



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”



Actividad fotoprotectora y composición química de la corteza de
Tabebuia sp

Trabajo presentado ante la Ilustre Universidad de Los Andes para optar al título
de Licenciada en Bioanálisis

Autor: Lobo Paredes Ysamar Anyelina

C.I: 18.985.279

Tutor: Prof. Pérez Alida

Mérida, Octubre 2019

DEDICATORIA

Hoy, al alcanzar una de mis metas luego de recorrer un largo camino con constancia, dedicación y esfuerzo, deseo dedicarle este triunfo:

A Dios Todopoderoso, por darme el privilegio de vivir y de iluminarme en mi camino, enviándome el don de la inteligencia y la sabiduría para saber que sendero elegir.

A mi Mamá, quien con mucho sacrificio y esfuerzo me ha ayudado y apoyado en todas las decisiones que he tomado a lo largo de mi vida, aunque tarde le doy esta alegría espero estés orgullosa de mi.

A mis hermanos Gil y Xavier, quienes de una u otra manera me han apoyado en el camino, este logro también es de ustedes.

A mi hermana Elizabeth, estoy segura que desde donde estas te sientes orgullosa por el logro que he alcanzado, te extraño mucho y desde el cielo cuídanos siempre.

A mi hija Yoelymar, por quien hago todo lo q hago este logro es por y para ti, que te sirva de ejemplo de lucha y perseverancia en las metas que te desees trazar en la vida TE AMOOOOOOO.

A mi sobrino Sebastian, a quien quiero mucho, que este triunfo te sirva como ejemplo a seguir en un futuro.

Ysamar Lobo

AGRADECIMIENTO

A Dios y la Virgen de Coromoto, por no dejar que nunca decayera, son mi mayor fuente de sabiduría. Eternamente agradecido.

A mis compañeras de estudio, con quienes compartí grandes momentos a lo largo de esta etapa: Anni, Jael, María, Zurima, Lilibeth, Osmary, Rosmary. Éxitos amigas.

A mi tutora Profesora Alida Pérez, por confiar en mí y aceptarme como su tesista brindándome nuevos conocimientos para lograr esta meta tan anhelada, admiro su vocación al trabajo que desempeña. **Dios le pague**

A las profesoras Ysbelia Obregón y Rosa Aparicio, por su dedicación y tiempo en el logro de esta meta, ustedes son excelentes en lo que hacen. **Gracias.**

A la ilustre Universidad De Los Andes, al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” y a todos sus profesores, por permitirme formarme en mi carrera impartiendo sus conocimientos y apoyándome en etapas claves.

A quienes de una u otra manera me apoyaron desde el comienzo y otros que se unieron en el camino, gracias por estar allí cuando lo necesitaba. **Gracias y Éxitos.**

Ysamar Lobo

Tabla de Contenido

	Pág.
Índice de Tablas.....	viii
Índice de Figuras.....	iv
Índice de Gráficos.....	v
Resumen.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA	
Planteamiento del Problema.....	4
Justificación e Importancia de la Investigación.....	5
Objetivos de la Investigación.....	7
Objetivo General.....	7
Objetivos Específicos.....	7
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	8
Alcances de la Investigación.....	8
Limitaciones de la Investigación.....	8
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
Trabajos Previos.....	9
Antecedentes Históricos.....	12
Bases Teóricas.....	14
Familia Bignoniaceae.....	14
Género <i>Tabebuia</i>	17
Productos Naturales.....	26
Extractos Vegetales.....	31
Análisis Fitoquímico.....	33
Radiación Solar.....	36
La Piel.....	38
Protectores Solares.....	44
Factor de Protección Solar.....	48
Definición Operacional de Términos.....	54

