radiación UVA tiende a causar necrosis en las células endoteliales, afectando los vasos sanguíneos dérmicos. Dado que este tipo de radiación puede producir daño estructural al ADN y dañar el sistema inmunológico, puede llevar a la formación de cáncer. La misma se ha

relacionado con el 67% de los melanomas malignos por origen de los rayos UV (González-Púmariega et al., 2009, p. 71).

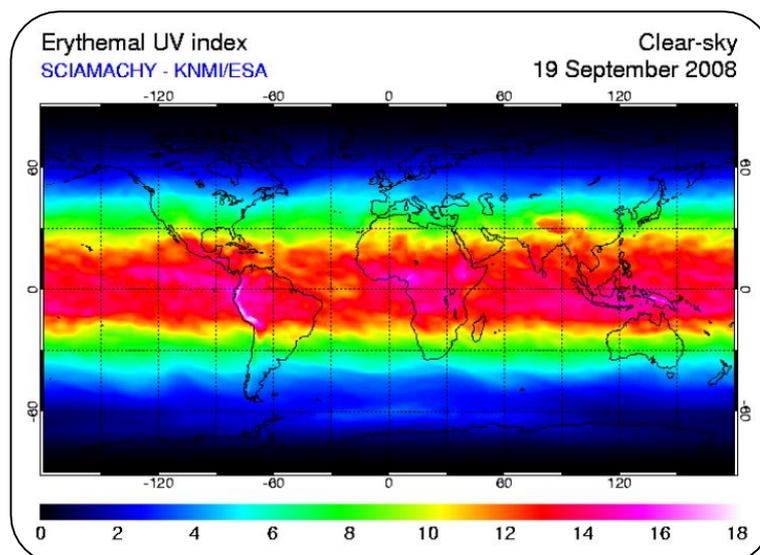
La radiación UVB es la principal causante de las quemaduras, es capaz de penetrar en la epidermis actuando principalmente a nivel de la capa basal de células, dañando el genoma de los queratinocitos, células vitales del tallo de la epidermis (González-Púmariega et al., 2009, p. 71).

## 1.6 Informe Hiperión

La Agencia Espacial Civil de Ecuador (EXA) emite un reporte del debilitamiento de la capa de ozono a la altura de la latitud ecuatorial, lo que supone que la zona, donde se encuentra el país, recibe radiación superior a la tolerable para la salud. Esa advertencia consta en el "Informe Hiperión" (Agencia Espacial Civil Ecuatoriana, 2008).

Es un problema que incide directamente en la población ecuatoriana, tal es el caso que se pidió llamar una declaratoria de Emergencia Nacional Climática, los sectores que se encuentran a alturas superiores del nivel del mar son los más afectados, entre las recomendaciones que sugiere, es el uso de protectores solares, con FPS 70 – 100, con el fin de evitar que los rayos solares causen daños a nivel celular ("Agencia Espacial Civil Ecuatoriana," 2008).

La cantidad y potencia de radiación que llega a todo el planeta es elevada en comparación a años anteriores, la cual representa una amenaza para toda la población ecuatoriana, colombiana, peruana cuyas partes más afectadas se encuentran en la subregión de estos países ("Agencia Espacial Civil Ecuatoriana," 2008).



**Figura 1-1.** Escala de radiación emitida en zona ecuatorial

**Fuente:** ("Agencia Espacial Civil Ecuatoriana," 2008).

## 1.7 La piel

La piel es la cubierta externa del cuerpo humano que confiere protección contra la radiación ultravioleta. Sin embargo, la exposición crónica a la radiación UV puede provocar muchos efectos, como el envejecimiento prematuro, el cáncer de piel y la reducción de la capacidad de respuesta inmune. Estos problemas de salud están directamente relacionados con la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Incluso presentando mecanismos de defensa antioxidantes, la piel podría verse afectada, cuando los mecanismos de defensa están desequilibrados, el estrés oxidativo podría dañar las membranas celulares, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos promoviendo su oxidación (Mansur et al., 2016, pp. 251–253).

**Tabla 2– 1** Efectos nocivos en la salud por sobreexposición a radiación UV

	<b>Efectos agudos</b>	<b>Efectos crónicos</b>
<b>Piel</b>	Eritema (enrojecimiento)	Cáncer de piel
	Quemaduras	Fotoenvejecimiento
<b>Ojos</b>	Fotoqueratitis	Catarata
	Fotoconjuntivitis	Cáncer de conjuntiva
<b>Sistema inmunitario</b>	Diminución general de la respuesta inmunitaria	
	Mayor riesgo de infecciones y reacciones alérgicas	
	Reducción de la efectividad de medicamentos y vacunas	

**Fuente:** (“Los efectos biológicos de la radiación ultravioleta,” 2016)

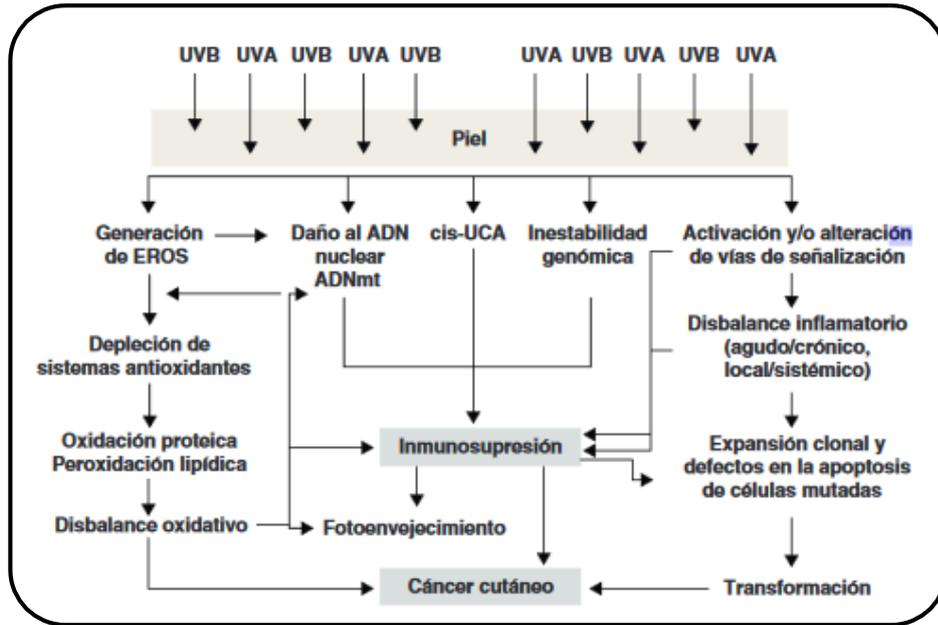
**Realizado por:** María José Poveda, 2019

## 1.8 Radiación UV y cáncer de piel

Las diversas modificaciones que sufre el material genético de las células por la radiación solar, puede dar lugar a la generación de cáncer, el cual es la proliferación descontrolada de células malignas (Cabrera Morales and López-Nevot, 2006, p. 27).

La población susceptible de padecer dicha patología son personas con la piel clara, sin embargo quienes tengan piel oscura no están exentos de padecer dicha afección, los niños también son quienes esta propensos a padecer si no existe un cuidado de su piel, la capa hidrolipídica no está lo suficientemente desarrollada para protegerse de los rayos UV (Sordo and Gutiérrez, 2013, p. 114).

Los tres tipos principales de cáncer de piel son, el carcinoma basocelular, el carcinoma de células escamosas (que tiene altas posibilidades de curación), y el tipo más grave, que es el melanoma maligno (Sordo and Gutiérrez, 2013a, p. 114).



**Figura 2-1** Esquema de los mecanismos moleculares desencadenados por la radiación UV

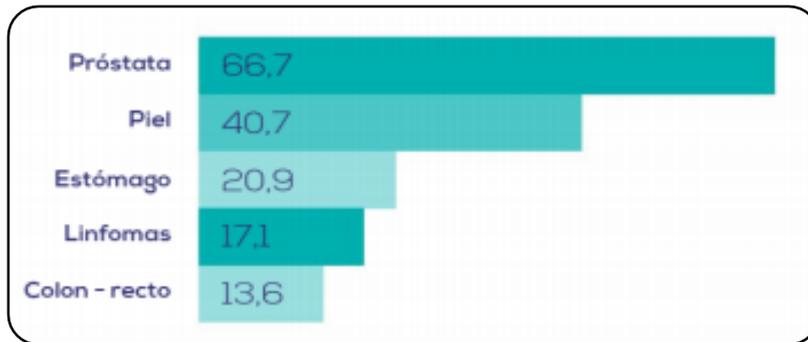
Fuente: (Reyes and Vitale, 2013, p. 237)

### 1.8.1 Incidencia del cáncer en el Ecuador

En el Ecuador, especialmente en zonas como Quito y Guayaquil, en donde la radiación sobrepasa los límites tolerables, la incidencia de cáncer de piel es elevado, cada año se reportan 650 casos nuevos de dicha afección, cifras preocupantes para la población y que se convierte en un problema de salud pública (SOLCA, 2017).

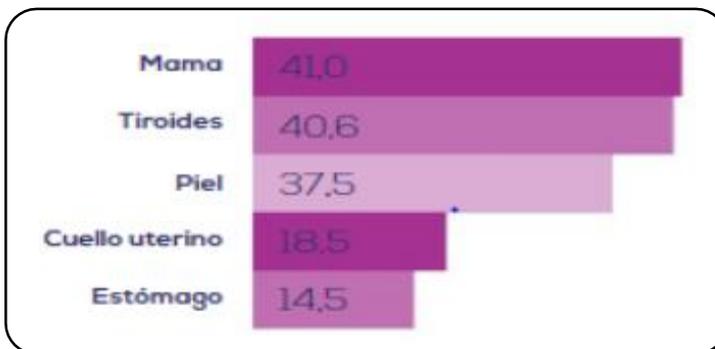
En 1980 el cáncer presentó un porcentaje de 6%, en el 2016 la cifra incrementó en un 16% según el INEC, para el 2020 se espera diagnosticar 31.420 casos de cáncer en todo el país (SOLCA, 2017).

A pesar de no contar con estadísticas actuales sobre la situación del cáncer de piel en el país, el Registro Nacional de Tumores de la Sociedad de lucha contra el cáncer Núcleo de Quito entre sus datos más actuales presenta estadísticas en donde el cáncer de piel es la segunda enfermedad con mayor incidencia en los hombres, mientras que en las mujeres es la tercera (SOLCA, 2017).



**Figura 3-1** Tasa de incidencia de cáncer en el Ecuador en hombres

Fuente:(Batista et al., 2018, pp. 36–38).



**Figura 4-1** Tasa de incidencia de cáncer en el Ecuador en mujeres

Fuente:(Batista et al., 2018, pp. 36–38).

### 1.9 Fototipos cutáneos

El fototipo es la capacidad de adaptación al sol que tiene cada persona desde que nace, es decir, el conjunto de características que determinan si una piel se broncea o no, cómo y en qué grado lo hace. Cuanto más baja sea esta capacidad, menos se contrarrestarán los efectos de las radiaciones solares en la piel (Marín y del Pozo, 2005, pp. 2–3).

Conocer el fototipo cutáneo y sus características resulta imprescindible a la hora de elegir la correcta protección solar para prevenir posibles trastornos de la piel por exposición a radiación solar UV (Marín y del Pozo, 2005, pp. 2–3).

**Tabla 3–1:** Clasificación de los fototipos cutáneos según Dr. T. Fitzpatrick

	<b>Acción del sol sobre la piel (no protegida)</b>	<b>Características pigmentarias</b>
<b>Fototipo I</b>	Intensas quemaduras solares, casi no se pigmenta nunca y se descama de forma ostensible	Individuos de piel muy clara, ojos azules, pelirrojos y con pecas en la piel, su piel no está expuesta al sol y es de color blanco-lechoso
<b>Fototipo II</b>	Se quema fácil e intensamente, pigmenta ligeramente y descama de forma notoria.	Individuos de piel clara, cabello rubio, ojos azules y con pecas cuya piel no está expuesta al sol y es de color blanca.
<b>Fototipo III</b>	Se quema moderadamente y se pigmenta correctamente.	Razas caucásicas (europeas) de piel blanca que no está expuesta habitualmente al sol.
<b>Fototipo IV</b>	Se quema moderadamente y pigmenta con bastante facilidad y de forma inmediata al exponerse al sol.	Individuos de piel morena o ligeramente amarronada, con cabello y ojos oscuros (mediterráneos, mongólicos, orientales)
<b>Fototipo V</b>	Raramente se quema, pigmenta con facilidad e intensamente (siempre presenta reacción de pigmentación inmediata)	Individuos de piel amarronada (amerindios, indostánicos, árabes e hispanos)
<b>Fototipo VI</b>	No se quema nunca y se pigmenta intensamente (siempre presentan reacción de pigmentación inmediata)	Razas negras

**Fuente:** (Marín y del Pozo, 2005, pp. 2–3)

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

## 1.10 Fotoprotección

La fotoprotección tiene como fin, la prevención del daño que ocurre en la piel como resultado de su exposición a la radiación UV. Por tanto, las estrategias de fotoprotección se centran en la reducción del tiempo global de exposición al sol, especialmente en horas del mediodía y en la tarde, llevar ropas adecuadas, utilizar gorros, gafas y aplicar fotoprotectores de amplio espectro (UVA y UVB) con factor de protección solar elevado (Marrero and García, 2013, pp. 277–279).

Para protegerse de la agresión por parte de las radiaciones solares, la piel posee unos mecanismos de adaptación y de defensa, de los cuales los más importantes son la producción de melanina, el engrosamiento de la capa córnea, los sistemas de reparación del ADN y la activación de moléculas antioxidantes, Estos mecanismos de fotoprotección natural tienen una eficacia variable según los

individuos, siendo insuficientes especialmente en las personas de fototipo claro (Gallegos-Hernández, 2008).

La fotoprotección y la fotoexposición requieren un equilibrio para evitar tanto de los efectos nocivos del sol, como para beneficiarse del mismo como por ejemplo la síntesis de vitamina D. En la actualidad la fotoprotección se puede realizar de forma natural, externa e interna o sistémica (Gallegos-Hernández, 2008).

**Tabla 4 – 1** Propiedades fotoprotectoras de agentes naturales

<b>AGENTE</b>	<b>FOTOPROTECCIÓN</b>
<b>Ozono</b>	Atenúa toda la luz UVC emitida por el sol, el 90% de la luz UVB y una atenuación mínima o nula en la luz solar UVA.
<b>Latitud y altitud</b>	La transmisión de luz UVB disminuye en un 3% por cada aumento de grado en la latitud. Por cada 1000 pies de aumento en la elevación, hay un aumento de 4% a 10% de la luz UVB que llega a la superficie de la tierra
<b>Hora del día y estación</b>	La luz UVB es más fuerte desde las 10 a.m. hasta las 2 p.m. La luz UVA es relativamente constante durante el día.
<b>Contaminantes</b>	Se pueden producir reducciones significativas en la radiación UVB con polvo, cenizas volcánicas y aerosoles. La nieve, el hielo, la arena, el vidrio y el metal pueden reflejar hasta el 85% de la luz UVB
<b>Sombra</b>	Los paraguas brindan poca protección contra la luz ultravioleta.
<b>Agua</b>	Los nadadores pueden obtener radiaciones UV significativas porque penetra hasta una profundidad de 60 cm sin atenuación significativa.
<b>Espesor de la piel</b>	La piel humana absorbe la radiación UVB, dispersa la mayoría de luz visible y refleja del 5% al 10% de toda la radiación solar desde 250 nm hasta 3000 nm
<b>Melanina</b>	Hay una penetración cinco veces más baja de UVA a través de la epidermis de piel oscura en comparación con la de las personas de piel clara. La epidermis de la piel oscura tiene un SPF intrínseco de 13.4, mientras que la piel clara tiene un SPF de 3.3.

**Fuente:** (Al-Jamal et al., 2014, pp. 22–25)

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

Es indispensable que la protección ante rayos UV se lo realice desde temprana edad y con el fin de prevenir consecuencias irreversibles a corto o largo plazo como es el melanoma (Cestari y Buster, 2017, p. 111).

### 1.11 Factor de protección solar (FPS)

Según La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) define al factor de protección solar como: “la relación numérica entre la dosis mínima de eritema (MED) de piel protegida por  $2\text{mg}/\text{cm}^2$  del producto analizado y la MED de la piel desprotegida después de la exposición a una dosis determinada de radiación solar estandarizada”, dicha definición ha tenido gran aceptación a nivel internacional (Al-Jamal et al., 2014, p. 218).

Al Factor de Protección Solar (FPS) también lo definen como el número de veces que el fotoprotector aumenta la capacidad de defensa natural de la piel frente al eritema o enrojecimiento previo a la quemadura, por tanto, podemos saber cuánto nos protege un el producto (Lim et al., 2017, p. 92).

