



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
“DR. ALFREDO NICOLÁS USUBILLAGA DEL HIERRO”



**FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR Y CONTENIDO DE COMPUESTOS
FENÓLICOS DE LOS EXTRACTOS DE *Azadirachta indica***
**Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al Título de
Licenciado en Bioanálisis**

www.bdigitalula.ve

Autores:

Antonio José Vivas Marquina

C.I: V- 26.439.184

Anggy Carolina Vergel Cuberos

C.I: V- 24.349.480

Tutora:

Prof. Alida Pérez

Mérida, Julio de 2024

DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a Dios, quien ha sido nuestra guía y fortaleza en todo momento. Gracias, Señor, por darnos la sabiduría, la paciencia y la luz necesarias para culminar este proceso. Todo lo hemos logrado con tu bendición y dirección.

A nuestros padres, José de la Cruz Vivas, Magaly Marquina y Yadira Vergel, quienes son nuestro pilar fundamental. A lo largo de sus vidas, nos han inculcado la cultura del trabajo y el estudio. Su dedicación y esfuerzo constante para asegurarnos una educación es un regalo que valoraremos siempre. Gracias por ser nuestro ejemplo y por apoyarnos incondicionalmente en cada paso.

A Yorman Gutiérrez, por su amor, paciencia y por estar siempre a mi lado, brindándome su apoyo y ánimo en los momentos más difíciles.

A Consuelo, Paula y Paule, Su cariño incondicional, su alegría contagiosa y su apoyo han sido mi refugio en los días más oscuros y mi mayor motivación para seguir adelante. Las llevo en mi corazón en cada logro, porque este también es suyo.

A Jhon, Andreina y Hana, gracias por creer en mí, por motivarme y por estar siempre presentes. Sin ustedes, este logro no habría sido posible.

Anggy Vergel y Antonio Vivas

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecemos a Dios, por darnos la fortaleza, sabiduría y paciencia necesarias para concluir esta etapa tan importante de nuestras vidas. Su guía y protección nos acompañaron en cada paso del camino.

A nuestra tutora, la profesora Alida Pérez, por su invaluable orientación, dedicación y paciencia durante todo este proceso. Su compromiso con nuestro crecimiento académico y profesional ha sido fundamental para alcanzar este objetivo. Extendemos nuestro sincero agradecimiento a las profesoras Ysbelia Obregón y Rosa Aparicio, miembros del jurado evaluador, por su valiosa participación y aportes para la culminación de esta tesis.

A todos los profesores que, con su entrega y pasión por la enseñanza, han dejado una huella imborrable en nuestro camino. Cada uno de ustedes ha contribuido a forjar en nosotros los conocimientos y valores que nos llevan hoy a culminar esta etapa. Sus enseñanzas van más allá de lo académico y estarán siempre presentes en nuestras vidas.

A la ilustre Universidad de los Andes, por brindarnos las herramientas académicas y el espacio para desarrollarnos como profesionales. Este logro es también fruto de la excelencia educativa que hemos recibido a lo largo de nuestra formación.

A nuestros amigos y compañeros, que nos acompañaron en este camino, compartiendo momentos de esfuerzo y sacrificio, pero también de alegría y apoyo mutuo. Gracias por estar ahí en cada momento.

Anggy Vergel y Antonio Vivas

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE CUADROS	X
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XII
ÍNDICE DE IMÁGENES	XIII
RESUMEN	XIV
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación e Importancia de la Investigación	4
Objetivos de la Investigación	5
<i>Objetivo General</i>	5
<i>Objetivos Específicos</i>	5
Alcances y Limitaciones de la Investigación	6
<i>Alcance de la Investigación</i>	6
<i>Limitaciones de la Investigación</i>	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	7
Trabajos Previos	7
Antecedentes Históricos	9
Bases Teóricas	10
Productos naturales	10
Familia Meliaceae	13
Género <i>Azadirachta</i>	14
Especie <i>Azadirachta indica</i>	15

Cont.

	Pág.
Extractos vegetales	19
Análisis fitoquímico preliminar	20
Compuestos fenólicos	23
Radiación solar	29
Piel	30
Protectores solares	32
Actividad Fotoprotectora	34
Definición Operacional de Términos	37
Operacionalización de las Variables	39
Hipótesis	41
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	42
Tipo de Investigación	42
Diseño de Investigación	43
Población y Muestra	43
<i>Unidad de Investigación</i>	43
<i>Selección del Tamaño de la Muestra.</i>	43
Sistema de Variables	44
Instrumentos de Recolección de Datos	44
Procedimiento de la Investigación	44
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	51
Resultados	51
Ensayo Fitoquímico Preliminar	52
Contenido de Fenoles Totales	57
Contenido de Flavonoides	59
Factor de Protección Solar	61
Discusión	64

Cont.

Pág.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

67

Conclusiones

67

Recomendaciones

68

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFIAS

69

www.bdigital.ula.ve

TABLA DE FIGURAS

N°		Pág.
1	Estructura química del isopreno	12
2	Núcleo del alcaloide quinolizidínico	12
3	Estructura química del fenol	13
4	Compuestos aislados de <i>A. indica</i>	17
5	Reacción de precipitación con reactivo de Mayer	21
6	Reacción de Dragendorff para alcaloides	21
7	Reacción de Shinoda para flavonoides	21
8	Reacción de Liebermann-Burchard para terpenoides y esteroides	22
9	Reacción de tricloruro férrico para fenoles	22
10	Estructura general del núcleo fenilpropanoides	24
11	Estructura química del núcleo de la Cumarina	25
12	Estructura química del ácido salicílico	25
13	Núcleos estructurales de los flavonoides	26
14	Estructura química de los monolignoles. Componentes de las ligninas	27
15	Tanino hidrolizable y condensado	28
16	Reporte ilustrado de los resultados de alcaloides en los extractos de <i>A. indica</i>	54
17	Reporte ilustrado de los resultados de flavonoides en los extractos de <i>A. indica</i>	54

Cont.

N°		Pág.
18	Reporte ilustrado de los resultados de triterpenos y esteroides en los extractos de <i>A. indica</i>	55
19	Reporte ilustrado de los resultados de fenoles en los extractos de etanol de <i>A. indica</i>	55
20	Reporte ilustrado de los resultados de quinonas en los extractos de <i>A. indica</i>	56
21	Reporte ilustrado de los resultados de taninos en los extractos de etanol de <i>A. indica</i>	56
22	Reporte ilustrado de los resultados de glicósidos en los extractos de etanol de <i>A. indica</i>	56

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE CUADROS

N°		Pág.
1	Descripción taxonómica de la familia Meliaceae	14
2	Usos medicinales de la <i>A. indica</i>	18
3	Descripciones del tipo de piel de Fitzpatrick del I a VI.	31
4	Filtros UV orgánicos e inorgánicos y fotoprotectores naturales	34
5	Categoría de protección solar (COLIPA)	36
6	Categoría de protección solar (FDA)	36
7	Operacionalización de la variable dependiente: Actividad fotoprotectora del extracto de <i>A. indica</i>	39
8	Operacionalización de la variable independiente: Cuantificación de compuestos fenólicos de los extractos de <i>A. indica</i>	40

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

N°		Pág.
1	Determinación del rendimiento porcentual a partir del peso de las partes vegetales y sus extractos	51
2	Resultados del ensayo fitoquímico de los extractos de tallos, hojas, flores y frutos <i>A. indica</i>	53
3	Resultados obtenidos del contenido total de compuestos fenólicos de <i>A. indica</i>	57
4	Datos para la curva de calibración con ácido gálico	58
5	Contenido total de flavonoides de los extractos de <i>A. indica</i>	59
6	Datos para curva de calibración de la quercetina	60
7	Resultados del FPS del extracto de etanol de hojas de <i>A. indica</i>	61
8	Resultados del FPS del extracto de etanol de frutos de <i>A. indica</i>	62
9	Resultados del FPS del extracto de etanol de tallos de <i>A. indica</i>	62
10	Resultados del FPS del extracto de etanol de flores de <i>A. indica</i>	63

TABLA DE GRÁFICOS

N°		Pág.
1	Curva de calibración de ácido gálico	58
2	Curva de calibración de la quercetina	60

www.bdigital.ula.ve

TABLA DE IMÁGENES

N°		Pág.
1	Partes de la especie <i>Azadirachta indica</i> : Hojas, tallos, frutos y flores	16
2	Capas de la piel	31

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS



LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Bioactividad de fitoquímicos

FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR Y CONTENIDO DE COMPUESTOS
FENÓLICOS DE LOS EXTRACTOS DE *Azadirachta indica*
TRABAJO DE GRADO

Autores:

Vivas Marquina Antonio José

C.I: V-26.439.184

Vergel Cuberos Anggy Carolina

C.I: V-24.349.480

Tutor:

Prof. Alida Pérez

RESUMEN

La exposición solar prolongada y sin protección puede provocar efectos negativos como envejecimiento prematuro, manchas y cáncer en la piel. Para prevenir estos efectos dañinos, se aconseja el uso de protectores solares tópicos derivados de fuentes naturales. El árbol de neem (*Azadirachta indica*), nativo de la India, se utiliza tradicionalmente en medicina, cosmética debido a sus múltiples beneficios. El objetivo fue confirmar la relación entre la actividad fotoprotectora y el contenido de compuestos fenólicos en los extractos de esta especie. Mediante la técnica de reflujo, se obtuvieron los extractos de hexano y etanol de distintas partes del árbol, los cuales se analizaron para identificar metabolitos secundarios y medir la cantidad de fenoles y flavonoides utilizando el método de Folin-Ciocalteu y el tricloruro de aluminio. Los resultados fitoquímicos revelaron fenoles, triterpenos, esteroides, flavonoides, taninos, quinonas, alcaloides y glucósidos. Los extractos de etanol de flores mostraron la mayor concentración de fenoles ($62,570 \pm 0,191 \mu\text{g AG/mg muestra}$), seguidos por hojas ($36,254 \pm 0,506 \mu\text{g AG/mg muestra}$) y tallos ($35,242 \pm 0,467 \mu\text{g AG/mg muestra}$). Los flavonoides, que también contribuyen a la protección UV, están presentes en una cantidad notable en las hojas ($36,227 \pm 0,183 \text{ QE/mg muestra}$) y en las flores ($22,608 \pm 1,771 \text{ QE/mg muestra}$), aunque menos en los tallos ($0,270 \pm 0,833 \text{ QE/mg muestra}$). Por otro lado, los estudios *in vitro* revelaron factores de protección solar en extractos de los tallos (10,088), flores (8,678), hojas (6,439) y frutos (2,447), destacando el potencial de *A. indica* como alternativa natural para protectores solares.

Palabras clave: *Azadirachta indica*, factor de protección solar, compuestos fenólicos

INTRODUCCIÓN

El árbol de neem (*Azadirachta indica*), es una especie perenne nativa de la India que forma parte de la familia Meliaceae. Se trata de una planta de rápido crecimiento que puede alcanzar los 20 metros de altura en zonas tropicales. También se le conoce como nimbo, lila india o margosa. Sus diferentes partes (tallos, hojas, frutos, semillas y flores) contienen una gran variedad de metabolitos secundarios que tienen diversas aplicaciones en la medicina tradicional, la industria de jabones, el tratamiento de enfermedades de la piel, la producción de biogás, el control de insectos, la elaboración de cosméticos, la gastronomía, el repelente de plagas y otros usos (Vega, 2014). Este árbol maravilloso, como se le llama en algunas regiones, tiene beneficios para la salud cardiovascular, el estrés, las úlceras, la higiene bucal y la protección de la piel. Este último aspecto ha motivado nuevas investigaciones que demuestran que el neem ayuda a prevenir los daños causados por los rayos solares (Reyes y cols, 2017).

En ese sentido, la piel es el órgano más grande del cuerpo y necesita cuidados especiales para evitar daños causados por el sol. Según Prudencio y Bustamante (2018), la exposición solar prolongada y sin protección puede provocar efectos negativos como envejecimiento, manchas y cáncer. Para prevenir estos riesgos, es necesario usar un protector solar adecuado que tenga un factor de protección solar (FPS) alto y que cubra tanto la radiación UVB, que produce quemaduras, como la UVA, que penetra en las capas profundas de la piel y puede generar problemas más graves. Un protector solar de amplio espectro es el más recomendable para proteger la salud y la belleza de la piel (Fajre, Barría y Muñoz, 2002).

Además de los ingredientes activos convencionales, se están explorando otras alternativas naturales para reducir el daño provocado por las radiaciones solares, las plantas son fuente de una gran diversidad de moléculas útiles en la fotoprotección, entre las más comunes se encuentran

los terpenos, las flavonas, los carotenoides, las catequinas y las antocianinas. Algunos de estos metabolitos pueden actuar como filtros solares y la mayoría tienen propiedades antioxidantes, mitigando varios de los efectos biológicos adversos de la radiación ultravioleta que generan fotoenvejecimiento celular (Stevanato, Bertelle y Fabris, 2014).

Este trabajo de investigación se desarrolló siguiendo las normas APA y se estructuró en cinco capítulos. El capítulo I, denominado El Problema, incluyó el Planteamiento del Problema, la Justificación e Importancia de la Investigación, los Objetivos de la Investigación y los Alcances y Limitaciones de la Investigación. El capítulo II, titulado Marco Teórico abarcó los Trabajos Previos, los Antecedentes Históricos, las Bases Teóricas, la Definición Operacional de Términos, la Operacionalización de las Variables y la Hipótesis. El capítulo III, denominado Marco Metodológico detalló el Tipo de Investigación, el Diseño de Investigación, la Población y Muestra, el Sistema de Variables, el Instrumento de Recolección de Datos, el Procedimiento o Metodología de la Investigación y el Diseño de Análisis. El capítulo IV, se titula Resultados y Discusión y el capítulo V, Conclusiones y Recomendaciones, por ultimo las Referencias Bibliohemerográficas.

El objetivo de esta investigación fue confirmar la relación entre la actividad fotoprotectora y el contenido de compuestos fenólicos en los extractos de *Azadirachta indica*.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La radiación ultravioleta (UV) es uno de los principales factores ambientales que afectan la salud y el aspecto de la piel. Cuando la piel recibe una dosis excesiva de esta radiación, se produce un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS), que son moléculas inestables que dañan las estructuras celulares. Este fenómeno se conoce como estrés oxidativo y tiene múltiples consecuencias negativas, entre ellas, se encuentra el fotoenvejecimiento, qué es el envejecimiento prematuro de la piel causado por la exposición solar (Zorrilla, 2002).

El fotoenvejecimiento se manifiesta por una serie de cambios en la apariencia y la función de la piel, tales como: engrosamiento y sequedad de la piel, aparición de arrugas y poros dilatados debido a la degradación de la elastina, la formación de manchas o zonas hiperpigmentadas por una alteración en los melanocitos, pérdida de firmeza y elasticidad por una disminución del colágeno y la queratinización anormal de los queratinocitos, que confiere un aspecto rugoso y áspero a la piel (Zorrilla, 2002). Todos estos cambios favorecen el desarrollo de cáncer de piel, una enfermedad grave que puede poner en riesgo la vida (Vera, 2022).

Después de describir la situación actual del problema; los autores de la investigación plantean la siguiente pregunta: ¿Cuál es la relación entre el contenido de los compuestos fenólicos de los extractos de *A. indica* y la actividad fotoprotectora?

Justificación e Importancia de la Investigación

Los protectores solares para la piel son productos cada vez más demandados por el público, debido a la creciente conciencia sobre los efectos nocivos de la radiación solar. Sin embargo, muchos contienen ingredientes químicos que pueden causar daños a la salud humana y al medio ambiente. Por esta razón, se hace necesario investigar y desarrollar nuevas alternativas para la protección contra la radiación UV de origen natural, que sean eficaces, seguras y ecológicas (Mansuri y cols., 2021).