Operacionalización de Variables.....	56
Hipótesis.....	58
CAPÍTULO III: Marco Metodológico	
Tipo de Investigación.....	59
Diseño de Investigación.....	60
Población y Muestra.....	60
Unidad de Investigación.....	60
Selección del Tamaño de la Muestra.....	60
Sistema de Variables.....	61
Instrumento de Recolección de Datos.....	61
Procedimientos de la Investigación.....	61
Obtención de los extractos.....	63
Análisis fitoquímico preliminar.....	63
Determinación del Factor de Protección Solar.....	65
CAPÍTULO IV: Resultados y Discusión	
Estudio fitoquímico.....	67
Actividad fotoprotectora.....	71
CAPÍTULO V. Conclusiones y Recomendaciones	
Conclusiones.....	78
Recomendaciones.....	79
BIBLIOHEMEROGRAFÍA.....	80

Índice de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Fototipos de Piel y su reacción a la exposición solar.	40
Tabla 2. Clasificación de los fotoprotectores.....	45
Tabla 3: Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda.....	53
Tabla 4. Variable Dependiente. Factor de Protección Solar.....	56
Tabla 5. Variable Independiente.....	57
Tabla 6: Resultados de la caracterización fitoquímica de la corteza de <i>Tabebuia</i> sp.....	68
Tabla 7. Resultados del FPS del extracto de acetona de <i>Tabebuia</i> sp por el método de Mansur.....	72
Tabla 8. Resultados del FPS del extracto de etanol de <i>Tabebuia</i> sp por el método de Mansur.....	72
Tabla 9. Absorbancias del estándar comercial (FPS=15).....	73
Tabla10. Determinación del FPS del extracto de acetona y etanol por el método de Vogelman.....	74
Tabla 11. Resultados del FPS a 308 nm (longitud de onda crítica).....	74
Tabla 12. Resumen de los FPS calculados de los extractos de <i>Tabebuia</i> sp.	75

Índice de Figuras

	Pág.
Figura 1. Algunos compuestos aislados de la familia Bignonaceae.....	16
Figura 2. Algunos compuestos bioactivos aislados del género <i>Tabebuia</i>	24
Figura 3. Naftoquinonas con actividad citotóxica aisladas de <i>T. avellaneda</i>	26
Figura 4: Tipos de radiaciones UV y sus efectos en la piel.....	38
Figura 5: Capas de la Piel.....	39
Figura 6: Corteza de <i>Tabebuia</i> sp.....	62
Figura 7: Ubicación geográfica de la Ciudad de Upata.....	62
Figura 8. Caracterización Fitoquímica de los extracto de la corteza de <i>Tabebuia</i> sp.....	69

Índice de Gráficos

	Pág.
Gráfico 1. FPS de los extractos de <i>Tabebuia</i> sp.....	75

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”



**Actividad fotoprotectora y composición química de la corteza
de *Tabebuia* sp.**

Autor: Ysamar A. Lobo P.

C.I: 18.985.279

Tutor: Prof. Alida A. Pérez C.

RESUMEN

En la presente investigación se estableció la composición química y el factor de protección solar (FPS) de los extractos obtenidos de *Tabebuia* sp. El análisis fitoquímico se realizó cualitativamente mediante pruebas químicas de coloración y/o precipitación. Para evaluar la actividad fotoprotectora se determinó el factor de protección solar *in vitro* empleando los métodos de Mansur (290-320 nm) y Vogelmann (260-360 nm). Con respecto a la composición química, se detectó la presencia de esteroides en el extracto de hexano y de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y quinonas en los extractos de acetona y etanol. En relación con la actividad fotoprotectora, el FPS de los extractos por el método de Mansur fue de 12,92 (acetona) y 7,67 (etanol) y por el método de Vogelmann fue de 12,96 (acetona) y 7,29 (etanol). En este sentido, se logró determinar que los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp contienen metabolitos secundarios que ofrecen un nivel de protección alta (acetona) y media (etanol) contra las radiaciones ultravioleta (tipo B), con lo que se podrían utilizar en formulaciones farmacéuticas cosméticas.

