



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LA
Buddleja incana, EN FOTOTIPOS DE PIEL III PARA LA
ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR:

LIDA VERONICA LABRE PANIMBOZA

TUTOR:

Dra. SUSANA ABDO

RIOBAMBA-ECUADOR

2015

AGRADECIMIENTO

A Dios quien supo guiarme y dame las fuerzas necesarias para seguir adelante.

A mí querido esposo Edison y mi hija Karen por su apoyo y compañía incondicional, ya que siempre estaban a mi lado apoyándome en mi preparación profesional.

A la Dra. Susana Abdo, por su asesoramiento de la presente tesis.

A la Dra. Elizabeth Escudero por su colaboración en el desarrollo de la investigación.

A toda mi familia por su apoyo incondicional.

A mis amigas que me brindaron su amistad durante toda mi carrera universitaria.

DEDICATORIA

A mis queridos padres Beatriz y Alejandro por darme la vida y ser mi mejor ejemplo de superación, apoyándome durante todo el periodo de estudio.

A mi hija Karen Estefanía, por ser el motor que ha impulsado en mí el deseo de superación día a día, fortaleciendo mi mente y corazón. A mi esposo Edison que ha sido el impulso durante toda mi carrera universitaria y el pilar fundamental para la culminación de la misma. TE AMO.

A mis queridos hermanos/as Norma, Ana, Rolando y Jessica por apoyarme siempre y fomentar en mí el deseo de superación.

A mis tíos que siempre me han estado apoyando para continuar con todas mis metas y proyectos.

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE LA *Buddleja incana*, EN FOTOTIPOS DE PIEL III PARA LA ELABORACIÓN DE UN PROTECTOR SOLAR.” de responsabilidad de la señorita egresada Lida Verónica Labre Panimboza, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Nancy Veloz	-----	-----
DECANA FAC. CIENCIAS		
Dra. Ana Albuja	-----	-----
DIRECTORA DE ESCUELA		
Dra. Susana Abdo	-----	-----
DIRECTORA DE TESIS		
Dra. Elizabeth Escudero	-----	-----
ASESOR DE TESIS		
BQF. Cecilia Toaquiza	-----	-----
MIEMBRO DE TRIBUNAL		
Abg. Bertha Quintanilla	-----	-----
COORDINADOR SISBIB ESPOCH		
NOTA DE TESIS	-----	

Yo, **Lida Verónica Labre Panimboza**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO

LIDA VERONICA LABRE PANIMBOZA

LISTA DE ABREVIATURAS

μL	microlitros
μm	micrómetros
ADN	adenosintrifosfato
AECC	Asociación Española Contra el Cáncer
cm	centímetro
Co A	Coenzima A
CPNM	Cáncer de Piel no melanoma
EEUU	Estados Unidos
EMT	extracto metanólico total
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
EXA	Agencia Espacial Civil Ecuatoriana
FDA	Administración de Drogas y Alimentos
FPS	Factor de Protección Solar
g	gramo
IMN	Instituto Meteorológico Nacional
Kg	kilogramo
L	litro
m	metro
mg	miligramo
mL	mililitro
MM	melanoma maligno
mm	milímetros
msnm	metros sobre el nivel del mar
NIRP	Comisión Internacional de Protección contra la Radiación no Ionizante
nm	nanómetros
OMM	Organización Meteorológica Mundial
OMS	Organización Mundial de la Salud
PABA	Acido para-amino-benzoico
SAB	Agar Dextrosa Sabourad
SEA	subextracto acuoso
SEAE	subextracto acetato de etilo
SEAH	subextracto acuoso hidrolizado

SEH	subextracto hexánico
SOLCA	Sociedad de Lucha Contra el Cáncer
TSA	Agar Soya Trypticasa
UNEP	Programas de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
UV	ultravioleta

	ÍNDICE GENERAL	
	PORTADA	
	AGRADECIMIENTO	
	DEDICATORIA	
	LISTA DE ABREVIATURAS	i
	ÍNDICE GENERAL	iii
	ÍNDICE DE ANEXOS	vi
	ÍNDICE DE CUADROS	vii
	ÍNDICE DE GRÁFICOS	x
	RESUMEN	
	SUMMARY	
	INTRODUCCIÓN	
	CAPÍTULO	- 1 -
	MARCO TEÓRICO	- 1 -
1.	RADIACIÓN SOLAR	- 1 -
1.1.	Características de la radiación solar que llegan a la tierra	- 1 -
1.1.1.	<i>Efectos del sol sobre la piel</i>	- 2 -
1.1.1.1.	<i>Efectos positivos de la luz solar</i>	- 2 -
1.1.1.2.	<i>Efectos negativos de la luz solar</i>	- 2 -
1.1.2.	<i>Los niveles de radiación ultravioleta dependen de varios factores</i>	- 3 -
1.1.3.	<i>Efectos para los seres vivos causados por la radiación solar</i>	- 4 -
1.2.	La Piel	- 5 -
1.2.1	<i>Definición</i>	- 5 -
1.2.2	<i>Partes de la piel y sus funciones</i>	- 5 -
1.2.3	Fototipo	- 7 -
1.2.3.1	<i>Definición</i>	- 7 -

1.2.4	<i>Efectos de la exposición a los rayos ultravioleta (UV)</i>	8 -
1.2.4.1	<i>Efectos agudos de la sobreexposición a la radiación ultravioleta solar</i> ...	8 -
1.2.4.1.1	<i>Eritemas</i>	8 -
1.2.4.1.2	<i>Quemaduras</i>	9 -
1.2.4.1.3	<i>Fotoqueratitis</i>	10 -
1.2.4.1.4	<i>Fotoconjuntivitis</i>	10 -
1.2.5	<i>Efectos crónicos de la sobreexposición a la radiación solar</i>	10 -
1.2.5.1	<i>Cáncer de piel</i>	10 -
1.2.5.2	<i>Tipos de cáncer de piel</i>	11 -
1.2.5.2.1	<i>Carcinoma basocelular (Basalioma)</i>	11 -
1.2.5.2.2	<i>Carcinoma Escamocelular</i>	12 -
1.2.5.2.3	<i>Melanoma Maligno</i>	12 -
1.2.6	<i>Causas para Cáncer de Piel</i>	13 -
1.2.7	<i>Incidencia de cáncer de piel en el Ecuador</i>	13 -
1.3.2	<i>Clases de protectores solares o filtros solares</i>	15 -
1.3.2.1	<i>Filtros inorgánicos o físicos</i>	16 -
1.3.2.1.1	<i>Óxido de zinc</i>	16 -
1.3.2.1.2	<i>Dióxido de titanio</i>	17 -
1.3.2.1.2.1	<i>Efectos adversos del Dióxido de titanio</i>	17 -
1.3.2.2	<i>Filtros orgánicos</i>	18 -
1.3.2.2.1	<i>PABA (Acido para-amino-benzoico)</i>	18 -
1.3.2.2.1.1	<i>Efectos adversos del PABA</i>	19 -
1.3.3	<i>Mecanismo de acción de los protectores solares</i>	19 -
1.4	Factor de Protección Solar (FPS)	20 -
1.4.1	<i>Definición</i>	20 -
1.5	Drogas Vegetales	21 -

1.5.1	<i>Extractos vegetales</i>	21 -
1.5.2	<i>Clasificación de los extractos vegetales</i>	22 -
1.5.3	<i>Procesos para la obtención de extractos</i>	22 -
1.6	Flavonoides en Plantas	23 -
1.6.1	<i>Biosíntesis de los flavonoides</i>	24 -
1.6.2	<i>Regulación de la biosíntesis de los flavonoides</i>	24 -
1.6.3	<i>Función de los flavonoides en las plantas</i>	25 -
1.6.4	<i>Aplicaciones de los flavonoides en medicina</i>	25 -
1.7	Quishuar (<i>Buddleja incana</i>)	26 -
1.7.1	<i>Clasificación científica</i>	26 -
1.7.3	<i>Distribución y Hábitat</i>	27 -
1.7.4	<i>Usos y Propiedades</i>	27 -
1.7.5	<i>Composición Química</i>	28 -
1.7.6	<i>Estado de Conservación</i>	28 -
	CAPÍTULO II	29 -
2.	PARTE EXPERIMENTAL	29 -
2.1	Lugar de la Investigación	29 -
2.2	Materiales, equipos y reactivos	29 -
2.2.1	<i>Materia prima</i>	29 -
2.2.2	<i>Material biológico</i>	29 -
2.2.3	<i>Materiales, reactivos y equipos para el estudio farmacognóstico y control de calidad</i>	30 -
2.3	Protocolo Experimental	32 -
2.3.1	<i>Pruebas de control de calidad de especies vegetales, <i>Buddleja incana</i></i> ..	32 -
2.3.1.1	<i>Análisis físico-químico</i>	32 -
2.4	Preparación de los Extractos de <i>Buddleja incana</i>	33 -

2.6	Tamizaje Fitoquímico	34 -
2.7	Análisis Cromatográfico	35 -
2.8	Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales expresados como porcentaje de Rutina	35 -
2.9	Preparación de Subextractos de las hojas secas de <i>Buddleja incana</i> ..	36 -
2.10	Determinación de las Cantidades y Tipos de Excipientes adecuados para la Formulación de las Cremas Base de <i>Buddleja incana</i>	37 -
2.11	Control de Calidad de Productos Terminados	37 -
2.11.1	<i>Descripción del producto</i>	37 -
2.11.2	<i>Controles fisicoquímicos</i>	38 -
2.12	Análisis Microbiológico	39 -
2.13	Protocolo de Administración del Producto a los Voluntarios	40 -
2.13.1	<i>Manejo específico del experimento</i>	41 -
2.13.1.1	<i>Unidad de observación</i>	41 -
2.13.1.2	<i>Grupos de estudio</i>	41 -
2.13.1.3	<i>Diseño experimental</i>	42 -
2.13.1.4	<i>Proceso experimental</i>	42 -
2.14	Análisis Estadístico Descriptivo (Tablas de Frecuencias)	43 -
	CAPÍTULO III	45 -
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45 -
3.1	Control de Calidad de la Materia Prima (materia vegetal seca)	45 -
3.1.1	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	45 -
3.1.2	<i>Determinación del contenido de cenizas totales</i>	45 -
3.1.3	<i>Determinación del contenido de cenizas solubles en agua</i>	46 -
3.1.4	<i>Determinación del contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	47 -

3.2	Control de calidad del extracto metanólico total de <i>Buddleja incana</i>.	- 47 -
3.2.1	<i>Determinación de los requisitos organolépticos del extracto metanólico de <i>Buddleja incana</i>.</i>	- 47 -
3.2.2	<i>Determinación de los parámetros físicos del extracto metanólico total y subextractos de <i>Buddleja incana</i>.</i>	- 48 -
3.3	Tamizaje Fitoquímico	- 49 -
3.4	Análisis Cromatográfico	- 50 -
3.5.1	<i>Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales expresados como porcentaje de Rutina.</i>	- 51 -
3.5.2	<i>Cuantificación de Flavonoides en el Producto con Extracto Metanólico Total y Subextractos de <i>Buddleja incana</i>.</i>	- 53 -
3.6	Determinación de los Parámetros de Calidad de los Productos con el Extracto Metanólico Total de <i>Buddleja incana</i> y Subextractos.	- 54 -
3.6.1	<i>Descripción del producto</i>	- 54 -
3.6.2	<i>Parámetros Físicos-Químicos</i>	- 55 -
3.7	Análisis Microbiológico	- 55 -
3.8	Evaluación de la Actividad Fotoprotectora de las Cremas de <i>Buddleja incana</i>, en Fototipos III.	- 56 -
	CONCLUSIONES	- 63 -
	RECOMENDACIONES	- 65 -
	BIBLIOGRAFÍA	- 66 -
	ANEXOS	- 72 -

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No.1	Materia Prima.....	- 72 -
ANEXO No.2	Control de Calidad de <i>Buddleja incana</i>	- 72 -
ANEXO No.3	Maceración de las hojas de <i>Buddleja incana</i>	- 72 -
ANEXO No.4	Tamizaje Fitoquímico de <i>Buddleja incana</i>	- 73 -
ANEXO No.5	Cuantificación de Flavonoides de las hojas secas de <i>Buddleja incana</i>	- 75 -
ANEXO No.6	Cromatografía en Capa Fina (TLC).....	- 75 -
ANEXO No.7	Elaboración de las Cremas con el Extracto Metanólico Total y Subextractos de <i>Buddleja incana</i>	- 76 -
ANEXO No.8	Control de Calidad de las Cremas con Extracto Metanólico Total y Subextractos de <i>Buddleja incana</i>	- 77 -
ANEXO No.9	Análisis Microbiológico de las Cremas Fotoprotectoras.	- 77 -
ANEXO No.10	Administración de las Cremas con Extracto Metanólico Total y Subextractos de <i>Buddleja incana</i> en Personas Voluntarias.....	- 77 -
ANEXO No.11	Hoja de Consentimiento Informado para Participación en Estudios de Investigación.	- 81 -

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados den la Determinación de Humedad de la droga seca de las hojas de <i>Buddleja incana</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril. 2014.....	45 -
CUADRO No. 2	Resultados de la Determinación del Contenido de Cenizas Totales de la droga seca de las hojas de <i>Buddleja incana</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril. 2014.....	46 -
CUADRO No. 3	Resultados de la Determinación de Cenizas Solubles en Agua de la droga seca de las hojas de <i>Buddleja incana</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril. 2014.....	46 -
CUADRO No. 4	Resultados de la Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico de la droga seca de las hojas de <i>Buddleja incana</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril. 2014....	47 -
CUADRO No. 5	Determinación Organoléptica del Extracto Metanólico de las hojas secas de <i>Buddleja incana</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba . ESPOCH. Abril 2014.....	47 -
CUADRO No. 6	Determinación de los Parámetros Físicos del Extracto Metanólico Total y Subextractos de las hojas secas de <i>Buddleja incana</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESCPOCH. Riobamba. Abril 2014...-	48 -
CUADRO No. 7	Resultados del Tamizaje Fitoquímico de <i>Buddleja incana</i> . Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril 2014.....	49 -
CUADRO No. 8	Determinación de Flavonoides según su Rf en Cromatografía de Capa Fina del Extracto de las hojas secas de <i>Buddleja</i>	

	<i>incana</i> . Laboratorio de Fitoquímica Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Mayo 2014.....	51 -
CUADRO No. 9	Cuantificación de Flavonoides Totales usando como Patrón la Rutina en Concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Mayo 2014.....	52 -
CUADRO No. 10	Cuantificación de Flavonoides del Extracto Metanólico Total y Subextractos de las hojas de <i>Buddleja incana</i> a una longitud de onda de 510 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Mayo 2014.....	53 -
CUADRO No. 11	Cuantificación de Flavonoides en el Producto con Extracto Metanólico Total de <i>Buddleja incana</i> y Subextractos a una longitud de onda de 510 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Junio 2014.....	53 -
CUADRO No. 12	Resultados de la Descripción de los Productos con Extracto Metanólico Total de <i>Buddleja incana</i> y Subextractos. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Junio 2014.	54 -
CUADRO No. 13	Parámetros Físicos-Químicos de los Productos con Extracto Metanólico Total de <i>Buddleja incana</i> y Subextractos. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Junio 2014.....	55 -
CUADRO No. 14	Determinación Microbiológico de las Cremas Fotoprotectoras a base de <i>Buddleja incana</i> . Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Junio 2014.....	55 -
CUADRO No. 15	Nivel de Eritemas en las Superficies de Experimentación de los Voluntarios. Riobamba. Julio 2014....	56 -
CUADRO No. 16	Tiempo al Aparecer el Eritema en las Superficies de Experimentación de los Voluntarios. Riobamba. Agosto 2014.-	59 -

CUADRO No. 17 Factor de Protección Solar para las Superficies Experimentales de los Productos Aplicados en Voluntarios. Riobamba. Agosto 2014.....- 60 -

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No.1	Partes de la Piel.....	- 5 -
FOTOGRAFÍA No.2	Melanoma Maligno en la nariz.....	- 12 -
FOTOGRAFÍA No.3	Planta de Quishuar	- 26 -
FOTOGRAFÍA No.4	Hojas de <i>Buddleja incana</i>	- 72 -
FOTOGRAFÍA No.5	Humedad y Cenizas de <i>Buddleja incana</i>	- 72 -
FOTOGRAFÍA No.6	Obtención de los Extractos de <i>Buddleja incana</i>	- 72 -
FOTOGRAFÍA No.7	Ensayo de Shinoda (Izquierda extracto acuoso y a la derecha extracto metanólico)	- 73 -
FOTOGRAFÍA No.8	Ensayo de Cloruro Férrico	- 73 -
FOTOGRAFÍA No.9	Ensayo de Compuestos Grasos.....	- 74 -
FOTOGRAFÍA No.10	Ensayo de Dragendorff	- 74 -
FOTOGRAFÍA No.11	Cuantificación de Flavonoides por el Método de Rutina. -	75 -
FOTOGRAFÍA No.12	TLC del Extracto Metanólico Total de <i>Buddleja incana</i> . -	75 -
FOTOGRAFÍA No.13	Materiales y Utensilios para la Elaboración de las Cremas Fotoprotectoras.....	- 76 -
FOTOGRAFÍA No.14	Elaboración de las Cremas con el Extracto Metanólico Total y Subextractos de <i>Buddleja incana</i>	- 76 -
FOTOGRAFÍA No.15	Envasado de las Cremas Fotoprotectoras.....	- 76 -
FOTOGRAFÍA No.16	Determinación del Residuo Sec de las Cremas Fotoprotectoras.	- 77 -
FOTOGRAFÍA No.17	Contaje de Hongos.....	- 77 -
FOTOGRAFÍA No.18	Exposición de Voluntaria a la Luz Solar.....	- 77 -
FOTOGRAFÍA No.19	Tira de Test Colorimétrico para Medición de Eritema por Color de Piel.	- 78 -
FOTOGRAFÍA No.20	Actividad Fotoprotectora en Superficies Experimentales de Voluntarios con Fototipo III.	- 80 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No.1	Incidencia de cáncer de piel en el Ecuador año 2010.....	- 14 -
GRÁFICO No.2	Curva de Absorbancia vs Concentración de Rutina para la Cuantificación de Flavonoides. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Mayo 2014.....	- 52 -
GRÁFICO No.3	Niveles de Eritemas en la Superficies de Experimentación de los Productos Aplicados en Voluntarios hasta los 120 minutos. Riobamba. Julio 2014.....	- 57 -
GRÁFICO No.4	Tiempo al Aparecer el Eritema en las Superficies Experimentales de los Voluntarios. Riobamba. Agosto 2014.....	- 59 -
GRÁFICO No.5	Factor de Protección Solar en las Superficies Experimentales de los Productos Aplicados en los Voluntarios. Riobamba. Agosto 2014.....	- 61 -

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No.1	Características de los Fototipos.....	- 7 -
TABLA No.2	Resumen de los efectos nocivos en el ser humano de la sobreexposición a la radiación ultravioleta solar.....	- 8 -
TABLA No.3	Clasificación de los filtros solares de acuerdo al tipo de radiación UV.....	- 18 -
TABLA No.4	Clasificación Científica de <i>Buddleja incana</i>	- 26 -
TABLA No.5	Tamizaje Fitoquímico de las hojas secas de <i>Buddleja incana</i>	- 34 -
TABLA No.6	Cantidades y Excipientes utilizados en la Formulación de las Cremas Base de <i>Buddleja incana</i>	- 37 -
TABLA No.7	Determinación de los grupos de estudio utilizados en la investigación.....	- 41 -
TABLA No.8	Determinación del Factor de Protección Solar (FPS) para cada superficie experimental.....	- 43 -

RESUMEN

Se comprobó la actividad fotoprotectora de las hojas secas del Quishuar (*Buddleja incana*) in vivo, en los Laboratorios de Fitoquímica y Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, para la elaboración de una crema fotoprotectora y reemplazar parcialmente a los bloqueadores solares comerciales. Las hojas secas del Quishuar fueron trituradas y maceradas con metanol, obteniéndose un extracto metanólico total (EMT), posteriormente se prepararon un subextracto acuoso hidrolizado (SEAH), un subextracto acuoso (SEA), un subextracto acetato de etilo (SEAE) y un subextracto hexánico (SEH); con los cuales luego se elaboró las cremas fotoprotectoras. En cada uno de los extractos y subextractos se realizó un tamizaje fitoquímico, un control de calidad de la materia prima y en los mismos se cuantificó flavonoides totales por espectrofotometría. El estudio in vivo se realizó en voluntarios con tipo de piel III, con protector de antebrazo en áreas con 7 superficies experimentales sometidos a radiación solar con índice ultravioleta de 15.6 por un tiempo de 120 minutos a 25 ± 2 °C, entre las 11:00 am a 13:00 pm; controlando cada 15 minutos por visualización de eritema con Tira Colorimétrica y por comparación con crema comercial con FPS 30. La aparición de eritema en la superficie experimental del blanco se evidenció a los 15 minutos de exposición solar; en las cremas con SEH y SEAE la aparición de eritema se evidenció a los 45 minutos; en las cremas con SEAH y SEA la aparición de eritema se evidenció a los 60 minutos; y en la crema con EMT la aparición de eritema se evidenció a los 75 minutos. Alcanzando así sus límites con actividad fotoprotectora. La investigación se concluye, que existe una considerable actividad fotoprotectora para el EMT con un FPS 5. Se recomienda realizar la comprobación de estos extractos y subextractos en diferentes fototipos de piel.