El factor de protección lo determina la Agrupación Europea de Fabricantes de Productos de Cosmética y Perfumería (COLIPA), y realiza una clasificación según el nivel de fotoprotección como lo podemos ver en la **Tabla 5-1**

**Tabla 5-1** Clasificación del FPS según COLIPA

Tipo de Fotoprotector	FPS
Bajo	2-4-6
Medio	8-10-12
Alto	15-20-25
Muy alto	30-40-50
Ultra	Mayor 50

Fuente:(Bendová et al., 2007)

Realizado por: María José Poveda, 2019

Por lo tanto un protector solar es aquella mezcla en cuya composición incluyen filtros solares y excipientes, por lo general de aplicación tópica, con capacidad de absorber, reflejar o dispersar la radiación UV, evitando la penetración cutánea e impidiendo así los daños ocasionados en la piel por dicha radiación solar (Mendoza et al., 2018, p. 117).

### 1.12 Filtros solares

Los filtros solares constituyen la primera barrera artificial que busca disminuir los efectos nocivos, cuyas funciones específicas son: reflejar, dispersar o absorber ciertas radiaciones con el fin de proteger la piel. Para aumentar su efectividad es necesario incluirlos en vehículos que

además de facilitar su aplicación garanticen su homogeneidad, estabilidad y permanencia (Mendoza et al., 2018, pp. 117–119).

Los filtros orgánicos son formados por moléculas orgánicas capaces de absorber la radiación UV (alta energía) y transformarla en radiaciones con energías inofensivas al ser humano. Estas moléculas son esencialmente compuestos aromáticos con grupos carboxílicos (Flor et al., 2007, p. 154).

**1.12.1 Filtros físicos.-** En este grupo se incluyen los pigmentos inorgánico (óxido de zinc, dióxido de titanio, mica), opacos a la radiación solar, haciéndolos actuar como pantalla, de forma que por una parte refleja la luz y por otra absorben (Garrote y Bonet, 2008). Reflejan la radiación solar, son de amplio espectro y retienen las radiaciones solares de la zona del ultravioleta, visible e infrarrojo (Marín y del Pozo, 2005b, p. 175).

La desventaja de los filtros físicos es que al ser más refractivos causan blanqueamiento al aplicarse en la piel, son de difícil aplicación, afectando de esa manera la calidad y eficacia del producto, es por ello que se están elaborando con nanopartículas para corregir dichas desventajas (Reyes y Vitale, 2013).

**Tabla 6-1** Sustancia usadas habitualmente como filtros físicos

<b>Filtros Físicos</b>
Dióxido de titanio
Óxido de zinc
Carbonato de calcio
Carbonato de magnesio
Óxido de magnesio
Cloruro de hierro

**Fuente:** (Duro Mota et al., 2003, p. 42)

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

**1.12.2 Filtros químicos.** - Son moléculas orgánicas con grupos cromóforos en la región UV, de estructura electrónica resonante. Actúan por absorción de la radiación solar ultravioleta. En función de la longitud de onda absorbida se distingue entre los filtros UVB, UVA y de amplio espectro.

**Tabla 7-1** Sustancias usadas habitualmente como filtros químicos

Filtros Químicos	
UVB	UVA
PABA	Benzofenonas
Salicilatos	Antranilatos
Ácido cinámico	Dibenzoilmetanos
Alcanfor	
Bencimidazoles	

**Fuente:** (Duro Mota et al., 2003, p. 42)

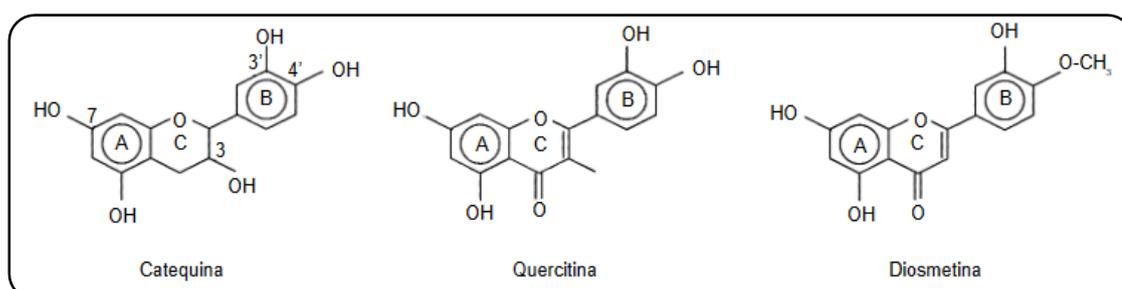
**Realizado por:** María José Poveda, 2019

**1.12.3 Filtros biológicos.-** Son moléculas antioxidantes que secuestran a los radicales libres responsables del envejecimiento cutáneo y del cáncer fotoinducido, los representantes de este tipo de filtro es el ácido ascórbico y el tocoferol, componentes que se emplean comúnmente en las formulaciones además de que brindan elasticidad y mejora el aspecto del fotoprotector (Marín y del Pozo, 2005b, p. 175).

### 1.13 Flavonoides y actividad fotoprotectora

Los flavonoides son compuestos fenólicos responsables de los pigmentos naturales, están presentes en los vegetales y cumplen funciones como protección ante agentes oxidantes como la radiación ultravioleta, contaminación ambiental, etc (Martínez-Flórez et al., 2002, pp. 1–2).

La estructura de los flavonoides es de bajo peso molecular; están formados por un esqueleto difenil pirano, es decir dos anillos fenilos (A y B) ligados por un anillo C pirano. La actividad antioxidante depende de las propiedades redox de los grupos hidroxifenólicos, los flavonoides orto-di hidrosustituídos como la quercetina son mejores captadores y protectores UV comparados con los mono hidrosustituídos (Raffa et al., 2017, pp. 214–216).



**Figura 5-1** Características estructurales de los principales tipos de flavonoides

**Fuente:**(Martínez-Flórez et al., 2002, p. 273)

Los flavonoides para que tengan actividad fotoprotectora deben cumplir con tres características en su estructura: Anillo B de la estructura orto-dihidroxi, doble enlace en la posición 2,3 y grupos hidroxilo en la posición 3 y 5 (Raffa et al., 2017, pp. 214–216).

**Tabla 8-1** Flavonoides con propiedades fotoprotectoras

<b>Silimarina</b>	Caracterizada por contener tres flavonoides: silibinina, silidiannina y silicristina, su aplicación evita la formación de dímeros de pirimidina tras la absorción de los rayos UVB reduciendo hasta un 92 % la aparición de tumores
<b>Genisteína (Isoflavona de la soja)</b>	Actúa ante el daño oxidativo, la apoptosis y la inmunosupresión generada por la exposición a la radiación UV
<b>Isoflavonoides del trébol rojo</b>	Actúa frente a la inmunosupresión, principalmente el equol
<b>Quercetina</b>	Contiene actividades anti UV potentes inhibiendo en mayor proporción las radiaciones UVB

**Fuente:** (Raffa et al., 2017)

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

#### 1.14 Formulaciones de fotoprotectores

Para poder proporcionar un filtro solar al consumido necesariamente debe estar incorporado en un vehículo, a la asociación filtro solar/vehículo se denomina protector solar o fotoprotector, los cuales requieren de características adecuadas para su comercialización (Flor et al., 2007, p. 157).

Las características de un protector solar son: ser inocuo, no irritante o mutagénico, no volátil, poseer características solubles apropiadas, no alterar el tono de la piel, no manchar la piel ni vestimentas, compatibilidad formulación/material de acondicionamiento y ser estable (Flor et al., 2007, p. 157).

**Tabla 9-1** Principales vehículos de protectores solares

<b>Lociones Hidroalcohólicas</b>	Compuestas principalmente de agua y alcohol, son de fácil aplicación en la piel y se evaporan rápidamente. Su empleo ha sido cuestionado por su bajo nivel de protección.
<b>Cremas y emulsiones</b>	Representan el mejor vehículo para los filtros, se componen de constituyentes tanto apolares (liposolubles) como polares (hidrosolubles). Estos sistemas pueden ser O / A (aceite en agua) o A / O (agua en aceite).
<b>Geles</b>	Son los vehículos obtenidos a través de un espesante hidrofílico. Independientemente del origen del espesante, sean naturales (gomas, alginatos) o sintéticos (polímeros y copolímeros de acrilamida), no ofrecen los mismos niveles de protección que las emulsiones.

**Fuente:** (Flor et al., 2007)

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

### 1.15 Familia Proteaceae

Es una de las más abundantes familias en el hemisferio sur, consta de 79 géneros y más de 1700 especies. Ampliamente distribuida, cuenta con un amplio espectro de variación morfológica vegetativa, en América del Sur se encuentran ocho géneros de Proteaceae (D. Vinueza et al., 2018, p. 1).

### 1.16 *Oreocallis grandiflora*

Especie vegetal con múltiples usos tradicionales, cuyas investigaciones se centran en el estudio de la composición química y actividades biológicas de los extractos de sus flores y hojas (D. Vinueza et al., 2018, p. 1-3).

Si bien es cierto que posee diversas propiedades medicinales, el objeto de estudio también se debe centrar en la valoración del patrimonio de usos de la biodiversidad de plantas así como también su conservación y uso responsable de ella (D. Vinueza et al., 2018, p. 1-3).



**Figura 6-1** *Oreocallis grandiflora*

**Fuente:** (Pablo Lozano, 2015)

### 1.16.1 Clasificación científica

**Tabla 10-1** Clasificación científica de *Oreocallis grandiflora*

<b>REINO:</b> <i>Plantae</i>
<b>DIVISIÓN:</b> <i>Magnoliophyta</i>
<b>CLASE:</b> <i>Magnoliopsida</i>
<b>ORDEN:</b> <i>Proteales</i>
<b>FAMILIA:</b> <i>Proteaceae</i>
<b>GÉNERO:</b> <i>Oreocallis</i>
<b>ESPECIE:</b> <i>Oreocallis grandiflora</i>

Fuente: (Pablo Lozano, 2015, p. 135)

Realizado por: María José Poveda, 2019

### 1.16.2 Historia de *Oreocallis grandiflora*

El nombre proviene del griego *oreos* que significa (montaña), y *kalli* (bella), es decir la bella de la montaña. Descrita por el naturalista francés St Jean Baptiste Lamarck como *Embothrium grandiflora* en el año de 1786, posterior a ello el botánico holandés Herman Otto Sleumer cambia al género *Oreocallis*. Por lo que, en la actualidad se conoce dos especies *Oreocallis grandiflora* (Lam) R. Br., y *Oreocallis mucronata* (Willd) Sleumer, estas dos especies se encuentran en la región andina de Perú y Ecuador (Guerrero. D, 2014).

### 1.16.3 Características botánicas

*Oreocallis grandiflora* es un árbol o arbusto pruinoso con altura de 3 a 5 m de altura, sus raíces son horizontales, su tallo es cilíndrico de corteza lisa en plantas jóvenes y rugoso color café oscuro en plantas viejas, en bosque natural pueden llegar a medir entre 10 y 15 cm de diámetro. Las hojas miden de 8-9 cm largo por 4 cm de ancho, de color verde opaco, estas pueden ser coriáceas, lobuladas o dentadas, de pecíolo alargado y se encuentran en espiral a lo largo de las ramas. Forma inflorescencias en racimos que miden entre 12 a 14 cm y tiene entre 60 y 80 flores de color blanco, rojizas o violáceas. Sus frutos son alargados y grandes, casi cilíndricos, a veces leñosos y presentan de 9 a 11 ovarios. Al madurar, los frutos exponen las semillas, que presentan un ala membranosa ( Reyne. C,2012).

#### **1.16.4 Distribución botánica**

El género *Oreocallis* está ampliamente distribuido en Nueva Guinea, al este de Australia, Perú y Ecuador, en el mismo crece entre 1000 a 4000 m.s.n.m, se han registrado en provincias como Azuay, Loja, Guayas, Zamora Chinchipe y otras más (Chuncho y Chamba, 2007).

De acuerdo al lugar donde crezca las plantas se las conoce con varios nombres comunes, entre ellos están cucharilla, galuay, gañal, galluay, galguay, galva (Chuncho y Chamba, 2007).

#### **1.16.5 Usos medicinales**

El conocimiento ancestral del uso de plantas ha pasado de generación en generación, si bien nos fijamos en épocas pasadas los nativos utilizaban especies vegetales para curar los diversos males, ellos tenían una estrecha relación salud-naturaleza y gracias a ese conocimiento ahora se tiene la base de las investigaciones científicas de las plantas con propiedades medicinales (Ramírez et al., 2013, pp. 61–63).

Empíricamente se emplean las hojas, los frutos y las flores de la planta en forma de emplasto, infusión y macerados para tratar diferentes dolencias como: cefaleas, hernias, cólicos hepáticos y renales, afecciones del tracto intestinal, colesterol, nefritis, ulcera gástrica, inflamaciones, problemas de los ojos, gripe, diabetes y fotoprotección (Ramírez et al., 2013, pp. 61–63).

Las hojas se mastican para prevenir las caries y mantener buena dentadura. Las flores de esta planta se usan para preparar bebidas que contrarrestan fiebres, malestares de la gripe, dolencias hepáticas, nefritis, generalmente mezcladas con hojas de manzanilla y toronjil. El jugo extraído de las semillas es considerado útil en el caso de hernias aplicándolo externamente en cataplasma (Ramírez et al., 2013, pp. 61–63).

#### **1.16.6 Composición química**

Las plantas al igual que todos los seres vivos tienen mecanismo de defensa para protegerse de los agentes externos, sean estos químicos, físicos y biológicos, lo hacen mediante la producción de metabolitos secundarios que son sustancias propias de cada especie (García Iñaki, 2017).

La producción de compuestos polifenólicos como los flavonoides hacen que las plantas se tornen de una coloración particular a más de protegerlas de las radiaciones solares, *Oreocallis*

*grandiflora* por estar ubicada en una zona donde la radiación es elevada, se ha adaptado por lo que genera mayor cantidad de flavonoides ( García Iñaki, 2017).

A los flavonoides se les atribuye varias actividades medicinales y es por ello que investigadores han querido ir más allá de un conocimiento ancestral, y por medio de métodos científicos han determinado la composición de dicho género ( García Iñaki, 2017).

Peak number	Compound <sup>a</sup>	Flower extract <sup>d</sup> mg/g d.e. (mg/g drug) <sup>e</sup>	Leaf extract mg/g d.e. (mg/g drug)	UV <sub>max</sub> (nm)	[M-H] <sup>-</sup> (m/z)	MS <sup>2</sup> (m/z) base peak
1	Myricetin 3-O- $\beta$ -glucuronide <sup>b</sup>	d	d	255,355	493	317
2	Isorhamnetin hexuronide	nd	d	251,351	491	315, 299
3	Quercetin 3-O-rutinoside <sup>c</sup>	nd	15.6 $\pm$ 0.4 (0.47 $\pm$ 0.01)	255,355	609	301
4	Quercetin 3-O- $\beta$ -glucuronide <sup>c</sup>	34.7 $\pm$ 0.6 (0.63 $\pm$ 0.01)	5.8 $\pm$ 0.1 (0.18 $\pm$ 0.01)	255,355	477	301
5	Isorhamnetin hexoside	nd	d	255,355	477	315, 299
6	Isorhamnetin 3-O-rutinoside <sup>c</sup>	nd	21.1 $\pm$ 1.2 (0.64 $\pm$ 0.01)	255,355	623	315, 299

**Figura 7-1** Composición química de *Oreocallis grandiflora*

Fuente: (D. Vinueza et al., 2018)

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

#### 2.2. Recolección del material vegetal

Las hojas de *Oreocallis grandiflora* fueron recolectadas en la Comunidad Miraflores, Parroquia Cañi, Cantón Colta, Provincia de Chimborazo a una altitud promedio de 2833 ms.n.m, en las coordenadas:

**Latitud:** 1°46'34" S

**Longitud:** 78°59'04" W

#### 2.3. Identificación del material vegetal

Dentro del Marco legal para el uso y recolección de la planta, se menciona el CONTRATO MARCO DE ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DENOMINADO: "ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD EN EL ECUADOR, ECOLOGÍA, CONSERVACIÓN Y SU POTENCIAL USO SOSTENIBLE", en el cual hace referencia a los debidos permisos por parte del Ministerio de Ambiente **Anexo A**.

La identificación de la planta se realizó con dos muestras significativas, las cuales fueron entregadas respectivamente en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo cuyo responsable es el Ing. Jorge Caranqui **Anexo B**.

#### 2.4. Acondicionamiento de la materia vegetal

Una vez recolectada la materia vegetal, se procede a lavar hasta eliminar toda materia extraña, mediante el uso de una estufa se seca completamente las hojas a una temperatura promedio de 35- 40 °C durante 24 horas.

Luego del secado de las hojas, se procedió a moler en un molino de cuchilla giratoria Arthur H, Tomas C.O, hasta obtener partículas pequeñas de 2 a 3 mm, el material triturado se almacenó en bolsas evitando contaminación y proliferación de microorganismos para su posterior uso.

## **2.5. Control de calidad de la droga cruda**

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

Un elevado contenido de humedad en la materia vegetal influye en la velocidad de multiplicación de los microorganismos los cuales provocan su descomposición. Mediante método gravimétrico, se procede a pesar  $2 \text{ g} \pm 0.5 \text{ mg}$  de la planta seca en la balanza analítica, se coloca en una cápsula (previamente tarada hasta peso constante), se ubica en la estufa a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 3 horas, posterior a ello se deja en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesa, el mismo procedimiento se repite cada hora hasta obtener peso constante (Miranda. M, 2001, p. 34).