Diferentes estudios han mostrado que los protectores solares que contienen componentes naturales tienen efectos protectores sobre la piel no solo por la absorción directa de radiaciones UV sino porque también pueden regular la expresión genética inducida por ellas, los efectos antioxidantes, la modulación de las señales que producen estrés y supresión de las respuestas inflamatorias en las células o en el tejido (Sanz, Pérez y Cortijo, 2021), esto es debido a que las plantas producen ciertos metabolitos que las protegen cuando están expuestas a la radiación solar y que pudieran ser usados para proteger la piel humana (Zhang y Björn, 2009).

En relación a lo anterior, se planteó en esta investigación determinar la actividad fotoprotectora *in vitro* de los extractos de las hojas, tallos, flores y frutos de *Azadirachta indica*, para determinar su potencial como ingrediente activo en formulaciones cosméticas naturales.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre la actividad fotoprotectora y el contenido de los compuestos fenólicos en los extractos de *Azadirachta indica*.

Objetivos Específicos

- Obtener los extractos de hexano y etanol de los tallos, hojas, flores y frutos de la especie *A. indica*, mediante el método de reflujo.
- Establecer mediante pruebas cualitativas de coloración y/o precipitación la presencia ó ausencia de metabolitos secundarios en los extractos de la especie *A. indica* obtenidos previamente.
- Cuantificar los compuestos fenólicos y flavonoides mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu y tricloruro de aluminio.
- Determinar el factor de protección solar *in vitro* de los extractos de la especie *A. indica*, mediante el método espectrofotométrico de Mansur.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Los alcances están relacionados a la profundidad del estudio, es decir, al grado de elaboración. A su vez, tienen correspondencia con el logro de la investigación (Hurtado, 2008). Al respecto, el alcance de este estudio fue confirmar la actividad fotoprotectora *in vitro* y el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de los extractos de diferentes partes de la especie *Azadirachta indica*, con el fin de contribuir con el conocimiento fitoquímico y biológico de esta planta, siendo esta investigación el primer reporte del potencial fotoprotector de *Azadirachta indica*.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones de una investigación según Hernández-Sampieri, Fernández y Baptista están relacionadas con varios aspectos: teóricos, técnicos y económicos. En el desarrollo de la presente investigación, se presentaron algunas limitaciones, entre las cuales se mencionan: los costos elevados de los materiales y reactivos necesarios para el proceso experimental, los problemas eléctricos o de conexión a internet que impidieron el acceso a fuentes de información, la recolección de la planta, debido a la escasez. Sin embargo, con estrategias fueron solventadas para mantener la viabilidad de la investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Widiyana e Illian (2022a), en el trabajo titulado Análisis fitoquímico y contenido total de flavonoides en extracto de etanol y acetato de etilo de hojas de neem (*Azadirachta indica juss*). Utilizando espectrofotométrica UV-VIS, evaluaron la composición química preliminar y determinaron el contenido total de flavonoides de los extractos de hojas del Neem obtenidos por el método de maceración. El análisis fitoquímico reveló la presencia de flavonoides, esteroides, triterpenos, taninos y saponinas. El contenido de flavonoides fue expresado en mg equivalentes a quercetina por gramo de extracto (mg EQ/g Ext) y dio como resultado que el extracto de etanol contenía 118,57 mg EQ/g Ext y el de acetato de etilo 74,17 mg EQ/g Ext. Los autores concluyeron que las hojas del neem contienen metabolitos secundarios que pueden ser usados por sus propiedades antioxidantes. Este trabajo se relaciona con la presente investigación ya que cuantificaron los flavonoides y determinaron la composición química de las hojas de neem, la cual forma parte del presente estudio, además coincide en los métodos cualitativos y espectrofotométricos utilizados.

Buitrago, Rojas y Torres (2022), realizaron una investigación sobre la actividad antioxidante y factor de protección solar de dos especies de *Vismia* en los Andes Venezolanos. Dicho estudio evaluó los extractos metanólicos de *Vismia macrophylla* (VM) y *Vismia baccifera* (VB), la composición química se determinó de manera cualitativa a través de pruebas químicas de

coloración, la actividad antioxidante, se estableció por el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), la cuantificación de fenoles totales fue realizada por el método de Folin-Ciocalteu y el factor de protección solar (FPS) de los extractos se evaluó *in vitro* mediante el método de Mansur. Los resultados del análisis fitoquímico indicaron la presencia de antraquinonas, glucósidos, fenoles, taninos y quinonas. El ensayo de actividad antioxidante indicó una concentración inhibitoria media (CI₅₀) de 5,90 µg/mL (VB) y 5,65 µg/mL (VM). Por otra parte, el contenido de fenoles expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramos de extracto (mg EAG/g Ext) fue de 375,32 mg EAG/g Ext (VB) y 381,23 mg EAG/g Ext (VM). Con respecto al contenido de flavonoides, fue expresado en miligramos equivalentes de quercetina por gramo de extracto (mg EQ/g Ext), siendo VB la que presentó una mayor cantidad de flavonoides (267,07 mg EQ/g Ext). En las pruebas *in vitro* para determinar el FPS, ambos extractos mostraron un FPS alto, siendo de 25,3 para VB y 20,7 para VM. Estos descubrimientos revelan que los extractos de *Vismia* tienen un potencial notable para su uso en protección solar y se relacionan con la presente investigación ya que utilizan los mismos métodos para determinar el contenido de fenoles, flavonoides y FPS en extractos de las especies.

Por otra parte, Heya y cols (2022), en su trabajo de investigación titulado Actividad fotoprotectora *in vitro* de extractos vegetales. El objetivo fue determinar el factor de protección solar (FPS) de los extractos metanólicos de *Opuntia megacantha*, *Cistus incatus*, *Opuntia imbricata*, *Equisetum hyemale* y el extracto clorofórmico de *Euphorbia tirucalli*. Los extractos se obtuvieron mediante el método de extracción con Soxhlet y se determinó el FPS mediante el método *in vitro* de Mansur y el contenido de fenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados mostraron que los extractos de las especies estudiadas tienen un potencial fotoprotector, ya que presentaron valores de FPS de 11,79, 11,22, 9,83 y 6,4 para *O. megacantha*, *C. incatus*, *E. hyemale* y *E. tirucalli* respectivamente; estos valores se

asocian a la presencia de flavonoides y/o taninos en su composición fitoquímica. Además, se observó una relación entre el FPS y el contenido de polifenoles totales, siendo los valores 108,52, 146,28, 34,68, 53,4 g EAG/mg para las especies mencionadas respectivamente. El estudio concluyó que todos los extractos empleados mostraron un potencial fotoprotector frente a la radiación ultravioleta-B, lo cual se relaciona con su contenido en polifenoles totales; por otro lado, los extractos podrían representar una alternativa prometedora como fotoprotectores de origen vegetal que, además, poseen actividad antioxidante capaz de revertir los efectos degenerativos de los radicales libres generados por la radiación solar. Este trabajo se relaciona con la presente investigación por la coincidencia en la metodología cualitativa y espectrofotométrica utilizada para la determinación de la composición química preliminar, FPS y cuantificación fenoles en extractos de plantas.

www.bdigitalula.ve

Antecedentes Históricos

Desde la antigüedad, diferentes culturas han utilizado ingredientes de origen vegetal, animal o mineral para estos fines, así como para curar heridas o protegerse del sol (Aboelsoud, 2010). Por ejemplo, los egipcios, que veneraban al sol, también conocían sus efectos dañinos y usaban diversas sustancias como agua, excrementos de animales, barro, arcilla y plantas para mitigarlos. El color de la piel también influía en el tipo de cosméticos que usaban, siendo el blanco el más cuidadoso. El primer producto solar comercial se remonta a la segunda guerra mundial y fue creado por un aviador y Farmacéutico estadounidense a partir de un aceite derivado del petróleo con baja protección y parafina. Se llamaba Red Vet Pet y era muy costoso (Ma y Yoo, 2021). Más tarde, en 1962, se introdujo el factor de protección solar (FPS) y se revolucionó el mercado con nuevas fórmulas, presentaciones y etiquetados. Desde entonces, la oferta de

productos solares ha ido creciendo y diversificándose, al igual que la de otros productos cosméticos (Guerra, 2018).

La planta neem o *Azadirachta indica* tiene una larga historia de uso medicinal y agrícola en la India y otros países asiáticos. De Jussieu, un botánico francés, la clasificó por primera vez en 1830, basándose en el nombre Sánscrito Nimba. También se la conoce como *Antelea Azadirachta* o *Melia indica* (Pijoan, 2004). Sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarias y antiinflamatorias la han convertido en una planta muy valorada para tratar diversas afecciones humanas y animales, así como para proteger los cultivos de las plagas (Wylie y Merrell, 2022). El neem es una planta versátil que se adapta a diversos ambientes y usos, desde la industria hasta la ornamentación, pasando por la medicina. Sin embargo, su conocimiento y aprovechamiento aún es limitado en algunas partes del mundo (Pijoan, 2004).

www.bdigitalula.ve

Bases Teóricas

Productos Naturales

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que ocurren en las células de los seres vivos para mantener su estructura y función. El metabolismo se clasifica en dos clases: el primario, que es universal y se encarga de la formación y destrucción de moléculas orgánicas imprescindibles, y el secundario, que es específico de las plantas y les permite producir y almacenar una gran diversidad de compuestos químicos con distintas propiedades (Bruneton, 2001). Los metabolitos secundarios, también llamados fitoquímicos, productos naturales o constituyentes vegetales, son los responsables de las propiedades farmacológicas de las plantas a las que pertenecen. Estos productos naturales se generan en

diferentes grupos de plantas y pueden servir como indicadores para identificar y clasificar las especies vegetales (Kabera y cols., 2014).

La clasificación de los productos naturales se basa en la biosíntesis, estructura química, la composición o su solubilidad en varios disolventes, a continuación, se mencionan algunas de ellas (Kabera y cols., 2014):

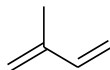
1. La biosíntesis de metabolitos secundarios involucra múltiples genes, enzimas y rutas, lo cual representa un costo energético para las células vegetales, resaltando la importancia funcional de estos compuestos para las plantas. Las rutas más comunes tomadas para la biosíntesis se realizan a través de (Kabera y cols, 2014):

- Ruta de las pentosas: Para los glucósidos, polisacáridos.
- Ruta del ácido shikímico: Para fenoles, taninos, alcaloides aromáticos.
- Ruta de acetato-malonato: Para fenoles y alcaloides.
- Ruta del ácido mevalónico: Para terpenos, esteroides y alcaloides.

2. La estructura química y clasificación de los metabolitos secundarios consta de tres grupos principales: Terpenos, alcaloides y compuestos fenólicos. Forman parte de ellos glucósidos, taninos y saponinas según su estructura específica (Kabera y cols., 2014). A continuación, se describirán brevemente algunas de estas sustancias:

Terpenos: Son una clase diversa de metabolitos secundarios que se caracterizan por tener una estructura basada en unidades de isopreno **(1)** (figura 1). Algunos ejemplos de terpenos son los esteroides, los carotenoides y el ácido giberélico y la vitamina A, que tienen diferentes funciones biológicas en las plantas. Los terpenos se forman a partir de acetato por la vía del ácido mevalónico, que une las unidades de isopreno de forma secuencia (Kabera y cols., 2014). La cantidad de unidades de isopreno que contiene un terpeno determina su categoría (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y politerpenos). Poseen una gran

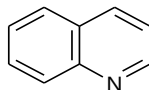
diversidad estructural y funcional, y muchos de ellos presentan propiedades biológicas de interés, como aromáticas, antioxidantes, antiinflamatorias, antitumorales y antiparasitarias (Ávalos y Pérez, 2009).



Isopreno (1)

Figura 1. Estructura química del isopreno
Tomado y Modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

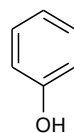
Alcaloides: Presentan el grupo de metabolitos secundarios que contienen átomos de nitrógeno básicos. Entre los alcaloides también se incluyen algunos compuestos relacionados con propiedades neutras y débilmente ácidas. Los alcaloides son producidos por una gran variedad de organismos, como bacterias, hongos y animales, pero principalmente por plantas como metabolitos secundarios. La mayoría de ellos son tóxicos para otros organismos y pueden extraerse mediante ácido-base. Ellos tienen diversos efectos farmacológicos y tienen una larga historia en la medicación (Kabera y cols., 2014). En comparación con la mayoría de las otras clases de metabolitos secundarios, los alcaloides se caracterizan por una gran diversidad estructural y se pueden dividir en los siguientes grupos: Alcaloides isoquinolólicos, alcaloides quinolizidínicos (2) (figura 2), alcaloides pirrolizidínicos, alcaloides tropánicos y alcaloides indólicos. Se biosintetizan a partir de aminoácidos (Ávalos y Pérez, 2009).



Núcleo del Alcaloide quinolizidínico (2)

Figura 2. Núcleo del alcaloide quinolizidínico
Tomado y Modificado de Ávalos y Pérez, 2009.

Compuestos fenólicos: Son metabolitos secundarios de las plantas que se originan a partir de los aminoácidos aromáticos. Tienen una estructura química basada en el fenol **(3)** (figura 3), un anillo aromático con un grupo hidroxilo, que puede variar desde moléculas simples hasta polímeros complejos. Algunos ejemplos de compuestos fenólicos son los ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, cumarinas y ligninas. Estos compuestos se caracterizan por tener propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas y otras propiedades biológicas, y pueden proteger contra el estrés oxidativo y algunas enfermedades (Ávalos y Pérez, 2009).



Núcleo del fenol **(3)**

Figura 3. Estructura química del fenol

Tomado y Modificado de Viña, 2013

Familia Meliaceae

La familia Meliaceae, compuesta por plantas leñosas, se encuentra distribuida en las zonas tropicales y subtropicales del mundo, con presencia también en regiones de clima templado. Se distinguen por sus hojas compuestas y flores pentámeras con discos nectaríferos, estas plantas secretan sustancias aromáticas o resinosas. Pertenecientes al orden Sapindales, la familia incluye 51 géneros y aproximadamente 575 especies (Varela, 2010). En Venezuela, se han identificado ocho géneros nativos (*Carapa*, *Cedrela*, *Guarea*, *Ruagea*, *Schmardaea*, *Swietenia* y *Trichilia*), que suman 43 especies, y tres géneros introducidos o naturalizados (*Azadirachta*, *Melia* y *Sandoricum*), con una especie cada uno (Pittier y cols, 1945). Más allá de su reconocido uso en carpintería, tinción y construcción, las

Meliaceae también son valoradas en horticultura por sus cualidades ornamentales y como fuente de sombra, alimento y en prácticas rituales. Sus aplicaciones medicinales tradicionales están ampliamente documentadas, abarcando desde terapias para la función cardiovascular hasta el tratamiento de infecciones respiratorias, urinarias, gastrointestinales, dermatológicas y orales (Oyedeji, Sadgrove y Van, 2021). Estudios fitoquímicos han identificado la presencia de compuestos naturales como sesquiterpenoides, triterpenoides, esteroides, flavonoides y otros fenoles (Riyadi, Naini, y Supratman, 2023). Los limonoides o meliacinas, son particularmente notables dentro de esta familia (Oyedeji, Sadgrove y Van, 2021). La clasificación taxonómica de las Meliaceae se detalla en el cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción taxonómica de la familia Meliaceae

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	Meliaceae

Tomado y Modificado de Vega, 2014

Género *Azadirachta*

El género *Azadirachta* perteneciente a la familia Meliaceae, fue definido en 1830 por el botánico Adrien Henri de Jussieu, abarcando dos especies y una variedad comúnmente conocida como neem. Estas incluyen *A. indica*, *A. indica var. siamensis* y *Azadirachta excelsa*, conocidas respectivamente como neem indio, neem tailandés y neem filipino. El neem indio es nativo de Myanmar y el sur de la India; el neem tailandés es endémico de Tailandia y se encuentra también en Myanmar, el sur de Laos y el oeste de Camboya; y

el neem filipino se halla en el sur de Tailandia, Filipinas y Malasia (He y cols., 2022). Estos árboles perennes tropicales pueden alcanzar alturas de 15 a 50 metros, presentan flores blancas agrupadas y su fruto es una drupa amarilla que alberga una o dos semillas. Dichas semillas son fuente de Azadirachtina **(4)** (figura 4), un fitoquímico que actúa como un potente anti alimentario para insectos, afectando a más de 400 especies de plagas (He y cols., 2022). Además, el neem es utilizado en la producción de pesticidas biológicos y en la higiene dental. Algunos se han adaptado a climas áridos y embellecen espacios urbanos (Varela, 2010). Se les atribuyen propiedades antioxidantes debido a los compuestos fenólicos en sus hojas, siendo *A. indica* la especie más empleada dentro del género (Widiyana e Illian, 2022a).