SUMMARY

This study was conducted in order to prove the photo-protective activity of the dried leaves of Quishuar (*Buddleja incana*) in vivo, which took place at Escuela Superior Politecnica de Chimborazo in this Phytochemistry and Instrumental Analysis laboratories in order to produce a sun protective cream and partially replace to the sunscreens of commercial use. During this procedure, the dried leaves of Quishuar were chopped and macerated in metanol, which gave as a result the total metanol extract (EMT, Spanish acronym), then it was prepared a hydrolyzed, aqueous sub-extract (SEAH, Spanish acronym), an aqueous sub-extract (SEA, Spanish acronym), an ethyl acetate sub-extract (SEAE, Spanish acronym), and a hexane sub-extract (SEH, Spanish acronym); all these components were the basis to prepare this photo-protective cream. In each of the different extracts and sub-extracts it was made a phytochemical screening, and a quality control of raw material in which it was measured the number of total flavonoids by means of spectrophotometry. The in vivo study was carried out in volunteers having skin type III, with forearm protector in areas with 7 experimental surfaces subjected to ultraviolet solar radiation index of 15.6 for 120 minutes at 25 ± 2 °C, between 11:00 am to 13:00 pm; monitoring every 15 minutes by visualization of erythema experimental of the target surface was observed at 15 minutes of sun exposure; in SEH and SEAE creams, the appearance of erythema was observed at 45 minutes; in SEAH and SEA creams, the appearance of erythema was observed at 60 minutes; and the EMT cream the appearance of erythema was observed at 75 minutes, reaching its limits with photo-protective activity. The research concludes that there is a considerable photo-protective activity for the EMT with SPF 5. It is recommended to test regularly these extracts and sub-extracts in different skin photo-types.

INTRODUCCIÓN

La exposición a la radiación solar puede generar efectos beneficiosos, por lo que se usa en tratamientos de enfermedades por medio de la fototerapia, facilita la síntesis de Vitamina D (importante para la absorción de calcio en los huesos) y mejora el estado de ánimo de las personas. Pero también puede generar efectos perjudiciales, debido principalmente a que las radiaciones UV-A y UV-B no pueden ser absorbidas por el ozono presente en la atmósfera, a causa del daño existente en la capa de ozono, los rayos solares recorren menor distancia hasta llegar a la tierra, causando daños a la piel como eritemas, manchas cutáneas, pitiriasis y por ende cáncer de piel, dichos daños provienen principalmente de la exposición de las radiaciones UV-B sobre la piel de las personas. (RIOJA, 2014)

Estudios realizados por la Agencia Ambiental Canadiense (ESA), el Instituto Meteorológico de Holanda (KNMI), el Centro Aeroespacial Alemán (DLR) y la Agencia Espacial de Estados Unidos (NASA), comprobaron que los datos obtenidos por dos estaciones climatológicas pertenecientes a Agencia Espacial Civil Ecuatoriana (EXA), determinaron que el nivel de radiación en el Ecuador representa un riesgo para los habitantes del país, debido al desgaste que ha sufrido la capa de ozono sobre latitudes ecuatoriales en los últimos años y en consecuencia los niveles de radiación recibidos son superiores al máximo establecido como tolerable o seguro para la salud humana. (LORENTI, 2014) Los niveles de radiación detectados por las estaciones en tierra son corroborados por las imágenes de satélites, es así, que en Quito registran un IUV de 24, en Guayaquil registra un IUV de 14 y en Riobamba oscila entre 14 y 16, lo cual indica que existe una radiación ultravioleta extrema. (SOLCA, 2014)

En el Ecuador según datos estadísticos publicados por la Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA), considera dos grandes grupos de cáncer de piel: el melanoma maligno (MM) y otros cánceres de piel no melanoma (CPNM), siendo el melanoma un cáncer de mortalidad elevada, pero no se presenta en cantidades importantes en nuestro país, su tasa de incidencia varía de 3 a 4 casos nuevos por cada 100.000 habitantes residentes en Quito. En el año 2006-2010 el índice de melanoma de piel en hombres fue de 24 y en mujeres fue de 29; siendo el promedio de muerte por año de 11 tanto en mujeres como en hombres.

En lo que se refiere a otros tipos de cánceres de piel (basocelulares y espinocelulares, que son los que se presentan con más frecuencia, el índice de CPNM en hombres fue de 241 y de 258 en mujeres, con un promedio de muertes por año de 46 tanto en hombres como para mujeres. (SOLCA, 2014)

Nuestra piel dispone de un mecanismo de defensa natural frente a las radiaciones solares, que es la producción de melanina. Este pigmento es el responsable del color de nuestra piel, pelo, el iris, entre otros, teniendo la capacidad de filtrar de forma natural las radiaciones solares perjudiciales. De todos modos es preciso tener en cuenta que la melanina no filtra toda la radiación que nos llega a nuestro cuerpo, por lo que la industria cosmética ha desarrollado una infinidad de productos fotoprotectores con compuestos químicos como el óxido de zinc, el ácido para-amino-benzoico (PABA), dióxido de titanio, entre otros, para evitar el incremento en la incidencia de melanoma, el mismo que ha ido incrementando notoriamente en los últimos 20 años. (WILKINSON, 1990)

Por otro lado, el uso de estas cremas solares puede producir alergias, dermatitis y otras reacciones en la piel, ya que estudios realizados por la Universidad de California en los Ángeles demuestran que el uso de compuestos químicos como el dióxido de titanio, producen efectos cancerígenos en la piel. Además, el uso de cremas solares en la actualidad generan efectos perjudiciales a diferentes niveles: en la especie humana, su uso puede generar daño oxidativo en la piel. En el ecosistema marino, el óxido de zinc y sus derivados son asimilados por diversas algas, siendo introducido en la cadena alimenticia de otros seres vivos. (THOMPSON, 2014)

Por este motivo, se ha visto necesario el estudio de compuestos orgánicos provenientes de plantas, estudios realizados en la actualidad revelan la capacidad antioxidante y fotoprotectora de los flavonoides presentes en frutas y vegetales, ayudando a proteger del daño oxidativo provenientes de los rayos ultravioleta, la contaminación ambiental, algunas sustancias químicas presentes en los alimentos. (WAGNER, 1996)

Se ha visto en la necesidad de investigar si el extracto metanólico total y subextractos de las hojas secas de *Buddleja incana* poseen actividad fotoprotectora, por poseer entre sus componentes flavonoides, los cuales tienen la capacidad de absorber las radiaciones UV. Además, estudios indican que los flavonoides presentes en las plantas captan hasta el 90%

de las radiaciones ultravioletas. Para lo cual, se preparan extractos y subextractos, posteriormente se realizara el control de calidad de la droga cruda y de los extractos preparados, para elaborar la crema fotoprotectora y comprobar su actividad en superficies humanas. (ÁVILA, 2005)

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. RADIACIÓN SOLAR

La luz solar se descompone en diversas longitudes de onda, que va desde los rayos cósmicos, rayos gamma, rayos X, rayos ultravioleta, rayos visibles y los rayos infrarrojos. De los cuales tres radiaciones llegan a la tierra, las radiaciones ultravioleta (UVA, UVB y UVC), las radiaciones visibles y la radiación infrarroja. (CABRERA, 2005)

1.1. Características de la radiación solar que llegan a la tierra.

- **Radiación UVA**

Su longitud de onda varía de los 320 a 400 nm, entre el 30 y 50% de estas radiaciones llega a niveles profundos de la dermis de la piel, son responsables del fotoenvejecimiento de la piel y son más perjudiciales que las radiaciones UVB por ser menos energéticas.

- **Radiación UVB**

Su longitud de onda varía de los 280 a 320 nm, son responsables del eritema actínico, estas radiaciones son muy energéticas, provoca el bronceado de la piel y responsables del cáncer de piel.

- **Radiación UVC**

Su longitud de onda varía de los 200 a 280 nm, estas radiaciones no llegan a la superficie de la Tierra al ser absorbidas por la capa de ozono y son muy peligrosas para las personas.

- **Radiación visible**

Su longitud de onda varía entre los 400 a 780 nm, interviene en la pigmentación inmediata de la piel; produciendo un efecto luminoso, penetra hasta la hipodermis.

- **Radiación infrarroja**

Su longitud de onda varía entre los 780 a 1800 nm, son las radiaciones más abundantes, penetran hasta la hipodermis, favorecen la circulación sanguínea y provocan un efecto calorífico. (CAMPS, 2014)

1.1.1. Efectos del sol sobre la piel.

1.1.1.1. Efectos positivos de la luz solar.

- Ayuda a la síntesis de vitamina D, la misma que tiene acción antirraquítica y previene la osteoporosis.
- Actúa en el tratamiento de algunas dermatosis.
- Favorece a la circulación sanguínea.
- Estimula la síntesis de neurotransmisores cerebrales, responsables del estado de ánimo del hombre.

1.1.1.2. Efectos negativos de la luz solar.

- **Produce eritema solar:** conocido también como eritema actínico: se manifiesta por un enrojecimiento de la piel, en las cuales las células epidérmicas están lesionadas por los rayos UVB.
- **Golpe de calor:** es causado por los rayos infrarrojos. Mecanismo reflejado por una temperatura exterior excesiva, que produce un aumento en la sudoración. Cuando esta sudoración excesiva no es compensada con una adecuada absorción de agua, puede causar consecuencias graves como la deshidratación, sobre todo en los niños.
- **Hora del día:** la energía del sol varía durante el día, siendo las horas de más intensidad entre las 12 y las 17 horas.
- **Contaminación industrial:** la contaminación es un buen filtrante y absorbe gran parte de las radiaciones solares.

En la actualidad, el bronceado se percibe como un sinónimo de belleza, lo que ha popularizado el exceso de exposición solar, encontrándose daños irreversibles en cada una de las personas, sobre todo en los jóvenes. Para prevenir los daños ocasionados por

las radiaciones ultravioletas, se debe evitar el exceso de sol, usando protectores solares, cubriendo el cuerpo con ropas adecuadas, pero sobre todo tener conciencia de adquirir una cultura de fotoprotección. (EPA, 2001)

1.1.2. Los niveles de radiación ultravioleta dependen de varios factores.

El nivel de radiación ultravioleta que llega a la tierra puede variar en función de una variedad de factores. Cada uno de estos factores puede aumentar el riesgo debido a la exposición excesiva a las radiaciones ultravioletas y sus efectos en la salud.

- **El ozono estratosférico:** la capa de ozono absorbe la mayoría de la radiación ultravioleta, pero el nivel de absorción varía según la época del año y los cambios climáticos. Además esta absorción ha disminuido a medida que la capa de ozono se ha ido reduciendo a consecuencia de la contaminación industrial que destruyen la capa de ozono.
- **Hora del día:** el sol se encuentra en su punto más alto alrededor del mediodía. A esa hora, la distancia de recorrido de los rayos solares dentro de la atmósfera es más corta y el nivel de radiación UV-B son los más altos. En la mañana y final de la tarde los rayos solares atraviesan la atmósfera de forma oblicua, reduciendo así en gran medida su intensidad.
- **Superficie:** la reflexión de los rayos solares varía según la superficie de contacto que estas tengan, es así que, en la nieve es del 85%, en arena seca es del 17%, en el agua es del 5%, en la hierba es del 3% y en el asfaltado es del 2%.
- **Altitud:** en la montaña los rayos solares son más intensos que en la playa, aumentando así en un 5 a 10 % por cada kilómetro de elevación.
- **Latitud geográfica:** las radiaciones solares aumenta a medida que se acerque al Ecuador. La intensidad de los rayos solares es más fuerte, ya que el sol pasa por la parte más alta del cielo y la distancia recorrida por los rayos ultravioletas dentro de la atmósfera es más corta. Además el espesor de la capa de ozono es menor en los trópicos y latitudes medias y altas; por lo que hay menos ozono que absorba las radiaciones ultravioletas mientras atraviesan la atmósfera.
- **Angulo de incidencia de los rayos solares sobre la piel:** el rostro, la nariz y los labios es lo primero que se quema.

- **Estado atmosférico:** los cielos cubiertos de nubes, disminuyen o bloquean los rayos solares. Pero en cielos aislados con nubes dispersas los rayos inciden directamente sobre la piel. (IMN, 2009)

1.1.3. Efectos para los seres vivos causados por la radiación solar.

El sol tiene efectos beneficiosos para hombre, no obstante, si tomamos con exceso puede ser perjudicial para la salud. La exposición a la luz solar, de forma voluntaria o involuntaria puede llegar a ser muy dañina para la piel, es decir, muchas personas ignoran que el cuerpo se está enfrentando a una de las fuentes de energía más potentes de la naturaleza. La Organización Mundial de la Salud (OMS), indica que las radiaciones solares en exceso ejercen un efecto negativo para la salud como:

- **Daños genéticos**

Las radiaciones UV-B interfieren con los enlaces del ADN, dañando la molécula. Mucho de estos errores son reparados por los sistemas enzimáticos de la célula, pero algunas no pueden ser reparadas, produciendo mutaciones que perviven y pueden producir cánceres de piel. El 90% de los cánceres de piel son atribuidos a las radiaciones UV-B, y se supone que una disminución en la capa de ozono de un 1% incide en un aumento de un 4-6% de distintos tipos de cánceres de piel, siendo el cáncer más maligno el melanoma. Cuya relación con la exposición corta pero intensa a los rayos ultravioleta parece notoria, aunque poco comprendida, ya que sus manifestaciones pueden darse hasta 20 años después de la sobreexposición al sol.

- **Daños en los ojos**

La exposición prolongada a los rayos ultravioleta puede dañar los ojos, especialmente la córnea, ya que esta absorbe fácilmente estas radiaciones. Produciendo cegueras temporales y una exposición prolongada se asocia el desarrollo de cataratas.

- **Daños en la vida marina**

Una preocupación derivada a la formación del agujero en la capa de ozono en la Antártida ha sido ver la influencia en el plancton marino en los mares de la zona. Estudios han

encontrado un descenso en la producción de plancton entre el 6 y 12% en las 10 a 12 semanas que coinciden con el agujero de ozono, lo que supone un descenso medio del 2 al 4%, aunque no es catastrófica todavía. (RIOJA, 2014)

1.2. La Piel

1.2.1 Definición

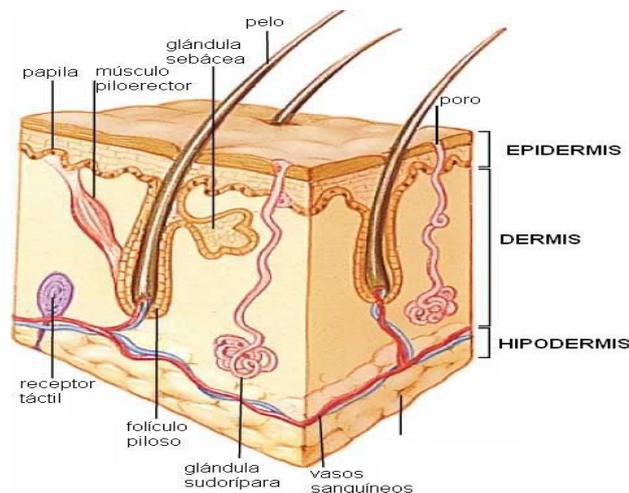
La piel es un órgano complejo que protege al huésped de su ambiente y al mismo tiempo permite la interacción del organismo con el medio circundante. (WILKINSON, 1990)

La piel humana es nuestra cubierta exterior que nos protege del entorno y de las agresiones, sirviendo como barrera y a la vez como un órgano de intercambio y comunicación. (GARCÍA, 2012)

Al ser la piel una estructura dinámica compleja esta se encuentra integrada por células, tejidos y otros elementos, que constituyen una verdadera barrera física de protección contra agentes patógenos, permeabilidad, termorregulación, sensaciones, protección frente a la luz ultravioleta (uv), reparación y regeneración de heridas. (GARCÍA, 2012)

La superficie total de la piel oscila entre los 2500 cm² en el recién nacido y en el adulto es de 18.000 cm², con un peso aproximado de 4,8 kg en el hombre y de 3,2 kg en la mujer. (WILKINSON, 1990)

1.2.2 Partes de la piel y sus funciones



Fuente: http://www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/capitulo_07.htm

FOTOGRAFÍA No. 1 Partes de la Piel

Además la piel se encuentra mediada por tres diferentes regiones que son: la epidermis, la dermis y la hipodermis.

- **La epidermis**

Es la capa más superficial de la piel y tiene un espesor variable, en las regiones palmo plantares (1mm) y en los párpados (50µm). La epidermis es una barrera impermeable frente a la penetración de sustancias químicas y de líquidos gracias a la capa córnea, que está constituida como la consecuencia de la maduración de los queratinocitos. Actúa también como una barrera de protección frente al sol gracias a la presencia de melanocitos. Y además es una barrera inmunológica debido a la presencia de las células de Langerhans.

- **La dermis**

La dermis es la capa de la piel situada bajo la epidermis y firmemente conectada a ella. Es el elemento estructural principal en el mismo se encuentra tres tipos de componentes, la matriz fibrosa, la matriz filamentosa y la matriz difusa. Además en la dermis se encuentran también redes vasculares, nerviosas y linfáticas. Desempeña una función protectora, representando la segunda línea de defensa contra traumatismos (su grosor es de 20 a 30 veces mayor que la epidermis). Está formada por 2 capas:

- a) **La papilar o dermis superior:** es la zona superficial de tejido laxo, contacta con la membrana basal, cuyas fibras colágenas y elásticas se disponen en forma perpendicular al epitelio, determinando la formación de papilas que contactan con la parte basal de la epidermis. En esta capa encontramos los receptores de presión superficial o tacto (Corpúsculos de Meissner).
- b) **La reticular o dermis profunda:** esta capa contiene la mayoría de los anexos de la piel. Está constituida por tejido conectivo con fibras elásticas que se disponen en todas las direcciones y se ordenan en forma compacta, brindándole a la piel la resistencia y la elasticidad. Además, posee fibras musculares lisas que corresponden a los músculos erectores de los pelos.

- **La hipodermis**

La hipodermis se encuentra por debajo de la dermis, es la capa adiposa de la piel. En esta capa es donde se acumula la grasa del organismo, que da el aspecto de delgadez u obesidad. Además, la grasa también se acumula en las vísceras abdominales y alrededor de corazón. La grasa es la reserva energética del organismo, la misma que es transformada en energía en situaciones de carencia alimentaria. Las células grasas o también conocidos como adipocitos se distribuyen de forma distinta en la mujer y en el hombre. En las

mujeres, los adipocitos predominan en la zona de los muslos y glúteos, en los hombres se encuentran en la zona abdominal. Además en la hipodermis se encuentran las glándulas sudoríparas y los folículos pilosos a los que están unidas las glándulas sebáceas. (PALOMINO, 2001)

1.2.3 Fototipo

1.2.3.1 Definición

Es la capacidad de adaptación de la piel frente a las radiaciones emitidas por el sol, es decir, es el conjunto de características que determinan si una piel se broncea o no y en qué grado lo hace. (MARÍN, 2005)

El fototipo en el ser humano se le clasifica en los diferentes tipos de piel en función de su reacción frente a luz del sol, esta reacción depende del color de la piel (blanca, morena y negra) y el resultado de la exposición a la radiación ultravioleta (bronceado). (MARÍN, 2005)

Hay diferentes formas de clasificar los fototipos de piel, la más utilizada es la del Dr. T. Fitzpatrick, en cual los clasifica en seis fototipos, en función de las quemaduras solares y la capacidad de bronceado que presenta la piel de las personas. (MARÍN, 2005)

TABLA No. 1 Características de los Fototipos.

Fototipos	Acción del sol sobre la piel (no protegida)	Características pigmentarias
FOTOTIPO I	Presenta intensas quemaduras solares, casi no se pigmenta y se descama de forma ostensible.	Personas de pelo rubio o pelirrojo, ojos claros, verdes o azules, piel muy clara y con pecas.
FOTOTIPO II	Se quema fácil e intensamente y se descama de forma notoria.	Personas de pelo rubio, ojos azules y castaños, piel clara y con pecas.
FOTOTIPO III	Se quema moderadamente y se pigmenta correctamente.	Personas de pelo castaño claro, ojos marrones, piel clara.
FOTOTIPO IV	Se quema moderadamente o mínimamente.	Personas de pelo castaño oscuro, ojos marrones, piel morena.
FOTOTIPO V	Raramente se quema, se pigmenta con facilidad e intensidad.	Personas de pelo oscuro, ojos negros, piel oscura.
FOTOTIPO VI	No se quema y pigmenta intensamente.	Personas de pelo negro, ojos negros y piel negra.

FUENTE: MARIN, D. Y POZO, A. 2005. FOTOTIPOS CUTÁNEOS: CONCEPTOS GENERALES. BARCELONA-ESPAÑA. EDITORIAL UNIVERSIDAD DE BARCELONA.