Palabras clave: Bignonaceae, *Tabebuia*, factor de protección solar, fotoprotección.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos muy remotos las plantas han cumplido un papel muy importante en el área terapéutica gracias a las múltiples propiedades que ellas poseen, por esta razón ha ido tomando importancia su estudio y el desarrollo de técnicas analíticas que permiten la determinación e identificación de las sustancias o principios activos contenidos en las especies vegetales. Las plantas elaboran y almacenan productos propios durante su crecimiento, debido a su particular metabolismo, teniendo algunos de ellos valor medicinal aprovechable (Najera, 1983).

La búsqueda de nuevos fármacos de origen vegetal, ha ocupado el interés de farmacognostas y fitoquímicos por muchas décadas; estos se han enfocado en el descubrimiento de sustancias de probada actividad farmacológica sobre trastornos cardíacos, digestivos, cáncer, artritis, psicosis, infecciones. Estudios estadísticos muestran que alrededor de las dos terceras partes de la población mundial se trata con drogas crudas esto es, con las denominadas comúnmente “Yerbas Curativas”, es la naturaleza la que proporciona el punto de partida para los futuros medicamentos (López, 2003).

Las plantas producen diversos principios activos, los cuales no se distribuyen en forma homogénea sino preferentemente en las flores, hojas o raíces y a veces en las semillas, los frutos o en la corteza; además es muy importante tener en cuenta que pueden variar según el hábitat y época de recolección de la

planta. El estudio de estos componentes constituye un importante aporte para la química y farmacología actual (López, 2003).

Desde el punto de vista medicinal (Albornoz, 1980) plantea que existe un gran número de plantas con actividad biológica contra microorganismos, por lo cual son frecuentemente usadas en la industria como conservadores de alimentos, en preparaciones cosméticas y como agentes terapéuticos con un alto rango de aplicación en el caso de infecciones diversas. Sin embargo, Ramos (2009), comenta que esta capacidad difiere de una planta a otra debido a su biodiversidad, ya que el código genético de cada especie vegetal contiene información para producir compuestos químicos diferentes.

En tal sentido, existen numerosas familias de plantas conocidas como árboles, arbustos, hierbas y lianas, algunas son reconocidas como plantas ornamentales especialmente por sus vistosas flores, por la producción de frutos; su utilidad en trabajos diarios, en la producción de utensilios caseros y especialmente por su potencial activo que poseen en la prevención y tratamiento de enfermedades (Acosta, 2008).

En Venezuela, han sido pocos los estudios sobre el género *Tabebuia*, por ello la finalidad de esta investigación es confirmar la relación entre la actividad fotoprotectora y la composición química de los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp en miras de obtener nuevas fuentes farmacológicas naturales para el tratamiento de afecciones causadas por los rayos solares, de igual forma se pretende orientar a estudios farmacológicos posteriores (Acosta, 2008).

En relación a lo expuesto anteriormente, el presente trabajo de investigación se ha estructurado de la siguiente manera: *Capítulo I*, denominado El Problema, contiene los siguientes elementos: Planteamiento del Problema, Justificación e Importancia de la Investigación, Objetivos, Alcances y Limitaciones de la Investigación. *Capítulo II*, llamado Marco Teórico abarca: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Operacionalización de las variables e Hipótesis. *Capítulo III*, titulado Marco Metodológico comprende los siguientes puntos: Tipo y Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Sistemas de Variables, Instrumento de Recolección de Datos y Procedimientos de la Investigación. *Capítulo IV*, denominado Resultados y Discusión. *Capítulo V*, llamado Conclusiones y Recomendaciones.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

En los últimos años se ha presentado un alto índice de radiación solar principalmente por el agotamiento de la capa de ozono, siendo el cuidado de la piel una de las mayores preocupaciones en el mundo; por el incremento de las afecciones como el cáncer. La exposición a la radiación ultravioleta conlleva al daño epidermal y a la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), en consecuencia para prevenir los perjuicios de ésta exposición se utilizan protectores solares con filtros de amplio espectro (Manrique y Ordoñez, 2016).