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

Donde,

**%H**= Porcentaje de humedad

**M<sub>1</sub>**= masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

**M<sub>2</sub>**= masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

**M**= masa de la cápsula vacía (g)

**100**= factor matemático

### **2.5.2. Determinación de cenizas totales**

Mediante determinación gravimétrica se procede a pesar  $2 \text{ g} \pm 0.5 \text{ mg}$  de material vegetal seco y triturado en un crisol (previamente tarado a peso constante), se ubica la muestra en un reverbero hasta quedar totalmente carbonizada, posterior a ello se incinera en un horno mufla a una temperatura promedio de  $700\text{-}750 \text{ }^\circ\text{C}$  por dos horas, una vez cumplido el tiempo, se retira el crisol y se ubica en el desecador hasta temperatura ambiente para luego ser pesado, se repite el procedimiento a partir de la incineración de la muestra, pesando el crisol cada 30 minutos hasta peso constante (Miranda. M, 2001, p. 32).

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

Donde,

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

**M<sub>1</sub>**= masa del crisol con la porción de ensayo (g)

**M<sub>2</sub>**= masa del crisol con las cenizas (g)

**M**= masa del crisol vacío (g)

**100**= factor matemático

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

Mediante determinación gravimétrica, a las cenizas que se obtienen en cenizas totales se añade de 15 a 20 mL de agua destilada, se cubre el crisol con un vidrio reloj y se hierve suavemente durante 5 minutos en un reverbero. Se filtra a través de papel filtro, el mismo es transferido al crisol inicial donde es carbonizado en un reverbero y posteriormente incinerado en el horno mufla a una temperatura de 700-750 °C por dos horas, una vez cumplido el tiempo se retira el crisol y se ubica en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesa, el procedimiento se repite a partir de la incineración cada 30 minutos hasta peso constante (Miranda. M, 2001, p. 33).

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

Donde,

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

**M<sub>1</sub>**= masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

**M<sub>2</sub>**= masa del crisol con las cenizas totales (g)

**M<sub>a</sub>**= masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

**M**= masa del crisol vacío (g)

**100**= factor matemático

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

Mediante método gravimétrico, a las cenizas obtenidas en la determinación de cenizas totales se añade de 2 a 3 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 10%. El crisol tapado con un vidrio reloj se calienta a baño María durante 10 minutos. El vidrio reloj se lava con 5 mL de agua caliente y se añade al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel filtro y se lava el residuo con agua caliente (se añade dos gotas de nitrato de plata 0.1 M) para descartar cloruros. El residuo y el filtrado fueron desecados en estufa a 100-105 °C, luego transferidos al crisol inicial y posteriormente incinerado en el horno mufla a 700-750 °C durante dos horas. Una vez cumplido el tiempo se

ubica en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesa, se repite el procedimiento desde la incineración cada 30 minutos hasta peso constante (Miranda. M, 2001, p. 34).

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

Donde,

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

**M<sub>1</sub>**= masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

**M<sub>2</sub>**= masa del crisol con las cenizas totales (g)

**M<sub>S</sub>**= masa del crisol con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (g)

**M**= masa del crisol vacío (g)

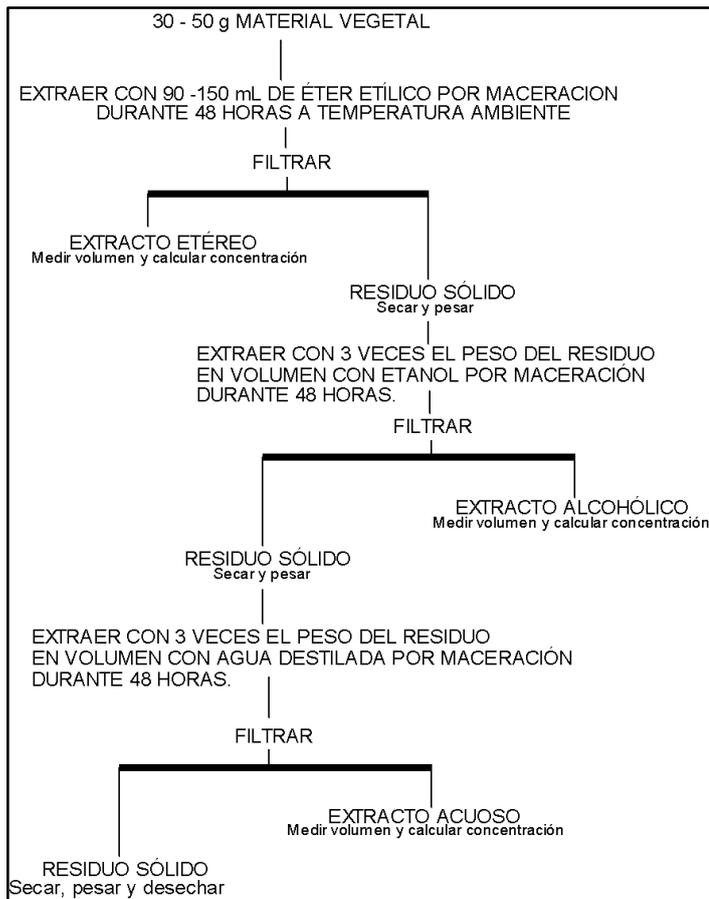
**100**= factor matemático

## **2.6. Tamizaje fitoquímico**

Denominado también screening fitoquímico, es una de las etapas iniciales para investigaciones de especies vegetales, el cual permite determinar cualitativamente los principales constituyentes químicos presentes en una planta, de esa manera orientar a la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés (Sharapin, 2000a, p. 198).

El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de los componentes de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración, debe permitir una evaluación rápida, reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo, los resultados obtenidos son cualitativos y nos dan cierta orientación para futuros ensayos (Sharapin, 2000a, p. 198).

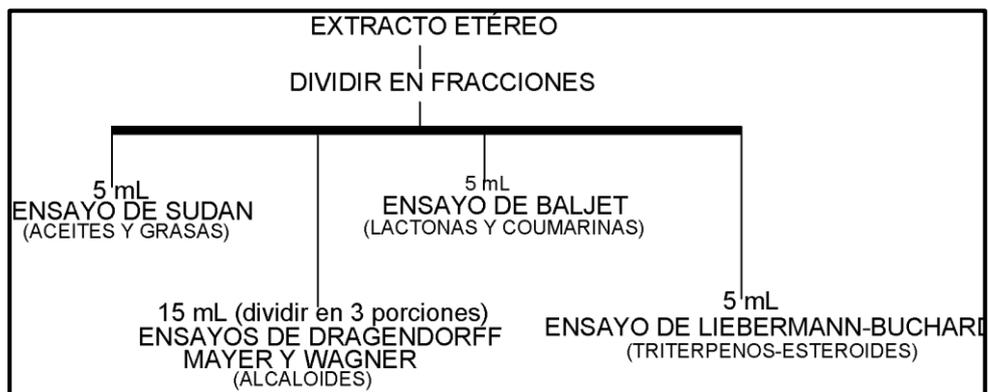
### 2.6.1. Esquema de extracción de metabolitos secundarios



**Figura 1-2** Esquema de extracción de metabolitos secundarios

Fuente: (Miranda. M, 2001)

### 2.6.2. Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo



**Figura 2-2** Tamizaje fitoquímico del extracto etéreo

Fuente: (Miranda. M, 2001)

### 2.6.3. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico

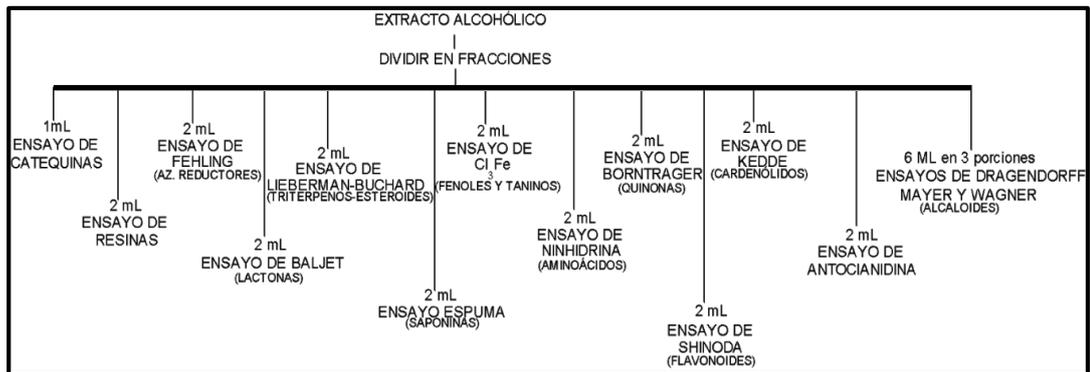


Figura 3-2 Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico

Fuente: (Miranda. M, 2001)

### 2.6.4. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso

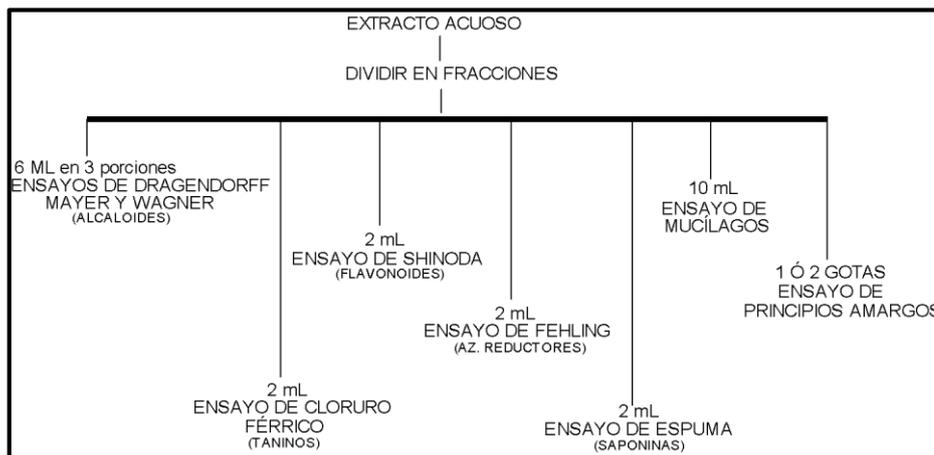


Figura 4-2 Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso

Fuente: (Miranda. M, 2001)

### 2.6.5. Fundamento teórico de los ensayos para tamizaje fitoquímico.

#### 2.6.5.1. Ensayo de Sudán

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos.

**Procedimiento.** - Se toma una alícuota de la fracción en el solvente de extracción en un tubo de ensayo, se añade 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudán III o Sudán IV, se calienta en baño de agua hasta evaporara el solvente.

**Interpretación.** - El ensayo es positivo si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente.

#### 2.6.5.2. *Ensayo de Dragendorff*

**Fundamento.** - Permite reconocer alcaloides en un extracto.

**Procedimiento.** - Si la alícuota del extracto se encuentra disuelta en un solvente orgánico, debe ser evaporado en 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 agrega 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez. Con la solución acuosa se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff.

**Interpretación.** - Si se observa opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).

#### 2.6.5.3. *Ensayo de Mayer*

**Fundamento.** - Permite reconocer alcaloides en un extracto.

**Procedimiento.** - Se procede de la misma forma que el ensayo de Dragendorff hasta obtener la solución ácida. Se añade una pizca de cloruro de sodio en polvo, agitar y filtrar. Se añade de 2 a 3 gotas del reactivo de Mayer.

**Interpretación.** - Si se observa opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++). En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, estos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

#### 2.6.5.4. *Ensayo de Wagner*

**Fundamento.** - Permite reconocer alcaloides en un extracto.

**Procedimiento.** - Se procede de la misma forma que el ensayo de Dragendorff hasta obtener la solución ácida. Se añade de 2 a 3 gotas del reactivo de Wagner.

**Interpretación.** - Si se observa opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++).

#### 2.6.5.5. *Ensayo de Baljet*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto cetonas y coumarinas.

**Procedimiento.** - Si la alícuota no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en 1 mL de alcohol, se adiciona 1 mL del reactivo.

**Interpretación.** - Si el ensayo es positivo, se observa coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.

#### 2.6.5.6. *Ensayo de Lieberman Buchard*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto triterpenos y/o esteroides.

**Procedimiento.** - Si la alícuota no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo, se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por las paredes del tubo de ensayo se dejan resbalar 2 – 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.

**Interpretación.** - Si el ensayo es positivo se observa rosado-azul muy rápido, verde intenso-visible rápido, verde oscuro-negro al final de la reacción.

#### 2.6.5.7. *Ensayo de Catequinas*

**Procedimiento.** - Se toma de la solución alcohólica una gota con la ayuda de un capilar, aplicar sobre papel filtro, posterior a ello se añade una gota de carbonato de sodio sobre la mancha.

**Interpretación.** - El ensayo es positivos si se observa la aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV.

#### 2.6.5.8. *Ensayo de Resinas*

**Procedimiento.** - Se toma 2 mL de solución alcohólica en un tubo de ensayo, se adiciona 10 mL de agua destilada.

**Interpretación.** - El ensayo es positivo si se observa precipitado.

#### 2.6.5.9. *Ensayo de Fehling*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto azúcares reductores.

**Procedimiento.** - 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 añade 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua durante 5-10 minutos.

**Interpretación.** - El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o si se forma un precipitado rojo.

#### 2.6.5.10. *Ensayo de Espuma*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas.

**Procedimiento.** - Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla durante 5-10 minutos.

**Interpretación.** - El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido por más de 2 mm de altura y persiste por más de 2 minutos.

2.6.5.11. *Ensayo de Cloruro férrico*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos.

**Procedimiento.** - Se toma una alícuota del extracto alcohólico y se añade 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua). Si el extracto es acuoso se determina principalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución fisiológica.

**Interpretación.** - Un ensayo positivo presenta: coloración rojo-vino (compuestos fenólicos en general), coloración verde intensa (taninos de tipo pirocatecólicos), coloración azul (taninos de tipo pirogalotánicos).

2.6.5.12. *Ensayo de Borntrager*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas.

**Procedimiento.** - Si la alícuota no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposos hasta separación.

**Interpretación.** - El ensayo se considera positivo si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, coloración rosada (++) , coloración roja (+++).

2.6.5.13. *Ensayo de Shinoda*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto la presencia de flavonoides.

**Procedimiento.** - Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico, luego de la reacción se espera 5 minutos y se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

**Interpretación.** - El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos.

2.6.5.14. *Ensayo de Antocianidinas*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto la presencia de flavonoides con secuencias C6-C3-C6.

**Procedimiento.** - Se ubica en un tubo de ensayo 2 mL del extracto etanólico con 1 mL de HCl concentrado, se calienta durante 10 minutos. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico, se agita y se deja separar las dos fases.

**Interpretación.** - El ensayo se considera positivo si se observa coloración roja-marrón en la fase amílica.

#### 2.6.5.15. *Ensayo de mucílagos*

**Fundamento.** - Permite reconocer en un extracto compuestos de tipo polisacáridos, los cuales forman un coloide hidrófilo.

**Procedimiento.** - A una alícuota del extracto en agua se enfría a 0-5 °C

**Interpretación.** - El ensayo se considera positivo si toma una consistencia gelatinosa.

#### 2.6.5.16. *Ensayo de Principios astringentes*

**Procedimiento.** - Se saborea 1 gota del extracto acuoso o del vegetal, mediante el gusto se reconoce el sabor de cada uno de estos principios.

### 2.7. Obtención y estandarización del extracto seco de las hojas de *Oreocallis grandiflora*

Se obtiene el extracto hidroalcohólico de las hojas secas de la planta.

En un recipiente ámbar se colocan 100 g de la materia vegetal seca y triturada en un volumen de 1000 mL de etanol al 70%, es decir relación 1:10 y se cierra herméticamente.

Durante 72 horas se agita el recipiente en el agitador orbital (OrbiCult/ Modelo IBS-NR-25-9) a 250 rpm y a una temperatura de 27.5 °C con el fin de extraer la mayor concentración de flavonoides.

Una vez cumplido el tiempo de agitación, se filtra y se obtiene el extracto.

Mediante el uso del rotavapor (Heidolph) se obtiene el extracto seco de la planta para su posterior uso. Se calcula el rendimiento de la misma con el fin de evaluar si el método es adecuado

$$\%RE = \frac{PL}{P0} \times 100$$

Donde:

**%RE**= porcentaje del rendimiento de extracción.

**PL**= peso del liofilizado obtenido

**P0**= peso de la planta del que partimos.

### 2.8. Determinación de fenoles totales

La determinación de fenoles totales se lo hace mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu, el cual es usado como medida del contenido de compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Los compuestos fenólicos reaccionan con dicho reactivo, a pH básico, dando lugar a una coloración

azulada susceptible a ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm (García Martínez et al., 2015).

El mecanismo de reacción es una reacción redox, por lo que además puede considerarse también, como un método de medida de la actividad antioxidante total (García Martínez et al., 2015).