1.2.4 Efectos de la exposición a los rayos ultravioleta (UV)

La radiación ultravioleta tiene efectos positivos sobre la piel del ser humano, ya que favorece la síntesis de vitamina D. Pero puede ser perjudicial cuando se sobrepasan los límites de seguridad. La exposición excesiva a la radiación ultravioleta solar, puede provocar efectos agudos o crónicos, especialmente para la piel y ojos, ya que estos órganos son los más expuestos. Los efectos agudos incluyen desde el eritema (enrojecimiento), quemaduras en la piel y fotoqueratitis (inflamación de la córnea y el iris). Los efectos crónicos incluyen el cáncer de piel y su fotoenvejecimiento (envejecimiento prematuro), las cataratas en los ojos (opacidad del cristalino) y el cáncer de conjuntiva. También el sistema inmunológico puede verse afectado por la sobreexposición, a través de una disminución de su funcionamiento normal y de las defensas naturales de la piel, el riesgo de infecciones y reacciones alérgicas a ciertos medicamentos y a la vez reduciendo la efectividad de las vacunas. (RIVERA, 2003)

TABLA No. 2 Resumen de los efectos nocivos en el ser humano de la sobreexposición a la radiación ultravioleta solar.

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

FUENTE: RIBERA, M. Y OTROS 2003. EL SOL Y LA PIEL. 3A. ED. MADRID-ESPAÑA. MEDIFAM.

1.2.4.1 Efectos agudos de la sobreexposición a la radiación ultravioleta solar.

1.2.4.1.1 Eritemas

Produce un enrojecimiento de la piel que va acompañado de sensaciones de picor, calor y a veces inflamación, ampollas, náuseas y mareo. La causa es la acción directa de la radiación solar sobre los vasos sanguíneos de la dermis, provocando una vasodilatación.

Generalmente se manifiesta al cabo de seis horas y alcanza su punto álgido pasadas las 24 horas. Su desaparición es progresiva al cabo de unos días de descamación. (LOLAS, 2006)

1.2.4.1.2 Quemaduras

Las quemaduras solares son muy comunes en el periodo vacacional, ya que se mantiene una sobreexposición a la radiación ultravioleta solar, no usan protector solar. La piel pasa de un color rosado a un color rojo vivo, e incluso pueden aparecer ampollas (quemaduras). Además de estas alteraciones de la piel que genera picores al rose con la ropa, las quemaduras solares posibilita el desarrollo de melanoma (cáncer de piel más agresivo), cuya incidencia aumentado en estos últimos tiempos. Se sabe que las quemaduras solares que ocurren durante los primeros 15 años de vida son las más graves. Esto ha provocado que las campañas de prevención estén dirigidas a los adolescentes y los niños. (CABRERA, 2005)

Hay zonas del cuerpo más sensibles a las radiaciones nocivas del sol. Para evitar quemaduras en partes como los ojos, los labios, el pecho, el escote y manos hay que utilizar protectores solares específicos. Para los ojos, usar unas gafas resistentes a los rayos UV-A; para los labios, usar un protector labial con filtros solares; y en cuanto al pecho, las manos y escote, es recomendable utilizar una protección muy alta para evitar quemaduras por el sol. (AECC, 2014)

El color de la piel está determinado por una combinación de pigmentos producidos en la piel y los colores naturales de las capas más externas. Sin pigmentación, la piel tendría un color pálido con varia gamas de color rosa, debido a la sangre que fluye a través de ella. El principal pigmento de la piel es la melanina, de color pardo oscuro, producida por una células llamadas melanocitos, las mismas que se encuentran distribuidas en la capa superior de la piel (epidermis). (EPA, 2001)

La exposición prolongada al sol, sin tomar las precauciones necesarias, puede causar la aparición de manchas solares. Su aparición se da como consecuencia de una producción excesiva de melanina por parte de los melanocitos. Para evitar su aparición, se debe tomar

el sol con cautela, usando cremas solares y limitando el número de horas de exposición solar. (EPA, 2001)

1.2.4.1.3 Fotoqueratitis

Se define como una quemadura de sol en los ojos. Puede ser muy dolorosa e incómoda y viene acompañada de síntomas como: enrojecimiento de los ojos, una sensación de tener un cuerpo extraño o arena en el ojo. Ventajosamente, es de carácter temporal y rara vez causa daños permanentes en los ojos. (EPA, 2010)

1.2.4.1.4 Fotoconjuntivitis

Es una inflamación de la conjuntiva o de la córnea. Esta inflamación se previene fácilmente usando gafas protectoras. (FITZPATRICK, 2008)

1.2.5 Efectos crónicos de la sobreexposición a la radiación solar.

1.2.5.1 Cáncer de piel

El cáncer de piel engloba a un conjunto de enfermedades neoplásicas, que tienen diagnóstico, tratamiento y pronóstico muy diferente. Lo que tiene en común es que la localización anatómica es la piel. (RIVERA, 2003)

El cáncer de piel es una enfermedad producida por el desarrollo de células cancerígenas en cualquiera de las capas de la piel, un factor que influye en el desarrollo de cáncer de piel son los rayos ultravioleta procedentes de la luz del sol. En el ADN de las células se produce mutaciones, las mismas que se van acumulando durante años, este cáncer de piel es la más frecuente en la población con piel blanca. Los tres tipos más frecuentes de cáncer de piel son, el carcinoma basocelular, el carcinoma de células escamosas (altas posibilidades de ser curado), y el tipo más grave es el melanoma maligno. Por lo que las personas que están expuestas a factores de riesgo, deben prestarle atención a úlceras o irritaciones crónicas que no cicatrizan, como los lunares y otras marcas de nacimiento que van aumentando de tamaño o de color. (RIVERA, 2003)

El cáncer de piel no melanoma puede tener el aspecto de diversas marcas en la piel. Las principales señales de aviso son: la aparición de una nueva masa, una mancha o protuberancia que este aumentando de tamaño (unos meses, o de 1 a 2 años), o bien una úlcera que no sane en un lapso de tiempo de 3 meses. (SOLCA, 2014)

1.2.5.2 Tipos de cáncer de piel.

Para poder hablar sobre el cáncer de piel, se debe establecer en primer lugar que a grosso modo se lo divide en cáncer del tipo melanoma o no melanoma, donde el tipo melanoma es el nombre genérico de los tumores melánicos o pigmentados y el cáncer de tipo no melanoma es el más frecuente. Se denomina no melanoma porque se forma a partir de otras células de la piel que no son las que acumulan el pigmento (los melanocitos). (ACOSTA, 2014)

1.2.5.2.1 Carcinoma basocelular (Basalioma)

El carcinoma basocelular o basalioma es un tipo de tumor maligno cutáneo, denominado de esta manera debido a que se origina en las células del estrato germinativo basal, o última capa de la epidermis. La terminación *-oma*, indica una tumoración. Puede manifestarse en ambos sexos, pero es más frecuente en mujeres y personas que han entrado a la quinta década de su vida. Su comienzo, se manifiesta con la aparición de unos o varios nódulos de tamaño pequeño, pero que con el transcurrir del tiempo aumenta de volumen. (ACOSTA, 2014)

El carcinoma basocelular no produce metástasis, sin embargo puede ser peligroso si profundiza a los estratos más profundos de la piel, ocasionando una compresión de órganos importantes de la piel del rostro. La malignidad del proceso por lo regular puede propagarse hacia la periferia, dejando en el centro una marca cicatrizal. Y cuando aparece en el rostro, la persona se preocupa, más por cuestión estética, lo cual puede solucionarse con cirugía. (ACOSTA, 2014)

1.2.5.2.2 Carcinoma Escamocelular

El carcinoma de células escamosas es un cáncer que se origina a partir del epitelio escamoso. El principal síntoma de este tipo de cáncer de piel es por el crecimiento de una protuberancia, que puede tener una superficie áspera y escamosa, y además, presenta parches planos de color rojizo. (ACOSTA, 2014)

1.2.5.2.3 Melanoma Maligno



FUENTE: SOLCA. <http://www.solcaquito.org.ec/index.php/en/el-cancer/tipos-de-cancer/cancer-de-piel>

FOTOGRAFÍA No. 2 Melanoma Maligno en la nariz

Es un tumor maligno, que se origina en los melanocitos, derivados de la cresta neural. Afectando a la piel en un 95% y a los ojos y mucosas en un 5%. Provoca una neoformación pigmentada, que produce metástasis linfáticas y hematógenas, llevando tempranamente a la muerte. Aunque las cifras de mortalidad han disminuido, gracias a las detecciones tempranas y la mejoría en las modalidades terapéuticas utilizadas. Estos tumores aparecen predominantemente en la cubierta cutánea, pero también pueden presentarse en las mucosas, en las capas pigmentadas del globo ocular, etc. (MELANOMA, 2014)

Este sistema de clasificación por etapas simplificado, es de gran utilidad en la determinación del tratamiento y estimación de resultados. Gracias a este sistema de clasificación por etapas, ayuda a conocer el estado de los ganglios linfáticos a partir del examen microscópico de los ganglios extirpados en la cirugía. Si este examen quirúrgico no se realiza, los pacientes clasificados en la etapa clínica II, presentaran la enfermedad en la etapa III con ganglios linfáticos involucrados. (MELANOMA, 2014)

1.2.6 Causas para Cáncer de Piel

Existen múltiples causas para cáncer de piel, dentro de las principales podemos citar a continuación:

- a) Exposición prolongada a la radiación ultravioleta producida por acción del sol.
- b) Las lámparas y cabinas bronceadoras, son otras fuentes de radiación ultravioleta, que puede causar un mayor riesgo de desarrollare cáncer de piel no melanoma.
- c) La exposición a ciertos productos químicos como el arsénico, la hulla, la parafina, la brea industrial y ciertos tipos de aceites.
- d) La exposición a la radiación producida por la radioterapia.
- e) Las inflamaciones o lesiones graves o prolongadas de la piel, como las quemaduras graves, la piel que recubre un área donde se produjo una infección ósea grave y la piel dañada por ciertas enfermedades inflamatorias.
- f) El tratamiento de la psoriasis con psoralenos y luz ultravioleta.
- g) El xeroderma pigmentosa, es una condición hereditaria muy poco frecuente, ya que reduce la capacidad de la piel para reparar los daños que puede sufrir el ADN como consecuencia de la exposición a la luz solar. Las personas que sufren esta enfermedad tienden a desarrollar un gran número de tumores cancerosos de la piel, a veces de su niñez.

El síndrome del Nevus de células basales, condición congénita poco frecuente, que ocasiona múltiples tumores cancerosos de células basales. La mayoría de casos, aunque no todos, son de origen hereditario. (EPA, 2010)

1.2.7 Incidencia de cáncer de piel en el Ecuador

La incidencia de cáncer de piel ha aumentado notoriamente en todo el mundo, según cifras de la OMS, se calcula que cada año se producen a escala global dos millones de nuevos casos de cáncer de piel. Y en el Ecuador, esas cifras no son aisladas, el Epidemiólogo del Registro Nacional de Tumores de SOLCA (núcleo Quito), aseguro que el cáncer de piel tiene una tendencia creciente, las razones de este crecimiento indica que se debe a la perdida de respeto a la radiación solar. En décadas pasadas las personas se protegían del

sol con sombreros de ala ancha, prendas gruesas y las personas se resguardaban del sol cuando iban a la playa. (SOLCA, 2014)

Según datos levantados por SOLCA, las ciudades con mayor incidencia de esta enfermedad están en la Sierra (Ver Gráfico No. 1), esto se debe que al estar en mayor altitud sobre el nivel del mar, la exposición a las radiaciones solares también aumenta. A pesar de que este tipo de cáncer se presenta en edad avanzada, en los últimos años hay casos que por factores congénitos aparece en edad temprana. La exposición dañina al sol se inicia en la infancia. Como la piel tiene memoria y luego de varios años de estar expuestos a la radiación aparecen los tumores cancerígenos. (SOLCA, 2014)

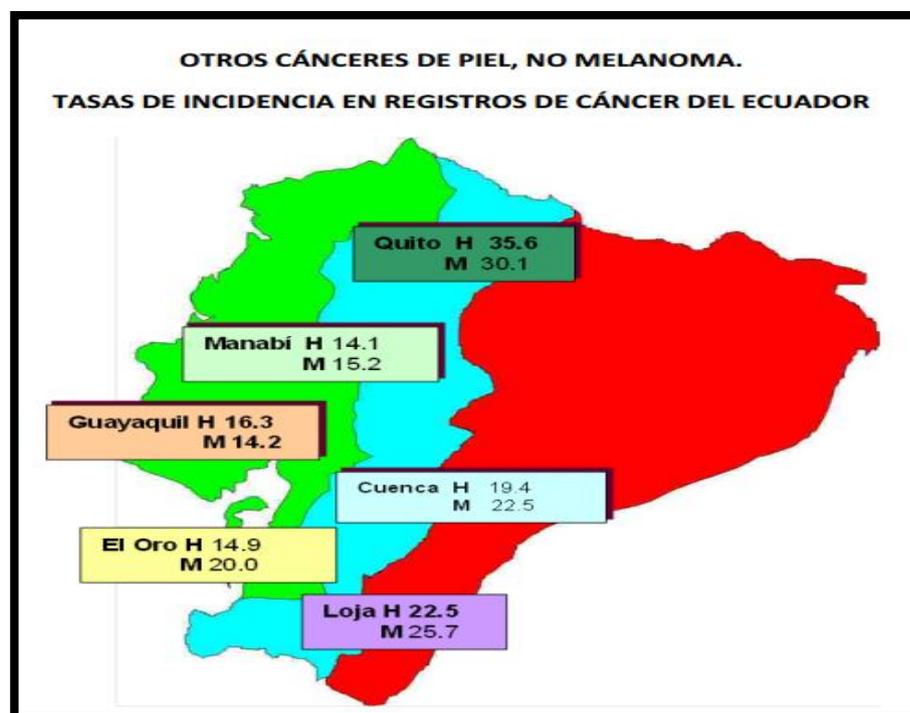


GRÁFICO No. 1 Incidencia de cáncer de piel en el Ecuador año 2010.

Actualmente, en el Ecuador la incidencia de cáncer de piel está por encima del cáncer de próstata en el hombre y de cáncer de seno en la mujer. En los últimos años en Quito se ha registrado un índice ultravioleta de 18-23 entre las 12:00 y 12:30. Ambos niveles son una señal de precaución y fueron registrados por el monitoreo atmosférico de la Secretaria del Ambiente de Quito, que realiza la medición de la radiación ultravioleta cada 30 minutos. Según la OMS, el límite tolerable de radiación para el ser humano es de 11. (SOLCA, 2014)

Ronnie Nader de la Agencia Espacial Civil Ecuatoriana, indica que la zona ecuatorial es la más afectada por la destrucción de la capa de ozono, que ocasiono un hueco en el Polo Sur. Otro riesgo es el estar en latitud cero, ya que los rayos caen perpendicularmente todo el año. Las áreas del cuerpo y órganos que se ven más afectados son la nariz, los labios, los párpados y la parte palpebral (ocular). De 60 países de cinco continentes que desarrollan cáncer de piel, Ecuador ocupa el puesto 17. (SOLCA, 2014)

1.3 Protectores Solares

1.3.1 Definición

La Comisión Europea define a los protectores solares o filtros solares como, cualquier preparado (crema, aceite, gel o aerosol) de aplicación sobre la piel de las personas, con la finalidad de protegerla de la radiación ultravioleta, absorbiéndola, dispersándola y reflejándola. Al inicio el protector solar se usaba para contrarrestar los efectos agudos de la radiación ultravioleta. En la actualidad se busca disminuir los efectos crónicos, de esta manera prevenir la aparición de carcinomas en la piel y disminuir la formación de dímeros de pirimiditas. Además, proteger de la inmunosupresión cutánea desencadenada por la depleción de células de Langerhans. En Europa, los protectores solares siguen las normas vigentes para los fármacos y cosméticos, los mismos que están regulados por COLIPA (Cosméticos Europeos, asociación de perfumería y artículos de tocador). En Estados Unidos, los protectores solares se consideran fármacos y son vigilados por la FDA. Por estas razones, en el mercado estadounidense, los protectores solares deben seguir el mismo camino que los fármacos, significando menos avances debido a los altos costos para ingresar un nuevo producto o componente, y generalmente se usa para mejorar un protector ya comercialmente establecido. (AECC, 2014)

1.3.2 Clases de protectores solares o filtros solares

En el mercado existen varios tipos de protectores solares o filtros solares y a continuación mencionaremos los filtros solares más actuales, que son:

1.3.2.1 Filtros inorgánicos o físicos

Los filtros inorgánicos conocidos también como filtros físicos, son moléculas estables a la luz que protegen de la radiación ultravioleta solar por dispersión, absorción o reflejo de la misma, esto está en dependencia del tamaño de partícula. (GONZÁLES, 2004)

Debido a que el tamaño original de partícula es grande, los filtros físicos son opacos y pueden brindar protección hasta contra la luz visible, siendo muy útiles en fotodermatosis como el lupus eritematoso sistémico y otras. No obstante, este tipo de filtro deja la sensación de máscara en la piel y tiende a producir comedones, por lo tanto se ha buscado mejorarlo cosméticamente, disminuyendo el tamaño de partícula a una forma ultra fina o micronizadas, haciéndolos visiblemente aceptables, químicamente estables y efectivos contra longitudes de onda más cortas. (GONZÁLES, 2004)

Hay dos filtros inorgánicos aprobados y que son utilizados que son: el óxido de zinc (ZnO) y el dióxido de titanio (TiO₂). Estas son moléculas estables a la luz, no causan alergias ni sensibilización, ambas brindan protección contra longitudes de onda de hasta 380 nm (UV-A). Actualmente, existe en el mercado varios protectores solares que tiene filtros inorgánicos, ya sea en forma micronizadas o nano partículas que su tamaño puede llegar a ser de 100 nm. (RIVERA, 2003)

1.3.2.1.1 Óxido de zinc

El óxido de zinc tiene un tamaño de partícula de 60 nm, brinda protección contra la radiación UV-A I, en rangos de 380 nm. Existía temor de que por el tamaño de partícula pudiera ser absorbida y llegar a penetrar hasta la dermis o tener interacción con el tejido cutáneo; sin embargo, estudios in vitro e in vivo ha confirmado que se mantienen en el estrato córneo, por lo cual persiste la seguridad que ofrece los filtros inorgánicos. (RIVERA, 2003)

1.3.2.1.2 Dióxido de titanio

El dióxido de titanio es una sustancia inerte, utilizada en polvos, pomadas o cremas como dermoprotector frente a la radiación ultravioleta solar. Se usa en formulaciones microfinas cada vez más, se trata de un polvo blanco que se prepara en suspensión en concentraciones de 1% y el 10%, esta formulación se asocia a otras sustancias capaces de absorber la radiación ultravioleta solar. En formulaciones corrientes se puede utilizar inclusive en concentraciones de 25%. El dióxido de titanio necesita partículas de 120 nm para que sea efectivo y brinde una protección contra rangos de UV-A II y UV-B. (CAMACHO, 2001)

1.3.2.1.2.1 Efectos adversos del Dióxido de titanio.

Al dióxido de titanio se lo puede encontrar en todas partes, ya sea en protectores solares, fármacos, colorantes dentífricos, colorante alimenticio y su uso indiscriminado ha causado varios efectos adversos, aunque se definen sus propiedades más importantes como: no toxicas, es compatible con las mucosas y la piel y tiene buena dispersabilidad en soluciones orgánicas. Curiosamente está presente en todo medicamento que afecta a:

- La fertilidad
- ADN (ácido desoxirribonucleico)
- Resulta ser abortivo y/o teratogénico
- Incrementa en riesgo de sufrir cáncer

La explicación a todo esto se encontró a fines del año 2009, en un estudio que se realizó por científicos del Centro Jonsson Comprehensive Cancer de la UCLA (EEUU). Demostrando que las nanopartículas de dióxido de titanio presente en los productos antes mencionados, causa daño genético y sistémico en ratones, induciendo a roturas en las cepas del ADN, de este modo causa daño cromosómico, inflamación e incremento del riesgo de sufrir cáncer en los animales. Estas nanopartículas se van acumulando en diversos órganos, porque el cuerpo no cuenta con un medio efectivo para que pueda ser eliminada. Por tal razón puede ir a cualquier parte de su cuerpo inclusive puede atravesar fácilmente células y membranas, interfiriendo con los mecanismos del mismo núcleo donde se encuentra el ADN. (THOMPSON, 2014)

1.3.2.2 Filtros orgánicos

Los filtros orgánicos tienen un mecanismo de acción diferente a la de los filtros inorgánicos. Por medio de anillos aromáticos conjugados hacen parte de su estructura y la excitación y posterior estabilización de electrones, ayuda a convertir la radiación en calor. Los filtros orgánicos se encuentran divididos en filtros contra UV-B y contra UV-A. (GONZÁLES, 2004)

TABLA No. 3 Clasificación de los filtros solares de acuerdo al tipo de radiación UV.