Azadirachta indica

El árbol de neem es una especie originaria de las zonas áridas de Asia, especialmente de la India, Pakistán, Sri Lanka, Indonesia y Tailandia. Se introdujo en América Latina a finales del siglo XX, donde se adaptó a diversos climas, desde los tropicales hasta los semiáridos. El neem puede resistir temperaturas extremas, desde el punto de congelación hasta casi 50° C, y precipitaciones entre 500 y 1200 mm anuales con períodos de sequía de hasta 7 meses (Sánchez y Monroy, 2007).

Es un árbol de raíces profundas que puede crecer entre 10 y 30 metros de altura. Sus hojas son verdes todo el año y tienen una forma compuesta con varios folíolos. Sus flores son pequeñas y aromáticas, de color blanco o amarillo claro, y se agrupan en racimos alargados. Su fruto es una drupa ovalada de unos 2 centímetros de largo, que cambia de verde a amarillo cuando madura. Su corteza es grisácea y rugosa, con un tono café rojizo por dentro. Su tronco es generalmente recto y corto (imagen 1) (Girish y Shankara, 2008).

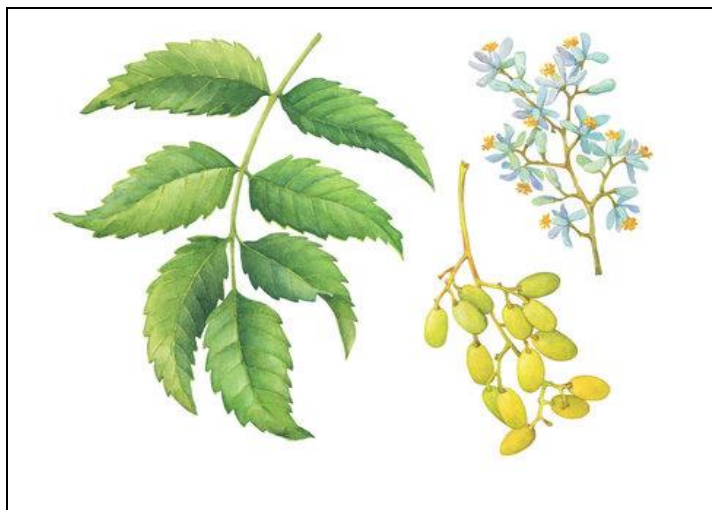
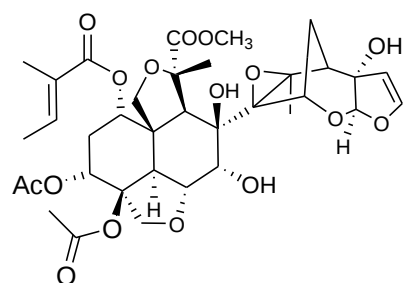


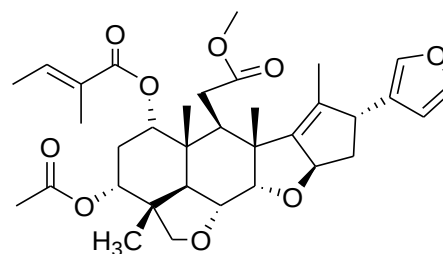
Imagen 1. Partes de la especie *Azadirachta indica*: Hojas, tallos, frutos y flores.

Tomado y Modificado de Bangar y cols, 2024.

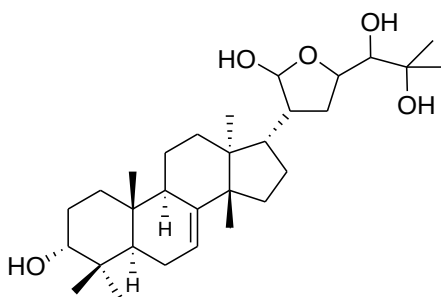
Esta especie (*A. indica*) tiene una gran diversidad de compuestos químicos los cuales alrededor de un tercio son terpenoides (limonoides). Estos se llaman azadirachtina **(4)** y se localizan principalmente en las semillas. Son los metabolitos más importantes para el control biológico de plagas. Otros compuestos como el salanino **(5)** y el meliantrol **(6)** provocan que los insectos dejen de alimentarse. El nimbina **(7)** y nimbidina **(8)** (figura 4), tienen actividad antiviral (Sánchez y Monroy, 2007)



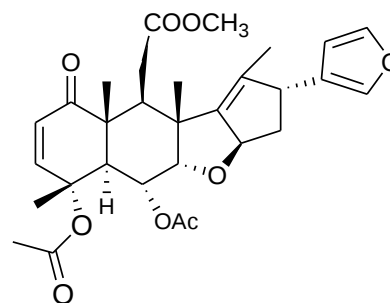
Azadirachtina (4)



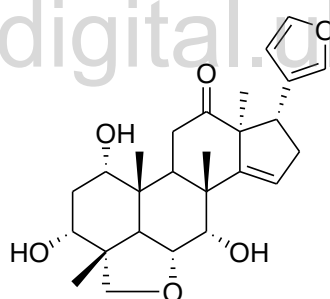
Salanino (5)



Melianrol (6)



Nimbina (7)



Nimbidina (8)

Figura 4. Compuestos aislados de *A. indica*.

Tomado y modificado de Fong y cols, 2014.

El árbol de neem tiene múltiples beneficios en los que se destacan (Sánchez y Monroy, 2007):

- **Reforestación:** El árbol ayuda a prevenir la erosión del suelo y se adapta a condiciones secas.
- **Combustible:** La madera es densa y el aceite de las semillas se puede usar como biocombustible.

- **Fertilizante y acondicionador de suelos:** La corteza y la pasta de las semillas mejoran la calidad del suelo y combaten los nemátodos y otros patógenos.
- **Pesticida:** Los productos del neem afectan a los insectos, bacterias, caracoles y hongos dañinos.
- **Uso medicinal:** La *A. indica* es una planta con una larga historia de uso medicinal en la India, donde se le atribuyen propiedades para tratar diversas afecciones, especialmente las relacionadas con la piel, las infecciones y los parásitos. Según la tradición, los enfermos incurables podían beneficiarse de consumir sus hojas frescas o cocidas, o de beber infusiones preparadas con diferentes partes de la planta. También se les recomendaba descansar bajo la sombra del árbol, que se consideraba sagrado. En el cuadro 2, se puede reflejar una recopilación de los usos medicinales que están asociados a *A. indica*.

Cuadro 2. Usos medicinales de la *A. indica*

Parte de la planta	Uso medicinal
Hojas	Estimular el funcionamiento del hígado, combatir algunas afecciones pulmonares y disminuir los niveles de glucosa en la sangre de pacientes diabéticos, anticancerígeno, antiviral, antialérgico, antiinflamatorio, antiséptico, antimicrobiano y analgésico para dolores de oído y de cabeza.
Cortezas y Ramas	Fiebres, anorexia, disentería, vómito y son antihelmínticos, antimicrobianos, antiinflamatorio; mezclados con cilantro y jengibre, se utilizan para el tratamiento de la malaria.
Semillas	Para curar la lepra, enfermedades de la piel y artritis.

Tomado y Modificado de Sánchez y Monroy, 2007.

Extractos Vegetales

Los extractos naturales están compuestos por las sustancias que se obtienen al separar los componentes bioactivos de las plantas, mediante un disolvente (alcohol, agua, una combinación de ambos u otro disolvente específico) y un método de extracción adecuado. Estos procedimientos varían según la solubilidad y estabilidad de los componentes propios de cada planta. Los métodos principales para elaborar extractos naturales son la maceración, percolación, digestión, decocción, infusión y se describen a continuación (Valcarcel y Gómez, 1988):

- **Maceración:** El método empleado inicia con el contacto prolongado del solvente con el material vegetal, que debe estar finamente triturado para facilitar la transferencia de las sustancias. El proceso se realiza a temperatura ambiente y se recomienda agitar periódicamente el recipiente para homogeneizar la mezcla y mejorar el rendimiento. El solvente pierde capacidad de extracción con el tiempo, por lo que se debe proteger el recipiente de la luz solar, que puede degradar algunos compuestos. Al finalizar la maceración, se filtra el extracto y se lava el material vegetal con más solvente para obtener el extracto total (Sharapin y Pinzón, 2000).
- **Percolación:** El proceso implica la extracción de los principios activos de la planta mediante el paso continuo de un disolvente por el material vegetal. El solvente se renueva constantemente, lo que implica un alto consumo del mismo y un mayor costo. Para realizar este proceso en pequeña escala, se utilizan percoladores cilíndricos o cónicos, que tienen un grifo en la parte inferior para regular el flujo del disolvente (Sharapin y Pinzón, 2000).
- **Digestión:** Consiste en elevar gradualmente la temperatura para mejorar el rendimiento de la extracción, reduciendo la viscosidad

del solvente y facilitando su penetración en las células para extraer los principios activos (Sharapin y Pinzón, 2000).

- **Decocción:** Se basa en hervir una sustancia vegetal con un líquido, generalmente agua, durante un tiempo determinado que varía entre 15 y 20 minutos (Sharapin y Pinzón, 2000).
- **Infusión:** Permite extraer el principio activo de la droga mediante el uso de un solvente a una temperatura de 100 °C durante cinco minutos. Luego se deja enfriar la mezcla y se diluye al 5 % para obtener el extracto (Sharapin y Pinzón, 2000).

Análisis Fitoquímico

Los ensayos fitoquímicos tradicionales son una herramienta útil para el análisis cualitativo de los metabolitos de las plantas, ya que permiten identificar su naturaleza química mediante reacciones de coloración. Estos ensayos son rápidos, sencillos y económicos, y facilitan la selección de las especies vegetales con potencial farmacológico. Para realizar los ensayos fitoquímicos, se extraen los metabolitos de las plantas con diferentes solventes, como agua, acetona, alcohol, cloroformo y éter. Posterior a la extracción, se llevan a cabo reacciones de coloración las cuales son sensibles y reproducibles. Estas reacciones pueden detectar grupos de sustancias o compuestos específicos, como ácidos grasos, azúcares reductores, polisacáridos y mucílagos (Castillo, Zavala y Carrillo, 2017). Algunas de las pruebas químicas más utilizadas son:

1. **Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (alcaloides):** Estas pruebas se basan en la formación de precipitados de color cuando los alcaloides en forma de sal reaccionan con soluciones de yodo o de metales pesados, como el mercurio o el bismuto (figuras 5, 6) (Domínguez, 1979).

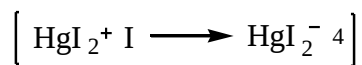
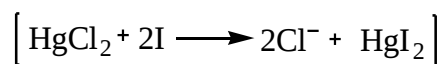


Figura 5. Reacción de precipitación con reactivo de Mayer.

Tomado y modificado de Domínguez, 1979.

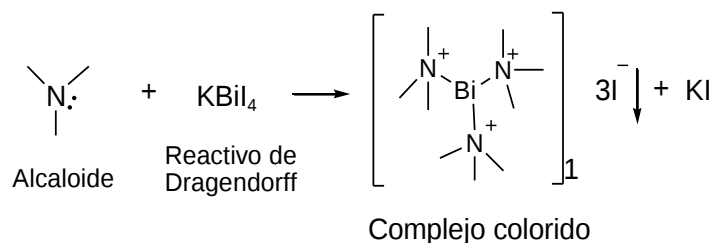


Figura 6. Reacción de Dragendorff para alcaloides

Tomado y modificado de Domínguez, 1979.

2. **Ensayo de Shinoda (flavonoides):** Consiste en añadir virutas de magnesio y ácido clorhídrico concentrado a la muestra y observar el cambio de color. Si hay flavonoides, se forma un complejo rojo escarlata por la reducción del ion flavilio por el hidrógeno generado (figura 7) (Domínguez, 1979).

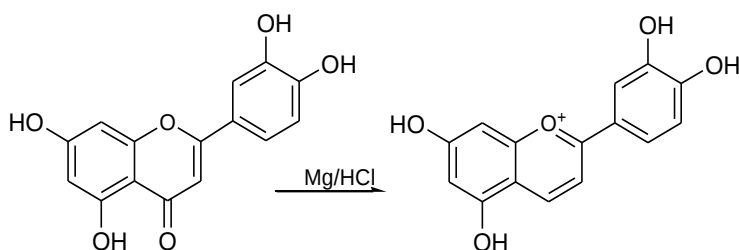


Figura 7. Reacción de Shinoda para flavonoides.

Tomado y modificado de Domínguez, 1979.

3. **Ensayo de Liebermann-Burchard (terpenos y/o esteroides):** Se fundamenta en una reacción de colorimetría. El colesterol de la

muestra reacciona con el reactivo de Liebermann-Burchard, y produce un color verde o verde-azulado. Este color se forma por la interacción del grupo hidroxilo (-OH) del colesterol con los reactivos, que aumenta la conjugación de la insaturación en el anillo fusionado adyacente (figura 8) (Domínguez, 1979).

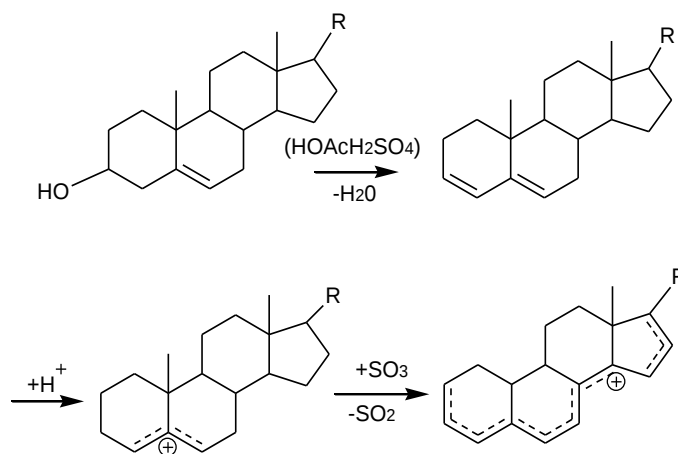


Figura 8. Reacción de Liebermann-Burchard para terpenoides y esteroides.
Tomado y modificado de Domínguez, 1979.

4. **Ensayo con FeCl_3 (compuestos fenólicos):** Cuando se añade una solución de tricloruro férrico a una muestra que contiene un grupo fenol, se produce la formación de una coloración rojo, azul, verde o violeta. Este cambio de color se debe la sustitución del hidrógeno del grupo hidroxilo por un ion cloruro, generando un grupo fenóxido que se une al hierro (figura 9) (Domínguez, 1979).

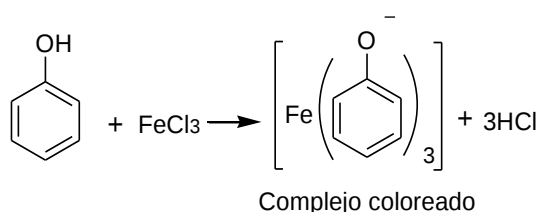


Figura 9. Reacción de tricloruro férrico para fenoles.
Tomado y modificado de Domínguez, 1979.