Para la determinación se preparó la curva de calibración usando diversas concentraciones de ácido gálico de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, se toma una alícuota de 250 µL de cada una de las concentraciones y se lleva a balones aforados de 25 mL, se añade 15 mL de agua destilada más 1.25 mL de reactivo de Folin, se homogeniza por 30 segundos en Vortex y se deja reposar durante 8 minutos, luego se coloca 3.75 mL de una solución de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) al 7.5 % y se afora a 25 mL, se homogeniza 5 veces y se deja en reposo en la oscuridad durante 2 horas, posterior a ello se hacen las lecturas en el espectrofotómetro (García Martínez et al., 2015).

Una vez que se obtiene la curva del ácido gálico, se preparó soluciones de 100 ppm en etanol al 70 % a partir del extracto seco de *Oreocallis grandiflora* y se procede de la misma forma que el estándar. El contenido fenólico total se calculó como miligramo equivalente de ácido gálico (mg GAE/ g de extracto seco) por g de extracto seco (Noreen et al., 2017)

El ensayo se realizó por triplicado y se procede a realizar los respectivos cálculos.

## **2.9. Determinación de flavonoides**

Para la determinación de flavonoides totales, se lo hizo mediante colorimetría, en el cual se prepara un estándar de quercetina a diferentes concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, se procede de la siguiente manera. Se toma 1 mL de la solución de cada uno de los estándares, en tubos de ensayo, a cada uno de estos se adiciona 4 mL de agua destilada más 0.3 mL de solución de nitrato de sodio (NaNO<sub>2</sub>) al 5%, se agita cada una de las muestras y se deja reposar durante 5 minutos protegido de la luz y a temperatura ambiente. Luego se adiciona 0.3 mL de cloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>) al 10% p/v se vortaliza durante 1 minuto y se deja en reposo 5 minutos en oscuridad, luego se adiciona 2 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 1 M, se vortaliza por 15 segundos y se aprecia la formación de un complejo rosado por la unión de los compuestos fenólicos con el aluminio, se guardan las muestras en oscuridad durante 15 minutos y finalmente se leen en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 510 nm (Huang y Ng, 2012, p. 123).

Una vez que se obtiene la curva del quercetina, se preparó soluciones de 100 ppm en etanol al 70 % a partir del extracto seco de *Oreocallis grandiflora* y se procede de la misma forma que el estándar. El contenido de flavonoides se calculó como miligramo equivalente de quercetina (mg EQ/ g de extracto seco) por g de extracto seco (Huang and Ng, 2012, p. 123).

El ensayo se realizó por triplicado y se procede a realizar los respectivos cálculos.

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

El Factor de Protección se determinó mediante la metodología descrita según Mansur, mediante espectrofotometría (Mansur et al., 2016).

Se preparan soluciones de 20, 200, 500, 1000, 2000 y 3000 ppm a partir del extracto seco en agua, principal vehículo de las formulaciones. Se realizan las mediciones en un rango de 290 a 320 nm (rango UVB) en intervalos de 5 nm (Inocente-Camones et al., 2014).

$$\text{FPS} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Donde:

EE ( $\lambda$ ) representa el espectro de efecto eritemal

I ( $\lambda$ ) representa la intensidad del espectro solar

Abs ( $\lambda$ ) representa la absorbancia del producto con protección solar

CF es el factor de corrección igual a 10

Los valores de la relación entre el efecto eritemal y la intensidad de la radiación para cada longitud de onda EE ( $\lambda$ ) x I ( $\lambda$ ) son constantes como se indica en la **Figura 5-2** (Dutra et al., 2004).

Wavelength ( $\lambda$ nm)	EE x I (normalized)
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180
Total	1

EE – erythema effect spectrum; I – solar intensity spectrum

**Figura 5-2** Relación entre el efecto eritemal y la intensidad de la radiación

Fuente: (Dutra et al., 2004)

## **2.11. Desarrollo del protector solar con extracto seco de *Oreocallis grandiflora***

En el proceso de pre-formulación del gel-crema se tomaron en cuenta varios aspectos como la forma farmacéutica, compatibilidad, costo, seguridad y calidad de los excipientes a usar.

Para la formulación del protector solar se eligieron los componentes esenciales para la obtención de la forma cosmética descrita, con variaciones en los tensioactivos que nos permitirán discriminar entre ellas, la mejor.

El gel-crema de característica oleo/acuosa (O/A), se preparó a partir de las fases A (oleosa), B (acuosa) y C (extracto seco) descritas a continuación en la **Tabla 1-2**.

Se coloca en un recipiente la fase oleosa y se funde a una temperatura de 70-75 °C en baño de agua, en otro recipiente se ubica la cantidad de agua necesaria para la formulación y se añade el carbopol y el extracto, se agita constantemente hasta que se dispersen por completo, se adiciona la glicerina, propilenglicol y se lleva a una temperatura de 85 °C y se añade el metilparabeno. A una temperatura de 70-75 °C se mezcla la fase oleosa y la fase acuosa lentamente hasta masa homogénea (Pachpawar et al., 2018).

COMPOSICIÓN	VARIANTES								FASES
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	
Propilparabeno	0.15 g	0.15 g	0.15 g	0.15 g	0.15 g	0.15 g	0.15 g	0.15 g	FASE A
Ácido esteárico	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	4 g	
Alcohol cetílico	2.3 g	2.3 g	2.3 g	2.3 g	2.3 g	2.3 g	2.3 g	2.3 g	
Cera de abeja	0.9 g	0.9 g	0.9 g	0.9 g	0.9 g	0.9 g	0.9 g	0.9 g	
Trietanolamina	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	
Lecitina	3 g	2.5 g	2.25 g	2 g	1.75 g	1.5 g	1 g	0.5 g	
Monoestearato de glicerilo	0.5 g	1 g	0.75 g	1.5 g	1.75 g	2 g	2.5 g	3 g	
Dimeticona	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	
Carbopol	0.2 g	0.2 g	0.2 g	0.2 g	0.2 g	0.2 g	0.2 g	0.2 g	
Metilparabeno	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g	
Propilenglicol	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	FASE B
Glicerina	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	
Agua	Csp	Csp	Csp	Csp	Csp	Csp	Csp	Csp	
Extracto seco	0.3 g	0.3 g	0.3 g	0.3 g	0.3 g	0.3 g	0.3 g	0.3 g	FASE C
TOTAL	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g	

**Tabla 1-2** Variaciones de formulaciones a base de *Oreocallis grandiflora*

Fuente: María José Poveda, 2019

## 2.12. Determinación del FPS en las formulaciones

Se realiza el análisis del FPS en las formulaciones con el fin de evaluar si las variaciones de los emulgentes interfieren en el perfil de fotoprotección final.

Para ello se procede según la metodología descrita por Mansur, el cual consiste en la preparación de una solución madre a 10000 ppm usando como solvente una solución de etanol-agua (40:60), una vez que se obtiene la solución se toman 2.5 mL y se afora en una balón de 25 mL, obteniendo una concentración de 1000 ppm, con el fin de obtener resultados certeros del FPS (Pachpawar et al., 2018, pp. 70–71).

Los valores de las absorbancias de cada formulación se determinaron por espectrofotometría a partir de 290nm – 320nm con intervalos de 5nm. La solución blanco es etanol-agua (40:60) (Pachpawar et al., 2018, pp. 70–71).

Los cálculos se realizan mediante la siguiente ecuación.

$$\mathbf{FPS} = \mathbf{CF} \times \sum_{290}^{320} \mathbf{EE}(\lambda) \times \mathbf{I}(\lambda) \times \mathbf{Abs}(\lambda)$$

Donde:

EE ( $\lambda$ ) representa el espectro de efecto eritemal

I ( $\lambda$ ) representa la intensidad del espectro solar

Abs ( $\lambda$ ) representa la absorbancia del producto con protección solar

CF es el factor de corrección igual a 10

Los valores de la relación entre el efecto eritemal y la intensidad de la radiación para cada longitud de onda EE ( $\lambda$ ) x I ( $\lambda$ ) son constantes como se indica en la **Figura 5-2** (Dutra et al., 2004). La determinación se realizó por triplicado.

## 2.13. Análisis de datos

El análisis experimental fue realizado mediante el programa MINITAB 17 Statistical software en el cual se hizo el análisis de varianzas por medio del ANOVA de un factor y la prueba de Tukey para comparar las medias entre todos los tratamientos y de esa manera deducir la formulación ideal.

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

### **2.14.1. Control de los parámetros organolépticos**

**Aspecto.** - Se toma una muestra del gel-crema y se observa si la apariencia es homogénea, libre de grumos o partículas, untuoso al tacto.

**Color.** - Verde característico del extracto de *Oreocallis grandiflora*

**Olor.** - Fragancia seleccionada

**Presencia de grumos.** - Tomar una pequeña cantidad del gel-crema y aplicarse suavemente en el dorso de la mano, observar si hay presencia o ausencia de grumos.

**Presencia de Impurezas.** - Tomar una pequeña cantidad del gel-crema y observar si presenta o no partículas extrañas.

### **2.14.2. Control de parámetros físicos**

#### **Determinación de pH**

Dispersar 1 g de gel-crema en 20 mL de agua destilada, calibrar el pH-metro con las soluciones tampón y se procede a medir el pH (Lozano. M y Díaz, 2012, p. 162).

#### **Extensibilidad**

Se valora el índice de extensibilidad, basándose en el aumento de la superficie de una determinada cantidad de muestra de gel-crema, sometida a presiones crecientes, en iguales intervalos de tiempo.

Se coloca la placa inferior sobre un papel milimetrado previamente trazado las diagonales, posterior a ello en la mitad se ubican 1g del fotoprotector y se ubica la placa superior, se espera 1 minuto y se toman las medidas de los radios, se ubica la pesa de 50g y se espera durante 1 minutos y se toman los radios, se procede de la misma manera con pesas de 100 g, 200 g y 500 g (Lozano. M y Díaz, 2012, p. 162).

Con los valores de los radios tomados se calcula la superficie del círculo, la extensibilidad se lo representa en  $\text{cm}^2$

### **2.14.3. Control de los parámetros químicos**

#### **Determinación del signo de la emulsión mediante coloración**

Mediante el uso de un colorante hidrosoluble como el azul de metileno, se procede a determinar el signo de la emulsión, si éste se dispersa la emulsión es O/A, mientras que si la formulación repele al colorante la emulsión es A/O (Lozano. M y Díaz, 2012, p. 162).

En una placa se ubica una pequeña cantidad del fotoprotector, se añade una gota de azul de metileno y se observa si se dispersa o no el colorante (Lozano. M y Díaz, 2012, p. 162).

#### **2.14.4. Control microbiológico**

La diversidad y el número de microorganismos presentes en un producto no obligatoriamente estéril van a estar condicionada por factores intrínsecos y extrínsecos.

Los factores intrínsecos pueden ser drogas activas con acción antimicrobiana, conservadores, pH, contenido de nutrientes, actividad acuosa, presión osmótica, potencial de óxido-reducción y calidad higiénica de las materias primas empleadas, en especial las de origen natural (Cerra et al., n.d., p. 305).

Los factores extrínsecos están relacionados con las condiciones higiénicas durante la manufactura; contenido microbiano del material de empaque (Cerra et al., n.d., p. 305).

Para realizar el control microbiológico se procede a la preparación de los medios necesarios para determinar *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, Aeróbios mesófilos, mohos y levaduras.

Se realiza la siembra en los medios y se espera el tiempo necesario para proceder con el respectivo conteo de las colonias.

Como guía para el control microbiológico se utilizó el Manual de Microbiología Aplicada ANMAT 7667/10 (Cerra et al., n.d., p. 306) y el reglamento NTE INEN 2867 (NTE INEN 2867, 2015).

Área de aplicación y fase Etaria	Requisito	Límites de aceptabilidad	Método de ensayo de referencia
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cosméticos para niños (hasta 3 años)</li> <li>• Cosméticos para el área de los ojos</li> <li>• Cosméticos que entran en contacto con las membranas mucosas</li> </ul>	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5 x 10 <sup>2</sup> ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml	NTE INEN ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml	NTE INEN-ISO 21150
Demás productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Límite máximo 5 x 10 <sup>3</sup> ufc*/g o ml	NTE INEN-ISO 21149
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22717
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 22718
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml.	NTE INEN-ISO 21150
Productos cosméticos a ser utilizados en los órganos genitales externos	<i>Candida albicans.</i>	Ausencia	NTE INEN-ISO 18416
*ufc = unidades formadoras de colonias			
NOTA. En el caso de que sean usados otros métodos alternativos a los considerados en la tabla 2, estos deben ser oficiales. En el caso de no ser un método oficial, este debe ser documentadamente validado.			

**Figura 6-2** Límites microbiológicos según NTE INEN 2867

Fuente: (NTE INEN 2867, 2015)

## 2.15. Etiquetado y envasado del protector solar

Los productos cosméticos han sido utilizados por el ser humano desde hace muchos años, convirtiéndose en una necesidad para su desarrollo social y cultural puesto que proporcionan características de higiene, protección y limpieza (Guevara et al., 2016, pp. 306–307).

Actualmente, se ha encontrado un aumento significativo en la población que utiliza productos cosméticos para diferentes propósitos, especialmente aquellos relacionados con la higiene personal y protección (Guevara et al., 2016, pp. 306–307).

Las normas a seguir para el etiquetado del protector solar se basan en el reglamento NTE-INEN 2867 en el cual menciona los requisitos esenciales para productos cosméticos.

El envase o en el empaque de los productos cosméticos debe figurar con caracteres indelebles, fácilmente legibles, visibles y debe contener: (NTE INEN 2867, 2015).

- a) Nombre y marca del producto

- b) Nombre o razón social del fabricante o del responsable de la comercialización del producto cosmético. Podrán utilizarse abreviaturas, siempre y cuando puedan identificarse fácilmente en todo momento a la empresa.
- c) Nombre del país de origen
- d) El contenido nominal en peso, volumen o unidades cuando aplique en el Sistema Internacional de Unidades.
- e) Las precauciones particulares de empleo establecidas en las normas internacionales sobre ingredientes y las restricciones o condiciones de uso, incluidas en las listas internacionales.
- f) El número de lote o la referencia que permita la identificación de la fabricación.
- g) El número de Notificación sanitaria obligatoria (NSO) con indicación del país de expedición.
- h) La lista de ingredientes precedida de la palabra “ingredientes” en nomenclatura INCI.  
(NTE INEN 2867, 2015)

Dicha norma se basa en el reglamento COLIPA.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Control de calidad de la droga cruda

Uno de los factores principales que determinan la validez de la investigación, es el control de calidad de la materia vegetal, el cual nos garantiza que se encuentra en óptimas condiciones para posteriores análisis.

**Tabla 1-3:** Control de calidad de las hojas de *Oreocallis grandiflora*

Ensayos	<i>Oreocallis grandiflora</i>	Límites aceptados según (Real Farmacopea Española 2002)
Humedad	5.3477 ± 0.07 %	< 14 %
Cenizas totales	1.8943 ± 0.119 %	≤ 5 %
Cenizas solubles en agua	0.5721 ± 0.205 %	≤ 2 %
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	0.0384 ± 0.042 %	≤ 1 %

Realizado por: María José Poveda, 2019

##### 3.1.1. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad de la materia vegetal fue determinado mediante el método gravimétrico, el cual arrojó como resultado un 5.3477 ± 0.07%, valor que indica que se encuentra bajo los límites permitidos según la Real Farmacopea Española 2002 (**Tabla 1-3**). Un nivel bajo de humedad impide la proliferación de microorganismos, detiene el proceso de degradación enzimática así como la pérdida de los metabolitos por hidrólisis, garantizando que la droga vegetal es estable y segura para la investigación (Miranda. M, 2001, pp. 34–35).

##### 3.1.2. Determinación de cenizas totales

El ensayo de cenizas totales se realizó mediante gravimetría, las cenizas se refieren al residuo obtenido después de la ignición de la droga vegetal compuesta generalmente por carbonatos, fosfatos, cloruros y sulfatos. Las cenizas totales determinan minerales propios de la planta y materia extraña como arena o tierra, el resultado obtenido fue 1.8943 ± 0.119%, valor dentro del

rango permitido (**Tabla 1-3**), el valor obtenido representa componentes propios de la planta mas no contaminación alguna (Linares et al., 2016).

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

Las cenizas solubles en agua representan a las sales solubles y compuestos de la planta como el potasio, que tiene una función esencial para la supervivencia de la misma, el método usado fue gravimétrico y se obtuvo  $0.5721 \pm 0.205\%$ , valor que se encuentra bajo los límites permitidos (**Tabla 1-3**) e indica que el proceso de recolección de la materia vegetal fue la adecuada y es óptima para futuros ensayos (Barrese Pérez et al., 2005)

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

El ensayo se llevó a cabo mediante gravimetría, las cenizas insolubles determina sílice y constituyentes silíceos de la droga vegetal, el resultado obtenido fue  $0.0384 \pm 0.042\%$  el cual se encuentra dentro de los parámetros establecidos por la Real Farmacopea Española 2002 (**Tabla 1-3**), un bajo porcentaje representa una correcta recolección de la planta así como un adecuado almacenamiento (Diaz y Miguel, 2018).