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

FUENTE: CAMACHO, F. 2001. ANTIGUOS Y NUEVOS ASPECTOS DE LA FOTOPROTECCIÓN. 1A. ED. ESPAÑA. EDITORIAL UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

1.3.2.2.1 PABA (Acido para-amino-benzoico)

El ácido para-amino-benzoico es un agente usado en las pantallas solares, el mismo que funciona reflejando los rayos ultravioleta del sol, convirtiendo la energía de la luz solar en calor. El PABA es usado también por vía oral para la constipación, desórdenes gastrointestinales y ayuda a reducir los síntomas del vitíligo, enfermedad que se caracteriza por la pérdida del pigmento en zonas aleatorias de la piel. (BARCLAY, 2014)

1.3.2.2.1.1 Efectos adversos del PABA

Las reacciones leves son las erupciones, picazón, sudoración y enrojecimiento de la piel. El PABA usado directamente sobre la piel contribuye a la liberación de radicales libres de oxígeno, lo cual favorece el desarrollo de cáncer. De acuerdo con el centro de información sobre salud natural, las pantallas a base de PABA dañan en ADN, de esta manera aumenta el riesgo de sufrir cánceres de piel. Las pantallas a base de PABA solo protegen contra el carcinoma, dejando a las personas expuestas a sufrir melanoma, que es otra forma de cáncer de piel que de igual manera puede ser fatal, ya que estudios recientes indican que personas que lo usan pueden sufrir cáncer de piel. (BARCLAY, 2014)

1.3.3 Mecanismo de acción de los protectores solares

Los protectores solares o filtros solares se dividen en dos grupos que son: los químicos y no químicos. En los protectores químicos el componente activo es el carbono y en los protectores no químicos, son inorgánicos (sin carbono). El grupo de protectores no químicos están incluidos los agentes pigmentarios, los mismos que forman una capa visible sobre la piel. En el mecanismo de acción de los protectores solares se utilizan dos procesos que son: la dispersión y la absorción. Los protectores solares tienen sustancias que actúan mediante ambos mecanismos. (BONET, 2010)

- **Dispersión**

Se da cuando los rayos ultravioleta chocan contra una pantalla o película desviando su trayectoria, lo que permite que se disipe en el entorno, ejemplo: las pantallas solares.

- **Absorción**

En este caso, se da cuando las moléculas del protector solar absorben la radiación ultravioleta, lo que implica la incorporación de energía en la estructura del protector solar. Aquí los fotones son absorbidos hasta alcanzar la piel y luego son conducidos en forma de calor. (BONET, 2010)

1.4 Factor de Protección Solar (FPS)

1.4.1 Definición

El factor de protección solar (FPS) se define como el tiempo de exposición solar necesario para producir eritema mínimo que se pueda detectar en la piel; el FPS se compara el efecto sin ningún tipo de protección con el efecto con el filtro solar. Una persona que presenta eritema y signos de quemadura en una hora de exposición solar, al usar un filtro con factor de protección solar 4 (FPS 4) desarrollaría eritema solo al exponerse al sol durante cuatro horas seguidas. La FDA (Administración de Drogas y Alimentos) aprobó la determinación del factor de protección solar (FPS), como la técnica de referencia para valorar la eficacia de los protectores solares contra la quemadura del sol. (GONZÁLES, 2004)

El FPS mide principalmente la protección frente a la radiación UV-B. El FPS 25 protege contra el 92% de la radiación UV-B, en comparación con el FPS 30 que protege en un 97,5% y un FPS 50 protege el 99%. Un protector solar debe tener por lo menos un FPS 30+ y que al adicionarse filtros contra la radiación UV-A, se potencia su eficacia contra el espectro de radiación ultravioleta. No hay un consenso sobre la medición del FPS contra las radiaciones UV-A. En varios países han adoptado diferentes guías para determinarlo in vitro por medio de espectrofotometría y métodos in vivo (psoraleno mas exposición a radiaciones UV-A), pero todos determinan la pigmentación inmediata o tardía. En Japón se determina la pigmentación tardía con un método in vivo y al final el protector se clasifica en tres categorías. En los Estados Unidos (EEUU), se combinan ambas pruebas in vivo e in vitro, para una clasificación total de cinco categorías que son: ninguna, baja, mediana, alta y muy alta. (BONET, 2010)

Para establecer que un protector solar es de amplio espectro debe brindar protección contra las radiaciones UV-A de una longitud de onda de 370 nm y la pigmentación tardía debe corresponder a un factor de protección UV-A superior a 4. La mayoría de filtros solares con FPS 15 o mayor, protegen contra las radiaciones UV-B. El modelo del factor de protección solar tiene ciertos puntos a considerar:

- 1) Ningún protector solar, independientemente de su capacidad continua siendo eficaz sin reaplicarse cada 2 horas.
- 2) El enrojecimiento de la piel se debe a las radiaciones UV-B y son muy pocos los daños por las radiaciones UV-A.
- 3) Existe mucha controversia sobre la forma como se determina el factor de protección solar, debido a que se evalúa el espectro de acción para la inducción de cáncer de piel en las personas.
- 4) La determinación del FPS se hace solo con la aplicación cutánea de 2 mg/cm², pero estudios han demostrado que las personas realmente no usan tal dosis e inclusive usan un promedio menos de 1,5 mg/cm². Esto demostraría que la protección solar es significativamente menor. (CAMPS, 2014)

1.5 Drogas Vegetales

La palabra “droga” tiene múltiples definiciones, según sea el campo en el que se utilice. En fitoterapia, se considera a la droga, como aquella parte de una planta que produce un efecto biológico sobre el organismo. (WAGNER, 1996)

La definición de droga vegetal, es la planta entera o en partes frescas o desecadas que pueden utilizarse como materia prima para la elaboración de formas farmacéuticas o para la obtención de extractos utilizables en terapéutica. (MIRANDA, 2000)

1.5.1 Extractos vegetales

Es una mezcla compleja, con un sin número de compuestos químicos, obtenidos por procesos físicos, químicos o microbiológicos a partir de una fuente natural, los mismos que pueden ser utilizados en cualquier campo de la tecnología. Un extracto siempre está constituido por una variedad de compuestos químicos de menor o mayor complejidad, siendo estos compuestos los que interactúan con una gran diversidad de moléculas biológicas que pueden ser receptores de membrana celular, citoplasmáticos, sistemas transportadores de iones, enzimas, etc. Esta característica determina que los fitofármacos no actúan por fuerzas desconocidas o inexplicables. Según la OMS el 25% de los fármacos comercializados actualmente son de origen vegetal y un 25% contiene

principios vegetales químicamente modificados, está establecido que actúan por las mismas vías, que lo hacen los medicamentos convencionales. Así mismo, es una herramienta útil para determinar la absorción de sustancias tóxicas por las plantas, residuos de plaguicidas y posibles consecuencias de la contaminación atmosférica de las aguas y suelos. (WAGNER, 1996)

En taxonomía vegetal, ayuda a la identificación química de especies y quimiotipos, el número de sustancias químicas sintetizadas en el laboratorio que pueden utilizarse por su toxicidad o efectos secundarios, por lo que en la naturaleza se pueden obtener nuevas estructuras que brinden actividad terapéutica. (MIRANDA, 2000)

1.5.2 Clasificación de los extractos vegetales

Dependiendo del grado de concentración, los extractos pueden clasificarse en: extractos fluidos o líquidos, extractos semisólidos o blandos y extractos secos. (MIRANDA, 2000)

1.5.3 Procesos para la obtención de extractos.

Es de gran importancia establecer los parámetros de extracción, para así lograr la estandarización del proceso, garantizando la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal. Por ejemplo:

- **Naturaleza química de la materia prima vegetal:** estar al tanto de las características del metabolito o compuesto químico a extraer.
- **Selección del solvente:** definir la selectividad del solvente a utilizar en la extracción, el solvente óptimo será, el que logre un mayor rendimiento del compuesto.
- **Relación sólido-líquido:** la proporción más conveniente de trabajo será la que alcance un mayor rendimiento de extracción.
- **Tamaño de partícula del sólido:** la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida del éxito de la lixiviación, ya que a menor tamaño de partícula hay mayor superficie de contacto entre la droga y el solvente, por tanto, habrá mayor acceso de los principios activos al medio líquido; sin embargo, pequeñas

partículas de la droga conduce a la formación de polvos, puede causar problemas en el proceso de extracción.

- **Temperatura:** un aumento en la temperatura favorece a la extracción, pero siempre hay que prestar una especial atención cuando una sustancia de interés es termolábil o volátil, ya que temperaturas elevadas puede conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables.
- **Velocidad de agitación y tiempo de extracción:** los valores óptimos, serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto de la droga con el solvente, mayor capacidad tendrá el solvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones.
- **Viscosidad del medio:** no usar solventes de viscosidad relativamente alta.

Al extracto obtenido se debe caracterizar en cuanto a: sustancias activas y marcadores, solventes residuales, densidad, pH, sólidos totales, volumen total y control microbiológico. (MIRANDA, 2000)

1.6 Flavonoides en Plantas

Flavonoides en plantas es el término genérico con el que se identifica a una serie de metabolitos secundarios presentes en las plantas. Este tipo de compuestos son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y e moléculas de malonil-CoA, a través de la vía biosintética de los flavonoides. (MARTÍNEZ, 2005)

Los flavonoides aparecieron por primera vez en los ancestros de las embriofitas, correspondiente al grupo monofilético de todas las plantas terrestres (helechos, musgos, angiospermas y gimnospermas). Se cree que fueron una de las adaptaciones primordiales para la transición de la vida terrestre, desde el alga verde ancestral, que tiene la capacidad de absorber la radiación ultravioleta solar, mucho más intensa en la atmosfera que en el agua. (JATIVA, 2000)

1.6.1 Biosíntesis de los flavonoides

La vía biosintética de los flavonoides inicia cuando la fenilalanina, que por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL), se transforma en ácido cinámico, que luego es transformado en ácido p-cumarínico por la incorporación de un grupo hidroxilo a nivel del anillo aromático, y por la acción de la CoA ligasa lo transforma en cumaril-SCoA, que es el precursor de la mayoría de fenoles de origen vegetal, entre estos se encuentran los flavonoides. (TELEGUARIO, 2008)

La vía del ácido shikímico se inicia en los plastos, por condensación de dos productos sintéticos que son: la eritrosina 4-P con el fosfoenolpiruvato (PEP), y por diversas modificaciones se obtiene el ácido shikímico, siendo este el que deriva algunos tipos de fenoles en los vegetales. Al seguir la vía del ácido shikímico e incorporando una segunda molécula de PEP conduce a la formación de fenilalanina. (TELEGUARIO, 2008)

1.6.2 Regulación de la biosíntesis de los flavonoides

- La vía del ácido shikímico es dependiente de la luz.
- La acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, que da inicio a la vía biosintética de los flavonoides, es de gran importancia para la vida de las plantas y por ello debe estar estrictamente regulada. Además, la enzima fenilalanina amonioliasa es activada por la luz y depende de las concentraciones de diferentes hormonas vegetales. La actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa suele aumentarse cuando el vegetal está sometido a situaciones de estrés, como falta de agua (estrés hídrico), radiaciones ultravioletas, infecciones fúngicas y bacterianas y el frío (vegetal sometido a bajas temperaturas), suelen presentar coloraciones rojizas en hojas y tallos, y cuando la época de invierno son muy fríos las flores desarrollan colores muy intensos en la primavera siguiente.
- Hay isozimas que desarrollan flavonoides diferentes en respuesta a señales ambientales diferentes. (ESCAMILLA, 2009)

1.6.3 Función de los flavonoides en las plantas

- **Protección frente a la luz ultravioleta:** los flavonoides incoloros suelen acumularse en las capas superficiales de las plantas, los mismos absorben hasta un 90% de las radiaciones ultravioletas, impidiendo que los tejidos internos de la planta sufran algún efecto nocivo.
- **Defensa ante el herbivorismo:** algunos flavonoides como los taninos, protegen a la planta generando sabores amargos desagradables para los herbívoros, o también generan texturas que pueden resultar desagradables y los herbívoros se ven estimulados a escoger otro tipo de planta. (CANNA, 2014)

1.6.4 Aplicaciones de los flavonoides en medicina

Los flavonoides que son consumidos por el hombre protegen al mismo del daño oxidativo como los rayos ultravioleta (cantidad aumentada en verano); algunas sustancias químicas presentes en los alimentos (conservantes, colorantes, etc.); la contaminación ambiental (minerales tóxicos, mercurio y plomo). El organismo humano no tiene la capacidad de sintetizar este tipo de sustancias químicas, por lo que las obtiene de los alimentos que ingiere. Al limitar la acción de los oxidantes (radicales libres), los flavonoides reducen el riesgo de sufrir cáncer, aumenta la actividad de la vitamina C, mejora los síntomas alérgicos y de la artritis, bloquean la progresión de las cataratas y de la degeneración macular, evitan las tufaradas de calor en la menopausia y combate otros síntomas. (ESCAMILLA, 2009)

El sabor amargo ha llegado a provocar sensaciones de astringencia, si la concentración de taninos es alta. El sabor va a variar en dependencia de las situaciones presentadas en el esqueleto, llegando incluso a usarse como edulcorante, ya que es ciento de veces más dulce que la glucosa. (CARTAYA, 2001)

1.7 Quishuar (*Buddleja incana*)



Fuente: Labre, V. 2014

FOTOGRAFÍA No. 3 Planta de Quishuar

1.7.1 Clasificación científica

TABLA No. 4 Clasificación Científica de *Buddleja incana*.

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Scrophulariaceae
Tribu	Buddlejeae
Genero	Buddleja
Especie	<i>Buddleja incana</i>

FUENTE: REYNEL, C. 2009. ARBOLES DE LOS ECOSISTEMAS FORESTALES ANDINOS. LIMA-PERÚ.

1.7.2 Descripción Botánica

Buddleja incana o también conocida como Quishuar, son arbustos, pocos llegan a ser árboles grandes, generalmente no superan los 5 m de altura.

- **Hojas**

Sus hojas son simples miden entre 1 y 30 cm, son largas y lanceoladas, en pares o puestos sobre los tallos. Su forma y color son variables de acuerdo a cada especie, el envés de las hojas es pubescente y de color blanco. El fuste es retorcido y muy ramificado, su corteza es de color blanquecino.

- **Flores**

Sus flores son hermafroditas (completas), se encuentran agrupadas en racimos, miden alrededor de 7 milímetros de largo, su corola al inicio es de color amarilla y en la madurez se torna de color naranja, a veces puede cambiar y van desde un color blanco a rojo e incluso puede llegar a un color violáceas. Su floración se da entre los meses de mayo y septiembre.

- **Frutos**

Sus frutos, es una pequeña capsula, drupa o baya blanda y carnosas, según la especie siendo su promedio de 1 cm de longitud y de 1-2 mm de diámetro, en las cuales se encuentran un promedio de 90 semillas, las mismas que son de color rojizo o pardo, son muy pequeñas. Su fructificación se da entre los meses de junio y agosto. (GÓMEZ, 2007)

1.7.3 Distribución y Hábitat

El Quishuar es una de las especies forestales autóctonas del callejón interandino. Se encuentra distribuida en países como: Colombia, Ecuador, Bolivia, Venezuela y Perú. Al ser un árbol de madera muy dura crece entre los 1400-4200 msnm. Crecen en tierras secas y subhúmedas, sin embargo no soportan temperaturas por debajo de los -15-20 °C. el Quishuar también es conocido por los indígenas como el “Árbol de Dios”. (BORJA, 1990)

1.7.4 Usos y Propiedades

El Quishuar es utilizado en la elaboración de arados, postes, estacas, yugos y artesanías. Además, se emplea en la construcción de viviendas y corrales. En la Sierra ecuatoriana, en las provincias de Cotopaxi, Chimborazo y Cañar se considera al Quishuar como un árbol sagrado y venerado, usándolo en el tallado de ídolos incas durante la fiesta del Raimi. Durante el imperio Inca, estos árboles fueron usados como combustible y para la elaboración de cucharas y keros, el inca echaba al fuego durante rituales religiosos. (BORJA, 1990)

Para uso medicinal se utilizan las hojas en infusión, por su actividad antirreumática. Además, se usa sobre la piel como cicatrizante de heridas, para las verrugas, y el resfrió.

En la actualidad se usa como antibacteriano, antioxidante y antimicótico, además que estimula la proliferación del endometrio, un uso en especial es que es regenerador de la piel; es decir, que en ratones ha demostrado que inhibe la COX-2. (REYNEL, 2009)

1.7.5 Composición Química

Investigaciones realizadas de algunas *Buddlejas*, indican la identificación de algunos metabolitos secundarios como: flavonoides, iridoides (aucubina), triterpenoides, saponinas, alcaloides en escasas cantidades. Los iridoides como la aucubina, flavonoides y terpenoides han demostrado que tiene actividad antiinflamatoria. Además se ha observado que presenta actividad antioxidante, esto se debe a los compuestos fenólicos y terpenoides presentes en la planta. Otro efecto que se ha observado es que es antifúngico, esto se debe a los sesquiterpenos presentes en las raíces y corteza de algunas *Buddlejas*. (ÁVILA, 2005)

Estudios realizados determinaron la propiedad fotoprotectora del extracto metanólico de *Buddleja scordioides*, aislando a los compuestos verbascósido (FPS $24 \pm 0,7$), flavonoides (FPS $5 \pm 0,8$) y linarin (FPS $5 \pm 0,3$), que presenta dicha actividad, contra las radiaciones UV-A y UV-B. (SANTOS, 2012)

El compuesto verbascósido es un fenilpropanoide aislado de especies de *Buddlejas*, usados en medicina tradicional mexicana como protector solar (FPS $9 \pm 0,7$). Verbascósido está presente en extractos alcohólicos, absorbiendo las radiaciones UV-A y UV-B, además presenta una alta capacidad antioxidante y antiinflamatoria. (SANTOS, 2012)

1.7.6 Estado de Conservación

En el Ecuador se han presentado programas de reforestación, ya que en los años 1980 y 1990, esta especie atravesaba una situación de reducción, donde gracias a estos programas se pudo lograr la propagación del Quishuar en la Sierra Centro y Sur del país. En la actualidad se encuentra libre de peligro, ya que esta planta se desarrolla ampliamente en todo el país. (GÓMEZ, 2007)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Lugar de la Investigación

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

2.2 Materiales, equipos y reactivos

2.2.1 *Materia prima*

La materia prima que se utilizó fueron las hojas de *Buddleja incana* secas. La materia vegetal se recolectó en la Provincia del Tungurahua, Cantón Tisaleo, a una altura de 3265 msnm y una temperatura de 12 °C.

2.2.2 *Material biológico*

a) **Población:**

En la experimentación se utilizó 30 personas de sexo masculino y femenino, con características de fototipo de piel III, su participación fue voluntaria en la investigación.

Descripción:

- **Sexo:** masculino y/o femenino
- **Peso:** 70±5 Kg
- **Edad:** 18-25 años
- **Características fototipos III:** pelo castaño, ojos claros o marrones y tono de piel clara
- **Hábitat:** Zona Sierra Centro del Ecuador (Riobamba)

Condiciones:

- **Lugar geográfico:** Zona Sierra Centro del Ecuador
- **Temperatura:** 25±2 °C

- **Hora del día:** 11:00 a 13:00
- **Altitud:** 2754 msnm
- **Índice ultravioleta:** 15.6

b) Muestra:

- 30 Personas con Fototipo III
- 30 (experimentos netos), (grupo control), (grupo patrón), (experimental 1), (experimental 2), (experimental 3), (experimental 4), (experimental 5), cada sujeto será su propio patrón y control.
- En los experimentos netos se procedió a aplicar en cada una de las superficies experimentales las cremas con los extractos fraccionados de *Buddleja incana*.

2.2.3 Materiales, reactivos y equipos para el estudio farmacognóstico y control de calidad.

Materiales

- Balones aforados de 10, 25, 50, 100, 250 mL
- Vasos de precipitación de 25, 50, 100, 250, 500 , 1000 mL
- Pipetas volumétricas de 1, 10, 25 mL
- Pipetas graduadas de 1, 5, 10 mL
- Pipetas Pasteur
- Balones esmerilados de 250, 500, 1000 mL
- Probetas de 5, 25, 50, 100, 250, 500 mL
- Embudo Buchner
- Embudos simples
- Embudos de separación de 100, 250, 500 mL
- Trípode
- Varillas de agitación
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Espátula
- Soporte universal
- Pinzas
- Pinzas para tubos

- Mangueras
- Capsulas de porcelana
- Crisoles de porcelana
- Picnómetro
- Termómetro
- Refrigerante
- Piceta
- Vidrio reloj

Reactivos

- Alcohol al 96 %
- Éter etílico
- Hexano
- Cloroformo
- Metanol
- Agua destilada
- Tolueno
- Ácido fórmico
- Acetato de etilo
- Ácido acético glacial
- Acetona
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Baljet
- Hidróxido de sodio
- Hidróxido de potasio
- Anhídrido acético
- Amonio al 5 % en agua
- Ácido sulfúrico concentrado
- Reactivo de Fehling
- Solución de carbonato de sodio
- Acetato de sodio

- Cloruro férrico al 5 %
- Ácido clorhídrico concentrado
- Solución al 2 % de ninhidrina en agua
- Alcohol amílico
- Magnesio metálico
- Reactivo de Sudan III

Equipos

- Estufa (MEMMERT)
- Mufla (OPTIC IVYMEN SYSTEM)
- Balanza analítica (ADAM BOECO)
- Densímetro (SELECTA)
- Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-VAP)
- pH-metro (HANNA INSTRUMENT Y HANNA WATERPROOF)
- Autoclave
- Lámpara ultravioleta (AOGUANG/OEM)
- Refractómetro (BAUSCH Y LOMB)
- Espectrofotómetro (PERKIN ELMER LAMDA EZ 201 Y HELYOS β)
- Desecador
- Refrigeradora (DUREX)

2.3 Protocolo Experimental

2.3.1 Pruebas de control de calidad de especies vegetales, *Buddleja incana*.

El control de calidad de drogas vegetales se lo realizó considerando las metodologías MIRANDA, M. 2006 y otros organismos encargados de asegurar el control de calidad de productos Fitofarmacéuticos.