La situación económica actual, el deterioro del poder adquisitivo de las clases más desposeídas, la crisis de los servicios de atención a la salud y una medicina cada día más costosa, han hecho que se incremente el uso de las plantas como una alternativa válida para enfrentar el proceso salud-enfermedad; práctica que se ve reforzada por el hecho de ser medicamentos de eficacia comprobada. En relación con el uso de las plantas existe un gran desconocimiento sobre como emplearlos, sus principios tóxicos y su dosificación para lograr efectos terapéuticos (Fonnegra y Jiménez, 2007).

Lo expuesto anteriormente resalta la importancia de ésta investigación porque aprovecha la extraordinaria variedad de recursos naturales de nuestro país, desarrollando productos con valor agregado, los cuales brinden efectos curativos y/o preventivos frente a enfermedades relacionadas con el exceso de exposición a

la radiación solar y estrés oxidativo. Por consiguiente, en la presente investigación se deriva la siguiente interrogante:

¿Cuál es la relación entre la actividad fotoprotectora y la composición química de los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp?

Justificación e Importancia de la Investigación

La exposición crónica a las radiaciones ultravioleta (UV) produce efectos secundarios en la piel, como el envejecimiento prematuro, la reducción de la capacidad de respuesta inmunitaria y cáncer. Debido a esto la piel presenta mecanismos de defensa, sin embargo, cuando estos procesos se desequilibran generan estrés oxidativo que daña las membranas celulares, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos promoviendo su oxidación (Reis, Guiamaraes y Cerqueira, 2016).

La preocupación del mundo científico al daño generado por las radiaciones solares en todos los ámbitos de la salud y especialmente en la piel, hace que actualmente halla una búsqueda permanente de sustancias que actúen tanto por vía tópica como sistémica para prevenir los perjuicios de las radiaciones, para lo cual se utilizan protectores solares, formulados con filtros de amplio espectro (De Gálvez, 2010).

Estudios previos reportan el efecto de la radiación UV en la producción de ciertos metabolitos secundarios en diferentes especies botánicas, concluyendo que

los compuestos fenólicos son unas de las sustancias que contribuyen a la resistencia y protección de las plantas frente a la radiación UV. Adicionalmente, resaltan las propiedades que se le atribuyen a los flavonoides, protegiendo las plantas de las radiaciones UV (Eichholz, Rohn y Gamm, 2012).

La demanda de extractos ricos en derivados fenólicos se ha convertido en un paso importante para el descubrimiento de nuevas moléculas activas en fotoprotección humana. Esto se debe a su similitud estructural con los filtros químicos que lo hacen susceptible a la absorción de la radiación en la región ultravioleta, usualmente estos compuestos presentan dos picos máximos de absorción UV, lo que da lugar a la posibilidad de utilizar estos extractos en el desarrollo de formulaciones de protección solar (Agati, Brunetti y Di Ferdinando, 2013).

Ferrari, Oliveira y Nakano, 2007, indican que el uso de productos naturales en el mundo ha tenido mayor demanda por la industria cosmética al ser una alternativa que reduce y suprime el uso de componentes químicos en las formulaciones que pueden resultar perjudiciales a la salud.

Sobre la base de lo antes descrito, se planteó el estudio de los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp, en la búsqueda de nuevas fuentes de sustancias con propiedades fotoprotectoras y de este modo hacer un aporte al conocimiento químico y farmacológico del género *Tabebuia* (Bignoniaceae).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre la actividad fotoprotectora y la composición química de los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp.

Objetivos Específicos

Obtener los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp mediante maceración utilizando solventes en orden de polaridad creciente (hexano, acetona, etanol).

Identificar mediante pruebas químicas cualitativas los metabolitos secundarios presentes en los extractos mencionados anteriormente.