## **3.2. Tamizaje fitoquímico**

El tamizaje fitoquímico consiste en una serie de ensayos cualitativos de coloración y precipitación que nos brinda cierta información sobre los metabolitos presentes en la materia vegetal.

De las hojas de *Oreocallis grandiflora* secas y trituradas se obtuvo el extracto etéreo, alcohólico y acuoso, en cada uno de los solventes se logró extraer la mayor cantidad de metabolitos según su polaridad y solubilidad. En el éter etílico se extraen compuestos liposolubles, en el etanol compuesto de polaridad media y en el agua compuestos de elevada polaridad hasta en su forma ionizada (Miranda. M, 2001).

**Tabla 2-3** Resultados del tamizaje fitoquímico de las hojas de *Oreocallis grandiflora*

<b>Metabolito</b>	<b>Ensayo</b>	<b>Extracto etéreo</b>	<b>Extracto Alcohólico</b>	<b>Extracto acuoso</b>							
<b>Aceites y grasas</b>	Sudan	+	N/A	N/A							
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	-	-	-							
	Mayer	-	-	-							
	Wagner	-	-	-							
<b>Lactonas y coumarinas</b>	Baljet	+	+++	N/A							
<b>Triterpenos y esteroides</b>	Lieberman	++	++	N/A							
	Buchard	Verde oscuro	Verde oscuro	N/A							
<b>Catequinas</b>	Catequinas	N/A	+	N/A							
<b>Resinas</b>	Resinas	N/A	-	N/A							
<b>Azucares reductores</b>	Fehling	N/A	+++	+++							
			Precipitado rojo	Precipitado rojo							
<b>Saponinas</b>	Espuma	N/A	++	+							
<b>Compuestos fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	N/A	+++	+++							
			Verde intenso	Verde intenso							
<b>Quinonas</b>	Borntrager	N/A	+++	N/A							
			Color rojo	N/A							
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	N/A	+++	+++							
			Color rojo	Color rojo							
	Antocianidinas	N/A	+++	N/A							
<b>Principios astringentes</b>	Principios astringentes	N/A	N/A	++							
				Astringente							
<b>Polisacáridos</b>	Mucílagos	N/A	N/A	+							
				Consistente							
		(+++)	Abundante	(++)	Moderado	(+)	Escaso	(-)	No existe	N/A	(No Aplica)

Realizado por: María José Poveda, 2019

Los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico (**Tabla 2-3**) muestran que en el extracto etéreo, alcohólico y acuoso las pruebas de Dragendorff, Mayer y Wagner son negativas, es decir las hojas de *Oreocallis grandiflora* no presentan alcaloides entre sus constituyentes. El medio en el que se desarrollan las plantas influye en que éstas puedan o no generar alcaloides para su adaptación y protección (Díaz and Miguel, 2018).

En el extracto etéreo se presentó como resultados positivos los ensayos de Sudan, Baljet y Lieberman Buchard, es decir, indican la existencia de aceites, grasas, lactonas, coumarinas, triterpenos y esteroides.

Dentro del extracto alcohólico se puede apreciar que los ensayos de Baljet, Fehling, FeCl<sub>3</sub>, Shinoda y Antocianidinas resultaron positivos, indicativos que hay presencia de lactonas y coumarinas, azúcares reductores, compuestos fenólicos y flavonoides en cantidades abundantes. Mediante revisiones bibliográficas se ratificó la presencia de flavonoides en las hojas de *Oreocallis grandiflora* (D. Vinueza et al., 2018).

Finalmente, en el extracto acuoso se obtuvieron resultados similares al extracto alcohólico, debido a la polaridad de los solventes, los ensayos muestran que hay presencia de polisacáridos, azúcares, compuestos fenólicos y flavonoides en elevada cantidad.

### 3.3. Obtención y estandarización del extracto seco de las hojas de *Oreocallis grandiflora*

**Tabla 3-3** Extracto seco de hojas de *Oreocallis grandiflora*

ENSAYO	RESULTADO
Color	Verde esmeralda
Olor	Característico de la planta
Rendimiento	30.24%

Realizado por: María José Poveda, 2019

El rendimiento de extracción fue de 30.24%, valor que indica que el método es el adecuado para eliminar la mayor cantidad de solvente y de esa manera garantizar que exista una elevada concentración de los metabolitos de interés para la investigación. De la misma forma se asegura que la materia vegetal se conserve para posteriores análisis (Miranda. M, 2001, pp. 42–45).

### 3.4. Cuantificación de fenoles totales

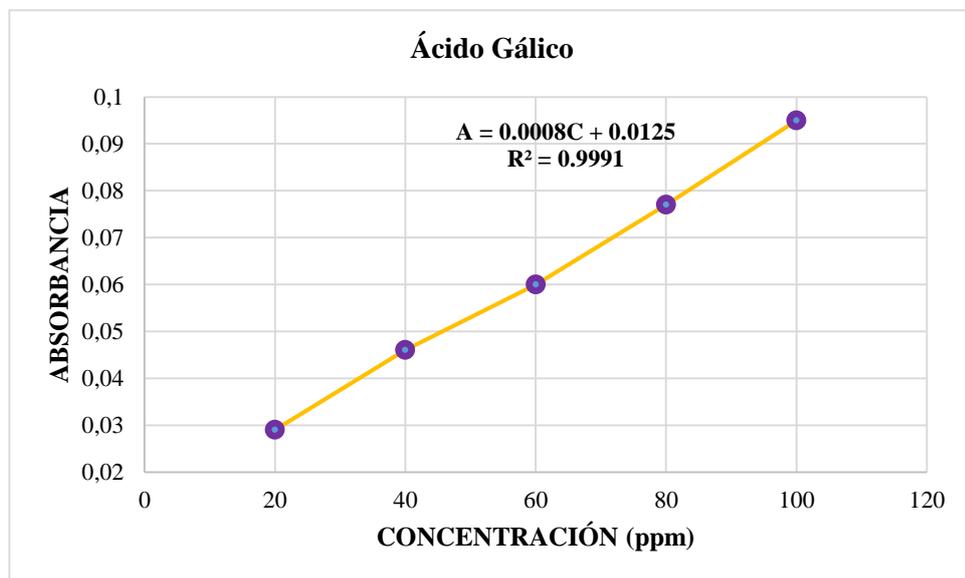
El contenido de fenoles se obtuvo mediante el método de Folin-Ciocalteu, el cual se fundamenta en una reacción redox, que se torna de color azul y es medido por espectrofotometría, representado la cantidad de fenoles totales presentes en el extracto (Rivas et al., 2014)

Se obtuvo la curva de calibración del ácido gálico (estándar), en el cual se basa para la obtención e interpretación de los resultados,  $A = 0.0008C + 0.0125$  con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.9991$ , indicativo de un buen procedimiento de obtención de la curva.

**Tabla 4-3** Absorbancias del estándar de ácido gálico

Concentración del ácido gálico (ppm)	Absorbancias (Abs)
20	0.029
40	0.046
60	0.060
80	0.077
100	0.095

Realizado por: María José Poveda, 2019



**Gráfico 1-3** Curva de calibración del ácido gálico

Realizado por: María José Poveda, 2019

**Tabla 5-3** Contenido de fenoles totales en las hojas de *Oreocallis grandiflora*

SUSTANCIA	FENOLES TOTALES	
FOTOPROTECTORA	mg Eq GAE / g de extracto seco	% GAE / g de extracto seco
Extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i>	208.33±12.58	20.83 ± 1.26

Realizado por: María José Poveda, 2019

Como resultado se obtuvo  $208.33 \pm 12.58$  mg Equivalentes de Ácido Gálico/ g de extracto seco, es decir que se obtuvo un porcentaje  $20.83 \pm 1.26\%$  de fenoles totales presente en el extracto seco de las hojas de *Oreocallis grandiflora*, valor elevado en comparación de otros estudios en el cual obtienen 175 mg AG/g M (Ramírez et al., 2013), la diferencia puede deberse a que la síntesis de fenoles en las plantas es directamente proporcional a la zona donde crece y a la exposición a rayos ultravioleta, debido a que como son compuestos que la planta genera para protegerse necesita en mayor cantidad (Castro. L, 2017).

### 3.5. Cuantificación de flavonoides

La determinación del contenido de flavonoides se realizó mediante espectrofotometría, que se fundamenta en la quelación del cloruro de aluminio, presentando una coloración rosa resultado de la reacción (Linares et al., 2016).

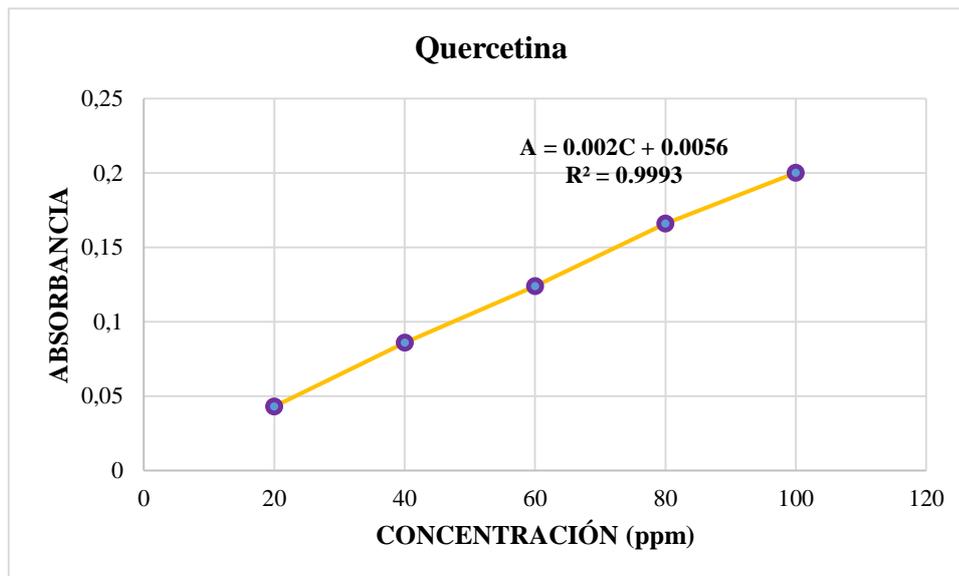
La producción de metabolitos en las plantas no solo dependen de la regulación genética sino también de los factores medioambientales en el que se desarrolla la especie vegetal, actuando como desencadenantes de la producción de metabolitos en especial de flavonoides, la radiación UVB, responsable de inducir estrés fotobiológico, activar el sistema de defensa y activar la producción de metabolitos (Gil, 2007).

Se realizó la curva de calibración con Quercetina (estándar) utilizado para obtener e interpretar los resultados. La ecuación de la recta es  $A = 0.002C + 0.0056$ , cuyo coeficiente de determinación fue  $R^2 = 0.9993$ .

**Tabla 6-3** Absorbancias del estándar de Quercetina

Concentración del Quercetina (ppm)	Absorbacias (Abs)
20	0.043
40	0.086
60	0.124
80	0.166
100	0.200

Realizado por: María José Poveda, 2019



**Gráfico 2-3** Curva de calibración de la Quercetina

Realizado por: Poveda María José, 2019

**Tabla 7-3** Contenido de flavonoides en las hojas de *Oreocallis grandiflora*

SUSTANCIA	FLAVONOIDES	
	FOTOPROTECTORA	
Extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i>	mg Eq Q / g de extracto seco	% Eq Q / g de extracto seco
	286.29±7.39	28.63 ± 0.74

Realizado por: María José Poveda, 2019

Como resultado se obtuvo  $286.29 \pm 7.39$  mg Equivalentes de Quercetina/ g de extracto seco, es decir que se obtuvo un porcentaje  $28.83 \pm 1.26\%$  de flavonoides presente en el extracto seco de las hojas de *Oreocallis grandiflora*.

En una investigación realizada la cuantificación de flavonoides les arroja como resultado  $406.1 \pm 1.73$  mg de QE / g, valor mayor al que se obtuvo, sin embargo ambos resultados representan una elevada actividad fotoprotectora, además describen los tipos de flavonoides presentes en las hojas, las cuales son Isorhamnetin 3-O-rutinoside ( $21.1 \pm 1.2$ ), Quercetin 3-O-rutinoside ( $15.6 \pm 0.4$ ) y Quercetin 3-O- $\beta$ -glucuronide ( $5.8 \pm 0.1$ ), siendo estos los más representativos (D. Vinueza et al., 2018).

Cabe mencionar que la quercetina es el tipo de flavonoide con mayor actividad fotoprotectora, por su contenido en antioxidantes naturales e incluso presenta compuestos con actividad

antiinflamatoria. Por lo que podrían usarse en la prevención de trastornos crónicos y podrían sugerirse como complemento alimenticio (D. Vinuesa et al., 2018).

### 3.6. Factor de protección solar *in vitro*

Se denomina factor de protección solar (FPS) al número de veces que el fotoprotector aumenta la capacidad de defensa natural de la piel frente al eritema o enrojecimiento previo a la quemadura (Batlle, 2005).

El factor de protección *in vitro* se determinó mediante espectrofotometría y con el uso de la ecuación de Mansur.

En dependencia del tipo de emulsión (O/W) se decidió preparar las soluciones con agua, componente significativo de las formulaciones.

**Tabla 8-3** Resultados del Factor de Protección Solar en el extracto de hojas de *Oreocallis grandiflora*

Concentración del Extracto de <i>Oreocallis grandiflora</i> (ppm)	Factor de Protección Solar (FPS)
20	0.541
200	4.178
500	10.251
1000	20.542
2000	39.047
3000	48.728

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

Como se puede apreciar en la (**Tabla 8-3**), el factor de protección solar del extracto de hojas de *Oreocallis grandiflora* a una concentración de 3000 ppm, es de 48.728, valor que según la clasificación COLIPA, es considerado un FPS muy elevado.

La gran cantidad de flavonoides que posee la materia vegetal de estudio, hace que el nivel de fotoprotección sea elevada, incluso a una concentración de 0.3% de extracto arroja resultados alentadores, deduciendo que, a más concentración, mejor será el factor de protección. La falta de equipos altamente sensibles impidió que se realicen estudios con concentraciones más elevadas de extracto seco de hojas de *Oreocallis grandiflora*, por consiguiente, la concentración que se añadió a la formulación fue de 0.3%.

### 3.7. Formulaciones de los fotoprotectores

Para realizar las distintas formulaciones de los fotoprotectores se analizó los límites permitidos por la (FDA, 2018) de cada uno de los componentes a usar (**Tabla 9-3**).

**Tabla 9-3** Límites permitidos por la FDA de los excipientes

<b>Constituyente</b>	<b>Cantidad usada</b>	<b>Límite permitido por la FDA (%)</b>	<b>Función</b>
<b>Propilparabeno</b>	0.15	0.15	Conservante
<b>Ácido esteárico</b>	4	25	Agente emulgente, brinda dureza, propiedades emolientes.
<b>Alcohol cetílico</b>	2.3	12	Agente espesante y emulsionante
<b>Cera de abeja</b>	0.9	3.5	Emoliente
<b>Trietanolamina</b>	0.1	0.13	Reticulante
<b>Monoestearato de glicerilo</b>	≤ 3	4	Tensioactivo
<b>Lecitina</b>	≤ 3	NA	Tensioactivo
<b>Dimeticona</b>	0.5	5	Silicona
<b>Carbopol</b>	0.2	0.2	Aporta textura al producto
<b>Metilparabeno</b>	0.1	0.20	Conservante
<b>Propilenglicol</b>	2	3	Humectante
<b>Glicerina</b>	2	6	Humectante
<b>Agua</b>	Cps	Csp	Vehículo
<b>Extracto seco hojas de <i>Oreocallis grandiflora</i></b>	0.3	0.3	Fotoprotector y antioxidante

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

La formulación posee componentes poco o nada dañinos para la piel, algunos de ellos son de origen natural, y otros sintéticos. Sin embargo, la mayor preocupación podrían ser los parabenos que en algunas investigaciones se ha descrito que pueden provocar reacción alérgica y se sospecha que puede interferir en las funciones hormonales del organismo, una acción que se conoce como disruptor endocrina (Villamil et al., 2016). Se sabe que cantidades muy bajas no tienen efecto nocivo alguno, siempre y cuando se mantengan los límites permitidos por la FDA.

### 3.8. Determinación del factor de protección solar en las formulaciones.

Diversos estudios determinan el factor de protección solar en la formulación siguiendo la metodología descrita por Mansur, sin embargo, después de una amplia revisión bibliográfica el FPS que obtienen es bajo, posiblemente se debe a que el extracto de la planta al ser incorporada en un vehículo formado por diversos componentes puede acoplarse a ellos y obtener resultados poco certeros.

La concentración de extracto que se incorporó al gel-crema, fue determinado mediante el análisis del FPS del extracto seco.

Según Renata Silva (Silva et al., 2016, p. 512) el Factor de Protección solar es proporcional a la concentración de extracto agregado a la formulación. Por lo que, de los resultados obtenidos se hizo una relación con el FPS más elevado que presentó el extracto seco.