Los métodos utilizados para el control de calidad de la droga cruda fueron los siguientes:

2.3.1.1 Análisis físico-químico:

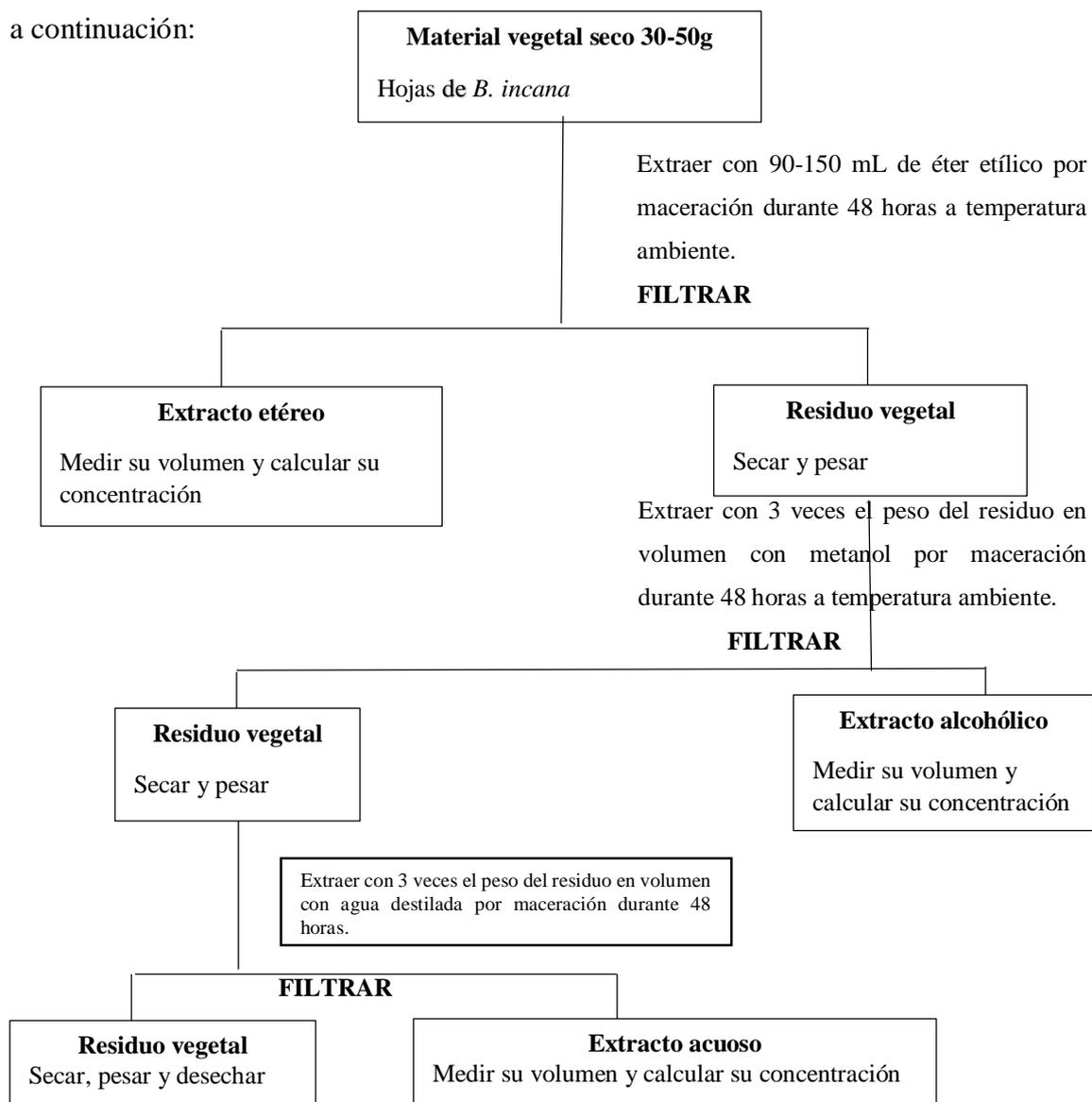
- Determinación del contenido de humedad a través del método gravimétrico (perdida por desecación en estufa).

- Determinación de cenizas totales a través del método gravimétrico (determinación en seco).
- Determinación de cenizas solubles en agua a través del método gravimétrico (método de calcinación).
- Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico a través del método gravimétrico (método de calcinación).

2.4 Preparación de los Extractos de *Buddleja incana*

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

Para la extracción de *Buddleja incana* se utilizó el método de maceración, que se detallan a continuación:



Los extractos obtenidos se dejaron de 3-4 días a 4°C y se los filtró. (JATIVA, 2000)

2.5 Control de Calidad de los Extractos de *Buddleja incana*.

El control de calidad de la droga vegetal se realizó, en base al folleto de (MIRANDA, 2000).

- Determinación de los requisitos organolépticos: olor, color, sabor, pH
- Determinación de la densidad relativa
- Determinación del Índice de Refracción
- Determinación de Solidos Totales: método gravimétrico (estufa)

2.6 Tamizaje Fitoquímico

El análisis del tamizaje fitoquímico para los extractos de *Buddleja incana*, se realizó en base al folleto de (JATIVA, 2000). El análisis cualitativo se realizó para los siguientes metabolitos secundarios.

TABLA No. 5 Tamizaje Fitoquímico de las hojas secas de *Buddleja incana*.

METABOLITO	ENSAYO
Alcaloides	Dragendorff Mayer Wagner
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-Buchard
Flavonoides	Shinoda
Fenoles y taninos	Cloruro férrico
Saponinas	Espuma
Azucares reductores	Felhing
Compuestos grasos	Sudan III
Cumarinas	Baljet
Quinonas	Borntrager
Flavonoides	Antocianidinas
Resinas	Resinas
Mucilagos	Mucilagos
Catequinas	Catequinas
Principios amargos	Sabor

FUENTE: JATIVA, C. 2000. TEXTO BÁSICO DE FITOQUÍMICA. RIOBAMBA-ECUADOR.

2.7 Análisis Cromatográfico

La detección de flavonoides se llevó a cabo según la técnica de cromatografía de capa fina de (WAGNER, 1996)

- Para la cromatografía se usó el extracto metanólico total.
- Se aplicó 10 µL del concentrado etanólico en una placa de Sílica gel 60 F₂₅₄, con ayuda de un capilar.
- Se dejó secar después de cada aplicación, y luego se colocó la placa en la cuba cromatográfica, hasta que el solvente recorra $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- Se retiró de la cuba y se dejó secar, para luego observar en la lámpara UV (Marca AOGUANG/OEM) de 365nm.
- Se reveló la placa, se dejó secar calentando en el reverbero y luego se sometió a 110 °C de temperatura en una plancha.
- Se observó la fluorescencia coloreada nuevamente a la luz UV 365(nm), después se reveló con los reactivos correspondientes, que se detallan a continuación:

Adsorbentes: Sílica gel 60 F₂₅₄.

Sistema de solventes: Acetato de etilo- metanol-agua (83.3:8.3:8.3)

Revelador: Sulfato de Cerio.

Calculo:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

2.8 Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales expresados como porcentaje de Rutina.

El análisis del contenido de flavonoides en extracto etanólico fue medido por espectrofotometría ultravioleta-visible, según el método de Shinet al, con ligeras modificaciones.

- Se tomó una alícuota de 500 µL de extracto y se colocó en un tubo tapa rosca con 400 µL de agua bidestilada.
- Se añadió 38 µL de NaNO₂ al 5 % p/v, se homogenizó, se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 5 minutos.
- A continuación se añadió 38 µL de AlCl₃ al 10 % p/v, se agitó, se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 6 minutos.

- Luego se agregó 250 µL de NaOH 1M y se completó a un volumen final de 1250 µL con agua bidestilada.
- Para finalizar la absorbancia de la reacción fue medida inmediatamente en un espectrofotómetro ultravioleta-visible a 510 nm.
- La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración con un estándar de rutina a diferentes diluciones.

Los resultados fueron expresados como mg de rutina por gramo de tejido vegetal, con la siguiente fórmula:

$$X = \frac{Am1}{Amst} \times 100 \times \text{factor de dilución}$$

Dónde:

X= contenido de flavonoides expresados como rutina (%)

Am= absorbancia de la solución muestra (nm)

Ast= absorbancia de la sustancia de referencia (nm)

100= factor matemático para los cálculos

2.9 Preparación de Subextractos de las hojas secas de *Buddleja incana*.

- Se pesó 300 g de planta seca y se colocó en un vaso de precipitación de 600 mL, luego se añadió 500 mL de metanol, se maceró en el ultrasonido por 2 horas.
- Se filtró el extracto metanólico obtenido, separándolo en cuatro partes.
- A 200 mL del extracto metanólico se evaporó a sequedad en baño maría, luego se añadió 25 mL de agua y 25 mL de acetato de etilo, a continuación se separó en sus fases en un embudo de separación. Al extracto acuoso obtenido se hidrolizó con 5 mL de HCl concentrado.
- A 100 mL del extracto metanólico, se evaporó a sequedad en baño maría, luego se añadió 25 mL de agua, obteniéndose un extracto acuoso.
- A 100 mL del extracto metanólico, se colocó en un embudo de separación, se añadió hexano y se separó en sus fases, obteniendo un extracto sin clorofilas.
- A los 100 mL restantes, se guardó, obteniendo un extracto metanólico total.

2.10 Determinación de las Cantidades y Tipos de Excipientes adecuados para la Formulación de las Cremas Base de *Buddleja incana*.

TABLA No. 6 Cantidades y Excipientes utilizados en la Formulación de las Cremas Base de *Buddleja incana*.

INGREDIENTES	CANTIDADES	UNIDADES
Agua destilada	825	mL
Alcohol cetílico	60	g
Cera base	60	g
Silicona facial	20	g
Pantenol	20	g
Extracto	15	mL

FUENTE: LABRE, V. 2014

Para preparar un lote de 1L al 100%.

Preparación de la crema fotoprotectora.

- Se procedió a calentar la fase oleosa y la fase acuosa por separado a una temperatura de 75°C.
- A continuación se mezcló las fases agitando continuamente.
- Posteriormente se añadió el espesante agitando continuamente.
- Por último se añadió el extracto agitando continuamente la mezcla.
- Se envasó a 40°C.

2.11 Control de Calidad de Productos Terminados

El control de calidad del producto terminado tiene como propósito determinar si una forma farmacéutica cumple con los atributos de calidad previamente establecidos. Estos atributos buscan conseguir que el medicamento cumpla con el objetivo para el cual fue diseñado de manera eficaz y segura. El control de calidad de las cremas fotoprotectoras se realizó en base al folleto de (SÁNCHEZ, 2008)

2.11.1 Descripción del producto

En la descripción del producto se registran las siguientes características como:

- Aroma
- Color
- Consistencia
- Forma cosmética
- Contenido neto

2.11.2 Controles fisicoquímicos

Medición del pH: pesar 1g del producto y colocar en un vaso de precipitación de 100 ml y disolver con 10 mL de agua destilada, medir el pH con un electrodo de vidrio a 20 °C.

Peso específico: se determina el peso del producto con un picnómetro. En donde tenemos la siguiente formula:

$$\text{Peso específico} = \frac{p - v}{a - v}$$

Dónde:

p= peso del picnómetro con el producto

v= peso del picnómetro vacío

a= peso del picnómetro con agua

Determinación del residuo seco: se coloca 1 g de muestra en una capsula de porcelana, previamente la capsula debe estar tarada. Se calienta la capsula con el producto a 105 °C, por 2 horas. Se enfría en un desecador y se pesa, hasta obtener que dos pesadas no difieran en más de 0,5 mg o peso constante. Los resultados se calculan con la siguiente formula:

$$\% \text{ de residuo seco} = \frac{r2 - r}{r1 - r} \times 100$$

Dónde:

r= masa de la capsula vacía (g)

r2= masa de la capsula con el producto (g)

r1= masa de la capsula con el residuo (g)

100= factor matemático para los cálculos

Tipo de emulsión: tenemos dos pruebas para poder determinar qué tipo de emulsión presento la crema.

- **Prueba de dilución:** esta prueba consiste en dispersar 0,5 g del producto en 50 mL de agua. Se obtiene una emulsión lechosa cuando es aceite/agua.
- **Prueba del lavado:** se coloca 1 g de producto en la superficie de la mano, luego se aplica un chorro de agua corriente con ayuda del dedo índice. Una emulsión aceite/agua, se lava completamente con la prueba antes mencionada.

Extensibilidad o esparcimiento: para realizar esta prueba necesitamos dos placas de vidrio de 10 cm². Primero hay que colocar la una placa de vidrio sobre una hoja de papel milimetrado. Trazar unas diagonales en el papel milimetrado. Colocar 1 g del producto sobre el punto de intersección de las diagonales. Pesar la placa de vidrio y colocarla sobre la formulación. Luego de 1 minuto medir el diámetro inicial en (mm) de la circunferencia formada. Y después comprimir con un peso de 200 g, por 1 minuto a 20 °C y medir el diámetro final (mm) de extensibilidad del producto. Con los valores de los diámetros obtenidos calcular el diámetro medio y luego calcular la superficie del círculo formado (mm²). (SÁNCHEZ, 2008)

2.12 Análisis Microbiológico

Para el análisis microbiológico se utilizó el test para conteo total de microorganismos aerobios, conteo de bacterias y conteo de hongos.

Test para conteo total de microorganismos aerobios

Con una pipeta de vidrio estéril, coger 10 g de muestra y colocar en el Erlenmeyer de 250 mL, que contiene peptona al 0,1% y ajustar a 100 mL si es necesario. Luego poner esta mezcla en baño de agua a una temperatura de 40-45 °C, por 10 minutos.

Contaje de bacterias

Con una pipeta de vidrio estéril, transferir 1 mL de mezcla anterior en dos cajas Petri por separado. Con otra pipeta de vidrio estéril, añadir 20 mL de TSA (Agar Soya Tripticasa) en cada caja. Mover la caja con movimientos de rotación, para obtener una buena mezcla con el agar. Dejar solidificar las cajas en invertirlas, incubar a una temperatura de 30-35 °C, de 48 horas hasta 5 días. Al final de la incubación, contar el número de colonias y reportar el promedio de bacterias encontradas por gramo de muestra.

Contaje de hongos

Con una pipeta de vidrio estéril, transferir 1 mL de la mezcla de peptona al 0,1% y el producto, en dos cajas Petri por separado. Con otra pipeta de vidrio estéril, añadir 20 mL de SAB (Agar Dextrosa Sabourad) e incubar a una temperatura de 20-25 °C, por 5 a 7 días. Al final de la incubación contar el número de colonias y reportar el promedio de hongos encontrados por gramo de muestra. (GUTIÉRREZ, 1998)

2.13 Protocolo de Administración del Producto a los Voluntarios

El protocolo a seguir antes de la administración fue, capacitar a las personas voluntarias con respecto a las quemaduras por la radiación ultravioleta y sus efectos, además se les dio charlas sobre las problemáticas de los productos fotoprotectores comerciales y el uso adecuado que debe tener cada persona, con estos fotoprotectores.

- Se seleccionó los voluntarios de acuerdo al tipo de piel que se necesitó para el experimento.
- Se prohibió el uso de cremas en el área anteroposterior de los brazos, a las personas voluntarias por un periodo de 15 días antes de realizar la experimentación.
- Antes de la experimentación las personas voluntarias debieron firmar la hoja de consentimiento informado.
- Para el día de la aplicación las personas voluntarias tenían su piel bien limpia, para lo cual debieron lavarse con agua y jabón.
- Se lavó bien las manos para aplicar las cremas.
- A continuación se comparó la piel con la tira colorimétrica, para determinar que no haya la presencia de eritemas antes del experimento.
- Se tomó una cantidad de 2 mg con una micropipeta, la misma que se codificó, luego se aplicó en la zona T 15 minutos antes de la exposición a la radiación ultravioleta. A continuación se aplicó en el resto de las zonas etiquetadas, en la parte anteroposterior del brazo.
- Se observó la evolución de cada voluntario, durante las 2 horas cada 15 minutos, enfocándose en la presencia de enrojecimiento o eritema que se presentó durante el tiempo de la experimentación. Los niveles de eritema se evaluaron desde un nivel uno ya que al encontrarnos en la zona cercana la línea ecuatorial tenemos incidencia directa a la radiación ultravioleta teniendo ya una pigmentación en la piel motivo por el cual no podemos comenzar el test colorimétrico desde un nivel cero. En el nivel dos tenemos la presencia de eritema leve o inicial con un cambio ligero en el tono de la piel; con el nivel de eritema tres se evidencia un cambio de la coloración de la piel más notorio (eritema moderado); y con el nivel cuatro (eritema agresivo), el nivel de eritema es más evidente con la presencia de un color

rojo, indicando que la piel ha llegado a su máximo en cuanto a los eritemas causados por la radiación ultravioleta.



Tira colorimétrica

- Se determinó el FSP para cada una de las cremas con sus extractos respectivos. Con la siguiente fórmula:

$$SPF = \frac{MED \text{ (mínima dosis eritémica con protección)}}{MED \text{ (mínima dosis eritémica sin protección)}} = \frac{MED_p}{MED_{SP}}$$

2.13.1 Manejo específico del experimento

Actividad fotoprotectora de los extractos y subextractos de *Buddleja incana*.

La comprobación del efecto fotoprotector de *Buddleja incana*, se desarrolló mediante la técnica de COLIPA.

2.13.1.1 Unidad de observación

Personas con fototipo III, en las cuales se aplicara por vía tópica en la zona anteroposterior del brazo las diferentes formulaciones realizadas con los extractos y subextractos de *Buddleja incana*.

2.13.1.2 Grupos de estudio

TABLA No. 7 Determinación de los grupos de estudio utilizados en la investigación.

GRUPO	TRATAMIENTO	DOSIS	DETALLES DEL TRATAMIENTO
Control	X ₁	0mg/cm ² /día	Sin extracto
Patrón	X ₂	2mg/cm ² /día	Crema Sundown con FPS 30
Experimental 1	X ₃	2mg/cm ² /día	Crema con SEAH
Experimental 2	X ₄	2mg/cm ² /día	Crema con SEH
Experimental 3	X ₅	2mg/cm ² /día	Crema con EMT
Experimental 4	X ₆	2mg/cm ² /día	Crema con SEAE
Experimental 5	X ₇	2mg/cm ² /día	Crema con SEA

SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), EMT (extracto metanólico total), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

2.13.1.3 Diseño experimental

El experimento se realizó con 30 personas con fototipo III por tratamiento y siete superficies experimentales de la parte anteroposterior del brazo, tres zonas por fototipo experimental, es decir; para tres tratamientos propuestos se obtuvieron un total de 210 variantes por lote experimental.

2.13.1.4 Proceso experimental

Para el estudio se utilizó personas con fototipo III, cuyo peso corporal osciló entre 70 ± 5 Kg. Las personas con fototipo III durante 15 días previos a la experimentación debieron adecuar su piel, sin aplicación de fotoprotectores, sin exponer sus brazos al sol para obtener una piel con condiciones de laboratorio.

La temperatura se mantuvo en 25 ± 2 °C, índice UV de 15.6 por dos horas de radiación ultravioleta proveniente del sol.

Todo el trabajo, con las personas con fototipo III, se realizó de acuerdo con los principios éticos para el uso de humanos en laboratorio.

Se realizó el estudio fotoprotector en personas con fototipo III, para lo cual se administró por vía tópica a los individuos voluntarios los siguientes tratamientos: crema sin extracto (blanco), crema FPS 30, crema con EMT, crema con SEAH, crema con SEA, crema con SEAE y crema con SEH; las dosis administradas en volúmenes equivalentes a $2\text{mg}/\text{cm}^2/\text{día}$. Durante 2 horas, los voluntarios estuvieron expuestos a la radiación ultravioleta, los mismos que fueron provistos de alimento y agua para evitar efectos secundarios como la insolación o deshidratación.

La evidencia de eritema se valoró mediante una tira colorimétrica, lo cual se evaluó cada 15 minutos durante 2 horas.

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

TABLA No. 8 Determinación del Factor de Protección Solar (FPS) para cada superficie experimental.

GRUPOS	Eritema inicial	Tratamientos (mg/cm ² /día)	Eritema final
FG1	Ei	X1	Ef
FG1	Ei	X2	Ef
FG1	Ei	X3	Ef
FG1	Ei	X4	Ef
FG1	Ei	X5	Ef
FG1	Ei	X6	Ef
FG1	Ei	X7	Ef

Dónde:

F= para asignar al azar o aleatoriamente

G= para determinar el grupo de sujetos los cuales corresponden al fototipo III, con un peso entre 70±5 Kg, que han sido controlados en impedir el uso de fotoprotectores por un lapso de 15 días antes de la prueba, para obtener resultados adecuados.