5. **Ensayo de la gelatina al 1 % (taninos):** Si están presentes, se forma un precipitado blanco debido a la unión de los taninos con las proteínas de la gelatina (Carvajal y cols., 2009).
6. **Ensayo con hidróxido de amonio (NH_4OH) (cumarinas):** Al añadir hidróxido de amonio concentrado a la muestra y observar si se produce un cambio de color o una fluorescencia bajo luz ultravioleta. Esto se debe a que el NH_4OH rompe los enlaces de las cumarinas y las hace solubles en medio alcalino, lo que aumenta su absorción en la región ultravioleta del espectro (Domínguez, 1979).
7. **Prueba de altura y estabilidad de espuma (saponinas):** Implica medir el volumen de espuma que se forma al agitar una solución acuosa de la muestra durante un tiempo determinado. Esta prueba se basa en la presencia de un núcleo esteroidal o triterpénico en las saponinas, que les confiere un carácter anfótero y les permite actuar como tensos activos (Carvajal y cols., 2009).
8. **La prueba de H_2SO_4 (quinonas):** Las cuales son dicetonas insaturadas, que por reducción se convierten en polifenoles los que fácilmente las regenera por oxidación. Esta reacción da como resultado una coloración de amarilla a roja (Domínguez, 1979).

Compuestos fenólicos

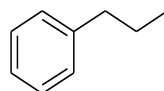
En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, generalmente constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica. Hoy día son varias las sustancias con propiedades antioxidantes obtenidas de fuentes naturales que están bajo estudio. Uno de ellos son los flavonoides y los compuestos fenólicos, los cuales son metabolitos secundarios de muchas

plantas y juegan un papel fundamental en la variación de la actividad antioxidante (Echavarría, Franco y Martínez, 2009).

El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias que derivan todas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. Debido a su diversidad estructural, se pueden clasificar de diferentes maneras según sus características químicas y biológicas. A continuación, se presentarán los principales grupos de compuestos fenólicos vegetales, que son: los fenólicos simples, los flavonoides, las ligninas y los taninos (Viña, 2013).

1. Compuestos fenólicos simples: Los fenólicos simples abarcan a su vez tres grupos de relevancia: los fenilpropanoides simples, las cumarinas y los derivados del ácido benzoico (Viña, 2013).

- **Fenilpropanoides simples:** Comparten la estructura fundamental fenilpropanoide (figura 10), portando una cadena lateral, lineal, de tres átomos de carbono que se encuentra unida al anillo fenilo constituido por seis carbonos **(9)**. Los fenilpropanoides representan las unidades centrales que componen a prácticamente todos los compuestos fenólicos (Viña, 2013).



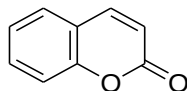
Núcleo Fenilpropanoide **(9)**

Figura 10. Estructura general del núcleo fenilpropanoides

Tomado y modificado de Viña, 2013

- **Cumarinas:** Este grupo de compuestos fenólicos de estructura simple (figura 11), tienen el mismo esqueleto básico que los fenilpropanoides simples, pero se diferencian en que la cadena lateral forma un anillo cerrado, una lactona **(10)** (Viña, 2013). Algunas muestran fototoxicidad frente a insectos tras activarse por luz UV, acción llevada a cabo por

bloqueo de la transcripción y de la reparación de DNA, provocando la muerte celular (Ávalos y Pérez, 2009).

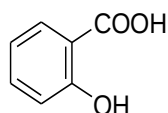


Núcleo Cumarina **(10)**

Figura 11. Estructura química del núcleo de la Cumarina

Tomado y modificado de Viña, 2013.

- **Derivados del ácido benzoico:** Que tienen un esqueleto formado por fenilpropanoides que han perdido un fragmento de dos carbonos de la cadena lateral. Ejemplos de estos derivados son la vainillina y el ácido salicílico **(11)** (figura 12) (actúa como regulador del crecimiento vegetal, implicado en la resistencia de la planta frente a patógenos) (Ávalos y Pérez, 2009).



Ácido salicílico **(11)**

Figura 12. Estructura química del ácido salicílico

Tomado y modificado de Viña, 2013.

- **Flavonoides:** Son compuestos fenólicos que tienen 15 carbonos distribuidos en dos anillos aromáticos y un puente de tres carbonos. Según el nivel de oxidación del puente, se pueden clasificar en diferentes grupos, como las antocianinas **(12)**, antocianidinas **(13)**, las flavonas **(14)**, los flavonoles **(15)** y las isoflavonas **(16)** (figura 13). Estos compuestos tienen funciones de defensa y pigmentación en las plantas (Ávalos y Pérez, 2009).

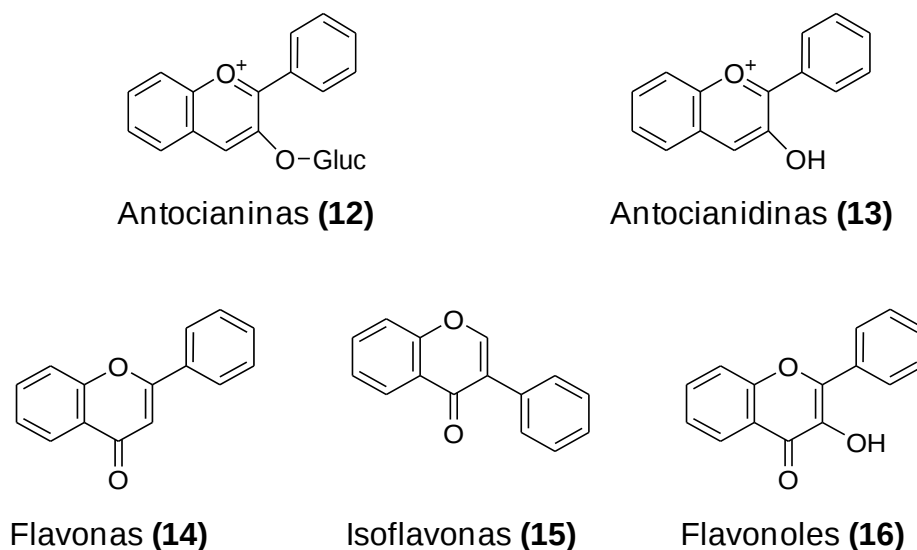


Figura 13. Núcleos estructurales de los flavonoides

Tomado y modificado de Viña, 2013.

Antocianinas: Son flavonoides pigmentados responsables de la mayoría de los colores de las flores y los frutos. Por ello son importantes en la polinización y en la dispersión de semillas. Son glicósidos con un azúcar en posición 3. Cuando las antocianinas carecen de azúcar se denominan antocianidinas (Ávalos y Pérez, 2009).

Flavonas y flavonoles: Los flavonoles se distinguen de las flavonas por presentar un grupo hidroxilo unido al C3 en el anillo C (Viña, 2013). Se encuentran comúnmente en las hojas y flores de las plantas. Tienen una longitud de onda de absorción máxima en la zona UV del espectro electromagnético. Su función principal es proteger a las plantas de los efectos nocivos de la radiación UV. (Viña, 2013).

Isoflavonas: Son isómeros de las flavonas, siendo la diferencia entre ambos grupos la posición del anillo B: mientras que en las

flavonas se encuentra unido al C2, en las isoflavonas aparece en la posición C3. Se encuentran principalmente en las leguminosas, especialmente en la soja y sus derivados (Viña, 2013).

- **Ligninas:** Se trata de un polímero complejo, heterogéneo, formado mayoritariamente por derivados fenilpropanoides que corresponden a los llamados monolignoles (figura 14): Los alcoholes *p*-cumarílico (**17**), coniferílico (**18**) y sinapílico (**19**). Están presentes en todas las plantas vasculares, sobre todo en las partes aéreas de las plantas y en forma escasa en las raíces. La madera la contiene en una proporción que va de un 15-25 %, el resto de sus componentes son la celulosa y la hemicelulosa (Chávez y Domine, 2013).

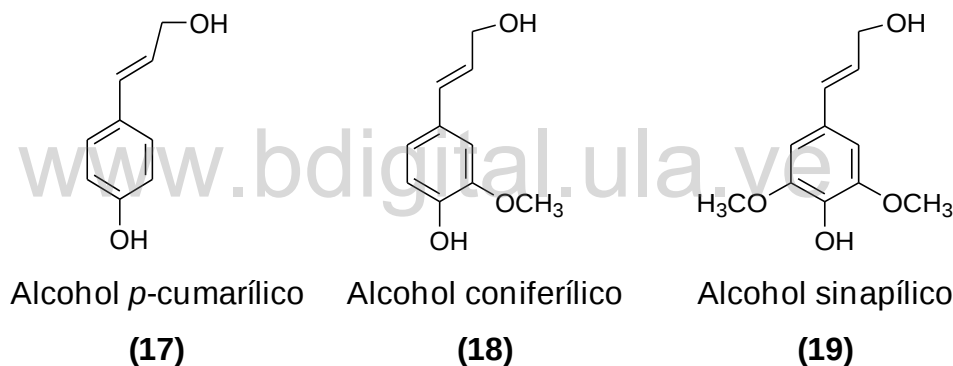


Figura 14. Estructuras químicas de los monolignoles componentes de las ligninas. Tomado y modificado de Viña, 2013.

- **Taninos:** Son compuestos fenólicos poliméricos que se unen a proteínas desnaturalizando las (Ávalos y Pérez, 2009). Se pueden clasificar en hidrolizables (**20**) y condensados (**21**), según su estructura química (figura 15). Los taninos tienen diversas funciones biológicas, como la defensa contra herbívoros, la regulación del crecimiento y el desarrollo, y la interacción con otros organismos, también tienen aplicaciones industriales, como en la curtición de pieles, la elaboración de vino y la medicina (Kabera y cols., 2014).

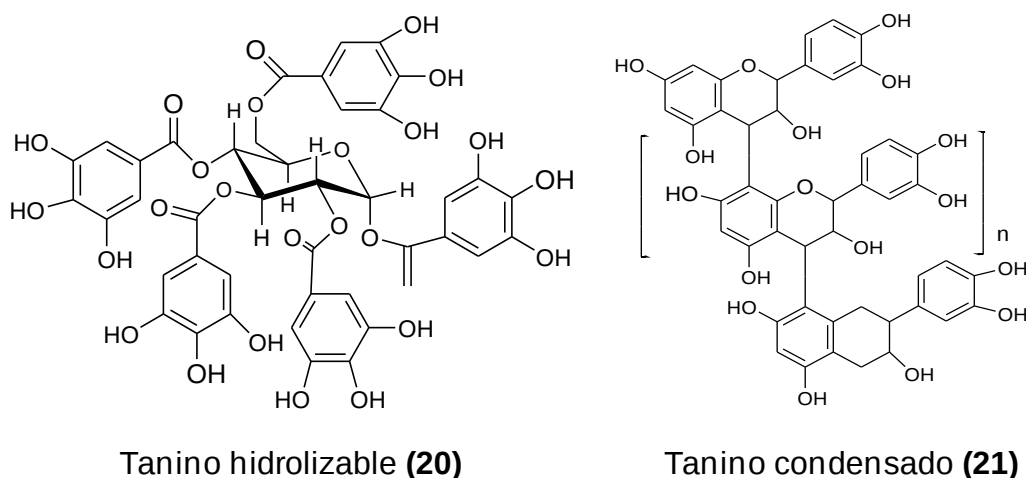


Figura 15. Tanino hidrolizable y condensado.

Tomado y modificado de Viña, 2013.

Método para la determinación de compuestos fenólicos: La determinación de fenoles totales se puede realizar por diferentes métodos, pero los más comunes son los que se basan en la espectrofotometría UV o en la formación de complejos coloreados con el reactivo de Folin-Ciocalteu. Este último es el más utilizado para cuantificar el contenido total de compuestos fenólicos en extractos vegetales, ya que es rápido, sencillo y sensible (Cruzado y cols., 2013).

El método de Folin-Ciocalteu, se basa en el principio de que los fenoles son capaces de donar electrones a un agente oxidante, como el reactivo de Folin-Ciocalteu, que consiste en una mezcla de molibdato y tungstato sódico. Al añadir este reactivo a la muestra, se produce una reacción de oxidación-reducción en la que se forman complejos fosfomolibdico - fosfotúngstico. Estos complejos, al ser tratados con una solución alcalina, se transforman en óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}) de color azul. La intensidad del color azul es proporcional a la cantidad de fenoles presentes en la muestra y se puede medir mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 765 nm (Cruzado y cols., 2013).

Método para la determinación cuantitativa de flavonoides: Se utiliza el método de tricloruro de aluminio, es un método espectrofotométrico simple y de bajo costo, que se fundamenta en la capacidad que poseen los flavonoides de formar complejos estables con iones de aluminio presentes en una solución. El color del complejo obtenido depende de la relación de iones aluminio en función de las moléculas de flavonoides, además de su patrón de hidroxilación. Por esta razón las lecturas espectrofotométricas usadas en este método pueden variar desde 365 a 510 nm, dependiendo del procedimiento experimental empleado (Méndez y cols., 2018).

Radiación solar

La radiación solar es la energía que emana del sol y que viaja en forma de ondas electromagnéticas. Estas ondas pueden tener distintas longitudes, que determinan el tipo de radiación. La piel humana recibe tres tipos de radiaciones solares: infrarroja, visible y ultravioleta. Cada una de estas radiaciones tiene un efecto diferente sobre la piel (Sanz, Pérez y cortijo, 2021):

- La radiación infrarroja (IR) tiene efectos térmicos, causando dilatación de los vasos sanguíneos y puede aumentar la susceptibilidad de la piel a las radiaciones ultravioletas. Al mismo tiempo es la causa de las insolaciones y los golpes de calor (Sanz, Pérez y cortijo, 2021).
- La exposición crónica a la luz visible (VIS) tiene efectos diversos sobre el organismo humano. Por un lado, regula funciones hormonales, el ciclo circadiano y el humor. Por otro lado, puede provocar fotosensibilización y contribuir al envejecimiento de la piel (Sanz, Pérez y cortijo, 2021).

- La radiación ultravioleta (UV) se divide en tres tipos según su longitud de onda: UVA, UVB y UVC. La UVA tiene una longitud de onda de 320 a 400 nm y es la más penetrante, ya que puede atravesar el vidrio y llegar hasta la dermis media. Esto puede causar quemaduras, envejecimiento prematuro, cataratas, alteraciones inmunológicas y cáncer de piel. La luz UVB (290-320 nm) llega a la epidermis y causa eritema, pigmentación retardada (bronceado tardío) y engrosamiento de la piel. También favorece la síntesis de vitamina D. La luz UVC tiene una longitud de onda entre 220-290 nm, y es muy efectiva para eliminar microorganismos. Sin embargo, también es muy peligrosa para los humanos, ya que puede dañar la córnea y la piel (Sanz, Pérez y Cortijo, 2021).

Piel

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano y cumple una función vital de protección. Está formada por tres capas principales (imagen 2): la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis es la capa más superficial y actúa como una barrera contra los agentes externos y la deshidratación. Está compuesta por cinco estratos: córneo, lúcido, granuloso, espinoso y basal. La dermis es la capa intermedia y proporciona nutrición y elasticidad a la piel. Está compuesta por dos estratos: reticular y papilar. La hipodermis o subcutis es la capa más profunda y contiene tejido adiposo que sirve como aislante térmico y reserva energética (Lasheras y Cobo, 2019).

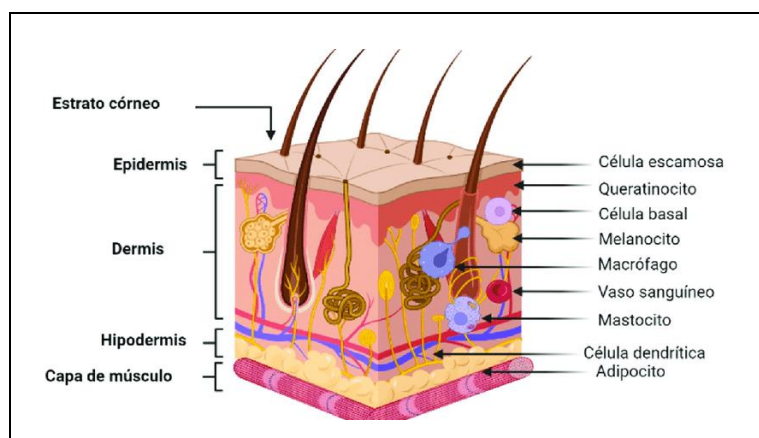


Imagen 2. Capas de la piel

Tomado y Modificado de Kabashima y cols., 2019.