Establecer a través de métodos espectrofotométricos el valor del factor de protección solar de los extractos de acetona y etanol de *Tabebuia* sp.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

El logro de esta investigación está relacionado con la determinación del factor de protección solar que poseen los extractos de *Tabebuia* sp para proponer una alternativa terapéutica natural y de bajo costo para ser utilizada como tratamiento preventivo de los efectos producidos por la radiación solar.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones estuvieron constituidas por factores externos al equipo de investigadores, convirtiéndose en obstáculos que se presentaron durante el desarrollo de la investigación; estas limitaciones se reflejaron en los elevados costos de los reactivos, fallas de electricidad, internet, agua y transporte.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Tacuri, 2019 evaluó la capacidad de absorción ultravioleta de aceites esenciales obtenidos de las partes aéreas de hojas de albahaca (*Ocimum basilicum*), flores de caléndula (*Calendula officinalis*) y flores manzanilla (*Matricaria chamomilla*). Determinó el factor de protección solar (FPS), según el método de Mansur. Posteriormente, formuló mezclas de los aceites en estudio, con la finalidad de evaluar posibles efectos sinérgicos en el FPS. Se determinaron los siguientes FPS en los aceites esenciales puros: 3,14 para *O. basilicum*; 2,55 para *M. chamomilla* y 5,02 para *C. officinalis*. Las mezclas 50:50 de *O. basilicum*: *M. chamomilla*, *M. chamomilla*: *C. officinalis*, y *O. basilicum*: *C. officinalis* presentaron valores de protección solar de 4,02; 4,4 y 5,7 respectivamente. La mezcla ternaria 33 % *O. basilicum*: *M. chamomilla*: *C. officinalis* generó un FPS de 7,2. Este resultado permitió señalar a esta mezcla como promisoría para el desarrollo de filtros solares, ya que mejora el FPS generado por los aceites puros.

Prudencio y Bustamante (2018), determinaron la actividad fotoprotectora *in vitro* en una crema de protección solar formulada con extracto hidroglicólico de *Lepidium meyenii* “maca”, para lo cual prepararon siete formulaciones: una con benzofenona-3 (F1), tres con el extracto a diferentes concentraciones (F2, F3 y F4) y se comparó con tres formulaciones conteniendo un potenciador de FPS llamado booster (*Argania spinosa* “argán”, Tocoferol acetato y Bisabolol) (F5, F6

y F7). Se determinó la actividad fotoprotectora UVB *in vitro* por el método de Mansur. Se obtuvieron valores de FPS de 4,9 (F1); 5,2 (F2); 6,5 (F3); 8,4 (F4); 6,4 (F5); 8,7 (F6) y 9,7 (F7), demostrando el que extracto de maca (*Lepidium meyenii*) tiene actividad fotoprotectora, siendo una especie de interés para la fitocosmética y la fotoprotección.

Moya y Osorio (2017), evaluaron la actividad fotoprotectora de una formulación tópica a base del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. (fresa). El FPS fue determinado según el método descrito por Mansur. El valor de FPS obtenido fue 12,05 para el extracto, lo cual confirma la actividad fotoprotectora de los polifenoles totales de la fresa y el valor del FPS de la crema base más el extracto hidroalcohólico de fresa al 5 % dio un valor de 0,83. El contenido de polifenoles totales fue medido mediante el método espectrofotométrico de Folin - Ciocalteu usando el ácido gálico como patrón de referencia obteniéndose como resultado 15,50 mg AG/g de extracto. La actividad antioxidante del extracto evaluada por el método espectrofotométrico 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) que se comparó con el estándar ácido ascórbico, dio como resultado el valor de 81,22 % de captación de radical libres para el extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca*.

Silva, Costa y Branco (2016), determinaron a través del método de Mansur el factor de protección solar (FPS) del extracto del epicarpio (cáscara) de *Spondias purpurea* L. "ciruela" en una formulación en la cual fue usado como principio activo. La formulación con 30 % de extracto mostró excelente actividad

con un FPS de 43 a una concentración de 50 mg/mL, en comparación con la 3-benzofenona (filtro sintético) al 5 % (FPS= 40).