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

X= tratamiento administrado por vía tópica a través de una micropipeta con dosis específicas.

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

2.14 Análisis Estadístico Descriptivo (Tablas de Frecuencias)

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

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

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

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

La hipótesis nula del análisis estadístico descriptivo es:

- **H₀:** Los extractos y subextractos de las hojas de *Buddleja incana*, presentan efecto fotoprotector en personas con fototipo III.
- **H₁:** Los extractos y subextractos de las hojas de *Buddleja incana*, no presentan efecto fotoprotector en personas con fototipo III.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Control de Calidad de la Materia Prima (materia vegetal seca).

Para este análisis la materia vegetal de *Buddleja incana*, se recolectó en la Provincia de Tungurahua, Cantón Tisaleo. En las mismas que se tomó en cuenta el estado físico y color, descartando aquellas partes que se encontraban deterioradas. Una vez recolectadas, se lavó con abundante agua para luego desinfectarlo con hipoclorito al 0,5 %. A continuación se dejó secar a temperatura ambiente por una semana.

El control de calidad de las drogas vegetales es de gran importancia para obtener productos de calidad y seguros, para la experimentación en el caso de la materia vegetal seca de *Buddleja incana*, se obtuvo resultados aceptables, que nos indican que se encuentran en condiciones óptimas para la obtención de sus extractos.

3.1.1 Determinación del contenido de humedad

CUADRO No. 1 Resultados de la Determinación de Humedad de la droga seca de las hojas de *Buddleja incana*. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril. 2014.

Droga Seca	% Humedad	Especificación NEFT
<i>B. incana</i>	7.15%	Hasta 10%

Este parámetro de calidad sirve para determinar la proliferación bacteriana y micótica, seguido de la hidrólisis de los principios activos. Los datos obtenidos en el cuadro No. 1 están dentro de los rangos establecidos según la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001). Lo cual indica, que la droga se puede conservar libre de proliferación bacteriana y micótica, por un tiempo moderado, siendo esto favorable para nuestro estudio.

3.1.2 Determinación del contenido de cenizas totales

La determinación de cenizas es un indicativo de calidad de la droga, y si el valor es mayor a 12% la droga deberá ser rechazada, ya que es probable que tenga demasiada contaminación con tierra, metales pesados o sílice, por esta razón se aplicó los tres métodos de determinación de cenizas, siendo las siguientes: cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico. Para la droga seca de las hojas de *Buddleja incana*, se utilizó el método gravimétrico de la determinación de cenizas totales, solubles en agua e insolubles en ácido clorhídrico, obteniendo los siguientes resultados.

CUADRO No. 2 Resultados de la Determinación del Contenido de Cenizas Totales de la droga seca de las hojas de *Buddleja incana*. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril. 2014.

Droga Seca	%Cenizas Totales	Especificación NEFT
<i>B. incana</i>	9.57%	Hasta 12%

Los resultados expresados en el Cuadro No. 2 de las hojas de *Buddleja incana*, indica que estos porcentajes son aceptables, ya que están dentro de los límites según la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001).

Estos análisis en condiciones rigurosas, nos permite descubrir falsificaciones por otras drogas, tierras y minerales. Si en la determinación ha sido elevado el contenido de cenizas, esto puede ser un indicativo que en la recolección existió contaminación de material mineral (tierra).

3.1.3 Determinación del contenido de cenizas solubles en agua

CUADRO No. 3 Resultados de la Determinación de Cenizas Solubles en Agua de la droga seca de las hojas de *Buddleja incana*. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril. 2014.

Droga Seca	%Cenizas Solubles en Agua	Especificación NEFT
<i>B. incana</i>	5.9%	Hasta 7%

Los resultados obtenidos de cenizas solubles en agua, se encuentran dentro de los límites establecidos (7%) dada por la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001). El mismo que corresponde al material de tipo orgánico presente en la muestra.

3.1.4 Determinación del contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

CUADRO No. 4 Resultados de la Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico de la droga seca de las hojas de *Buddleja incana*. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril. 2014.

Droga Seca	%Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico	Especificación NEFT
<i>B. incana</i>	2.9%	Hasta 5%

Los valores obtenidos para cenizas insolubles en ácido clorhídrico, indican que se encuentran dentro de los límites aceptados en la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001), cuyo valor de especificación es de 5%, lo cual indica que la droga seca, no presenta una considerable presencia de materia arenosa en la muestra.

3.2 Control de calidad del extracto metanólico total de *Buddleja incana*.

El análisis de control de calidad se realizó con el extracto de las hojas de *Buddleja incana*, obtenido por maceración con metanol.

3.2.1 Determinación de los requisitos organolépticos del extracto metanólico de *Buddleja incana*.

CUADRO No. 5 Determinación Organoléptica del Extracto Metanólico de las hojas secas de *Buddleja incana*. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril 2014.

Características	Resultados
Olor	Herbal característico de la planta
Sabor	Amargo
Color	Verde oscuro
Aspecto	Líquido turbio

En el cuadro No. 5, nos indica las características organolépticas de *Buddleja incana*, el extracto analizado presenta sus propias características, siendo su olor herbal característico de la planta, sabor amargo, color verde oscuro y su aspecto es líquido turbio, característico a su especie.

3.2.2 Determinación de los parámetros físicos del extracto metanólico total y subextractos de *Buddleja incana*.

CUADRO No. 6 Determinación de los Parámetros Físicos del Extracto Metanólico Total y Subextractos de las hojas secas de *Buddleja incana*. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. ESCPOCH. Riobamba. Abril 2014.

Parámetros	EMT	SEAH	SEH	SEAE	SEA
pH	5.7	5.3	5.4	5.5	5.6
Índice de refracción	1.36	1.91	1.11	1.23	1.24
Densidad relativa	0.8733g/mL	1.1002g/mL	0.6896g/mL	0.8670g/mL	1.0911g/mL
Solidos totales	3.52%	0.93%	1.08%	0.65%	1.50%

Extracto metanólico total (EMT), subextracto acuoso hidrolizado (SEAH), subextracto hexánico (SEH), subextracto acetato de etilo (SEAE), subextracto acuoso (SEA).

En el cuadro No. 6, indica los parámetros físicos del extracto metanólico de *Buddleja incana*, donde se obtuvo un pH de 5.74 que es un poco ácido, indicando que los compuestos químicos presentes como flavonoides, alcaloides, entre otros, no se modifican, proporcionando solubilidad y sobre todo estabilidad para así conservar su actividad.

El índice de refracción fue de 1.36, en comparación con el del agua es de 1.333, lo que nos indica la presencia de sustancias disueltas en el extracto metanólico total de *Buddleja incana*.

La densidad relativa fue de 0.8733 g/mL, comparando con el solvente empleado para la preparación del extracto, es de 0.789 g/mL, es mayor. Lo que nos indica que en el extracto existen sustancias en disolución.

El porcentaje de sólidos totales nos permite estimar la cantidad de materia disuelta y los residuos sólidos filtrantes (sales y residuos orgánicos). Obteniéndose un 3.52 %, lo que nos indica la gran cantidad de metabolitos secundarios extraídos por el solvente empleado para la maceración.

3.3 Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico o también conocido como “screening” fitoquímico, es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica que permite determinar cualitativamente los principales compuestos químicos presentes en una planta, siendo rápida su evaluación, con reacciones sensibles y reproducibles, utilizando para las mismas solventes adecuados, mediante la aplicación de reacciones de color y precipitado.

CUADRO No. 7 Resultados del Tamizaje Fitoquímico de *Buddleja incana*. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Abril 2014.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	EXTRACTO ETÉREO	EXTRACTO METANÓLICO	EXTRACTO ACUOSO
Alcaloides	Dragendorff	(+)	(+)	(+)
	Wagner	(+)	(+)	(+)
	Mayer	(+)	(+)	(+)
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman-Buchard	(++)	(++)	
Flavonoides	Shinoda		(+++)	(++)
Taninos y Fenoles	Cloruro férrico		(++)	(+)
Saponinas	Espuma		(+)	(+)
Azúcares reductores	Fehling		(+)	(+)
Compuestos grasos	Sudan III	(+)		
Cumarinas	Baljet	(-)	(+)	
Quinonas	Borntrager		(-)	
Flavonoides	Antocianidinas		(+)	
Resinas	Resinas		(-)	
Mucilagos	Mucilagos			(-)
Catequinas	Catequinas		(-)	

Leyenda:

- () Los espacios en blanco significan que estos ensayos no se realizaron a los extractos.
- (-) Significa que se obtuvo una respuesta negativa, para ese metabolito en el extracto.
- (+) Significa que se obtuvo una respuesta positiva, pero de poca cantidad para ese metabolito en el extracto.
- (++) Significa que se obtuvo una respuesta positiva, pero de cantidad mediana para ese metabolito en el extracto.
- (+++) Significa que se obtuvo una respuesta positiva, pero de mayor cantidad para ese metabolito en el extracto.

Para el análisis fitoquímico se llevó a cabo en tres extractos con distintos solventes de polaridad creciente, con el fin de lograr una mayor extracción de los compuestos presentes en la materia vegetal. Los solventes utilizados fueron: éter dietílico, metanol y agua.

Cada uno de los solventes utilizados extrae los principios activos de polaridad semejante; es decir, el éter dietílico va extraer los compuestos liposolubles de la droga vegetal, el metanol tiene una polaridad intermedia, extrae compuestos afines y el agua extrae los compuestos hidrofílicos.

En el cuadro No. 7 se puede evidenciar los resultados obtenidos del análisis fitoquímico de las hojas de *Buddleja incana*, en el cual se evidencio la existencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, triterpenos y/o esteroides, compuestos fenólicos y taninos, alcaloides, saponinas, azúcares reductores, cumarinas y antocianidinas. Cabe señalar que el metabolito secundario representativo son los flavonoides, con potencial farmacológico que brinda la actividad fotoprotectora.

Estos metabolitos fueron encontrados en el extracto metanólico, esto se debe a la polaridad intermedia que permite la extracción de la mayor cantidad de compuestos afines.

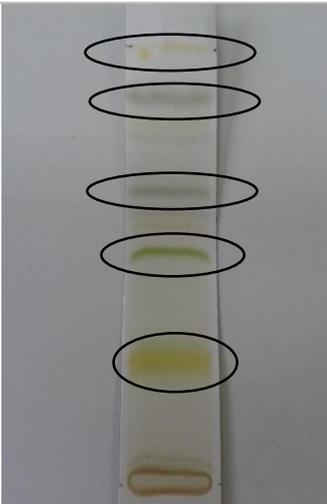
Estudios realizados con algunas *Buddlejas*, demostraron que presentan un alto contenido de flavonoides y eso concuerda con los resultados presentes en el análisis (ÁVILA, J et al. 2005).

3.4 Análisis Cromatográfico

Mediante la cromatografía de capa fina, se puede determinar los posibles compuestos presentes en el extracto.

3.4.1 Análisis Cromatográfico para Flavonoides

CUADRO No. 8 Determinación de Flavonoides según su Rf en Cromatografía de Capa Fina del Extracto de las hojas secas de *Buddleja incana*. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Mayo 2014.

Grafico	Manchas observadas	Cálculo Rf	Compuesto
	1	Rf= $2.6/7.2 = 0.36$	Verbascósido
	2	RF= $3.4/7.2 = 0.47$	Quercetina
	3	Rf= $4.0/7.2 = 0.56$	Quercetina
	4	Rf= $5.6/7.2 = 0.78$	Kaempferol
	5	Rf= $6.2/7.2 = 0.86$	Kaempferol

En el cuadro No. 8 nos indica la distancia recorrida y el posible compuesto al que pertenece, se obtuvo una coloración variada desde el anaranjado, morado hasta un color café. Debido a la posible presencia de flavonoides como la quercetina y kaempferol; o a la presencia de verbascósido. Para realizar su identificación se comparó los Rf encontrados con los citados en el libro de WAGNER, H. 1996.

En estudios realizados en la familia de las Buddlejas indica la presencia de flavonoides y verbascósido respectivamente, los cuales son responsables de la actividad fotoprotectora. (SANTOS, L et al. 2012)

3.5 Cuantificación de Principios Activos

3.5.1 Cuantificación Espectrofotométrica para Flavonoides Totales expresados como porcentaje de Rutina.

Para la cuantificación de los flavonoides, se utilizó como referencia un estándar de rutina a diferentes concentraciones. Mediante la aplicación de una ecuación en la curva de calibración, se determinó el contenido de flavonoides en el extracto metanólico total de

Buddleja incana, con un valor de 2.19%, cuyo valor está dentro de los rangos establecidos 0.1-2%, para principios activos presentes en plantas.

CUADRO No. 9 Cuantificación de Flavonoides Totales usando como Patrón la Rutina en Concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Mayo 2014.

Concentración (ppm)	Absorbancia a 510 nm
20	0,223
40	0,461
60	0,478
80	0,669
100	0,787

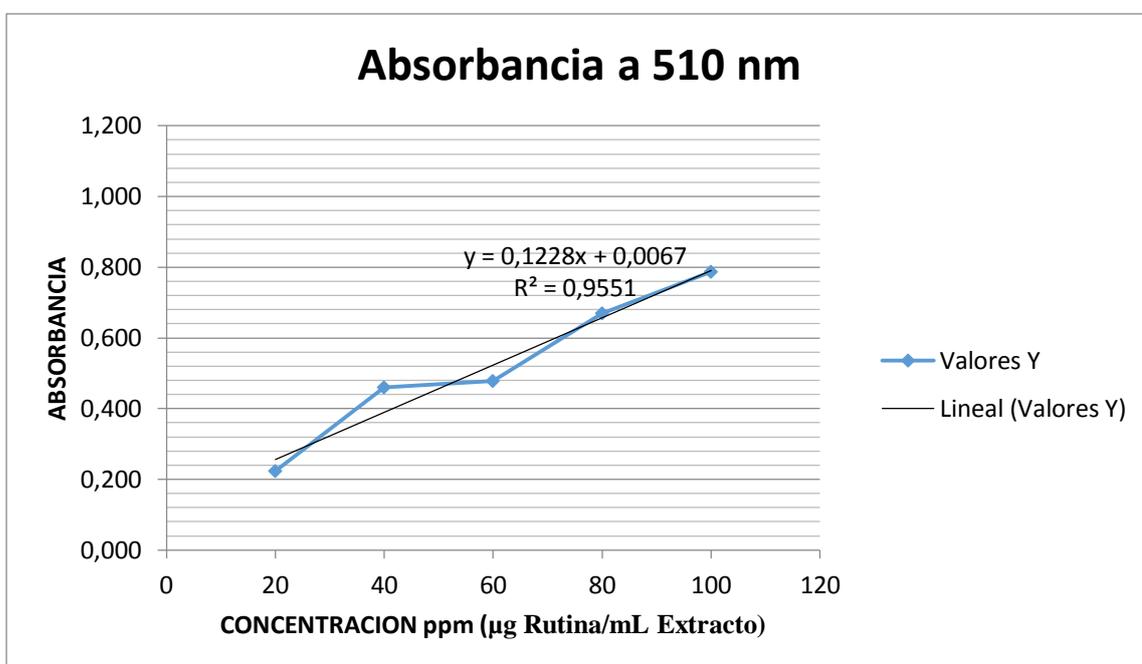


GRÁFICO No. 2 Curva de Absorbancia vs Concentración de Rutina para la Cuantificación de Flavonoides. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Mayo 2014.

Las lecturas obtenidas, sirvió para realizar la gráfica de la curva de calibración en función de la absorbancia y la concentración de rutina, de esta manera se obtiene la ecuación de la recta, la cual nos sirve para la cuantificación de los flavonoides totales presentes en el extracto metanólico de *Buddleja incana*.

CUADRO No. 10 Cuantificación de Flavonoides del Extracto Metanólico Total y Subextractos de las hojas de *Buddleja incana* a una longitud de onda de 510 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Mayo 2014.

Muestra	Absorbancia	Concentración (µg/mL)	Concentración (%)
EMT	2.159	17.53	2.19
SEAH	0.829	6.69	0.84
SEH	0.214	1.69	0.21
SEAE	0.633	5.10	0.64
SEA	0.209	1.65	0.21

EMT (extracto metanólico total), SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

En el Cuadro No. 10, nos indica que la absorbancia del extracto fue de 2.159 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de la rutina (Grafico No. 1), se obtuvo una concentración de 17.53 µg/mL dando un porcentaje de 2.19 % de flavonoides totales, cuyo valor está dentro de los rangos establecidos 0.1-2% para principio activo presentes en plantas. (LOCK, O. 1994)

3.5.2 Cuantificación de Flavonoides en el Producto con Extracto Metanólico Total y Subextractos de *Buddleja incana*.

CUADRO No. 11 Cuantificación de Flavonoides en el Producto con Extracto Metanólico Total de *Buddleja incana* y Subextractos a una longitud de onda de 510 nm. Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Junio 2014.

Muestra	Absorbancia	Concentración (µg/mL)	Concentración (%)
Crema EMT	2.055	16.68	0.062
Crema SEH	1.845	14.97	0.055
Crema SEAE	1.873	15.19	0.056
Crema SEA	1.900	15.42	0.057
Crema SEAH	1.915	15.54	0.057

EMT (extracto metanólico total), SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

En el Cuadro No. 11, se indica la absorbancia de flavonoides totales en crema con EMT de *Buddleja incana* fue de 2.055 y reemplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración de la rutina (Grafico No.2), se obtuvo una concentración de 16.68 µg/mL dando como resultado un porcentaje de flavonoides totales de 0.062% o 0.62 mg/g de crema.

3.6 Determinación de los Parámetros de Calidad de los Productos con el Extracto Metanólico Total de *Buddleja incana* y Subextractos.

El control de calidad del producto terminado (crema) tiene como principal propósito el determinar si una forma farmacéutica posee los atributos de calidad previamente establecidos. Estas características buscan que el medicamento cumpla con el objetivo para el cual fue diseñado, de manera eficaz y segura.

3.6.1 Descripción del producto

CUADRO No. 12 Resultados de la Descripción de los Productos con Extracto Metanólico Total de *Buddleja incana* y Subextractos. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Junio 2014.

Parámetro	EMT	SEH	SEAE	SEA	SEAH
Olor	Herbal	Herbal	Herbal	Herbal dulce	Herbal
Color	Verde claro	Verde claro	Café claro	Café claro	Café claro
Consistencia	Homogénea	Homogénea	Homogénea	Homogénea	Homogénea
Forma cosmética	Crema	Crema	Crema	Crema	Crema
Contenido neto	200 g	200 g	200 g	200 g	200 g

EMT (extracto metanólico total), SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

Los resultados que se observan en el Cuadro No. 12, son los parámetros de la descripción de las diferentes cremas con los subextractos. Para la crema con el subextracto metanólico total y la crema con subextracto hexánico de *Buddleja incana*, se describen como unas cremas de aspecto homogéneo sin presencia de grumos, de olor herbal característico de la planta, de color verde claro y con un peso neto de 200 g. De igual manera en la descripción de la crema con el subextracto acetato de etilo y la crema con el subextracto acuoso hidrolizado de *Buddleja incana*, los resultados que se observaron fueron: cremas de aspecto homogéneo sin presencia de grumos, de olor herbal característico de la planta, de color café claro y con un peso neto de 200g. En cuanto a la descripción de la crema con el subextracto acuoso de *Buddleja incana*, presentó un aspecto homogéneo sin presencia de grumos, olor herbal dulce característico de la planta y de un color café claro.

3.6.2 Parámetros Físicos-Químicos

CUADRO No. 13 Parámetros Físicos-Químicos de los Productos con Extracto Metanólico Total de *Buddleja incana* y Subextractos. Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Junio 2014.

Parámetro	EMT	SEH	SEAE	SEA	SEAH	Especificación
pH	5.63	5.24	5.63	5.54	5.48	5.5-5.9
Peso específico	0.943	0.924	0.935	0.952	0.937	No hay especificación
% Residuo seco	1.6	1.7	1.6.	1.5	1.7	No hay especificación
Extensibilidad o esparcimiento	4.2	4.4	4.2	4.3	4.2	Máximo 4.5mm
Tipo de emulsión	Aceite/agua	Aceite/agua	Aceite/agua	Aceite/agua	Aceite/agua	

EMT (extracto metanólico total), SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

Los resultados expresados en el Cuadro No. 13, indican que el pH de las cremas se encuentran dentro de los límites permitidos, según la USP 30. Siendo un pH beneficioso para nuestro objetivo, que es el uso en la piel, debido a que el pH de la piel esta entre 5.5-5.9. Cuando el pH se encuentra por encima o debajo del rango permitido, provoca en la piel disfunciones del sistema defensivo, dando lugar al desarrollo de acné, dermatitis seborreica o infecciones.

3.7 Análisis Microbiológico

CUADRO No. 14 Determinación Microbiológico de las Cremas Fotoprotectoras a base de *Buddleja incana*. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. Riobamba. ESPOCH. Junio 2014.