La escala Fitzpatrick es un sistema de clasificación para los distintos tipos de piel en respuesta a la exposición a la luz ultravioleta, y es ampliamente reconocida en el campo de la dermatología. Fue desarrollada por Thomas B. Fitzpatrick en 1975 y ha sido actualizada para ser más inclusiva con respecto a la variedad de tonos de piel. Esta escala no solo es útil para la investigación dermatológica, sino también para determinar las prácticas adecuadas de protección solar y prevenir el daño cutáneo relacionado con la exposición UV (Fors y cols., 2020). El cuadro 3 muestra las descripciones de quemaduras y bronceados para los tipos de piel I a VI.

Cuadro 3. Descripciones del tipo de piel de Fitzpatrick del I a VI

Tipo de piel	Descripción	Denominación científica
I	Siempre se quema, nunca se broncea	Piel muy clara
II	Se quema con facilidad, se broncea mínimamente	Piel clara
III	Quemaduras moderadas, se broncea a marrón claro	Piel clara intermedia
IV	Quemaduras mínimas, bronceado a marrón moderado	Piel oliva
V	Rara vez se quema, se broncea a oscuro	Piel oscura
VI	Nunca se quema, es menos sensible a los cambios	Piel muy oscura

Tomado y modificado Fors y cols., 2020.

www.bdigital.ula.ve

Protectores solares

Son productos que se aplican sobre la piel para protegerla de los rayos solares, en particular los UV. Estos productos contienen filtros solares, que son sustancias que impiden que la radiación solar dañe la piel. Los filtros solares pueden ser químicos u orgánicos, físicos o inorgánicos, o una mezcla de ambos. Además, los protectores solares tienen otros componentes, como emolientes, conservantes, emulsionantes, aromas y colorantes. “Filtro UV” se refiere a un compuesto específico que impide el paso de la luz UV y pueden ser (Sanz, Pérez y Cortijo, 2021):

- Filtros UV químicos u orgánicos: Que protegen la piel de los rayos ultravioleta (RUV) al absorberlos y transformarlos en otras formas de energía. Algunos ejemplos de estos filtros son los salicilatos, los cinamatos y la benzofenona, que tienen estructuras químicas con

grupos carbonilos y anillos aromáticos. Cuando estos filtros reciben RUV, pueden cambiar su forma molecular, liberar calor o emitir luz de mayor longitud de onda.

- Filtros UV físicos o inorgánicos: Que se basan en el principio de que la luz se puede desviar o reflejar mediante sustancias minerales. Estas sustancias actúan como barreras que impiden que los rayos UVA y UVB penetren en la piel y causen daños. Además, tienen la ventaja de ser más seguros y estables que los químicos, ya que no se degradan con la luz ni provocan reacciones alérgicas o irritativas en la piel. Son especialmente recomendables para niños y personas con piel sensible o alérgica.
- Fotoprotectores naturales: Los componentes naturales de los protectores solares pueden ofrecer beneficios adicionales a la piel, además de bloquear los RUV. Estos beneficios incluyen la regulación de la expresión genética, el efecto antioxidante, la reducción del estrés celular y la disminución de la inflamación. Estas propiedades se deben a que las plantas generan metabolitos secundarios para defenderse de los RUV, los cuales pueden actuar de diferentes formas en la piel humana. Algunas de estas formas son: absorber los RUV, prevenir la formación de radicales libres y modular los sistemas antioxidantes e inflamatorios.

En el cuadro 4, se recopilan algunos filtros UV orgánicos e inorgánicos y compuestos derivados de las plantas que tienen evidencia de actividad fotoprotectora.

Cuadro 4. Filtros UV orgánicos e inorgánicos y fotoprotectores naturales

Filtros	Compuestos
Químicos u orgánicos	Filtros UVA: benzofenonas, avobenzona, meradimato, bidisulizole disódico, dietil diaminohidroxilobenzóilo hexilbenzoato y ecamsule. Filtros UVB: derivados de PABA, cinamatos, salicilatos, octocileno, ensulozole y etilexiltriazona; Filtros de amplio espectro (UVA y UVB): Ecamsule, silatriazol, bemotricinol y bisoctrizol.
Físicos o Inorgánicos	Filtros UVA: óxido de zinc (ZnO) Filtros de amplio espectro (UVA y UVB): dióxido de titanio (TiO ₂)
Fotoprotectores naturales	Derivados de las plantas tales como: Los carotenoides y polifenoles que incluyen taninos hidrolizables (azúcares y ésteres del ácido gálico) y fenilpropanoides como ligninas, flavonoides y taninos condensados, con excelentes propiedades antioxidantes

Tomado y modificado de Sanz, Pérez y Cortijo, 2021.

Actividad Fotoprotectora

Los fotoprotectores son agentes cruciales para la preservación de la piel contra el daño solar. Los de amplio espectro, que protegen de los rayos UVB y UVA, son los más recomendados. Estos productos, generalmente en forma de lociones o cremas, contienen componentes activos que absorben, reflejan o dispersan la radiación ultravioleta (Vera, 2022). El factor de protección solar (FPS) es el estándar para medir su eficacia, indicando el aumento de la defensa de la piel contra el eritema, aunque se centra principalmente en la protección UV-B (Batlle, 2005). La determinación del FPS se efectúa a través de métodos *in vivo*, evaluando la dosis mínima de radiación ultravioleta que

produce eritema en la piel humana. La dosis eritematosa mínima (DEM) se mide con y sin el producto y la relación entre ambas (DEMp/DEMs) calcula el FPS (Vitale, 2022).

$$FPS = \frac{\text{DEM con proteccion (DEMp)}}{\text{DEM sin proteccion (DEMs)}}$$

Aunque este método tiene sus limitaciones, ya que algunos estudios sugieren que no es confiable determinar el Factor de Protección Solar (FPS) basándose en un único ensayo. Además, el ensayo estándar *in vivo* es complejo y costoso, y más críticamente, implica la irradiación de áreas de piel en voluntarios, lo que conlleva consideraciones éticas significativas. Por consiguiente, los métodos *in vitro* representan una alternativa segura y estandarizada, como el desarrollado por Mansur y cols, (1986). Este método involucra un simple ensayo espectrofotométrico UV de extractos alcohólicos de protectores solares, donde se mide la absorbancia entre 290 y 320 nm, en intervalos de 5 nm. El FPS se calcula mediante una ecuación que correlaciona cada valor de absorbancia con su efecto eritematoso correspondiente, según la longitud de onda específica de cada medición (Gutiérrez y cols., 2017).

$$FPS = FC \times \sum_{290nm}^{320nm} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times ABS(\lambda)$$

En 1994, se estableció el Sun Protection Factor Test Method (método de verificación del factor de protección solar), resultado de analizar diversos métodos de evaluación del factor de protección solar (FPS), con la finalidad de implementar un procedimiento estandarizado en todos los estados miembros de la Unión Europea (Batlle, 2005). Posteriormente, en 1996, la Asociación Europea de Cosmética, Tocador y Perfumería (COLIPA) propuso una clasificación de categorías de protección solar como indica el cuadro 5 (Vitale, 2002).

Cuadro 5. Categorías de protección solar, COLIPA

Clasificación	FPS
Protección baja	2-4-6
Protección media	8-10-12
Protección alta	30-40-50
Protección muy alta	50 o +

Tomado y modificado de Vitale, 2002.

Además, en 1999, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) definió las categorías de protección solar específicas para América (Vitale, 2002), como se detalla en el cuadro 6.

Cuadro 6. Categorías de protección solar, FDA

Protección	FPS
Mínima	2-4
Moderada	4-8
Elevado	8-12
Muy elevado	12-20
Ultra elevado	20 o +

Tomado y modificado de Vitale, 2002.

Definición Operacional de Términos

Radical libre

Es una especie química con electrones desapareados. Es muy reactiva y genera más radicales libres en cadena. Su vida media es corta y daña muchas moléculas cercanas (Gutiérrez, 2002).

Envejecimiento

Es el deterioro del organismo por los radicales libres. Estas moléculas dañan las células y los tejidos. El organismo se defiende con antioxidantes y enzimas, pero pierde eficacia con la edad. Los radicales libres se acumulan y oxidan las proteínas, que interfieren con el funcionamiento normal (Gutiérrez, 2002).

www.bdigital.ula.ve

Antioxidantes

Son compuestos que protegen al organismo de la acción nociva de las especies reactivas del oxígeno, que pueden dañar las moléculas biológicas. Los antioxidantes tienen diferentes estructuras químicas y mecanismos de acción (Sáyago, 2013).

Espectrofotometría

Se trata de un método analítico utilizado para determinar la cantidad de ciertos analitos, empleado en una variedad de áreas incluyendo biotecnología, investigación en farmacia, ingeniería química, ciencias de materiales, estudios agrícolas y química (Paredes, Charca y Veleto, 2023).

Fototipo

Se refiere a la habilidad innata de cada individuo para tolerar la exposición solar, o sea, las cualidades inherentes que definen la posibilidad y el nivel de bronceado de la piel. Una menor habilidad en este aspecto implica una reducción en la neutralización del impacto de los rayos solares sobre la dermis (Marín y Del pozo, 2005).

Fitoquimicos

Son elementos hallados en alimentos y en las bebidas de origen vegetal Poseen actividad biológica y no se clasifican como nutrientes vitales, sin embargo, algunos están reconocidos por sus beneficios para la salud o su capacidad para disminuir el riesgo de ciertas enfermedades (Urrialde y cols, 2022).

www.bdigital.ula.ve

Sinergia

Se define como el proceso en el que la interacción y colaboración entre elementos diferentes resultan en un efecto global mayor que la suma de los efectos individuales. En el ámbito científico, la sinergia puede referirse a la acción conjunta de diversos órganos que realizan una función en común, o al incremento en el accionar de distintas sustancias que actúan juntas (Corning, 1998)

Operacionalización de las Variables

En el presente estudio, se aborda la operacionalización de las variables clave para identificar el indicador de presencia de la variable. El cuadro 7 detalla la variable dependiente, enfocándose en la actividad fotoprotectora del extracto de la planta. Por otro lado, el cuadro 8 expone la variable independiente, que se centra en la cuantificación de compuestos fenólicos presentes en los extractos.

Cuadro 7. Operacionalización de la variable dependiente: Actividad fotoprotectora de los extractos de *A. indica*.

Variable	Tipo	Definición conceptual
Actividad fotoprotectora de los extractos de <i>A. indica</i>	Dependiente	Capacidad de proteger la piel de los daños causados por la radiación solar, depende de la absorción de energía radiante que realizan los grupos cromóforos, intervalo de absorción y longitud de onda donde ocurre la absorción máxima (Vera, 2022)
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Métodos espectrofotométricos de Mansur	Metabolitos secundarios que absorben Luz UV en el rango de 290-320 nm	FPS mayor a 2

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2023.

Cuadro 8. Operacionalización de la variable independiente: Cuantificación de los compuestos fenólicos de los extractos de *A. indica*.

Variable	Tipo	Definición conceptual
Cuantificación de los compuestos fenólicos en los extractos de <i>A. indica</i>	Independiente y cuantitativa	Son un grupo que presenta en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, tienden a ser solubles en agua y son relativamente polares (Viña, 2013).
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Métodos espectrofotométricos	Fenoles Flavonoides	Absorbancias a λ 760nm
Folin-Ciocalteu Con $AlCl_3$		Absorbancias a λ 420nm

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2023

Hipótesis

Estudios previos indican que el género *Azadirachta* produce metabolitos secundarios biológicamente activos, por lo cual se presume que los extractos de etanol de las hojas, tallos, flores y frutos de *Azadirachta indica* posean compuestos similares con la capacidad de absorber luz ultravioleta B (290-320 nm) y le confieran actividad fotoprotectora a esta especie.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se describen las técnicas de observación y los procedimientos de análisis que se utilizaron en la investigación, con el fin de que otros investigadores puedan replicarla y evaluar su pertinencia para el tema de estudio. También se explican las pautas que se siguieron para desarrollar la investigación.

Tipo de Investigación

Según Hernández, Fernández y Baptista, (2010) refirieron que el conocimiento generado por un proceso investigativo define el alcance y el tipo de investigación. Así mismo, Hurtado (2008) clasifica la investigación en: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. La investigación confirmatoria tiene como fin el estudio de las relaciones presentes entre dos variables. Al respecto esta investigación fue de tipo confirmatoria porque se determinó la relación entre el contenido de los compuestos fenólicos de los extractos de *A. indica* y la actividad fotoprotectora.

Diseño de Investigación

Para la recolección de los datos se requiere un diseño de investigación representado por las estrategias pertinentes. Al respecto, Hurtado (2008) refiere que el diseño de investigación consiste en las estrategias que se aplicarán para obtener la información de una fuente específica en un periodo determinado y en una magnitud o profundidad relacionada de lo que se quiere conocer. De acuerdo con lo mencionado, el diseño de esta investigación fue experimental, ya que la planta fue expuesta a ciertas condiciones, estímulos o tratamientos para medir los efectos o respuestas generados en la variable dependiente. El diseño de investigación experimental tuvo un enfoque explicativo, ya que buscaba demostrar que los cambios en la variable dependiente fueron provocados por la variable independiente. Este estudio se llevó a cabo en un período de tiempo definido, por lo que se considera un diseño transversal. Los datos se obtuvieron en una sola ocasión y en un tiempo único (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

Población y Muestra

Unidad de Investigación

El grupo de estudio estuvo representado por la especie *A. indica*, las diferentes partes de la especie se recolectaron en Lagunillas, Municipio Sucre del Estado Mérida.

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra estuvo representada por los tallos, hojas, flores y frutos de la especie *A. indica*.

Sistema de Variables

En el proceso de operacionalización de las variables, se identificaron los atributos del objeto que no se pueden medir directamente y se los transforma en indicadores más concretos y medibles. Las variables que se analizaron en esta investigación se categorizan en:

- ✓ **Variable Dependiente:** Actividad fotoprotectora de los extractos de *A. indica* (Cuadro 7).
- ✓ **Variable Independiente:** Cuantificación de compuestos fenólicos de los extractos de *A. indica*. (Cuadro 8).

Instrumento de Recolección de Datos

Según Palella y Martins (2017), un instrumento permite recolectar los datos relacionados con los objetivos y los indicadores obtenidos de la operacionalización de las variables. Por lo tanto, los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos fueron fotografías y tablas, se registraron los resultados de la cuantificación de los compuestos fenólicos y flavonoides. Además, se determinó la actividad fotoprotectora en los extractos de *A. indica*.

Procedimientos de la Investigación

Recolección y preparación del material vegetal

Las muestras de las diferentes partes de la especie fueron recolectadas en Lagunillas, situada al oeste del estado Mérida (8°30'05"N y 71°23'32"O) a una altura promedio de 1070 m s. n. m. La muestra fue llevada al Laboratorio "A" de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de

Farmacología y Bioanálisis. Las diferentes partes de la especie se separaron y posteriormente se colocaron en la estufa a 40 °C hasta completar sequedad.

Obtención de los extractos

Del material vegetal previamente secado y molido, se pesaron 302 g de tallos, 294 g de hojas, 43.17 g de flores y 92.07 g de frutos. Estos fueron sometidos a un proceso de extracción por reflujo utilizando hexano y etanol como solventes, luego se filtró y se evaporó el solvente en un rotavapor hasta obtener los extractos de hexano y etanol (tabla 1).

Análisis fitoquímico preliminar

Para identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de *A. indica* se aplicaron diferentes pruebas químicas cualitativas. Entre estas se encuentran las siguientes:

- **Ensayo de Liebermann-Burchard (Terpenos y/o Esteroles):** Para realizar esta prueba, se prepararon dos tubos de ensayo limpios, secos y etiquetados. En cada tubo, se colocaron pequeñas cantidades de los extractos que habían sido previamente llevados a sequedad y se añadió 0,5 mL de solución clorofórmica anhidra. Luego se agregó 0,5 mL de anhídrido acético y una gota de ácido sulfúrico concentrado por la pared del tubo con cuidado. La prueba se considera positiva si se observan coloraciones rojas, verdes o azules (Martínez, Valencia y Jiménez, 2008).⁴
- **Ensayo de Shinoda (Flavonoides):** Para el desarrollo de esta prueba se tomó una muestra de 1,0 mL del extracto vegetal y se agregaron unas cuantas limaduras de magnesio metálico (Mg),

después se vertieron con precaución unas gotas de ácido clorhídrico concentrado por el borde del tubo de ensayo. Si observa un cambio de color a naranja o violeta, es indicativo una reacción positiva (Martínez, Valencia y Jiménez, 2008).