**Tabla 10-3** Resultados del FPS determinados en las formulaciones

	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F5</b>	<b>F6</b>	<b>F7</b>	<b>F8</b>
	49.000	44.396	44.324	41.380	35.800	35.557	37.215	29.752
<b>FPS</b>	40.107	42.985	38.099	35.619	34.924	32.808	33.874	35.171
	41.041	40.156	41.376	37.270	40.208	39.272	31.839	30.832

Realizado por: María José Poveda, 2019

### 3.9. Análisis estadístico

#### Planteamiento de hipótesis:

**H<sub>0</sub>**: No existe diferencia significativa en el factor de protección solar de los fotoprotectores en función de la variación de los emulgentes  $p \geq 0.05$

**H<sub>1</sub>**: Existe diferencia significativa en el factor de protección solar de los fotoprotectores en función de la variación de los emulgentes  $p \leq 0.05$

**Tabla 11-3** Análisis de varianza ANOVA, factor de protección solar

Analysis of Variance					
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	7	348,4	49,78	4,91	0,004
Error	16	162,4	10,15		
Total	23	510,8			

Realizado por: María José Poveda, 2019

**Tabla 12-3** Test de Tukey, factor de protección solar

### Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
F1	3	43,38	A
F2	3	42,51	A B
F3	3	41,27	A B
F4	3	38,09	A B C
F5	3	36,98	A B C
F6	3	35,88	A B C
F7	3	34,31	B C
F8	3	31,92	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Realizado por: María José Poveda, 2019

**Decisión:** Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, debido a que el valor de p (0.004) es menor al valor de significancia (0.05).

Por consiguiente, existe diferencia significativa en el factor de protección solar de los fotoprotectores en función de la variación de los emulgentes.

Una vez realizado el test de Tukey, clasifica a las formulaciones en tres grupos ABC en función de las medias obtenidas estadísticamente, observando que los fotoprotectores que comparten letras (**Tabla 12-3**) poseen medias relativamente semejantes, mientras que las demás formulaciones son significativamente diferentes, **Anexo D**.

Por lo tanto, las formulaciones F1 (43.38), F2 (42.51), F3 (41.27), F4 (38.09) tienen un mejor rendimiento del factor de protección a diferencia de las demás, la F1 (43.38) Y F8 (31.92) tienen diferencia relevante entre sus medias, al momento de elegir el mejor fotoprotector en función del FPS se puede sugerir que las dos primeras tienen cierta semejanza y mayor FPS, con las pruebas de calidad que se realizan posteriormente se selecciona la formulación ideal.

Los fotoprotectores que contiene mayor cantidad de lecitina presentan un FPS más elevado de los que contienen mayor cantidad monoestearato de glicerilo.

Probablemente se debe a que la lecitina a pesar de contar con una parte hidrófila y otra lipófila, la disposición de sus grupos hace que difícilmente ocurra una reacción con los compuestos de las hojas de *Oreocallis grandiflora* como son isorhamnetin 3-O-rutinoside, quercetin 3-O-rutinoside y quercetin 3-O- $\beta$ -glucoronide, las cuales tiene en común la presencia de grupos hidroxilos, éteres, cetonas y bencenos, en cambio el monoestearato de glicerilo en su estructura cuenta con grupos hidroxilos, cetona, éter y cadena carbonada, facilitando la reacción con los constituyentes de la planta posiblemente formando éteres de elevado peso molecular y poco solubles, cabe mencionar que la preparación de la muestra para la determinación del FPS incluye en uno de sus

pasos filtrar la solución y se convierte en un punto crítico para la obtención de resultados certeros, debido a la reacción que puede ocurrir con uno de los emulgentes.

### **3.10. Control de calidad del gel-crema**

Como se puede observar en la (Tabla 13-3) se evaluaron las características organolépticas, físicas y químicas de los fotoprotectores.

Los resultados del control de calidad resultaron ser prometedores, las formulaciones presentaron aspecto homogéneo, la coloración depende de la formulación, destacándose dos variaciones de color verde oliva y verde lima, el olor es característico de la fragancia añadida y no presentó alteraciones macroscópicas, es decir, sensorialmente los fotoprotectores presentaron atributos ideales y conformes a los requisitos exigidos (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2005).

El control físico, el cual consistía en la medición de pH y la extensibilidad, reportaron valores ideales para la piel, los valores de pH que se obtuvieron están muy cercanos al de la epidermis 4.9 - 5.5. La formulación 2 (5.42) presenta un valor aceptable en comparación a las otras, demostrando su fácil adaptabilidad y compatibilidad con la piel, sin inducir ningún tipo de irritación que comúnmente ocurre cuando el pH no es el adecuado (Inocente-Camones et al., 2014).

Existen aspectos en la formulación de un gel-crema que deben tenerse en cuenta debido al interés del consumidor como: facilidad de extracción del envase, extensión sobre la piel y grosor de la capa al extenderlo (extensibilidad). Como resultado se obtuvo que las formulaciones 1 (75.01 cm<sup>2</sup>) y 2 (69.77 cm<sup>2</sup>) presentan propiedades reológicas de fluidez/consistencia y de extensibilidad apropiadas (Pérez-Bueno et al., 2011).

Finalmente, el control de parámetros químicos determina el signo de la emulsión, es decir, si es aceite en agua (O/A) ó agua en aceite (A/O). El signo viene dado por el tipo de emulgentes utilizados en la formulación. En este caso la lecitina y el monoestearato otorgan al gel-crema la característica de ser aceite en agua (O/A), siendo la fase interna oleosa y la fase externa acuosa (Lozano. M and Díaz, 2012).

En función del FPS y las características sensoriales, físicas y químicas se opta por la formulación 2, la cual presenta atributos aceptables para el usuario siendo homogéneo, con ausencia de grumos e impurezas, extensibilidad aceptable, pH óptimo para la piel, sensorialmente agradable y con un FPS apto para la protección ante rayos UV.

**Tabla 13-3** Control de calidad de los fotoprotectores

PARÁMETRO	PARÁMETROS ORGANOLÉPTICOS							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Color	Verde lima	Verde lima	Verde lima	Verde oliva	Verde oliva	Verde oliva	Verde oliva	Verde oliva
Olor	Fragancia	Fragancia	Fragancia	Fragancia	Fragancia	Fragancia	Fragancia	Fragancia
Presencia de grumos	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Presencia de impurezas	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	PARÁMETROS FÍSICOS							
pH	5.85	5.42	5.73	5.49	5.38	5.91	5.75	5.64
Extensibilidad	0 = 48.71 cm <sup>2</sup>	0 = 45.36 cm <sup>2</sup>	0 = 48.09 cm <sup>2</sup>	0 = 67.20 cm <sup>2</sup>	0 = 39.87 cm <sup>2</sup>	0 = 35.52 cm <sup>2</sup>	0 = 37.93 cm <sup>2</sup>	0 = 37.12 cm <sup>2</sup>
	50 = 40.15 cm <sup>2</sup>	50 = 49.02 cm <sup>2</sup>	50 = 55.08 cm <sup>2</sup>	50 = 78.93 cm <sup>2</sup>	50 = 42.71 cm <sup>2</sup>	50 = 36.85 cm <sup>2</sup>	50 = 40.15 cm <sup>2</sup>	50 = 37.66 cm <sup>2</sup>
	100 = 55.08 cm <sup>2</sup>	100 = 49.64 cm <sup>2</sup>	100 = 55.75 cm <sup>2</sup>	100 = 84.13 cm <sup>2</sup>	100 = 46.26 cm <sup>2</sup>	100 = 47.48 cm <sup>2</sup>	100 = 45.36 cm <sup>2</sup>	100 = 39.59 cm <sup>2</sup>
	200 = 63.62 cm <sup>2</sup>	200 = 52.49 cm <sup>2</sup>	200 = 60.48 cm <sup>2</sup>	200 = 91.37 cm <sup>2</sup>	200 = 49.01 cm <sup>2</sup>	200 = 49.23 cm <sup>2</sup>	200 = 52.49 cm <sup>2</sup>	200 = 43.00 cm <sup>2</sup>
	500 = 75.01 cm <sup>2</sup>	500 = 69.77 cm <sup>2</sup>	500 = 64.33 cm <sup>2</sup>	500 = 100.28 cm <sup>2</sup>	500 = 61.17 cm <sup>2</sup>	500 = 50.58 cm <sup>2</sup>	500 = 62.21 cm <sup>2</sup>	500 = 48.71 cm <sup>2</sup>
	PARÁMETROS QUÍMICOS							
Signo de la emulsión	O/W	O/W	O/W	O/W	O/W	O/W	O/W	O/W

Realizado por: María José Poveda, 2019

### 3.10.1. Control microbiológico de la formulación ideal

Los productos cosméticos están compuestos por sustancias que los hacen susceptibles a ser contaminados por microorganismo. La contaminación microbiana representa un riesgo para la salud del usuario generando irritaciones cutáneas o infecciones, además, ocasiona el deterioro del producto, presentado separación de fases, decoloración, olor desagradable, degradación química, etc. (Cerra et al., n.d.).

Existen varios factores que pueden influir en el crecimiento microbiano, desde la obtención de la materia prima, la preparación del producto y el envasado, convirtiéndose en puntos críticos que requieren total atención (M. Madurga Sanz, 2009).

Los resultados obtenidos se encuentran por debajo de los límites permitidos según la norma NTE INEN 2867, como se puede observar en la **Tabla 14-3**

**Tabla 14-3** Resultados del análisis microbiológico de la formulación 2

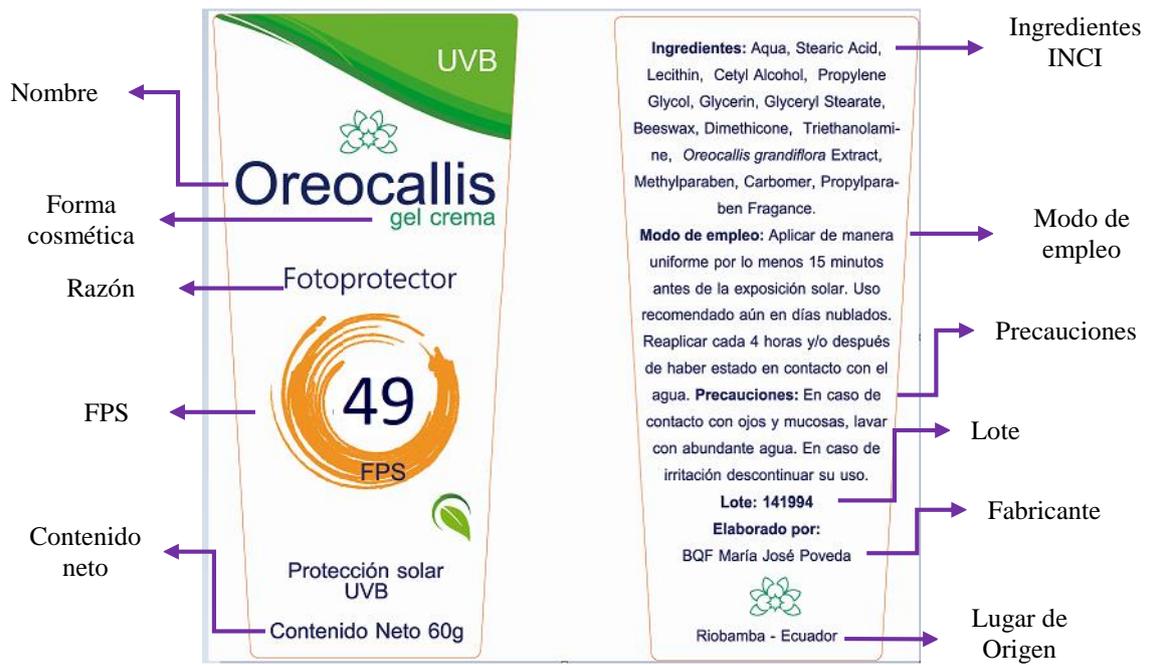
Ensayos microbiológicos	Límites de aceptabilidad	Resultados
Microorganismos mesófilos aerobios totales	Límite máximo $5 \times 10^2$ ufc*/g o mL	< 10 ufc
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 1 g o ml	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en 1 g o ml.	Ausencia
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de <i>Escherichia coli</i> en 1 g o ml.	Ausencia
Recuento total combinado de mohos y levaduras	<100 ufc/g	< 10 ufc

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

### 3.11. Envasado y etiquetado del fotoprotector

El etiquetado del fotoprotector se realizó bajo las normas NTE INEN 2867, cumpliendo todos los parámetros establecidos.

El envase para el fotoprotector es cómodo, manejable y permite la conservación del producto.



**Figura 1-3** Etiqueta del protector solar

**Realizado por:** María José Poveda, 2019

## CONCLUSIONES

- La finalidad social que tiene la investigación, es brindar a la población un producto que les otorgue la protección necesaria para evitar daños a nivel celular y prevenir la aparición de cáncer de piel. El extracto de hojas de *Oreocallis grandiflora* posee reconocidos constituyentes con alta actividad fotoprotectora, de ese modo no sólo rescatamos conocimientos ancestrales por medio de la investigación, sino que además inculcamos responsabilidad ecológica a la población.
- El tamizaje fitoquímico de las hojas de *Oreocallis grandiflora*, da a conocer cualitativamente la presencia de azúcares reductores, fenoles y flavonoides en abundancia, siendo estos los responsables de la actividad fotoprotectora que se le atribuye a la especie vegetal, datos que han sido corroborados con otras investigaciones.
- De la cuantificación de fenoles y flavonoides se obtuvo valores de  $208.33 \pm 12.58$  mg Equivalentes de Ácido Gálico/ g de extracto seco en fenoles totales y  $286.29 \pm 7.39$  mg Equivalentes de Quercetina/ g de extracto seco en flavonoides, siendo una cantidad elevada respecto a otras familias de plantas estudiadas con actividad fotoprotectora.
- El factor de protección solar a una concentración de 3000 ppm (0.3%) de extracto seco de las hojas de *Oreocallis grandiflora* fue de 48.728, valor que según la clasificación COLIPA representa un FPS elevado, mientras que en la determinación del FPS de las formulaciones en las cuales se modificó la concentración de emulgentes se constató que las formulaciones con mayor cantidad de lecitina son las que presentan un mejor rendimiento del FPS.
- En función del análisis estadístico y simultáneamente con las características organolépticas, físicas, químicas y microbiológicas se determina que la formulación 2 presenta atributos sensorialmente agradables, pH óptimo, extensibilidad adecuada, es inocuo, seguro y de calidad para el consumidor.
- El etiquetado del fotoprotector se llevó a cabo bajo la norma NTE INEN 2867 brindando al usuario la información necesaria del producto, el envase es fácilmente manipulable, apto para el protector solar, y permite la conservación del mismo.

## **RECOMENDACIONES**

- Se recomienda que para realizar toda la investigación se usen materiales totalmente limpios con una solución adecuada y los equipos debidamente calibrados.
- Se recomienda efectuar estudios del FPS en la formulación con equipos altamente sensibles como el Labsphere UV2000S para obtener de esa manera mejores resultados.
- Se sugiere que para la formulación se adquieran excipientes de grado cosmético, que garanticen la calidad de producto.
- Realizar estudios de estabilidad en la formulación para la determinación el tiempo de vida útil del producto.

## BIBLIOGRAFÍA

**Agencia Espacial Civil Ecuatoriana.** Informe Hiperión [en línea], 2008, (Ecuador). [Consulta: 20 diciembre 2018]. Disponible en: [http://www.exa.ec/INFORME-HIPERION\\_files/INFORME-HIPERION.pdf](http://www.exa.ec/INFORME-HIPERION_files/INFORME-HIPERION.pdf).

**Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria.** Guía de estabilidad de productos cosméticos. *Editora Anvisa* [en línea], 2005, (Brasília). [Consulta: 17 diciembre 2018]. ISBN 978-85-88233-15-7. Disponible en: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Guía+de+Estabilidad+de+Productos+Cosméticos/dd40ebf0-b9a2-4316-a6b4-818cac57f6de>

**Al-Jamal, M.S., Griffith, J.L. y Lim, H.W.** "Photoprotection in ethnic skin". *Dermatologica Sinica* [en línea], 2014, vol. 32, no. 4, pp. 217-224. [Consulta: 22 noviembre 2018]. ISSN 1027-8117. Disponible en: DOI 10.1016/j.dsi.2014.09.001.

**Barrese Pérez, Hernández Jiménez, M.E. y García Pulpeiro, O.** "Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata* L". *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], 2005, vol. 10, no. 2, pp. 0-0. [Consulta: 2 enero 2019]. ISSN 1028-4796. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962005000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000200009)

**Batista, C.M., et.al.** "The photoprotective and anti-inflammatory activity of red propolis extract in rats". *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [en línea], 2018, vol. 180, pp. 198-207. [Consulta: 10 enero 2019]. ISSN 10111344. Disponible en: DOI 10.1016/j.jphotobiol.2018.01.028.