	CREMA EMT B	CREMA SEH B	CREMA SEAE B	CREMA SEA B	CREMA SEAH B	VALOR DE REFERENCIA	CRITERIO DE ACEPTACION
Aerobios Mesófilos	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g	< 10 UFC/g	Aceptable
Mohos y Levaduras	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g	< 5 UFC/g	< 10 UFC/g	Aceptable
Coliformes Totales	5 NMP/g	5 NMP/g	5 NMP/g	5 NMP/g	5 NMP/g	0-100 NMP/g	Aceptable
Coliformes fecales	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	< 10 NMP/g	Aceptable

EMT (extracto metanólico total), SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

NMP: Número más probable

En el Cuadro No. 14 se puede observar que existe un análisis microbiológico aceptable, encontrándose el producto en óptimas condiciones y seguro para su uso. Lo que nos indica que su elaboración se realizó con una asepsia adecuada.

3.8 Evaluación de la Actividad Fotoprotectora de las Cremas de *Buddleja incana*, en Fototipos III.

El análisis descriptivo se llevó a cabo en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, cuya población fueron personas con fototipo III. Se tomó una muestra de 30 personas voluntarias, cuya edad oscila entre 18-25 años y su peso promedio fue de 70±5 kg. Se realizó el test colorimétrico para determinar la ausencia de eritema. La experimentación tuvo una duración de 2 horas a una temperatura de 25±2 °C, IUV de 15.6, y a una altura de 2754 msnm según la agencia espacial civil ecuatoriana.

Los niveles de eritema inicia desde un nivel uno, ya que al encontrarnos en la zona cercana a la línea ecuatorial tenemos incidencia directa a la radiación ultravioleta, teniendo presentando ya una pigmentación en la piel, por tal motivo no podemos iniciar el test colorimétrico desde un nivel cero. En el nivel dos, tenemos la presencia de eritema leve con un cambio ligero en el tono de piel. En el nivel tres se pueden evidenciar un cambio notorio en la coloración de la piel, es decir la presencia de eritema moderado. Con el nivel cuatro es más evidente el eritema, presentando un color rojo, indicando la presencia de un eritema agresivo, el mismo que ha llegado a su nivel máximo en cuanto a eritemas causados por la radiación ultravioleta.

CUADRO No. 15 Nivel de Eritemas en las Superficies de Experimentación de los Voluntarios. Riobamba. Julio 2014.

Superficies Experimentales (1cm ²)	NIVEL DE ERITEMA (Por intensidad de color de piel)							
	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
BLANCO	2	2	2	3	3	3	4	4
Crema FPS 30	1	1	1	1	1	1	1	1
Crema SEAH	1	1	1	2	2	2	3	4
Crema SEH	1	1	2	2	2	3	3	4
Crema EMT	1	1	1	1	2	2	3	3
Crema SEAE	1	1	2	2	2	3	3	4
Crema SEA	1	1	1	2	2	3	3	4

SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), EMT (extracto metanólico total), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

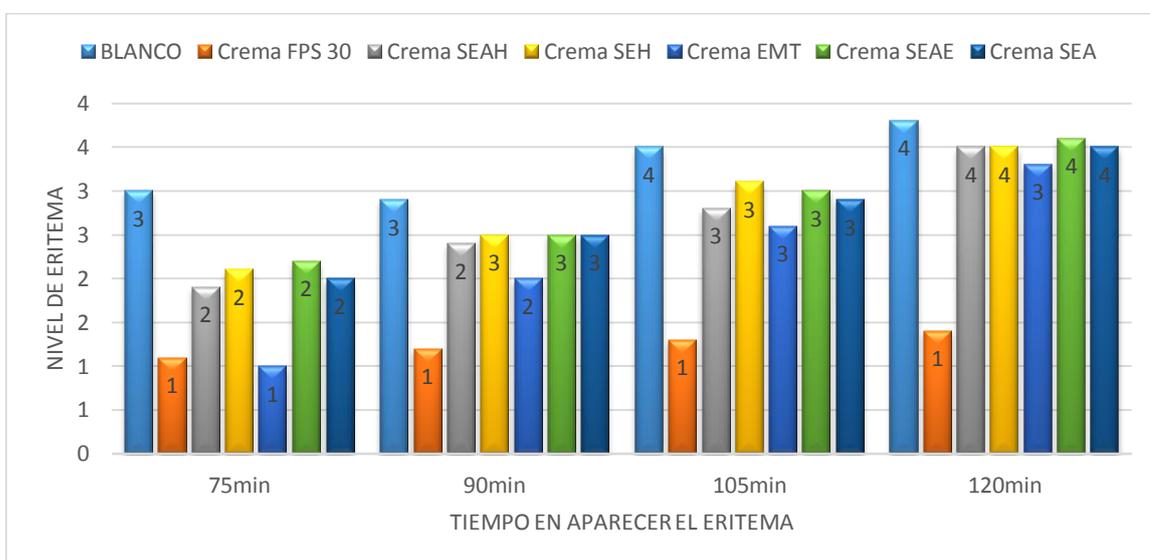
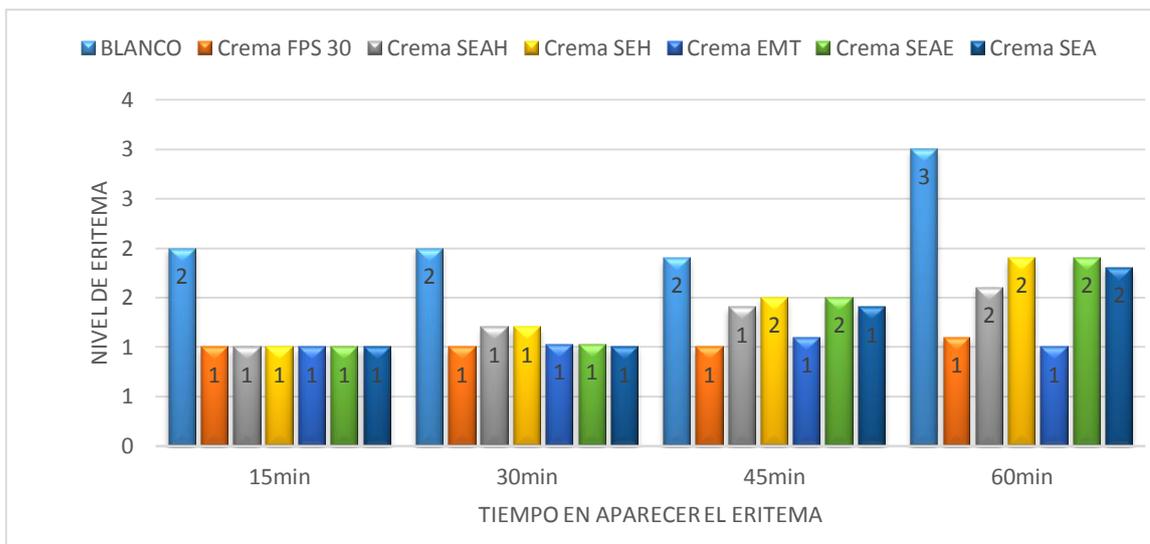


GRÁFICO No. 3 Niveles de Eritemas en las Superficies de Experimentación de los Productos Aplicados en Voluntarios hasta los 120 minutos. Riobamba. Julio 2014.

En el Cuadro No. 15 y en el Grafico No. 2, indica la presencia de los niveles de eritemas desde los 15 minutos de experimentación hasta los 120 minutos de exposición solar, observando en la superficie experimental del blanco un nivel de eritema 2 (eritema leve), mientras que en las demás superficies experimentales con las cremas con actividad fotoprotectora no hay aparición de eritema de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico; a los 30 minutos de exposición solar se observa que no hay cambios en la superficie experimental del blanco al igual que en las demás superficies experimentales; a los 45 minutos de experimentación se observa cambios a un nivel 2 (eritema leve) en las superficies experimentales del SEH y del SEAE, así como también en la superficie

experimental del blanco se mantiene el nivel de eritema 2, mientras que en las demás superficies experimentales no hay aparición de eritema de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico.

A los 60 minutos de experimentación, se pudo notar la aparición de eritema 3 (eritema moderado) en la superficie experimental del blanco, mientras que en las superficies experimentales con SEAH, SEH, SEAE y SEA, existe la presencia de eritema 2 (eritema leve) de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico, además en la superficie experimental con EMT no hay aparición de eritema.

A los 75 minutos de experimentación, se observa en la superficie experimental del EMT un nivel de eritema 2 (eritema leve), mientras que en las demás superficies experimentales se mantiene el nivel de eritema 2 (eritema leve), alcanzando así su límite con actividad fotoprotectora.

La presencia de los niveles de eritemas a los 90 minutos de exposición solar son variados, en la superficie experimental del blanco se mantiene un nivel de eritema 3 (eritema moderado), mientras que en las superficies experimentales con SEAH y con el EMT se mantiene un nivel de eritema 2 (eritema leve) llegando así a su límite con actividad fotoprotectora, además en las superficies experimentales con SEH, SEAE y con SEA, se observa la aparición de eritema 3 (eritema moderado) de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico.

A los 105 minutos de exposición solar, se observa en la superficie experimental del blanco un nivel de eritema 4 (eritema intenso), mientras que en las demás superficies experimentales se observa un nivel de eritema 3 (eritema moderado) de acuerdo a la escala determinada en el test colorimétrico. Y a los 120 minutos de experimentación se observa en la superficie experimental con EMT un nivel de eritema 3 (eritema moderado), mientras que en las demás superficies experimentales se observa un nivel de eritema 4 (eritema intenso), además en la superficie experimental con crema de FPS 30 no presento eritema durante toda la experimentación.

CUADRO No. 16 Tiempo al Aparecer el Eritema en las Superficies de Experimentación de los Voluntarios. Riobamba. Agosto 2014.

Superficies Experimentales (1cm²)	TIEMPO AL APARECER EL ERITEMA (minutos)
BLANCO	15
Crema FPS 30	120
Crema SEAH	60
Crema SEH	45
Crema EMT	75
Crema SEAE	45
Crema SEA	60

SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), EMT (extracto metanólico total), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

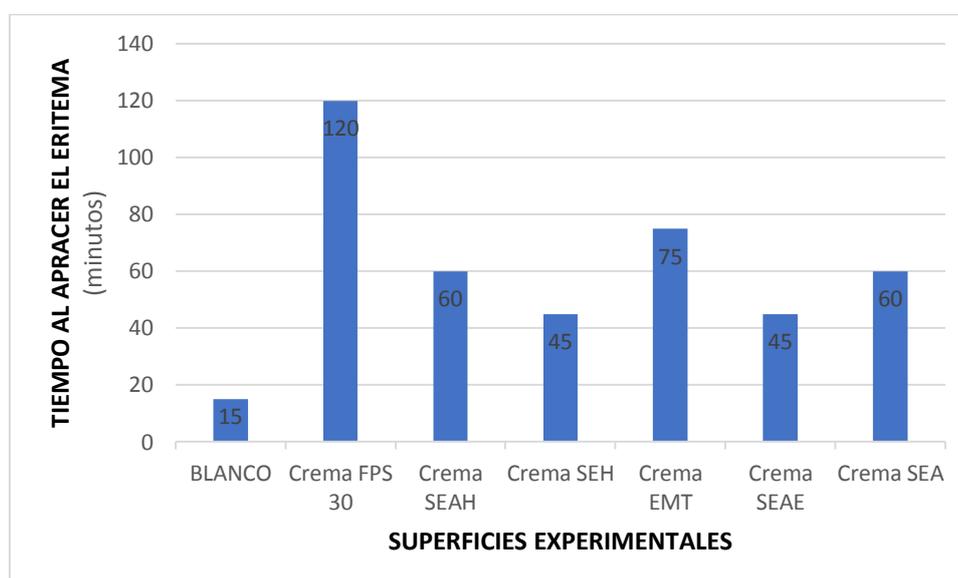


GRÁFICO No. 4 Tiempo al Aparecer el Eritema en las Superficies Experimentales de los Voluntarios. Riobamba. Agosto 2014.

En el Cuadro No. 16 y en la Grafica No. 3, nos muestra los tiempos de aparición de eritema obtenidos en las superficies experimentales, obteniéndose los siguientes resultados: en la superficie experimental del blanco la presencia del eritema se da a los 15 minutos de la experimentación, debido a la ausencia de sustancias con actividad fotoprotectora.

En las superficies experimentales con el patrón o crema comercial (crema FPS 30), señala que en los valores obtenidos no hay presencia de eritema en los 120 minutos de

experimentación en comparación con la superficie experimental del blanco, que el tiempo de aparición del eritema leve fue a los 15 minutos.

Con respecto a las superficies experimentales con SEH y con SEAE, presento eritema leve a los 45 minutos de experimentación, cuyo tiempo es superior a la de las superficies experimentales blanco, presentando actividad fotoprotectora, pero es inferior que en la superficie experimental patrón (crema FPS 30).

En cuanto a la superficie de experimentación con SEAH y con SEA, presento eritema leve a los 60 minutos de exposición solar, cuyo tiempo es superior a la superficie experimental con SEH y con SEA presentando actividad fotoprotectora, pero es inferior que la superficie de experimentación patrón (crema FPS 30).

Mientras que la superficie experimental con EMT, presento eritema leve a los 75 minutos de exposición solar, cuyo tiempo es superior a la de las superficies experimentales con SEAH y con SEA presentando actividad fotoprotectora, pero es inferior que la superficie experimental patrón (crema FPS 30).

CUADRO No. 17 Factor de Protección Solar para las Superficies Experimentales de los Productos Aplicados en Voluntarios. Riobamba. Agosto 2014.

Superficies Experimentales (1cm²)	Factor de Protección Solar (FPS)
Blanco	1
Crema FPS 30	30
Crema SEAH	3
Crema SEH	3
Crema EMT	5
Crema SEAE	3
Crema SEA	3

SEAH (subextracto acuoso hidrolizado), SEH (subextracto hexánico), EMT (extracto metanólico total), SEAE (subextracto acetato de etilo), SEA (subextracto acuoso).

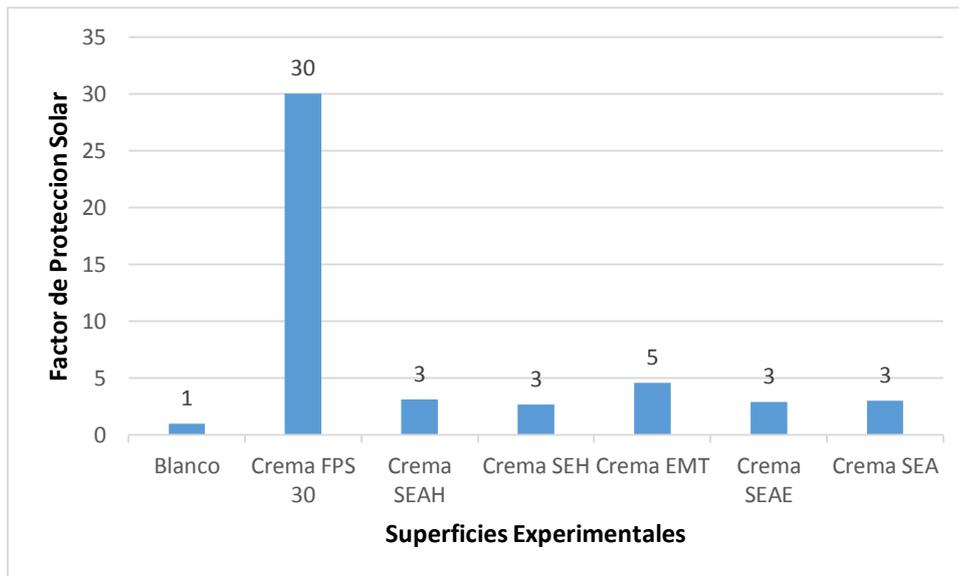


GRÁFICO No. 5 Factor de Protección Solar en las Superficies Experimentales de los Productos Aplicados en los Voluntarios. Riobamba. Agosto 2014.

Como indica el Cuadro No. 17 y en la Grafica No. 4, los niveles de FPS obtenidos de las superficies experimentales al final del tratamiento muestran los siguientes resultados:

En el blanco se obtuvo un FPS 1 debido a que no produce ninguna actividad de fotoprotección, frente a la radiación ultravioleta emanada por el sol. Con respecto a los productos con SEAH, SEH, SEAE y SEA se pudo obtener un FPS 3. En cuanto a la crema con EMT el FPS fue de 5, siendo esta la que presentó mayor actividad fotoprotectora, demostrando que existe actividad fotoprotectora por la presencia de los flavonoides en las plantas, los mismos que captan las radiaciones ultravioletas, impidiendo que causen efectos nocivos en tejidos internos de las plantas.

Estudios realizados con algunos aceites de hierbas volátiles hidroalcohólicas encontraron valores de FPS para aceites no volátiles entre 2 y 8; y para los aceites volátiles entre 1 y 7. Fuera de estos aceites, el valor del FPS de aceite de coco y aceite de oliva se encontró alrededor de 8; aceite de ricino, alrededor de 6; aceite de almendras, en torno a 5; aceite de mostaza y aceite chaulmoogra, alrededor de 3; y el aceite de sésamo, alrededor de 2; aceite de menta y aceite de tulsi se encontró alrededor de 7; aceite de lavanda, alrededor de 6; aceite de naranja, alrededor de 4; aceite de eucalipto, en torno a 3; aceite de árbol de té, alrededor de 2; y aceite de rosas, alrededor de 1. (CHANCHAL, 2010)

Siendo el aceite de oliva y aceite de coco los mejores valores de FPS, en cuanto al EMT presento un FPS de 5 siendo este valor un valor alto en comparación con los demás factores de protección solar estudiados; concluyendo que existe una considerable actividad fotoprotectora.

CONCLUSIONES

1. Los resultados del control de calidad del Extracto Metanólico Total (EMT), Subextracto Acuoso Hidrolizado (SEAH), Subextracto Hexánico (SEH), Subextracto Acetato de Etilo (SEAE) y el Subextracto Acuoso de los productos terminados (cremas) de *Buddleja incana*, cumplen con los parámetros establecidos por la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos. Además, los resultados del análisis microbiológico de los productos terminados son aceptables, por lo tanto las cremas fotoprotectoras obtenidas son seguros para su uso.
2. Mediante el análisis del tamizaje fitoquímico se determinó los compuestos químicos como: flavonoides, triterpenos, compuestos fenólicos, taninos, saponinas, azúcares reductores, cumarinas, alcaloides y antocianidinas que están presentes en la droga cruda de *Buddleja incana*.
3. La cuantificación de flavonoides se los realizó por espectrofotometría en cada uno de los extractos y subextractos obteniéndose los siguientes resultados: en el EMT se obtuvo 17.53 µg/mL (2.19%) de flavonoides totales, en el SEAH se obtuvo 6.69 µg/mL (0.84%), en el SEH se obtuvo 1.69 µg/mL (0.21%), en el SEAE se obtuvo 5.10 µg/mL (0.64%) y en SEA se obtuvo 1.65 µg/mL (0.21%). En lo que se refiere a las cremas fotoprotectoras se obtuvo los siguientes resultados: en la crema con el EMT se obtuvo 16.68 µg/mL (0.062%), en la crema con SEH se obtuvo 14.97 µg/mL (0.055%), en la crema con SEAE se obtuvo 15.19 µg/mL (0.056%), en la crema con SEA se obtuvo 15.42 µg/mL (0.057%) y en la crema con SEAH se obtuvo 15.54 µg/mL (0.057%).
4. La crema con EMT, crema con SEAH y crema con SEA de *Buddleja incana* producen efecto fotoprotector en personas con foto tipo de piel III; por lo tanto la utilización de *Buddleja incana* resultara beneficiosa en el empleo de fotoprotectores.
5. Concluida esta investigación y conforme a los resultados obtenidos, realizado el análisis estadístico descriptivo la actividad de tres cremas administradas por vía

tópica (2 mg/cm^2) tiene actividad fotoprotectora demostrando así su efectividad la cual varía en función del tiempo. Para las cremas fotoprotectoras con los SEAH y SEA su tiempo máximo de fotoprotección es de 60 minutos y para la crema fotoprotectora con el EMT el tiempo de fotoprotección es de 75 minutos evidenciando así mayor fotoprotección.

6. Por lo tanto se puede concluir que el EMT al presentar un FPS 5, tiene una considerable actividad fotoprotectora en comparación con el aceite de coco y resino que presentaron un FPS de 8, siendo este un hallazgo que será útil en la selección de aceite durante la formulación de los protectores solares.

RECOMENDACIONES

1. Realizar más investigaciones sobre los beneficios que presenta *Buddleja incana*, puesto que no existe suficientes referencias bibliográficas sobre esta planta.
2. Debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios que posee *Buddleja incana*, se recomienda realizar un aislamiento y elucidación de los compuestos.
3. Complementar el estudio de *Buddleja incana* en cuanto a fotoprotección, mediante la innovación en sus formas farmacéuticas.
4. Comprobar la actividad fotoprotectora de *Buddleja incana* en diferentes fototipos de piel.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, Álvaro. Carcinoma Escamocelular y Basocelular.