Reis, Guimaraes y Cerqueira (2016), desarrollaron una emulsión fotoprotectora con el extracto de *Bauhinia microstachya* var. *Massambabensis* Vaz, al 1 %, a la cual se le atribuyó una gran actividad antioxidante, presentando una alta cantidad de flavonoides (kaempferol y astragalina). Se evaluó la eficacia y la seguridad *in vitro* e *in vivo* de las formulaciones que contenían los filtros químicos como 3-benzofenona, octilmetoxicinamato y octocrileno. Los resultados mostraron que la mezcla del extracto con los filtros químicos produjo una mayor fotoprotección (FPS=18) en comparación con la formulación sin extracto (FPS=13). Las formulaciones se consideraron no irritantes según pruebas *in vivo* y pasaron las pruebas de toxicidad.

Costa, Detoni y Branco (2015), investigaron el potencial del extracto etanólico de *M. taxifolia* como principio activo en una formulación de fotoprotección solar. Utilizaron el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para medir la actividad antioxidante del extracto. Posteriormente, se prepararon las formulaciones usando diferentes concentraciones de extracto etanólico (5 %, 10 %, 20 % y 30 %) y se llevó a cabo la evaluación del FPS. Todas las formulaciones que contenían extracto de *M. taxifolia* tenían un factor de protección solar ≥ 6 . Se atribuyó la actividad fotoprotectora al contenido de flavonoides en la especie vegetal.

Inocente, Tomas, Huaman (2014), evaluaron la capacidad antioxidante y fotoprotectora de una loción y un gel elaborados con extracto estabilizado de los

frutos de *Myrciaria dubia* Kunth “camu camu”. Se determinó la actividad antioxidante por el método de DPPH. El FPS de las formulaciones se determinó mediante el método *in vitro* desarrollado por Mansur. Se obtuvo valores de $10,89 \pm 0,29$ para el gel y $13,40 \pm 0,319$ para la loción con un 15 % de extracto y filtro benzofenona. Se demostró que el extracto de camu camu brinda una excelente alternativa para ser utilizado como sinergista de los fotoprotectores sintéticos en formulaciones cosméticas por poseer en su composición antioxidantes como compuestos fenólicos y vitamina C.

Antecedentes Históricos

Antiguamente, los trastornos relacionados con la piel no eran tan comunes, debido a que la población tenía menos exposición a la radiación, la alimentación era diferente, usaban sombrero y prendas de vestir de color claro y fabricadas en algodón, además no existían cámaras de bronceado es decir, su estilo de vida conservador permitía mantener hasta cierto punto controlado este tipo de enfermedades (Gonçalves de Oliveira y col, 2005).

Los problemas como la contaminación ambiental, el calentamiento global y la reducción de la capa de ozono causado por la acción humana hace que las personas estén cada vez más implicadas con la protección de la piel, pero se engaña quien piensa que esa preocupación es reciente. Las civilizaciones antiguas ya sintieron la necesidad de protegerse contra los rayos nocivos del sol, incluso en aquellas donde el sol era el astro rey. Los médicos recomendaban la exposición a

la luz solar como medio para evitar enfermedades, pero esa exposición debe ser moderada, porque el sol en exceso es perjudicial para la salud (Aldahan, Shah, Mlacker y Nouri, 2018).

El primer registro de protección solar comenzó con los egipcios, que utilizaron ingredientes como salvado de arroz y jazmín. Recientemente se descubrió que el salvado de arroz absorbe la luz ultravioleta, el jazmín ayuda a reparar el ADN. Los antiguos griegos usaban aceite de oliva. Algunas tribus nativas americanas usaban *Tsuga canadensis*, un tipo de aguja de pino, que también era eficaz para calmar las quemaduras solares (Aldahan y col, 2018).

El primer protector realmente eficaz fue desarrollado en 1944, por el americano Benjamin Greene. Observando las quemaduras de piel en los soldados regresados de la II Guerra Mundial, Greene decidió crear un producto que pudiera ser útil en la protección de la piel contra los rayos nocivos del sol. Ese protector solar era elaborado a base de petróleo, de color rojo y un tanto viscoso (Lim y Draelos, 2009).