**Battle, C.** "Factor de protección solar". *Offarm* [en línea], 2005, vol. 24, no. 6, pp. 65-72. [Consulta: 14 diciembre 2018]. ISSN 0212-047X. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-factor-proteccion-solar-13076818>

**Bendová, H., et.al.** "In vitro approaches to evaluation of Sun Protection Factor". *Toxicology in Vitro* [en línea], 2007, vol. 21, no. 7, pp. 1268-1275. [Consulta: 6 enero 2019]. ISSN 0887-2333. Disponible en: DOI 10.1016/j.tiv.2007.08.022.

**Blitz, J.B. y Norton, S.A.** "Possible environmental effects of sunscreen run-off". *Journal of the American Academy of Dermatology* [en línea], 2008, vol. 59, no. 5, pp. 898. [Consulta: 28 diciembre 2018]. ISSN 0190-9622, 1097-6787. Disponible en: DOI 10.1016/j.jaad.2008.06.013.

**Cabrera Morales, C.M. y López-Nevot, M.A.** "Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel". *Oncología (Barcelona)* [en línea], 2006, vol. 29, no. 7, pp. 25-32. [Consulta: 13 diciembre 2018]. ISSN 0378-4835. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0378-48352006000700003](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0378-48352006000700003)

**Reyne, C.** Guía de identificación de las plantas comunes del derecho de vía del ducto de Perú [en línea], 2012. Perú, pp. 46 [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: <https://docplayer.es/53782318-Guia-de-identificacion-de-las-plantas-comunes-del-derecho-de-via-del-ducto-de-peru-lng.html>

**Castro, L, J.J.** "Elucidación estructural del aceite esencial de *Ruta graveolens* L. (Ruda) cultivada en el Perú. Actividad antioxidante y bioensayo de citotoxicidad". *Revista de la Universidad Científica del Sur* [en línea], 2017, Vol. 8 N° 1. [Consulta: 6 enero 2019]. *Issuu*. Disponible en: <https://issuu.com/bibliotecacientifica/docs/cientifica-v8n1/24>.

**Cerra, H. et.al.** Manual de Microbiología Aplicada a las Industrias Farmacéutica, Cosmética y de Productos Médico [en línea], 2013, (Buenos Aires), pp. 544. [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <http://www.aam.org.ar/descarga-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>

**Cestari, T. y Buster, K.** "Photoprotection in specific populations: Children and people of color". *Journal of the American Academy of Dermatology* [en línea], 2017, vol. 76, no. 3, Supplement 1, pp. S110-S121. [Consulta: 6 enero 2019]. ISSN 0190-9622. Disponible en: DOI 10.1016/j.jaad.2016.09.039.

**Chuncho, I.G. y Chamba, I.C.** Ecología, Utilización e Impactos Producidos por el Aprovechamiento del Cucharillo *Oreocallis Grandiflora* (Lam) R. Br. En las Parroquias de Taquil, Chantaco, Chuquiribamba y Gual del de la Provincia de Loja [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Nacional de Loja, Ecuador pp. 228, 2007. [Consulta: 13 diciembre 2018]. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5038/1/ECOLOGÍA%20UTILIZACIÓN%20IMPACTOS%20PRODUCIDOS%20POR%20EL%20APROVECHAMIENTO%20DEL.pdf>

**Coppini, M.V.** Los efectos del protector solar en el medio ambiente. *Territorio Geoinnova - SIG y Medio Ambiente* [en línea], 2018. [Consulta: 26 diciembre 2018]. Disponible en: <https://geoinnova.org/blog-territorio/medio-ambiente-e-e2%80%8bfectos-protector-solar-medio-ambiente/>.

**Cortinas, C.** *Cáncer: herencia y ambiente* [en línea]. S.l.: Fondo de Cultura Económica., 2013. [Consulta: 26 diciembre 2018] ISBN 978-607-16-1294-6. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=SYW4gvTw19IC>

**Costa, S.C.C. et.al.** "In vitro photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations". *Revista Brasileira de Farmacognosia* [en línea], 2015, vol. 25, no. 4, pp. 413-418. [Consulta: 15 diciembre 2018]. ISSN 0102695X. Disponible en: DOI 10.1016/j.bjp.2015.07.013.

**Díaz, J. y J.M.** Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto) [en línea] (Trabajo de titulación). *Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote*, 2018. [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/5099>.

**Duro Mota, E., Campillos Páez, M.T. y Causín Serrano, S.** "El sol y los filtros solares". *Medifam* [en línea], 2003., vol. 13, no. 3. [Consulta: 4 enero 2019]. ISSN 1131-5768. DOI 10.4321/S1131-57682003000300005. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1131-57682003000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1131-57682003000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=en).

**Dutra, E.A., et.al.** "Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry". *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* [en línea], 2004, vol. 40, no. 3, pp. 381-385. [Consulta: 2 enero 2019]. ISSN 1516-9332. Disponible en: DOI 10.1590/S1516-93322004000300014.

**Espinosa, L.** Campaña de Mercadeo Social Escúdate: Tu piel perdona pero no olvida, no la espongas al cáncer [en línea] (Trabajo de titulación), Universidad San Francisco de Quito, Ecuador-Quito, 2014. [Consulta: 26 diciembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/3220/1/000110586.pdf>.

**Ester, V.L.** Dermatología Pediátrica. Enfoque Práctico. S.l.: Editorial Dunken [en línea], 2014. [Consulta: 6 enero 2019]. ISBN 978-987-02-7058-4. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=fuaaAwAAQBAJ>

**Food and Drug Administration (FDA).** Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products. [en línea], 2018. [Consulta: 7 enero 2019]. Disponible en: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm>.

**Flor, J., Davolos, M.R. y Correa, M.A.** "Sunscreens". *Química Nova* [en línea], 2007, vol. 30, no. 1, pp. 153-158. [Consulta: 10 enero 2019]. ISSN 0100-4042. Disponible en: DOI 10.1590/S0100-40422007000100027.

**Gallegos-Hernández, J.F.** "Melanoma cutáneo. La importancia de la fotoprotección y del diagnóstico oportuno". *Cirugía y Cirujanos* [en línea], 2008, vol. 76, no. 5, pp. 363-367. [Consulta: 15 diciembre 2019]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=17814>

**García Martínez, E.M., Fernández Segovia, I. y Fuentes López, A.** Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu [en línea], 2015. [Consulta: 31 diciembre 2018]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/52056>.

**Garrote, A. y Bonet, R.** "Fotoprotección. Factores de protección y filtros solares". *Offarm* [en línea], 2008. vol. 27, no. 5, pp. 63-73. [Consulta: 31 diciembre 2018]. ISSN 0212-047X. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-fotoproteccion-factores-proteccion-filtros-solares-13120520>

**Gil, M.I.** Factores que Afectan al Contenido de Compuestos Bioactivos en Alimentos de IV Gama [en línea], 2007, pp. 10. [Consulta: 31 diciembre 2018]. Disponible en: <http://www.horticom.com/pd/imagenes/69/425/69425.pdf>

**Gilaberte, Y. y González, S.** "Novedades en fotoprotección". *Actas Dermo-Sifiliográficas* [en línea], 2010., vol. 101, no. 8, pp. 659-672. [Consulta: 26 diciembre 2018]. ISSN 0001-7310. Disponible en: DOI 10.1016/j.ad.2010.04.003.

**González, Z.** "Los efectos de la luz ultravioleta". *Revista: La ciencia y el hombre - Universidad Veracruzana* [en línea], 2012, Volumen XXV - Número 3. [Consulta: 26 diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol25num3/articulos/efectos-luz/>.

**González-Púmariega, M., Tamayo, M.V. y Sánchez-Lamar, Á.** La Radiación Ultravioleta. Su Efecto Dañino y Consecuencias Para la Salud Humana [en línea], 2009. , vol. 18, pp. 13. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/299/29917006006.pdf>

**Guerrero, D.** Actividad hipoglucemiante del extracto de las hojas de *Oreocallis grandiflora* en ratas (*Rattus norvegicus*) por inhibición de alfa-amilasa [en línea] (Trabajo de titulación), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba-Ecuador, 2014. [Consulta: 27 diciembre 2018]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/3428/1/56T00447.pdf>.

**Guevara, P.N.C., Lang, K.L. y Novoa, M.A.** "Cosmetovigilancia: un estudio de alcance". *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* [en línea], 2016., vol. 45, no. 2, pp. 305-327. [Consulta: 27 diciembre 2018]. ISSN 1909-6356. Disponible en: DOI 10.15446/rcciquifa.v45n2.59945.

**Huang, S.-H. y NG, L.-T.** "Quantification of polyphenolic content and bioactive constituents of some commercial rice varieties in Taiwan". *Journal of Food Composition and Analysis* [en línea], 2012, vol. 26, no. 1, pp. 122-127. [Consulta: 3 enero 2019]. ISSN 0889-1575. Disponible en: DOI 10.1016/j.jfca.2012.03.009.

**IDERMA.** Factores que determinan el Índice Ultravioleta - Blog [en línea], 2015. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: <http://www.iderma.es/blog.cfm/ID/13106/ESP/factores-determinan-indice-ultravioleta.htm>.

**Sánchez, Q y Tovar .A.** "Sunscreens as a Source of Hydrogen Peroxide Production in Coastal Waters". *Environ. Sci. Technol* [en línea], 2014, 48, 16, 9037-9042. [Consulta: 3 diciembre 2018]. Disponible en: DOI: 10.1021/es5020696

**Inocente-Camones, M.Á. et.al.** "Actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de camu camu (*Myrciaria dubia*, Kunth)". *Revista de la Sociedad Química del Perú* [en línea], 2014, vol. 80, no. 1, pp. 65-77. [Consulta: 3 diciembre 2018]. ISSN 1810-634X. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1810-634X2014000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1810-634X2014000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**Iñaki García.** Que son flavonoides y para que sirven | Fundación CANNA: Investigación y análisis de Cannabis [en línea], 2017. [Consulta: 4 enero 2019]. Disponible en: <https://www.fundacion-canna.es/flavonoides>.

**Katiyar, S.K., Pal, H.C. y Prasad, R.** "Dietary proanthocyanidins prevent ultraviolet radiation-induced non-melanoma skin cancer through enhanced repair of damaged DNA-dependent activation of immune sensitivity". *Seminars in Cancer Biology* [en línea], 2017, vol. 46, pp. 138-145. [Consulta: 4 enero 2019]. ISSN 1044579X. Disponible en: DOI 10.1016/j.semcancer.2017.04.003.

**Lim, H.W., Arellano-Mendoza, M.-I. y Stengel, F.** "Current challenges in photoprotection". *Journal of the American Academy of Dermatology* [en línea], 2017, vol. 76, no. 3, Supplement 1,

pp. S91-S99. [Consulta: 6 enero 2019]. ISSN 0190-9622. Disponible en: DOI 10.1016/j.jaad.2016.09.040.

**Linares, Y.M., et.al.** "Estudio fitoquímico de extractos de hojas de *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh (Chaya)". *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], 2016., vol. 21, no. 4. [Consulta: 6 enero 2019]. ISSN 1028-4796. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/390>.

***Los efectos biológicos de la radiación ultravioleta.*** Consulta pública sobre los efectos biológicos de la radiación ultravioleta (UVC) relevante para la salud [en línea], 2016. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: <https://smart-lighting.es/consulta-publica-los-efectos-biologicos-la-radiacion-ultravioleta-uvc-relevante-la-salud-especial-referencia-las-lamparas-uv/>.

**Lozano, M y Díaz, M.C.** Manual de tecnología farmacéutica. StudentConsult en español. *Elsevier España* [en línea], 2012. S.I. [Consulta: 3 enero 2019]. ISBN 978-84-9022-000-9. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=OKCWQZ0KdI8C>

**Madurga Sanz, M.** El papel de la cosmética: excipientes y conservantes [en línea], 2009. [Consulta: 8 enero 2019]. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1139-76322009000300006](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322009000300006).

**Mansur, M.C.P.P.R., et.al.** "In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts". *Revista Brasileira de Farmacognosia* [en línea], 2016., vol. 26, no. 2, pp. 251-258. [Consulta: 9 enero 2019]. ISSN 0102-695X. Disponible en: DOI 10.1016/j.bjp.2015.11.006.

**Marín, D. y Del Pozo, A.** "Fototipos cutáneos. Conceptos generales". *Offarm* [en línea], 2005., vol. 24, no. 5, pp. 136-137. [Consulta: 26 diciembre 2018]. ISSN 0212-047X. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-filtros-solares-caracteristicas-tipos-requerimientos-13079607>

**Marrero, K.D. y García, K.M.C.** "Conocimiento sobre fotodaño cutáneo en adultos con riesgo". *Investigaciones Medicoquirúrgicas* [en línea], 2013., vol. 5, no. 2, pp. 276-288. [Consulta: 15 diciembre 2018]. ISSN 1995-9427. Disponible en: <http://www.revcimeq.sld.cu/index.php/imq/article/view/245>

**Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J. y Culebras, J.M.** "Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes". *Nutr. Hosp* [en línea], 2002., pp. 8. [Consulta: 9 diciembre 2018]. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

**Mendoza, I.A., et.al.** Recomendaciones clínicas para la fotoprotección en México [en línea], 2014, pp. 14. [Consulta: 16 diciembre 2018]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2014/dcm144e.pdf>

**Mendoza, W.E.A., et.al.** "Desarrollo de una Crema de Hojas de *Piper Aduncum* L. (Piperaceae) con Actividad Fotoprotectora *in vitro*". *Arnaldoa* [en línea], 2018., vol. 25, no. 1, pp. 115-126-126. [Consulta: 2 enero 2019]. ISSN 2413-3299. DOI 10.22497/849. Disponible en: <http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/view/849>

**Miranda, M. M.** *Farmacognosia y productos naturales*. S.l.: Editorial Félix Varela [en línea], 2001. [Consulta: 2 enero 2019]. ISBN 978-959-07-1794-9. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=VhGyswEACAAJ>

**Morales, C., M. C. y López-Nevot, M.A.** "Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel". *Oncología (Barcelona)* [en línea], 2006., vol. 29, no. 7, pp. 25-32. [Consulta: 12 diciembre 2018]. ISSN 0378-4835. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0378-48352006000700003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0378-48352006000700003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**Noreen, H., Semmar, N., Farman, M. y Mccullagh, J.S.O.** "Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*". *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* [en línea], 2017., vol. 10, no. 8, pp. 792-801. [Consulta: 10 enero 2019]. ISSN 1995-7645. Disponible en: DOI 10.1016/j.apjtm.2017.07.024.

**NTE INEN 2867.** Servicio Ecuatoriano de Normalización [en línea], 2015. [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: <http://manualzilla.com/doc/6193092/nte-inen-2867---servicio-ecuatoriano-de-normalizaci%C3%B3n>.

**Lozano, P. M.** *Especies Forestales Árboreas y Arbustivas de los Bosques Montanos del Ecuador* [en línea], 2015. [Consulta: 26 diciembre 2018]. Disponible en: <https://docplayer.es/48935408-Especies-forestales-arboreas-y-arbustivas-de-los-bosques-montanos-del-ecuador.html>.

**Pachpawar, N.G., Mahajan, U.N. y Kharwade, R.S.** "Formulation and Evaluation of Sun Protective Topical Preparation". *International Research Journal Of Pharmacy*. [en línea], 2018., vol. 9, no. 2, pp. 27-32. [Consulta: 26 diciembre 2018]. ISSN 22308407. Disponible en: DOI 10.7897/2230-8407.09222.

**Pérez-Bueno, T., et.al.** "Comportamiento reológico y extensibilidad de una formulación semisólida a partir del extracto acuoso de *Rhizophora mangle* L". *Tecnología, Ciencia, Educación* [en línea], 2011., vol. 26, no. 2. [Consulta: 8 enero 2019]. ISSN 0186-6036. Disponible en: <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=48221175003>.

**PNUMA.** La capa de ozono y las SAO [en línea]. [Consulta: 23 diciembre 2018]. Disponible en: <http://www.pnuma.org/ozono/curso/pdf/m1.pdf>.

**Radiacion Ultravioleta Y Salud**, Editorial Universitaria [en línea], 2005. S.l.: ISBN 978-956-11-1790-7.

**Raffa, D., et.al.** "Recent discoveries of anticancer flavonoids". *European Journal of Medicinal Chemistry* [en línea], 2017., vol. 142, pp. 213-228. [Consulta: 5 diciembre 2018]. ISSN 0223-5234. Disponible en: DOI 10.1016/j.ejmech.2017.07.034.

**Ramírez, J., et.al.** "Actividad antioxidante y antihiper glucemiante de la especie medicinal *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R. Br., al sur del Ecuador". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* [en línea], 2013, vol. 12, no. 1. [Consulta: 5 diciembre

2018]. ISSN 0717 7917. Disponible en: <http://www.revistas.usach.cl/ojs/index.php/blacpma/article/view/1103>.

**Reyes, E. y Vitale, M.A.** "Avances en fotoprotección. Mecanismos moleculares implicados". *Piel* [en línea], 2013, vol. 28, no. 4, pp. 235-247. [Consulta: 5 diciembre 2018]. ISSN 0213-9251. Disponible en: DOI 10.1016/j.piel.2012.04.011.