- **Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (Alcaloides):** Se tomo una alícuota del extracto se disolvió en 6 mL de HCl al 10 % en agua, se calentó en baño de María. Luego, esta solución acuosa ácida se dividió en tres tubos de ensayo y se les agregó 0,5 mL de cada uno de los reactivos correspondientes (Dragendorff, Mayer y Wagner). La formación de un precipitado naranja indica la presencia de alcaloides (Martínez, Valencia y Jiménez, 2008).
- **Ensayo con FeCl_3 (Compuestos fenólicos):** Las muestras se disolvieron con agua en un tubo de ensayo. Luego, se añadió cuidadosamente unas gotas de una solución diluida de cloruro de hierro (III) y se observó el cambio de color. Si se torna de un tono rojo, azul, verde o púrpura, se confirmó la presencia de fenoles en la muestra (Martínez, Valencia y Jiménez, 2008).
- **Ensayo de gelatina al 1 % (Taninos):** Las muestras se disolvieron en agua. Luego se agregó dos gotas del reactivo de gelatina y se observó la reacción. Si se forma un precipitado blanco, se considera que la muestra contiene tanino (Domínguez, 1979).
- **Ensayo con hidróxido de amonio (Cumarinas):** Se concentró una porción de los extractos mediante evaporación y se le agregó 0,5 mL de etanol y dos gotas de amoníaco concentrado. La prueba es positiva si se observa una fluorescencia azul-violeta bajo la luz UV (Domínguez, 1979).
- **Prueba de ácido sulfúrico (Quinonas):** Se disolvieron 10 mg de los extractos en alcohol isopropílico. A continuación, se

añadió con precaución una gota de ácido sulfúrico concentrado a la solución. Es importante observar la reacción de la mezcla; si se produce un cambio a color rojo, esto señalará un resultado positivo. (Shaikh y Patil, 2020).

- **Prueba de altura y estabilidad de espuma (Saponinas):** Para evaluar la actividad espumante de los extractos, se midió la altura de la espuma formada al agitar 1,0 mL de la muestra en un tubo de ensayo disuelta en agua. Un resultado positivo se define como una espuma de 8 a 10 mm de altura que persiste por 30 minutos (Domínguez, 1979).
- **Prueba de H₂SO₄ concentrado (Glucósidos):** Se añadió 5 ml de los extractos de etanol. Luego, se incorporó 2 ml de ácido acético glacial, posteriormente se agregó una gota de una gota de FeCl₃ al 5 %. Se vertió cuidadosamente sobre un tubo con ácido sulfúrico concentrado. Si se forma un anillo marrón, indica un resultado positivo (Shaikh y Patil, 2020).

Cuantificación de Fenoles

Se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu, de la siguiente manera: Se diluyeron 5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu 2 N con agua hasta completar 10 mL en un balón volumétrico, procedimiento que se acompañó de agitación y luego se enrasó. Respecto a la preparación del patrón, se pesaron 10 mg de ácido gálico y se trasladaron a un balón volumétrico de 100 mL, se añadieron 50 mL de agua destilada y se disolvió la mezcla utilizando un baño ultrasónico, seguido de agitación y ajuste de volumen final (Rojas, Jaramillo y Lemus, 2015).

Para la curva de calibración, se prepararon diluciones del estándar de ácido gálico en concentraciones de 50, 40, 30, 20, 10 y 5 µg/mL, transfiriendo

los volúmenes necesarios a frascos volumétricos de 10 mL y completando el volumen con agua (Rojas, Jaramillo y Lemus, 2015).

Las muestras se prepararon por triplicado pesando 5 mg de los extractos de etanol y se llevaron a un balón volumétrico de 10 mL, se agregaron 5 mL de agua, se disolvió en baño ultrasónico, se mezcló y se enrasó. Posteriormente, se tomó 1 mL de la muestra, se colocó en un tubo de ensayo graduado, se añadieron 0,5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu y 1,5 mL de carbonato de sodio al 20 %, se completó el volumen hasta 4 mL con agua destilada y se agitó en el vortex. Los tubos se mantuvieron en la oscuridad durante una hora antes de proceder a la medición de la absorbancia en el espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 760 nm. El blanco se preparó con 1 mL de agua y los mismos reactivos y volúmenes, agitando y manteniendo en oscuridad antes de la medición.

Finalmente, para calcular la cantidad de fenoles totales que estaban presentes, se efectuó una regresión lineal con las absorbancias que se midieron. Esto resultó en la ecuación $y=bx+a$, donde "a" representa el punto donde la línea intersectaba el eje Y y "b" la pendiente de la línea. Para determinar la cantidad de fenoles totales, se sustituyó la absorbancia correspondiente en "Y" y la concentración en "X" ($\mu\text{g/mL}$). Los valores obtenidos se expresaron en microgramos de ácido gálico por miligramo de muestra ($\mu\text{g AG/mg muestra}$) (Rojas, Jaramillo y Lemus, 2015).

Cuantificación de flavonoides

Se realizó a través del método espectrofotométrico con AlCl_3 , para lo cual se preparó una solución de AlCl_3 al 3 %. Para la preparación del patrón de quercetina, se pesaron 5 mg y se disolvieron en un matraz volumétrico de 50 mL con 25 mL de metanol con ayuda del baño ultrasónico. Después de mezclar, se completó el volumen hasta la marca con metanol (Rojas, Jaramillo y Lemus, 2015).

Para la curva de calibración, se prepararon diluciones de la solución madre de quercetina para obtener concentraciones de 50, 40, 30, 20, 10 y 5 µg/mL, transfiriendo los volúmenes correspondientes a matraces volumétricos y completando con metanol hasta la marca. Para la muestra, se pesaron 5 mg de los extractos etanólicos y se llevaron a un balón volumétrico de 10 mL, se añadieron 5 mL de metanol, se disolvió con el baño ultrasónico, se mezcló y se completó el volumen. Este proceso se repitió tres veces (Rojas, Jaramillo y Lemus, 2015).

Posteriormente, para la medición, se tomó 1 mL de la muestra y se colocó en un tubo de ensayo graduado, se añadieron 2 mL de la solución de AlCl_3 al 3 % y se completó el volumen hasta 6 mL con metanol. Se agitó la mezcla con un vortex y se dejó en la oscuridad durante una hora antes de medir la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Visible a 420 nm. Para el blanco, se siguió un procedimiento similar utilizando agua en lugar de la muestra (Rojas, Jaramillo y Lemus, 2015).

La cuantificación del contenido de flavonoides se llevó a cabo mediante una regresión lineal de las absorbancias medidas, utilizando la ecuación $y=bx+a$, donde "a" representa el punto de intersección y "b" la pendiente. Para calcular la cantidad de flavonoides, se sustituyó el valor de absorbancia correspondiente en el eje "Y" y la concentración en el eje "X" (mg/mL). Los resultados se informaron en microgramos de quercetina por miligramo de muestra (µg Q/mg muestra) (Rojas, Jaramillo y Lemus, 2015).

Determinación del Factor de Protección Solar

El factor de protección solar (FPS) se determinó siguiendo una metodología *in vitro* de Mansur, se procedió de la siguiente manera:

Para preparar las diluciones con una concentración de 0,2 mg/mL, se pesaron 500 mg de cada extracto y se colocaron en un matraz aforado de 50 mL. Luego, se añadió 40 mL de etanol, se homogenizó. Después, se filtraron

las soluciones y se descartaron los primeros 10 mL. Se midió una alícuota de 0,5 mL del filtrado y se llevó a un balón aforado de 25 mL, que se enrasó a volumen con etanol. Se midieron las absorbancias de las soluciones en un espectrofotómetro Genesys Bio10 entre 290 y 320 nm, con intervalos de 5 nm, usando una celda de cuarzo de 1 cm. Se realizaron tres repeticiones de cada análisis y el FPS se calculó según la fórmula propuesta por Mansur (Mansur y cols., 1986).

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

En la presente investigación se realizó el estudio fitoquímico preliminar y se determinó el factor de protección solar *in vitro* de los extractos obtenidos de los tallos, flores, frutos y hojas de *Azadirachta indica*, utilizando la técnica de reflujo y como solventes hexano y etanol. A continuación, se presenta el rendimiento obtenido para cada extracto:

Tabla 1. Determinación del rendimiento porcentual a partir del peso de las partes vegetales y sus extractos.

Partes de la planta (molidos)	Peso (g)	Peso del extracto		Rendimiento de los extractos	
		Extracto de EtOH (g)	Extracto de Hex (g)	Extracto de EtOH %	Extracto de Hex %
Tallos	302	77,91	78,54	25,79	26,0
Hojas	294	77,28	80,15	26,28	27,26
Flores	43,17	8,9	9,2	20,61	21,31
Frutos	92,07	15,4	16,6	16,72	18,03

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Ensayo fitoquímico preliminar

Se realizó un análisis cualitativo de los extractos obtenidos de la planta *Azadirachta indica*, aplicando una serie de pruebas químicas estándar para identificar los metabolitos secundarios en las muestras. La detección de estos compuestos se basó en cambios observables, tales como alteraciones en el color, formación de precipitados, cambios en la claridad de la solución, generación de espuma y la emisión de fluorescencia bajo luz UV. Estas reacciones químicas proporcionaron evidencia de los metabolitos secundarios presentes en los extractos, como se detalla en la tabla 2, figuras 16-22.

Los resultados indicaron que los extractos de etanol de las hojas y las flores contienen alcaloides. Además, se confirmó la presencia de fenoles, flavonoides y glucósidos en los extractos de etanol de los tallos, flores y hojas. Por otro lado, las quinonas estuvieron presentes en los extractos de etanol y hexano de las flores y los frutos. También, se identificaron taninos en los extractos de etanol de los tallos. Finalmente, se observó la presencia de triterpenos y esteroides en todos los extractos examinados.

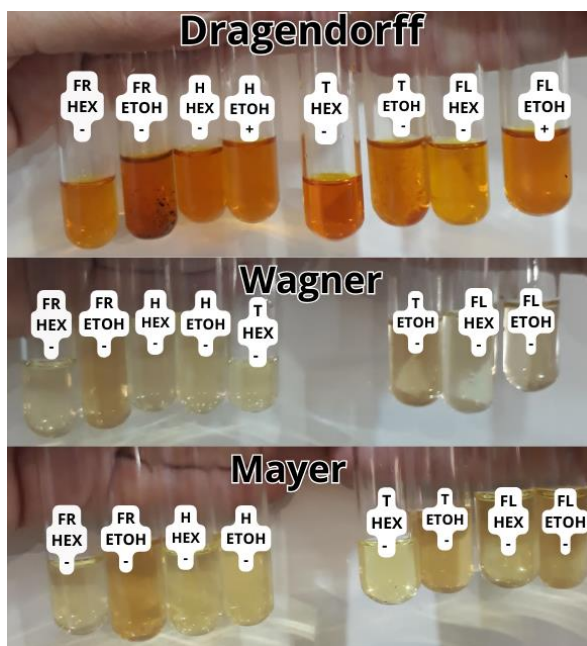
Tabla 2. Resultados del ensayo fitoquímico de los extractos de tallos, hojas, flores y frutos *A. indica*.

Metabolitos/ Pruebas químicas	Tallos		Hojas		Flores		Frutos	
	Hex	EtOH	Hex	EtOH	Hex	EtOH	Hex	Et1OH
Fenoles Tricloruro férico	ND	+++	ND	+	ND	+++	ND	-
Flavonoides Shinoda NaOH 10%	-	+++	-	+	-	+++	-	-
	-	-+	-	-	-	+	-	-
Taninos Gelatina al 1 %	ND	+	ND	-	ND	-	ND	ND
Triterpenos y Esteroles Liebermann- Burchard	Rojo +	Rojo +	Rojo +	Verde +	Rojo/ verde + +	Verde +	Rojo +	
Quinonas H ₂ SO ₄	-	-	-	-	+	+	+	+
Cumarinas NH ₄ OH	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas Espuma	ND	-	ND	-	ND	-	ND	-
Glicósidos H ₂ SO ₄	ND	+	ND	+	ND	+	ND	-
Alcaloides Dragendorff Wagner Mayer	-	-	-	++	-	++	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-

Leyenda: (+): Bajo, (++) Moderado, (+++) Abundante (-): Ausente; **ND:** No determinado;

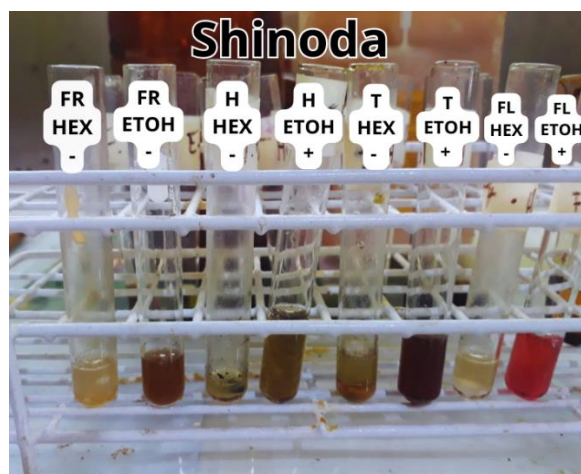
HEX: Hexano; **EtOH:** Etanol.

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.



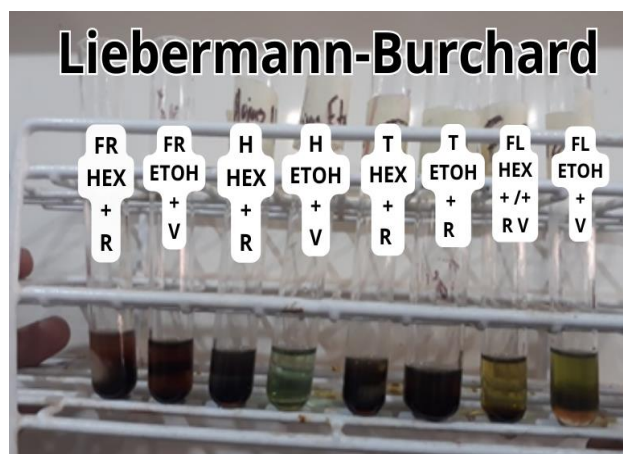
Leyenda: FR: fruto, H: hojas, T: tallo, FL: flores, HEX: hexano, ETOH: etanol, +: positivo, -: negativo.

Figura 16. Reporte ilustrado de los resultados de alcaloides en los extractos de *A. indica*.



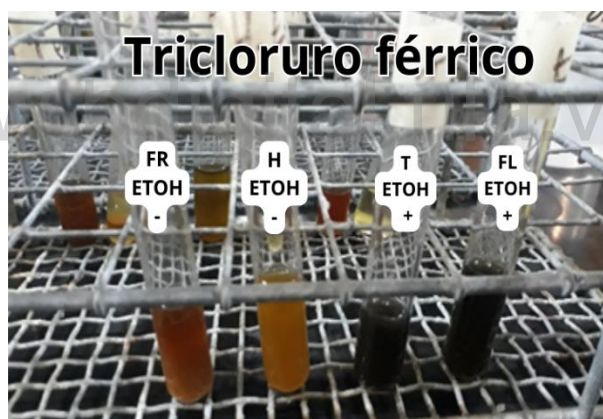
Leyenda: FR: fruto, H: hojas, T: tallo, FL: flores, HEX: hexano, ETOH: etanol, +: positivo, -: negativo.

Figura 17. Reporte ilustrado de los resultados de flavonoides en los extractos de *A. indica*.