<http://cancerdepiel.net.co/dermatologia-oncologica/tipos-de-cancer-de-la-piel/carcinoma-basocelular.html>

2014-11-05

ÁVILA, Acevedo., et al. Photoprotective activity of Buddleja scordioides., México. Tlalnepantla. 2005, pp. 301-309

BADÍA, María., y MIRANDA, Enriqueta. Cosmetología Aplicada a la Estética Decorativa., Madrid-España. Paraninfo. 2001, pp. 58-183

BARCLAY, Britt. Los peligros del PABA.

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

2014-11-05

BONET, Ramón., y GARROTE, Antonieta. Mecanismo de acción de fotoprotectores.

http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet? f=13&idContenido=13151193&idCategoría=1

2010-05-01

BORJA, Cristina., y LASSO, Sergio. Plantas Nativas para Reforestación en el Ecuador., Quito-Ecuador. EDUNAT. 1990, p. 39

BUITRAGO, Hernán. Normas generales para experimentos en seres humanos.

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

2010-05-07

CABRERA, Sergio., et al. Radiación ultravioleta y Salud., Santiago de Chile.

Universitaria. 2005, pp. 88-89, 98-104

CAMACHO, F. Antiguos y Nuevos Aspectos de la Fotoprotección. 1a. ed. España. Universidad de Sevilla. 2001, pp. 441-447

CAMPS, Merce. Protección solar.

<http://www.farmaceuticonline.com/es/familia/534-proteccion-solar>

2014-11-05

CÁNCER DE PIEL. Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA).

<http://www.solcaquito.org.ec/index.php/en/el-cancer/tipos-de-cancer/cancer-de-piel>

2014-10-05

CARRASCO, Rodrigo. Parámetros Éticos que debe regir la Experimentación con Sujetos Humanos.

<http://investigacionetica.wikispaces.com/%C3%89tica+y+Moral,+Investigaci%C3%B3n+y+Experimentaci%C3%B3n+con+Humanos>

2014-11-05

CARTAYA, O., y REYNALDO, Inés. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (22): 2001 (Habana-Cuba), pp. 5-14

CHANCHAL, Kaur., y SWARNLATA Saraf. In vitro sun protection factor determination of herbal oils used in cosmetics., Estados Unidos. Rockville. 2010, pp. 22-25

EFFECTOS DE LA SOBREEXPOSICIÓN AL SOL EN LA SALUD. Environmental Protection Agency (EPA).

<http://www.epa.gov/sunwise/es/efectos.html>

2010-05-06

EL SOL, LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA Y USTED. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA).

http://www.epa.gov/sunwise/doc/sunuvu_spanish.pdf

2001-09-01

ESCAMILLA, Isacc., et al. Flavonoides y sus acciones antioxidantes., México-D.F. México. Artemisa. 2009, pp. 73-75

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA RADIACIÓN UV EN LA SUPERFICIE.

Instituto Meteorológico Nacional (IMN).

<http://www.imn.ac.cr/educacion/UV/UVB1.html>

2009-11-05

FITZPATRICK, Patrick. Dermatología en Medicina General. 7ª ed, Buenos Aires-Argentina. Médica Panamericana. 2008, pp. 2137-2138

FLAVONOIDES. Fundación CANNA.

<http://www.fundacion-canna.es/flavonoides>

2014-11-05

FOTOPROTECCIÓN: HISTORIA Y EVOLUCIÓN SOCIAL. Guía Básica y Consejos Prácticos sobre Protección Solar. Fotoprotector.

<http://www.fotoprotector.es/fotoproteccion-solar/>

2014-11-05

GARCÍA, Arpa., La piel., Madrid-España. Díaz de Santos. 2012, pp. 98-100

GOLAN, David. Principle of Pharmacology. 3ª ed, Philadelphia-Estados Unidos. Lippincot Willians and Wilkins. 2008, pp. 38-41

GÓMEZ PEÑAHERRERA, Manuel Eduardo. Evaluación de Alternativas Silvopastoriles Utilizando: Yagual (*Polylepis racemosa*), Quishuar (*Buddleja Incana*) y Colle (*Buddleja Coriacea*); en la Microcuenca del Rio Chimborazo. (Tesis) (Ing. Agr.). Escuela Politécnica del Ejército. Departamento de Ciencias de la Vida. Ciencias Agropecuarias. Santo Domingo de los Colorados- Ecuador. 2007, pp. 48-51

GONZÁLES, Coscojuela. Fotoprotectores.

http://www.lapiel.com/frontend/lapiel/noticia.php?id_noticia=561

2004-06-24

GONZÁLES, Salvador., et al. The latest skin photoprotection. 2^a ed, Melilla-New York. Clindermatol. 2008, p. 614

GUÍA DE PROTECCIÓN SOLAR. Asociación Española Contra el Cáncer (AECC).
http://www.portalfarma.com/Profesionales/campanaspf/categorias/Docments/20_guia_solar.pdf

2014-11-05

GUTIÉRREZ, Sofia. Microbiología de Cosméticos., Caracas-Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 1998, pp. 20-26

ÍNDICE ULTRAVIOLETA SOLAR MUNDIAL. Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Meteorológica Mundial (OMM), Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), Comisión Internacional de Protección contra la Radiación no Ionizante (NIRP).

<http://www.who.int/uv/publications/en/uvispa.pdf>

2003-01-05

JATIVA, Cumanda. Texto Básico de Fitoquímica., Riobamba-Ecuador. s.e. 2000, pp. 19-21

LOLAS, Fernando., et al. Investigación en Salud., Santiago de Chile. Universidad de Chile. 2006, pp. 329-336

LORENTI, Jessica. Radiación Ultravioleta en Ecuador: el Índice Mundial más alto. Agencia Espacial Civil Ecuatoriana (EXA).

<http://uv.exa.ec/infografia.htm>

2014-11-05

MARCANO, Deanna., y HASEGAWA, Masahisa. Fitoquímica orgánica., Caracas-Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 1991, pp. 451

MARÍN, Deiry., y POZO, Alfonso. Fototipos Cutáneos: Conceptos Generales., Barcelona-España. Universidad de Barcelona. 2005, pp. 5-35

MARTÍNEZ, A. Flavonoides., Medellín-Colombia. Universidad de Antioquia. 2005, pp. 4-20

MELANOMA. Conexión Cáncer.

<http://conexioncancer.es/tipos-de-cancer/informacion-general-sobre-el-melanoma/>
2014-11-05

MIRANDA, Migdalia., et al. Farmacognosia y Productos Naturales., Habana-Cuba. s.e. 2000, pp. 40-60

MORENO, María., y MORENO, Luis. Fotoprotección., Cali-Colombia. Universidad del Valle. 2010, pp. 31-39

OROZCO MONTERO, Verónica Paola. Actividad Fotoprotectora del Taxo (*Passiflora tripartita*) y Albahaca (*Ocimum basilicum*), en Fototipos III (Homo sapiens) para la Elaboración de un Protector Solar. (Tesis). (B.Q.F.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013, pp. 20-140

PALOMINO, Manuel. Dermatología Fisiología de la Piel. 2ª ed, Lima-Perú. Universidad de San Marcos. 2001, p. 2

PUIG, Susana. Fotoprotección solar.

<http://www.forumclinic.org/es/cu%C3%ADdate/salud/noticias/fotoprotecci%C3%B3n-solar>

2011-10-19

REYNEL, C. y MARCELO, J. Arboles de los Ecosistemas Forestales Andinos. Lima-Perú. Intercooperation Fundación Suiza. 2009, pp. 40-45

RIBERA, María., et al. El sol y la piel. 3ª ed, Madrid-España. Medifam. 2003, pp. 64-71

RIOJA, U. Radiación Solar y Agujero de Ozono.

<http://www.unirioja.es/ecophys/radiacion.htm>

2014-11-05

SÁNCHEZ, Virginia. Control de Calidad Productos Cosméticos. Laboratorio cosmética. Universidad de Valparaíso.

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

2008-04-11

SANTOS, Luz., et al. Food Chemical Toxicology., México. Seralini. s.e. 2012, pp. 1082-1090

TELEGUARIO SICAJÁN, Claudia Mariela. Caracterización y Cuantificación de Flavonoides. (Tesis). (Q.F.). Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias Químicas. San Carlos-Guatemala. 2008, p. 14

THOMPSON, Caroline. Efectos sobre la salud del dióxido de titanio presente en las cremas para la piel.

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

2014-11-05

VERSCHOOTEN, Laethem. Nuevas Estrategias de Fotoprotección. 2ª ed, Guanajuato-México. Photochem. 2006, p. 82

WAGNER, H. Análisis de Plantas y Drogas. 2ª ed, Berlín-Alemania. Springer Verlag. 1996, pp. 334-347

WILKINSON, J. B., y MOORE, R. J. Cosmetología de Harry., Madrid. Díaz de Santos. 1990, pp. 3-12, 249-281

ANEXOS

ANEXO No. 1 Materia Prima



FOTOGRAFÍA No. 4 Hojas de *Buddleja incana*

ANEXO No. 2 Control de Calidad de *Buddleja incana*



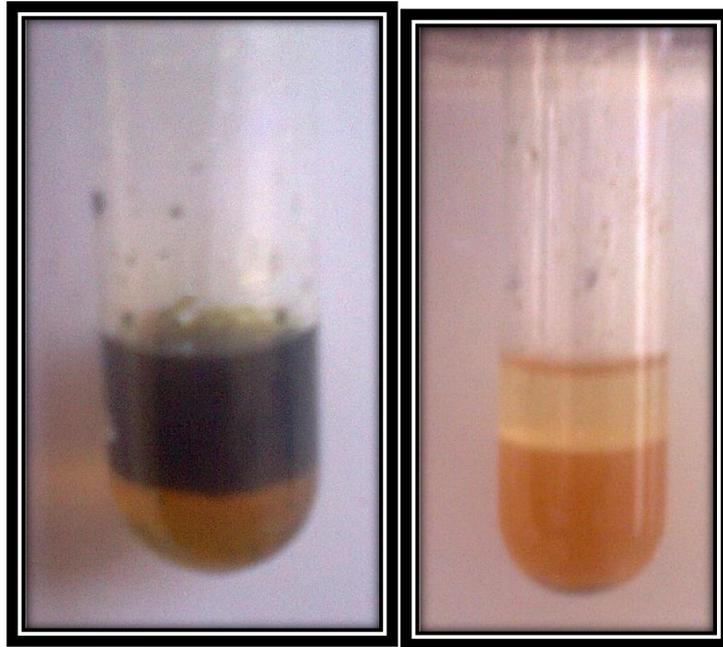
FOTOGRAFÍA No. 5 Humedad y Cenizas de *Buddleja incana*

ANEXO No. 3 Maceración de las hojas de *Buddleja incana*

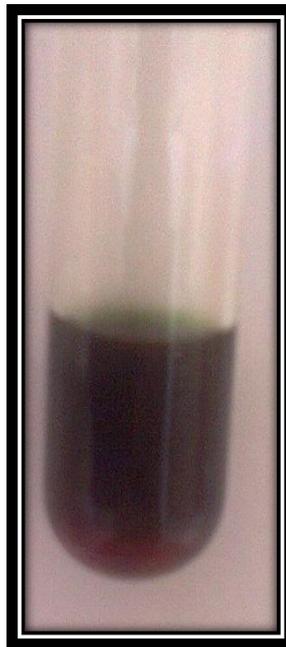


FOTOGRAFÍA No. 6 Obtención de los Extractos de *Buddleja incana*

ANEXO No. 4 Tamizaje Fitoquímico de *Buddleja incana*



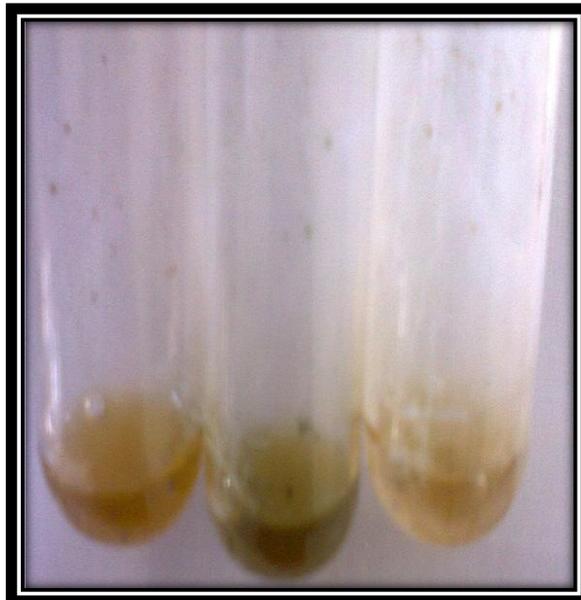
FOTOGRAFÍA No. 7 Ensayo de Shinoda (Izquierda extracto acuoso y a la derecha extracto metanólico)



FOTOGRAFÍA No. 8 Ensayo de Cloruro Férrico



FOTOGRAFÍA No. 9 Ensayo de Compuestos Grasos



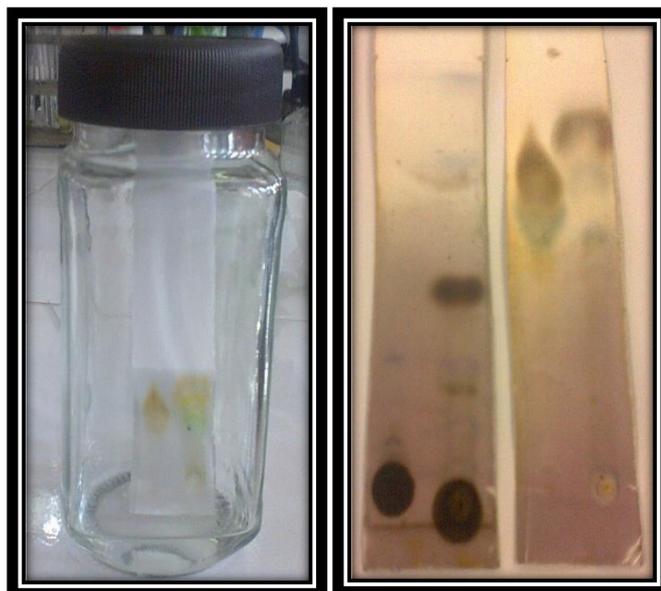
FOTOGRAFÍA No. 10 Ensayo de Dragendorff

ANEXO No. 5 Cuantificación de Flavonoides de las hojas secas de *Buddleja incana*.



FOTOGRAFÍA No. 11 Cuantificación de Flavonoides por el Método de Rutina

ANEXO No. 6 Cromatografía en Capa Fina (TLC).



FOTOGRAFÍA No. 12 TLC del Extracto Metanólico Total de *Buddleja incana*

ANEXO No. 7 Elaboración de las Cremas con el Extracto Metanólico Total y Subextractos de *Buddleja incana*.



FOTOGRAFÍA No. 13 Materiales y Utensilios para la Elaboración de las Cremas Fotoprotectoras.



FOTOGRAFÍA No. 14 Elaboración de las Cremas con el Extracto Metanólico Total y Subextractos de *Buddleja incana*.



FOTOGRAFÍA No. 15 Envasado de las Cremas Fotoprotectoras.

ANEXO No. 8 Control de Calidad de las Cremas con Extracto Metanólico Total y Subextractos de *Buddleja incana*.



FOTOGRAFÍA No. 16 Determinación del Residuo Seco de las Cremas Fotoprotectoras.

ANEXO No. 9 Análisis Microbiológico de las Cremas Fotoprotectoras.



FOTOGRAFÍA No. 17 Contaje de Hongos

ANEXO No. 10 Administración de las Cremas con Extracto Metanólico Total y Subextractos de *Buddleja incana* en Personas Voluntarias.



FOTOGRAFÍA No. 18 Exposición de Voluntaria a la Luz Solar.



FOTOGRAFÍA No. 19 Tira de Test Colorimétrico para Medición de Eritema por Color de Piel.



Aparición de eritema a los 15 minutos (desde la izquierda crema comercial, crema con SEAH, crema con SEH, crema con EMT, crema con SEAE, crema con SEA, blanco).



Aparición de eritema a los 15 minutos (desde la izquierda crema comercial, crema con SEAH, crema con SEH, crema con EMT, crema con SEAE, crema con SEA, blanco).



Aparición de eritema a los 45 minutos (desde la izquierda crema comercial, crema con SEAH, crema con SEH, crema con EMT, crema con SEAE, crema con SEA, blanco).



Aparición de eritema a los 60 minutos (desde la izquierda crema comercial, crema con SEAH, crema con SEH, crema con EMT, crema con SEAE, crema con SEA, blanco).



Aparición de eritema a los 75 minutos (desde la izquierda crema comercial, crema con SEAH, crema con SEH, crema con EMT, crema con SEAE, crema con SEA, blanco).



Aparición de eritema a los 90 minutos (desde la izquierda crema comercial, crema con SEAH, crema con SEH, crema con EMT, crema con SEAE, crema con SEA, blanco).



Aparición de eritema a los 105 minutos (desde la izquierda crema comercial, crema con SEAH, crema con SEH, crema con EMT, crema con SEAE, crema con SEA, blanco).



Aparición de eritema a los 120 minutos (desde la izquierda crema comercial, crema con SEAH, crema con SEH, crema con EMT, crema con SEAE, crema con SEA, blanco).

FOTOGRAFÍA No. 20 Actividad Fotoprotectora en Superficies Experimentales de Voluntarios con Fototipo III.

ANEXO No. 11 Hoja de Consentimiento Informado para Participación en Estudios de Investigación.

HOJA DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN.

TITULO: Estudio de la actividad fotoprotectora de la *Buddleja incana*, en fototipos de piel III para la elaboración de un protector solar.

INVESTIGADOR: Lida Verónica Labre Panimboza

LUGAR: Riobamba- Ecuador

En esta hoja de consentimiento puede contener palabras que no entienda. Por favor pregunte al investigador sobre cualquier información que usted no entienda o no este claro. Usted puede llevarse una copia del consentimiento, para que piense sobre este estudio con su familia o amigos y así tome una decisión.

I. INTRODUCCIÓN

Usted ha sido invitado a participar en un estudio de investigación, antes de que usted decida participar en este estudio lea cuidadosamente el consentimiento entregado. Haga todas las preguntas que no entienda, incluyendo los beneficios y riesgos.

II. PROPÓSITO DEL ESTUDIO

La razón por la cual se realiza esta investigación es para comprobar el efecto fotoprotector de *Buddleja incana*.

III. PARTICIPANTES DEL ESTUDIO

Este estudio es completamente voluntario. Y usted puede abandonar el estudio en cualquier momento, al no sentirse cómodo con el tratamiento que se le esté administrando. Se espera que participen 30 personas voluntarias.

IV. PROCEDIMIENTOS

Para este estudio se procederá inicialmente con la entrega de la hoja de consentimiento y la posterior aceptación por parte de la persona. A continuación se dictaran charlas sobre los riesgos a la exposición prolongada al sol y se explicara el modo como se aplicara el producto, además se le indicara que la duración de este estudio es de 120 minutos. Evaluando la aparición del eritema cada 15 minutos, el mismo que será evaluado por el investigador y al finalizar el estudio se hará un seguimiento para determinar que no haya efectos adversos por la exposición al sol. Su participación culmina con este paso.

V. RIESGOS O INCOMODIDADES

La exposición al sol puede causar los siguientes síntomas: mareos, insolación, fatiga, eritema. Solamente usted puede administrarse el producto en estudio. El mismo debe mantenerse fuera del alcance de los niños y de personas que no entiendan las instrucciones.

VI. BENEFICIOS

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

VII. COSTOS

El tratamiento será suministrado por el investigador y en caso de insolación los costos en su recuperación son totalmente gratuitos.

VIII. INCENTIVO PARA EL PARTICIPANTE

A usted no se le pagara nada por participar en este estudio.

IX. PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Si usted decide estar en este estudio, el investigador podrá conseguir información personal sobre usted, incluyendo los expedientes médicos de ahora o del pasado.

Los resultados de la investigación podrán ser publicados en revistas científicas o ser presentadas en reuniones médicas, pero su identidad en ningún momento será divulgada. La información sobre su salud será mantenida en confidencialidad. Usted puede cancelar esta autorización en cualquier momento enviando un aviso escrito al investigador en la siguiente dirección:

Lida Verónica Labre Panimboza, Carlos Guevara y José María Velasco Ibarra.
Riobamba-Ecuador, 032318241-0994037420.

X. PARTICIPACION Y RETIRO VOLUNTARIO

La participación de usted en este estudio es voluntaria, usted puede decidir no participar o retirarse el cualquier momento de la investigación.

XI. PREGUNTAS

Si usted tiene alguna pregunta o inquietud sobre este estudio o si piensa que ha sufrido alguna lesión asociada al tratamiento, usted puede contactar a:

Lida Verónica Labre Panimboza, Carlos Guevara y José María Velasco Ibarra.
Riobamba-Ecuador, 032318241-0994037420.

No firme este consentimiento si usted no ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y recibir contestaciones satisfactorias.

Si usted acepta participar en este estudio, recibirá una copia firmada por el investigador.

XII. CONSENTIMIENTO

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

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

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

Nombre del Participante

Firma del Participante Fecha

Firma del Investigador Principal Fecha

Firma del Padre Fecha

Firma de la Madre Fecha

Firma del representante legal autorizado Fecha