**Rivas, C.B., et.al.** "Potencial antioxidante de un extracto acuoso de hojas del NIM (Azadirachta Indica A. Juss)". *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], 2014, vol. 19, no. 2. [Consulta: 6 enero 2019]. ISSN 1028-4796. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/155>.

**Sarkany, R.P.E.** "Ultraviolet Radiation and the Skin". *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences S.l.: Elsevier* [en línea], 2018. [Consulta: 29 diciembre 2018]. ISBN 978-0-12-409548-9. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124095489109315>.

**Sharapin, N.** *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. S.l.: Convenio Andrés Bello [en línea], 2000. [Consulta: 29 diciembre 2018]. ISBN 978-958-698-001-2. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=XH2HzSIJPywC>

**Silva, R.V., et.al.** "In vitro photoprotective activity of the Spondias purpurea L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation". *Industrial Crops and Products* [en línea], 2016., vol. 83, pp. 509-514. [Consulta: 18 diciembre 2018]. ISSN 09266690. Disponible en: DOI 10.1016/j.indcrop.2015.12.077.

**Smith, R.A., et.al.** "Cancer screening in the United States, 2018: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. CA". *A Cancer Journal for Clinicians* [en línea], 2018. vol. 68, no. 4, pp. 297-316. [Consulta: 18 diciembre 2018]. ISSN 1542-4863. Disponible en: DOI 10.3322/caac.21446.

**SOLCA.** Cancer de piel 2017. *Issuu* [en línea], 2017. [Consulta: 30 julio 2018]. Disponible en: [https://issuu.com/solcaquito/docs/cancer\\_de\\_piel\\_2017](https://issuu.com/solcaquito/docs/cancer_de_piel_2017).

**Sordo, C. y Gutiérrez, C.** "Cáncer de piel y radiación solar: experiencia peruana en la prevención y detección temprana del cáncer de piel y melanoma". *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* [en línea], 2013., vol. 30, no. 1, pp. 113-117. [Consulta: 30 julio 2018]. ISSN 1726-4634. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1726-46342013000100021&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1726-46342013000100021&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

**Thangavel, S. y Kumar Reddy, K.K.S.** "Ozone Layer Depletion and Its Effects: A Review". *International Journal of Environmental Science and Development* [en línea], 2011, vol. 2, pp. 30-37. [Consulta: 16 diciembre 2018]. Disponible en: DOI 10.7763/IJESD.2011.V2.93.

**Villamil, M.M., Gavilá, J.T. y Vaello, I.V.** "Evaluación de la toxicidad de metilparabeno en Artemia franciscana: efectos sobre crecimiento, supervivencia y biomarcadores". *Nereis: revista iberoamericana interdisciplinaria de métodos, modelización y simulación* [en línea], 2016., no. 8,

pp. 103-118. [Consulta: 26 diciembre 2018]. ISSN 1888-8550. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5874066>

**Vinueza, D, C., K, A. Y G, P.** "*Oreocallis grandiflora* Photoprotective Effect Against Ultraviolet B Radiation-Induced Cell Death". *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* [en línea], 2018, vol. 11, no. 2, pp. 276-280. [Consulta: 5 enero 2019]. ISSN 2455-3891. Disponible en: DOI 10.22159/ajpcr.2018.v11i2.20910.

**Vinueza. D, et.al.** "Flavonoids in Ecuadorian *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R. Br.: Perspectives of Use of This Species as a Food Supplement". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [en línea], 2018. [Consulta: 27 diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2018/1353129/>.

## ANEXOS

### Anexo A. Marco legal para el uso y recolección de la planta.

 SECRETARIA GENERAL  
Ministerio  
del Ambiente  
FECHA REG 14 SEP 2018

REGISTRO ..... 6367 .....  
FOLIO ..... 402 ..... MINISTERIO DEL AMBIENTE

**CONTRATO MARCO DE ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DENOMINADO: “ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD EN EL ECUADOR, ECOLOGÍA, CONSERVACIÓN Y SU POTENCIAL USO SOSTENIBLE” CELEBRADO ENTRE EL MINISTERIO DEL AMBIENTE, A TRAVÉS DE LA SUBSECRETARÍA DE PATRIMONIO NATURAL Y LA ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.**

MAE-DNB-CM-2018-0086

**COMPARECIENTES:**

A la suscripción del presente Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos del Programa de Investigación Científica Denominado: “ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD EN EL ECUADOR, ECOLOGÍA, CONSERVACIÓN Y SU POTENCIAL USO SOSTENIBLE” comparecen, por una parte el MINISTERIO DEL AMBIENTE, a través de la Subsecretaría de Patrimonio Natural, legalmente representado por el LCDO. LÓPEZ MORA ALFREDO DANILLO, en su calidad de Subsecretario de Patrimonio Natural, conforme se desprende de la Acción de Personal Nro. 0945 de 02 de mayo de 2018, delegado de la máxima autoridad mediante Acuerdo Ministerial Nro. 024 de 09 de marzo de 2016, publicado en el Registro Oficial Nro. 725 de 04 de abril de 2016, a quien en adelante se le denominará “MAE”; y, por otra parte, la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, debidamente representada por el Ing. BYRON ERNESTO VACA BARAHONA PhD., en su calidad de Rector, conforme consta del certificado emitido por el Ab. Carlos de la Cadena, Secretario General, documento que se agrega como habilitante y a quien en adelante se denomina “ESPOCH”.

Las partes convienen en celebrar, el presente Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos respecto de la solicitud del programa de investigación científica denominado “ESTUDIO DE LA BIODIVERSIDAD EN EL ECUADOR, ECOLOGÍA, CONSERVACIÓN Y SU POTENCIAL USO SOSTENIBLE” contenido y estipulado en las siguientes cláusulas:

**PRIMERA. ANTECEDENTES.-**

1. La Constitución de la República del Ecuador, en los artículos 3 numeral 7 establece que son deberes primordiales del Estado “(...)7. Proteger el patrimonio natural y cultural del país. (...)” y 83 numerales 6 y 13 establece como deberes y responsabilidades de las ecuatorianas y los ecuatorianos “(...) 6. Respetar los derechos de la naturaleza, preservar un ambiente sano y utilizar los recursos naturales de modo racional, sustentable y sostenible (...)” 13. Conservar el patrimonio cultural y natural del país, y cuidar y mantener los bienes públicos (...)”;
2. El artículo 14 de la Norma Suprema determina que: “...Se reconoce el derecho de la

Calle Madrid 1159 y Andalucía Código Postal: 170517 / Quito – Ecuador. Teléfono: 593-2 398-7600

1

## Anexo B. Identificación de la especie vegetal de estudio



**HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)**  
ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL CHIMBORAZO  
Panamericana sur Km 1, fono: (03) 2 998-200 ext. 700123, jcaranqui@yahoo.com  
Riobamba Ecuador

### CERTIFICADO

24 de enero del 2019

Msc. Karen Acosta

### RESPONSABLE TÉCNICA CONTRATO MARCO DE ACCESO A LOS RECURSOS GENÉTICOS

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente certifico que dentro del **Contrato Marco de Acceso a los Recursos Genéticos** asignado con el : Nro-MAE-DNB-CM-2018-0086. que al señorita María José Poveda Suárez con CI: 060423596-0, Tesista de Bioquímica y Farmacia, se identificó las especie: *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R. Br.. La especie se identificó, revizó en los registros del herbario; y en un tiempo determinado ingresará a la colección del herbario. 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.  
BOTÁNICO  
HERBARIO ESPOCH

FACULTAD DE  
RECURSOS  
NATURALES

CHIMB

**Anexo C. POES de referencia para el control de calidad de las formulaciones**

Datos de la Farmacia

PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS

<b>PROCEDIMIENTO de CONTROLES de PRODUCTOS</b>	
<b>Código: PN/L/CP/002/00</b>	<b>Página 1 de 5</b>
<b>Sustituye a:</b>	<b>Fecha de aprobación:</b>

**DETERMINACIÓN DEL SIGNO DE LA EMULSIÓN**

**Índice**

1. Objetivo
2. Responsabilidad de aplicación y alcance
3. Definiciones
4. Descripción
  - 4.1 Conductividad
  - 4.2 Coloración
  - 4.3 Dilución
5. Registros
6. Control de cambios
7. Anexos
  - Anexo I – Control de copias

<b>Redactado por:</b>	<b>Revisado por:</b>	<b>Aprobado por:</b>

<b>PROCEDIMIENTO de CONTROLES de PRODCUTOS</b>	
<b>Código: PN/L/CP/003/00</b>	<b>Página 1 de 6</b>
<b>Sustituye a:</b>	<b>Fecha de aprobación:</b>

### **DETERMINACIÓN DE EXTENSIBILIDAD**

#### **Índice**

1. Objetivo
2. Responsabilidad de aplicación y alcance
3. Definiciones
4. Descripción
  - 4.1. Material y equipos
  - 4.2. Entorno
  - 4.3. Método
5. Registros
6. Control de cambios
7. Anexos
  - Anexo I – Control de copias

<b>Redactado por:</b>	<b>Revisado por:</b>	<b>Aprobado por:</b>

<b>PROCEDIMIENTO de CONTROLES de PRODUCTOS</b>	
<b>Código: PN/L/CP/001/00</b>	<b>Página 1 de 5</b>
<b>Sustituye a:</b>	<b>Fecha de aprobación:</b>

## MEDICIÓN DE pH

### Índice

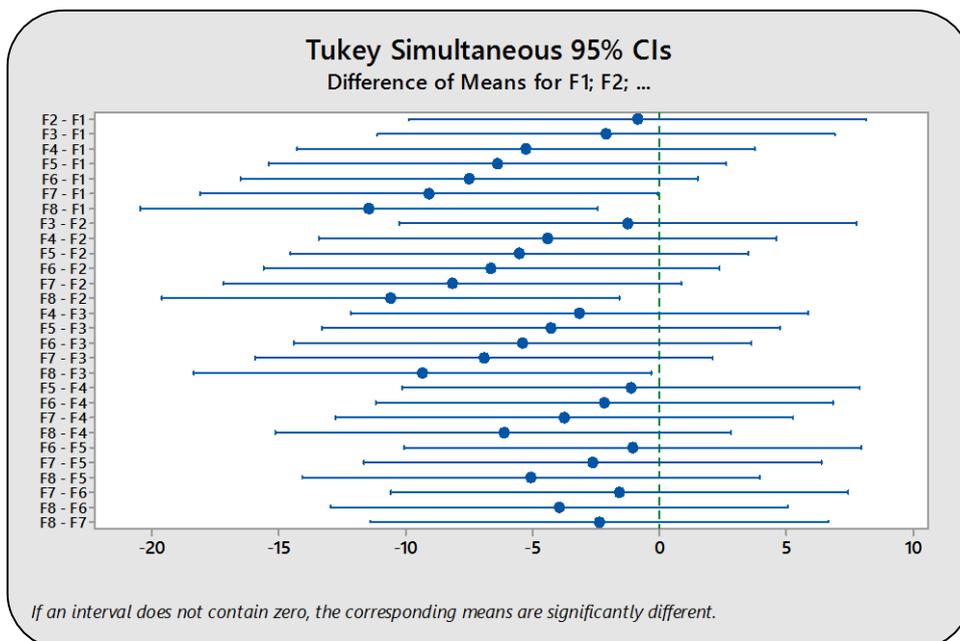
1. Objetivo
2. Responsabilidad de aplicación y alcance
3. Definiciones
4. Descripción
  - 4.1 Material y equipo
  - 4.2 Determinación con tiras reactivas
  - 4.3 Determinación potenciométrica del pH
5. Registros
6. Control de cambios
7. Anexos
  - Anexo I – Control de copias

<b>Redactado por:</b>	<b>Revisado por:</b>	<b>Aprobado por:</b>

## Anexo D. Prueba de Tukey

Tukey Simultaneous Tests for Differences of Means						
Difference of Levels	Difference of Means	SE of Difference	95% CI	T-Value	Adjusted P-Value	
F2 - F1	-0,87	2,60	( -9,88; 8,14)	-0,33	1,000	
F3 - F1	-2,12	2,60	(-11,13; 6,90)	-0,81	0,990	
F4 - F1	-5,29	2,60	(-14,30; 3,72)	-2,04	0,491	
F5 - F1	-6,41	2,60	(-15,42; 2,61)	-2,46	0,277	
F6 - F1	-7,50	2,60	(-16,52; 1,51)	-2,88	0,141	
F7 - F1	-9,07	2,60	(-18,09; -0,06)	-3,49	0,048	
F8 - F1	-11,46	2,60	(-20,48; -2,45)	-4,41	0,008	
F3 - F2	-1,25	2,60	(-10,26; 7,77)	-0,48	1,000	
F4 - F2	-4,42	2,60	(-13,43; 4,59)	-1,70	0,687	
F5 - F2	-5,54	2,60	(-14,55; 3,48)	-2,13	0,439	
F6 - F2	-6,63	2,60	(-15,65; 2,38)	-2,55	0,243	
F7 - F2	-8,20	2,60	(-17,21; 0,81)	-3,15	0,088	
F8 - F2	-10,59	2,60	(-19,61; -1,58)	-4,07	0,016	
F4 - F3	-3,18	2,60	(-12,19; 5,84)	-1,22	0,914	
F5 - F3	-4,29	2,60	(-13,30; 4,72)	-1,65	0,717	
F6 - F3	-5,39	2,60	(-14,40; 3,62)	-2,07	0,470	
F7 - F3	-6,96	2,60	(-15,97; 2,05)	-2,67	0,200	
F8 - F3	-9,35	2,60	(-18,36; -0,34)	-3,59	0,039	
F5 - F4	-1,11	2,60	(-10,12; 7,90)	-0,43	1,000	
F6 - F4	-2,21	2,60	(-11,22; 6,80)	-0,85	0,987	
F7 - F4	-3,78	2,60	(-12,79; 5,23)	-1,45	0,820	
F8 - F4	-6,17	2,60	(-15,18; 2,84)	-2,37	0,316	
F6 - F5	-1,10	2,60	(-10,11; 7,91)	-0,42	1,000	
F7 - F5	-2,67	2,60	(-11,68; 6,34)	-1,03	0,963	
F8 - F5	-5,06	2,60	(-14,07; 3,95)	-1,95	0,543	
F7 - F6	-1,57	2,60	(-10,58; 7,44)	-0,60	0,998	
F8 - F6	-3,96	2,60	(-12,97; 5,05)	-1,52	0,785	
F8 - F7	-2,39	2,60	(-11,40; 6,62)	-0,92	0,980	

Individual confidence level = 99,68%



Prueba de Tukey, comparación simultánea

**Anexo E.** Secado y control de calidad de las hojas de *Oreocallis grandiflora*



Hojas de *Oreocallis grandiflora*



Secado de la materia vegetal



Molienda de la materia vegetal



Determinación de humedad



Determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en HCl

Anexo F. Tamizaje Fitoquímico de las hojas de *Oreocallis grandiflora*



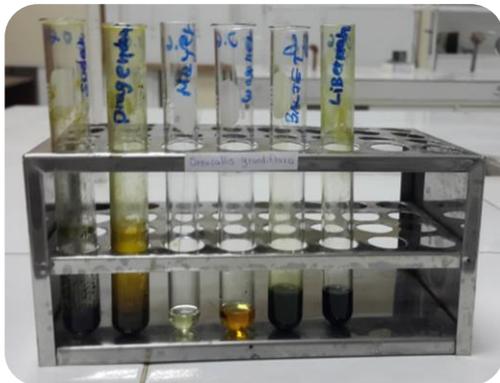
Extracto etéreo



Extracto alcohólico



Extracto acuoso



Tamizaje extracto etéreo



Tamizaje extracto acuoso



Tamizaje extracto alcohólico

**Anexo G.** Obtención del extracto seco y determinación de fenoles y flavonoides



Extracto concentrado en rotavapor



Extracto seco



Determinación de flavonoides

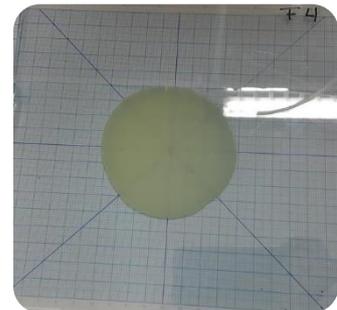
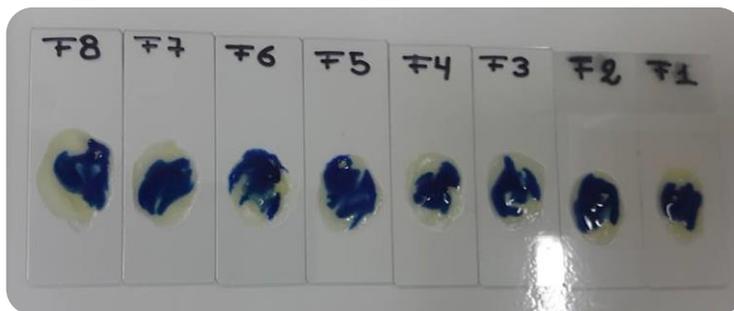


Determinación de fenoles

## Anexo H. Formulaciones y control de calidad



Fotoprotectores



Control de calidad de los fotoprotectores

## Anexo I. Envasado y etiquetado



Etiqueta



Envase