Leyenda: FR: fruto, H: hojas, T: tallo, FL: flores, HEX: hexano, ETOH: etanol, +: positivo, -: negativo.

Figura 18. Reporte ilustrado de los resultados de triterpenos y esteroides en los extractos de *A. indica*.



Leyenda: FR: fruto, H: hojas, T: tallo, FL: flores, HEX: hexano, ETOH: etanol, +: positivo, -: negativo.

Figura 19. Reporte ilustrado de los resultados de fenoles en los extractos de etanol de *A. indica*.



Leyenda: FR: fruto, H: hojas, T: tallo, FL: flores, HEX: hexano, ETOH: etanol, +: positivo, -: negativo.

Figura 20. Reporte ilustrado de los resultados de quinonas en los extractos de *A. indica*.



Leyenda: T: tallo, ETOH: etanol, +: positivo, -: negativo, P: Patrón.

Figura 21. Reporte ilustrado de los resultados de taninos en los extractos de etanol de *A. indica*.



Leyenda: FR: fruto, H: hojas, T: tallo, FL: flores, HEX: hexano, ETOH: etanol, +: positivo, -: negativo.

Figura 22. Reporte ilustrado de los resultados de glicósidos en los extractos de etanol de *A. indica*.

Contenido de Fenoles Totales

El contenido de fenoles totales en cada extracto corresponde al promedio de tres mediciones independientes. Los resultados se presentan como la concentración en microgramos de Ácido Gálico por miligramo de muestra ($\mu\text{g AG/mg muestra}$) $\pm$ la Desviación Estándar (DE), tal como se muestra en la Tabla 3. Con base en la curva de calibración del Ácido Gálico (Tabla 4, Gráfico 1), que sirve como patrón de referencia. Los cálculos se realizaron utilizando la ecuación de regresión lineal obtenida a partir de las absorbancias medidas, expresada como $Y=0,0285x + 0,00227$). Los resultados indicaron que los valores de los extractos de etanol obtenidos de las hojas, tallos y flores fueron de $36,254 \pm 0,506 \mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$; $35,242 \pm 0,467 \mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$ y $62,570 \pm 0,191 \mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$, respectivamente.

Tabla 3. Resultados obtenidos del contenido total de compuestos fenólicos de *Azadirachta indica*.

Extractos etanólicos	Concentración (mg/mL)	Promedio Concentración en $\mu\text{g Ácido gálico/mg Muestra } \mu\text{g DE}$
Hojas	0,5	$36,254 \pm 0,506$
Tallos	0,5	$35,242 \pm 0,467$
Flores	0,5	$62,570 \pm 0,191$

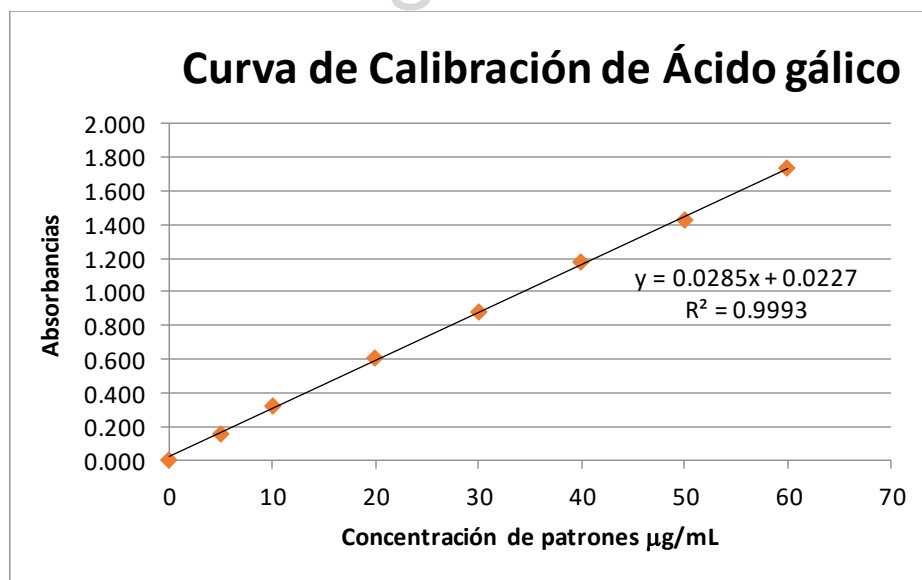
Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Tabla 4. Datos para la curva de calibración con ácido gálico

Muestras	Concentración de Patrones	Absorbancias Promedio	Desviación Estándar
Ácido Gálico (mg/mL)	0	0,000	0,00
	5	0,159	0,00
	10	0,322	0,01
	20	0,612	0,00
	30	0,881	0,01
	40	1,175	0,01
	50	1,424	0,00
	60	1,730	0,00

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Gráfico 1. Curva de calibración de ácido gálico



Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Contenido de Flavonoides

La determinación de flavonoides en los extractos se realizó tomando el promedio de tres mediciones por separado, y se expresó como la concentración en microgramos de Quercetina por miligramo de muestra $\pm$ la Desviación Estándar (DE), según se presenta en la Tabla 5. Para los cálculos, se utilizó la curva de calibración de quercetina (Tabla 6, Gráfico 2), que se usó como estándar de referencia, Los cálculos se realizaron aplicando la ecuación de regresión lineal a partir de las absorbancias obtenidas ($y=0,0227x-0,0294$). Los resultados mostraron que los extractos de de etanol de las hojas, tallos y flores presentaron valores de $36,227 \pm 0,183 \mu\text{g QE/mg Muestra} \pm \text{DE}$; $10,270 \pm 0,833 \mu\text{g QE/mg Muestra} \pm \text{DE}$ y $22,608 \pm 1,771 \mu\text{g QE/mg Muestra} \pm \text{DE}$, respectivamente.

Tabla 5. Contenido total de flavonoides de los extractos de *Azadirachta indica*.

Extractos de etanol	Concentración (mg/mL)	Promedio Concentración en μg Quercetina/mg Muestra $\pm$ DE
Hojas	0,5	$36,227 \pm 0,183$
Tallos	0,5	$10,270 \pm 0,833$
Flores	0,5	$22,608 \pm 1,771$

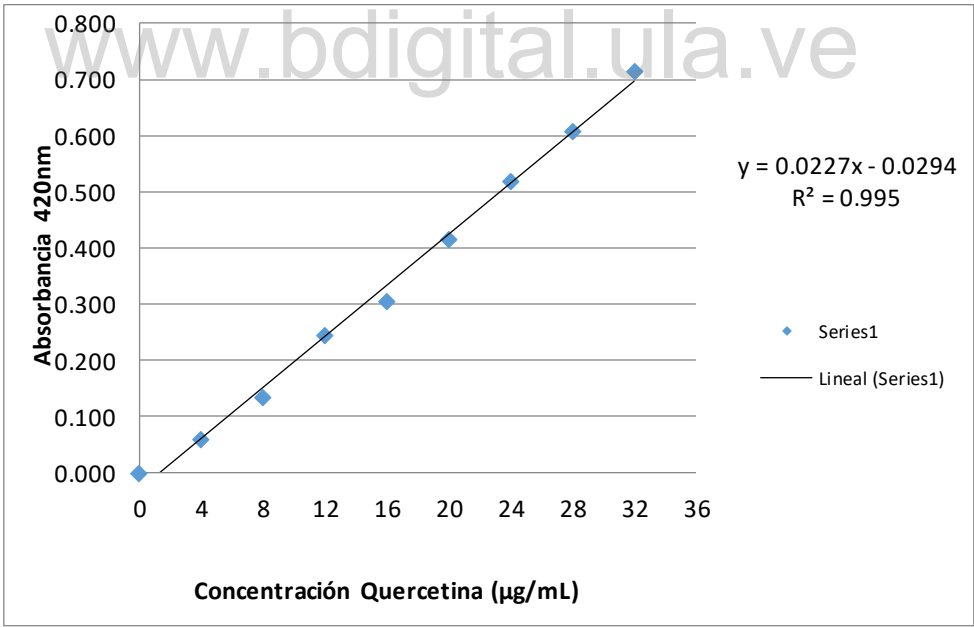
Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Tabla 6. Datos para curva de calibración de la quercetina.

Muestra	Concentración	λ_1	λ_2	λ_3	Promedio
Quercetina	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	4	0,055	0,060	0,063	0,059
	8	0,136	0,131	0,134	0,134
	12	0,269	0,236	0,234	0,246
	16	0,294	0,307	0,314	0,305
	20	0,422	0,415	0,412	0,416
	24	0,516	0,523	0,514	0,518
	28	0,612	0,607	0,602	0,607
	32	0,723	0,707	0,716	0,715

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Gráfico 2. Curva de calibración de la quercetina.



Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Factor de Protección Solar

En relación al Factor de Protección Solar (FPS), se determinó *in vitro* mediante el método de Mansur, para lo cual se prepararon tres muestras de cada extracto con una concentración final de 0,2 mg/mL, posteriormente se determinaron las absorbancias en el rango de 290 a 320 nm. Utilizando los datos de las absorbancias obtenidas, se aplicó la fórmula desarrollada según el método de Mansur (Mansur y cols., 1986), obteniendo que los extractos de etanol de las hojas, frutos, tallos y flores presentaron un FPS de 6,439; 2,447; 10,088 y 8,678, respectivamente (tablas 7,8,9 y 10).

Tabla 7. Resultados del FPS del extracto de etanol de hojas de *A. indica*

Longitud de onda	Abs M1	Abs M2	Abs M3	Abs Promedio	EE * I	FC	FPS Calc	Desviación estándar
290	0,6570	0,8190	0,7560	0,744	0,015	10	0,112	0,0817
295	0,6250	0,7670	0,7120	0,701	0,0817	10	0,573	0,0716
300	0,5920	0,7290	0,6840	0,668	0,2874	10	1,921	0,0698
305	0,5670	0,6930	0,6530	0,638	0,3278	10	2,090	0,0644
310	0,5460	0,6630	0,6290	0,613	0,1868	10	1,144	0,0602
315	0,5270	0,6360	0,6080	0,590	0,0839	10	0,495	0,0566
320	0,5160	0,6120	0,5950	0,574	0,018	10	0,103	0,0512
Factor de Protección Solar							6,439	
Abs: Absorbancia M1: Muestra 1; M2: Muestra 2; M3: Muestra 3 EE * I: Efecto eritemogénico de la radiación de la longitud de onda FPS Calc: Factor de protección solar calculado								

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Tabla 8. Resultados del FPS del extracto de etanol de frutos de *A. indica*.

Longitud de onda	Abs M1	Abs M2	Abs M3	promedio	EE * I	FC	FPS Calc	Desviacion estandar
290	0,3400	0,2460	0,3670	0,318	0,015	10	0,048	0,0635
295	0,3040	0,2180	0,3250	0,282	0,0817	10	0,231	0,0567
300	0,2800	0,2000	0,2970	0,259	0,2874	10	0,744	0,0518
305	0,2600	0,1850	0,2740	0,240	0,3278	10	0,786	0,0479
310	0,2480	0,1750	0,2580	0,227	0,1868	10	0,424	0,0453
315	0,2330	0,1630	0,2420	0,213	0,0839	10	0,178	0,0432
320	0,2220	0,1550	0,2300	0,202	0,018	10	0,036	0,0412
Factor de Protección Solar							2,447	
M1: Muestra 1; M2: Muestra 2; M3: Muestra 3 EE * I: Efecto eritemogénico de la radiación de la longitud de onda FPS Calc: Factor de protección solar calculado								

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Tabla 9. Resultados del FPS del extracto de etanol de tallos de *A. indica*

Longitud de onda	Abs M1	Abs M2	Abs M3	Abs promedio	EE * I	FC	FPS Calc	Desviación estándar
290	1,2620	1,5230	1,2400	1,342	0,015	10	0,201	0,1574
295	1,1480	1,3880	1,1530	1,230	0,0817	10	1,005	0,1371
300	1,0430	1,2560	1,0250	1,108	0,2874	10	3,184	0,1285
305	0,9380	1,1230	0,9200	0,994	0,3278	10	3,257	0,1124
310	0,8420	1,0020	0,8240	0,889	0,1868	10	1,661	0,0980
315	0,7410	0,8770	0,7260	0,781	0,0839	10	0,656	0,0832
320	0,6520	0,7670	0,6400	0,686	0,018	10	0,124	0,0701
Factor de Protección Solar							10,088	
M1: Muestra 1; M2: Muestra 2; M3: Muestra 3 EE * I: Efecto eritemogénico de la radiación de la longitud de onda FPS Calc: Factor de protección solar calculado								

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

Tabla 10. Resultados del FPS del extracto de etanol de flores de *A. indica*

Longitud de onda	Abs M1	Abs M2	Abs M3	Abs promedio	EE * I	FC	FPS Calc	Desviación estándar
290	0,9880	0,8860	0,9880	0,954	0,015	10	0,143	0,0589
295	0,9830	0,8800	0,9830	0,949	0,0817	10	0,775	0,0595
300	0,9420	0,8450	0,9420	0,910	0,2874	10	2,614	0,0560
305	0,8910	0,8010	0,8910	0,861	0,3278	10	2,822	0,0520
310	0,8480	0,7620	0,8480	0,819	0,1868	10	1,531	0,0497
315	0,8060	0,7330	0,8060	0,782	0,0839	10	0,656	0,0421
320	0,7870	0,7130	0,7870	0,762	0,018	10	0,137	0,0427
Factor de Protección Solar							8,678	
M1: Muestra 1; M2: Muestra 2; M3: Muestra 3 EE * I: Efecto eritemogénico de la radiación de la longitud de onda FPS Calc: Factor de protección solar calculado								

Fuente: Vergel, Vivas y Pérez, 2024.

www.bdigital.ula.ve

Discusión

En este estudio se realizaron extracciones por reflujo utilizando hexano y etanol en diversas partes de la planta *Azadirachta indica*, obteniendo extractos que, mediante análisis químicos cualitativos, demostraron contener metabolitos secundarios tales como alcaloides, fenoles, triterpenos, esteroides, flavonoides, quinonas, taninos y glucósidos. Los datos presentados en la tabla 2 indican una concentración moderada de alcaloides en los extractos de etanol de las hojas y flores. Por otro lado, los fenoles y flavonoides se encontraron en altas concentraciones en los extractos de etanol de los tallos y flores. Los glucósidos se detectaron en baja presencia en los extractos de etanol de tallos, hojas y flores, mientras que los taninos se identificaron únicamente en los extractos de etanol de los tallos. Por su parte, las quinonas presentaron bajas concentraciones en ambos extractos de las flores y los frutos. Finalmente, la prueba de Liebermann-Burchard confirmó la presencia de triterpenos y esteroides en todos los extractos examinados.

Tras llevar a cabo un detallado análisis de la literatura científica relacionada con la caracterización fitoquímica de los extractos de la especie *A. indica*, se observó una composición química notablemente uniforme en muestras obtenidas de distintos países. Según Widiyana e Illian, 2022a, los compuestos predominantes son los flavonoides, esteroides, triterpenos y taninos.

Durante la investigación fitoquímica, se verificó la existencia de compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales han sido reconocidos en estudios previos y que podrían tener una relación con la actividad fotoprotectora. Mediante el método de Folin-Ciocalteu, se midió la concentración de fenoles totales. Se observó que los extractos de etanol de las flores contienen una cantidad superior de fenoles ($62,570 \pm 0,191 \mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$). Por otro lado, los extractos de etanol de las hojas y

tallos mostraron una cantidad menor siendo de $36,254 \pm 0,506 \mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$, para las hojas y $35,242 \pm 0,467 \mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$ para los tallos. De acuerdo con lo reportado por los investigadores Kumar, Sharma y Devi (2018), los compuestos fenólicos poseen propiedades antioxidantes que ofrecen protección frente a los radicales libres que pueden dañar células y tejidos. Los hallazgos de este estudio sugieren que la especie *A. indica* puede ser considerada como una fuente significativa de fitoquímicos con capacidad antioxidante.

De igual manera, la cuantificación de flavonoides totales se realizó utilizando el método colorimétrico con cloruro de aluminio. Los resultados evidenciaron que el extracto de etanol de las hojas presentó la mayor concentración con $(36,227 \pm 0,183 \text{ QE/mg Muestra } \pm \text{ DE})$, seguido por el extracto de las flores con $(22,608 \pm 1,771 \text{ QE/mg Muestra } \pm \text{ DE})$ y finalmente, el extracto de los tallos con la menor concentración de flavonoides $(0,270 \pm 0,833 \text{ QE/mg Muestra } \pm \text{ DE})$. Esto respalda lo informado por Widiyana e Illian, 2022a, quienes afirmaron que la especie *A. indica* posee una cantidad significativa de flavonoides en sus hojas. Así mismo, confirmamos la relación entre los flavonoides y la protección contra la radiación ultravioleta, ya que Mejía, Atehortúa y Puertas, 2014, describieron que los flavonoides, conocidos como pigmentos no fotosintéticos, son parte de los mecanismos de defensa de las plantas. Estos compuestos actúan como filtros solares absorbiendo la radiación UV y disipando energía excesiva, además de tener propiedades antioxidantes que protegen a las plantas del estrés oxidativo causado por la luz UV.

En el estudio del Factor de Protección Solar (FPS), se aplicó la metodología de Mansur. Se determinó que el extracto de etanol de los tallos presentó una capacidad fotoprotectora superior ($\text{FPS}= 10,088$) que los extractos de las flores ($\text{FPS}=8,678$), hojas ($\text{FPS}=6,439$) y frutos ($\text{FPS}=2,447$). Según la Asociación Europea de Cosmética y Perfumería (COLIPA) (cuadro 5), estos índices corresponden a una protección media en los tallos y las

flores y baja en las hojas y los frutos; mientras que la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) (cuadro 6) los clasifica como alta protección para los tallos y las flores y moderada para las hojas y los frutos. Los hallazgos pueden relacionarse con la presencia de fenoles, flavonoides y taninos en la especie *A. indica*, identificados mediante el análisis fitoquímico. Estos compuestos, son conocidos por sus propiedades antioxidantes y actúan como filtros solares naturales, ofreciendo una protección significativa contra la radiación UV (Kumar, Sharma y Devi, 2018).

Aunque las hojas presentan una mayor cantidad de flavonoides, su capacidad fotoprotectora no es tan alta debido a la compleja interacción de múltiples compuestos en el extracto y la sinergia entre ellos, así como las propiedades específicas de los flavonoides presentes (Widiyana e Illian, 2022b). La combinación y concentración de fenoles, taninos, triterpenos, esteroides y otros compuestos en los tallos y las flores resultan en una mayor eficacia fotoprotectora, subrayando la importancia de la composición fitoquímica integral para la protección UV.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El tamizaje fitoquímico cualitativo realizado a los extractos de *A. indica* permitió determinar la presencia de fenoles, triterpenos, esteroides, flavonoides, taninos, quinonas y glucósidos en concentraciones variables según la parte de la especie y el solvente utilizado.

La medición de fenoles usando el método Folin-Ciocalteu en el extracto de etanol de las flores reveló una concentración más elevada ($62,570 \pm 0,191$ $\mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$) en comparación con los extractos obtenidos de los tallos y las hojas, los cuales presentaron $36,254 \pm 0,506$ $\mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$ y $35,242 \pm 0,467$ $\mu\text{g AG/mg muestra } \mu\text{g DE}$, respectivamente.

La cuantificación de flavonoides utilizando el método del cloruro de aluminio reveló que el extracto de etanol de las hojas contenía la concentración más alta, con un valor de $36,227 \pm 0,183$ QE/mg Muestra $\pm$ DE. Esta cantidad fue significativamente mayor en comparación con los extractos de las flores, que presentaron $22,608 \pm 1,771$ QE/mg Muestra $\pm$ DE y los tallos, con solo $0,270 \pm 0,833$ QE/mg Muestra $\pm$ DE.

El método de Mansur para determinar el FPS demostró que los extractos de etanol de los tallos (10,088) y las flores (8,678) de *A. indica* poseen una eficacia fotoprotectora mayor que los extractos de etanol de las hojas (6,439) y los frutos (2,447).

El presente estudio ha revelado que la especie *A. indica* tiene una composición abundante en metabolitos secundarios. Estos hallazgos,

muestran una correlación entre altos factores de protección solar (FPS) y las concentraciones de fenoles, flavonoides y taninos, los resultados obtenidos proporcionan información para futuras investigaciones orientadas al desarrollo de protectores solares más efectivos y seguros derivados de compuestos naturales.

Recomendaciones

- Llevar a cabo la prueba del Factor de Protección Solar (FPS) *in vivo* para verificar la eficacia fotoprotectora y corroborar los datos obtenidos previamente en pruebas de FPS *in vitro*.
- Desarrollar formulaciones de protectores solares, tales como cremas, lociones o geles, utilizando extractos de *Azadirachta indica*. Estos productos están diseñados para ofrecer una barrera eficaz contra los dañinos rayos UV, aprovechando las propiedades naturales del extracto de la planta, conocida por sus beneficios dermatológicos.
- Realizar otras investigaciones para evaluar la capacidad antioxidante de las diferentes partes de *Azadirachta indica*.
- Cuantificar taninos en el extracto de etanol de los tallos.
- Es esencial continuar con la investigación sobre esta planta, que posee componentes valiosos para el desarrollo en el campo de los productos naturales.

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Aboelsoud, N. (2010). Medicina herbaria en el antiguo Egipto. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 82-86.
- Ávalos, A., y Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de las plantas. *Reduca*, 2(3), 119-145.
- Bangar, S., Bankar, S., Vibhute, A., Yadav, A., Pednekar, H., Dsilva, L., y Patil, S. (2024). Revisión sobre el abordaje terapéutico del tratamiento antiacné por parte de *Azadirachta indica* y *Ocimum gratissimum*. *Revista mundial de investigaciones y reseñas avanzadas*, 22(02), 165–174.
- Battle, C. (2005). Factor de protección solar. *Offarm: Farmacia y Sociedad*, 24(6), 65-72.
- Buitrago, A., Rojas, J., y Torres, L. (2022). Actividad antioxidante y factor de protección solar de dos especies de *Vismia* recolectadas de los Andes venezolanos. *Revista Ciencia e Ingeniería*, 43(1), 33-40.
- Bruneton, J. (2001). Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales (2ª ed.). Zaragoza, España: Acribia.
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N., y Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Colombia Forestal*, 12(1), 161-170.
- Castillo, G., Zavala, D., y Carrillo, M. (2017). Análisis fitoquímico: Una herramienta para develar el potencial biológico y farmacológico de las plantas. *Revista Académica de Investigación*, 8(24), 71-86.
- Chávez, M., y Domine, M. (2013). Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 4(4), 15-46

- Corning, P. (1998). "La hipótesis del sinergismo": Sobre el concepto de sinergia y su papel en la evolución de sistemas complejos. *Journal of Social and Evolutionary Systems*, 21(2), 133-172.
- Coronado, H., Vega, M., León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., y Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206-212.
- Cruzado, M., Pastor, A., Castro, N., y Cedrón, J. (2013). Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 79(1), 57-63.
- Domínguez, X. (1979). Métodos de Investigación Fitoquímica. México: Editorial Limusa.
- Echavarría, B., Franco, A., y Martínez, A. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano. *Revista Vitae*, 16(1), 126-131.
- Fajre, X., Barría, K., y Muñoz, C. (2002). Exposición solar y fotoprotección. *Revista Chilena de Medicina Familiar*, 3(3), 113-118.
- Fong, O., Berenguer C., De la Vega J., Wawoe N., y Puente, E. (2014). Potencial antioxidante de un extracto acuoso de hojas del NIM (*Azadirachta indica*. A Juss). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(2), 205-207.
- Fors, M., González, P., Viada, C., Falcon, K., y Palacios, S. (2020). Vigencia de la Clasificación de Fototipos de Piel de Fitzpatrick en Ecuador. *Advances in Skin & Wound Care*, 33(12), 1–5.
- Girish, K., y Shankara, B. (2008). Neem: un tesoro verde. *Electronic Journal of Biology*, 4(3), 102-111.
- Guerra, A. (2018). Indicaciones y aplicaciones de la fotoprotección. *Revista de Educación Superior*, 12(47), 2811-2814.

- Gutiérrez, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), 126-33.
- Gutiérrez, L., Romero, A., Chávez, G., Palomino, L., Moromisato, L., y Kitazono, A. (2017). Comparación de los efectos fotoprotectores de lociones bloqueadoras usando mediciones espectrofotométricas o la sobrevivencia de células de levaduras expuestas a radiación UV. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(3), 294-307.
- He, S., Wu, J., Zheng, Y., Zhang, Y., Li, S., y Peng, X. (2022). El genoma completo del cloroplasto del género *Azadirachta*. *Mitochondrial DNA. Part B, Resources*, 7(7), 1267–1269.
- Hernández, V., Mora, F., Rojas, L., y Meléndez, F. (2014). Análisis del aceite esencial de las hojas de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae). *Revista Facultad de Farmacia*, 56(1), 18-20.
- Hernández, S., Fernández, C., y Baptista, P. (2010). *Metodología de la investigación* (5ª ed.). México: McGraw Hill Interamericana.
- Heya, M., Rodríguez, R., Guillén, G., González, E., García, D., Cordero, A., García, R., y Galindo, S. (2022). Actividad fotoprotectora *in vitro* de extractos vegetales. *Revista Brasileña de Desarrollo*, 8(4), 30472–30483.
- Hurtado, J. (2008). *El Proyecto de la Investigación* (6.ª ed.). Caracas, Venezuela: Ediciones Quirón.
- Kabashima, K., Honda, T., Ginhoux, F., y Egawa, G. (2019). Anatomía inmunológica de la piel. *Nature Reviews Immunology*, 19(1), 19–30.
- kabera, J., Semana, E., Mussa, A., y He, X. (2014). Metabolitos secundarios de plantas: Biosíntesis, clasificación, función y clasificación farmacológica, función y propiedades farmacológicas. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377-392.
- Kumar, S., Sharma, U., y Devi, A. (2018). Propiedades antioxidantes y fotoprotectoras de los compuestos fenólicos. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 183, 93-103.

- Lasheras M., y Cobo, D. (2019). Conceptualización de la piel en la persona desde la perspectiva del cuidado: una aproximación desde su pérdida. *Ene*, 13(2), 1328.
- Ma, Y., y Yoo, J. (2021). Historia del protector solar: una visión actualizada. *Revista Cosmética Dermatol*, 20(4), 1044–1049.
- Mansur, J., Breder, M., Mansur, M., y Azulay, R. (1986). Determinación del factor de protección solar mediante espectrofotometría. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 61(3), 121-124.
- Mansuri, R., Diwan, A., Kumar, H., Dangwal, K., y Yadav, D. (2021). Potencial de los compuestos naturales como agentes de protección solar. *Pharmacognosy Reviews*, 15(29), 47-56.
- Marín, D y del Pozo, A. (2005). Fototipos cutáneos. Conceptos generales. *Offarm: farmacia y sociedad*, 24(5), 136-137.
- Mejía, J., Atehortúa, L., y Puertas, M. (2014). Foto-protección: mecanismos bioquímicos, punto de partida hacia mejores filtros solares. *Dermatología CMQ*, 12(4), 272-281.
- Méndez L, Rojas, J., Contreras, B., Velasco, J., Rosezweig, P. y Celis, M. (2018). Actividades biológicas analizadas en los extractos de *Jatropha curcas* Linn. *Ciencia e Ingeniería*, 39(2), 153-160.
- Oyedeji, M., Sadgrove, N., y Van, B. (2021). La etnobotánica y la química de las meliáceas sudafricanas: Una revisión. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(9), 1796.
- Palella, S., y Martins, F. (2017). *Metodología de la investigación cuantitativa* (4ta ed.). Fondo Editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertador (FEDUPEL).
- Paredes, L., Charca, J., y Veleto, M. (2023). Prototipo de un espectrofotómetro modular para la enseñanza de la química. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 20(2), 240201.

- Pijoan, M. (2004). El neem. *Revista Offarm*, 13(5), 128-133.
- Pittier, H., Lasser, L., Schnee, Z., y Badillo, V. (1945). Catálogo de la flora venezolana: Tomo I. Comité Organizador-Tercera Conferencia Interamericana de Agricultura. Venezuela.
- Prudencio, J., y Bustamante, E. (2018). Determinación *in vitro* de la actividad fotoprotectora UVB en una crema de protección solar formulada con extracto hidroglicólico de *Lepidium meyenii* (Maca). Tesis profesional. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Reyes, A., Reyes, A., Aguilar, C., y Carrillo M. (2017). Propiedades antioxidantes de infusiones de neem (*Azadirachta indica*) encapsuladas con proteína de soya. *Nova scientia*, 9(18), 167-185.
- Riyadi, S., Naini, A., y Supratman, U. (2023). Sesquiterpenoides de la familia Meliaceae y sus actividades biológicas. *Molecules*, 28(12), 4874.
- Rojas, L., Jaramillo, C., y Lemus, M. (2015). Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios (1ra ed.). Ecuador: Ediciones Utmach.
- Sanz, C., Pérez, M., y Cortijo, J. (2021). La radiación solar y la fotoprotección. *Actualidad en Farmacología y Terapéutica*, 19(2), 88-108.
- Sánchez, F., y Monroy, M. (2007). Cultivos de células en suspensión de *Azadirachta indica* para la producción de un bioinsecticida. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(3), 251-258.
- Sáyago, S. (2013). Antioxidantes: En alimentos y salud. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 36(3), 263-264.
- Shaikh, J., y Patil, M. (2020). Pruebas cualitativas para la detección fitoquímica preliminar: una descripción general. *Revista de farmacognosia y fitoquímica*, 8(2), 603-608.
- Sharapin, N., y Pinzón, R. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (1ª ed.). Santafé de Bogotá, Colombia: Convenio

Andrés Bello: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.

- Stevanato, R., Bertelle, M., y Fabris, S. (2014). Características fotoprotectoras de los polifenoles antioxidantes naturales. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 69(1), 71-771
- Varela, C. (2010). La familia Meliaceae en los herbarios de Venezuela: Clave para los géneros venezolanos. *Acta Botánica Venezuelica*, 33(1), 137-150.
- Valcárcel, M., y Gómez, A. (1988). Técnicas analíticas de separación. Barcelona, España: Editorial Reverté.
- Vega, C. (2014). Identificación de metabolitos bioactivos de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). *La Calera*, 14(23), 60–66.
- Vera, L. (2022). Actualización en fotoprotección. *Cuadernos Hospital de Clínicas*, 63(1), 64-75.
- Viña, S. (2013). Compuestos fenólicos. En J. Ringuet, M. Arango, R. Yordaz, y C. Henning (Eds.), *Productos naturales vegetales* (pp. 91-150). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).
- Vitale, M. (2002). Fotoprotección: Conceptos básicos y actualización. *Revista Peruana de Dermatología*, 12(2), 149-154.
- Widiyana, A., e Illian, D. (2022a). Análisis fitoquímico y contenido total de flavonoides en extracto de etanol y acetato de etilo de hojas de neem (*Azadirachta indica juss*). Utilizando espectrofotométrica UV-VIS. *Revista de Farmacia Científica y Práctica*, 8(1), 60-65.
- Widiyana, G. R., & Illian, D. (2022b). Composición fitoquímica y efectos sinérgicos de metabolitos secundarios en extractos de *Azadirachta indica*. *Revista de Investigac*
- Wylie, M., y Merrell, D. (2022). El potencial antimicrobiano del árbol de neem *Azadirachta indica*. *Frontiers in pharmacology*, 13, 891535.

Zhang, W. J., y Björn, L. O. (2009). El efecto de la radiación ultravioleta en la acumulación de compuestos medicinales en las plantas. *Fitoterapia*, 80(4), 207–218.

Zorrilla, A. (2002). El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 21(3), 178-185.

www.bdigital.ula.ve