A lo largo del tiempo, las formulaciones de protectores solares han sido mejoradas, presentando diversas versiones adaptadas a diferentes tipos de piel. Actualmente, el filtro solar se ha vuelto un recurso indispensable de carácter preventivo (Urbach, 2001). En los últimos años el uso de productos naturales en el mundo ha tenido mayor demanda por la industria cosmética al ser una alternativa que reduce y suprime el uso de componentes químicos en las formulaciones que pueden resultar perjudiciales a la salud (Ferrari y col. 2007).

Bases Teóricas

Familia Bignoniaceae

La familia Bignoniaceae está ubicada en el orden Lamiales (Stevens, 2001), se estima que divergió de Verbenaceae y que probablemente es Neotropical, está representada por unos 110 géneros y más de 800 especies (Gentry, 1982, 1992). En Venezuela conforman un grupo importante de la flora, ya que sus géneros son 29 y unas 157 especies, incluyendo 2 endémicas (Garcez, 2005), de las cuales, muchas son utilizadas como plantas ornamentales, principalmente en parques, jardines y plazas del país, debido a su hábito trepador y arbóreo, además de los vistoso de sus flores (Gentry, 1992). Taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera según (León y Williams, 2007):

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Subfilo: Angiospermae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Bignoniaceae

Esta familia se encuentra ampliamente distribuida desde Trinidad y Tobago, Granada, México, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, El Salvador, Guyana, Brasil, Bolivia, Perú hasta Paraguay. En Colombia se localiza en la ribera del Río Cauca, Magdalena medio, La Amazonía, Vaupés, la zona de Urabá, Serranía de los Motilones y los montes de Oca en la Guajira. Por otra parte, en

Venezuela se ubica en los estados Amazonas, Anzoátegui, Apure, Barinas, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Delta Amacuro, Miranda, Sucre, Táchira y Trujillo (Hokche, Berry y Huber, 2008).

Aspectos químicos y farmacológicos de la familia Bignonaceae

Algunos autores señalan que las especies de la familia Bignonaceae representan una valiosa fuente de compuestos químicos como naftoquinonas del tipo lapachol, iridoideas, alcaloides, flavonas, triterpenos, polifenoles, glucósidos fenilpropanoides antraquinonas y taninos que poseen actividades farmacológicas como: antiinflamatoria, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antiparasitaria y anticancerígena (Mukche, Paul y Berry, 2008).

Se han reportado un número notable de sustancias bioactivas de las plantas de la familia Bignoniaceae. Según se informa, estos compuestos poseen una serie de actividades importantes, que son beneficiosas para la salud, entre las cuales se pueden mencionar, la actividad molusquicida, tripanocida, larvicida, antioxidante, antidiabética, antiplasmódica, antiinflamatoria, inmunoestimulante, antimicrobiana, antidepresiva, actividades anticancerígenas, antinociceptivas y neurotróficas. Entre los diversos componentes reportados se encuentran el ácido ursólico (1), ácido oleanólico (2), α - y β -lapachona (3-4), lapachol (5), lupeol (6), quercitrina (7) y apigenina (8) (Figura 1) (Rahmatullah y col. 2010).

El lapachol ha sido aislado a partir de un gran número de especies pertenecientes a esta familia, siendo muy poco probable su presencia en otras

plantas. Estudios realizados por el Centro Nacional para la Quimioterapia del Cáncer (CCNS) de los Estados Unidos en 1968 demostraron una actividad significativa de este compuesto contra el carcinosarcoma. Lo aplicaron en 256 ratas cuando se administró por vía subcutánea, intraperitoneal, intramuscular y oral, presentando esta última la mayor actividad (Castillo, Gómez, Estrada, Rodríguez y Domingo, 1996).

Figura 1. Algunos compuestos aislados de la familia Bignonaceae.

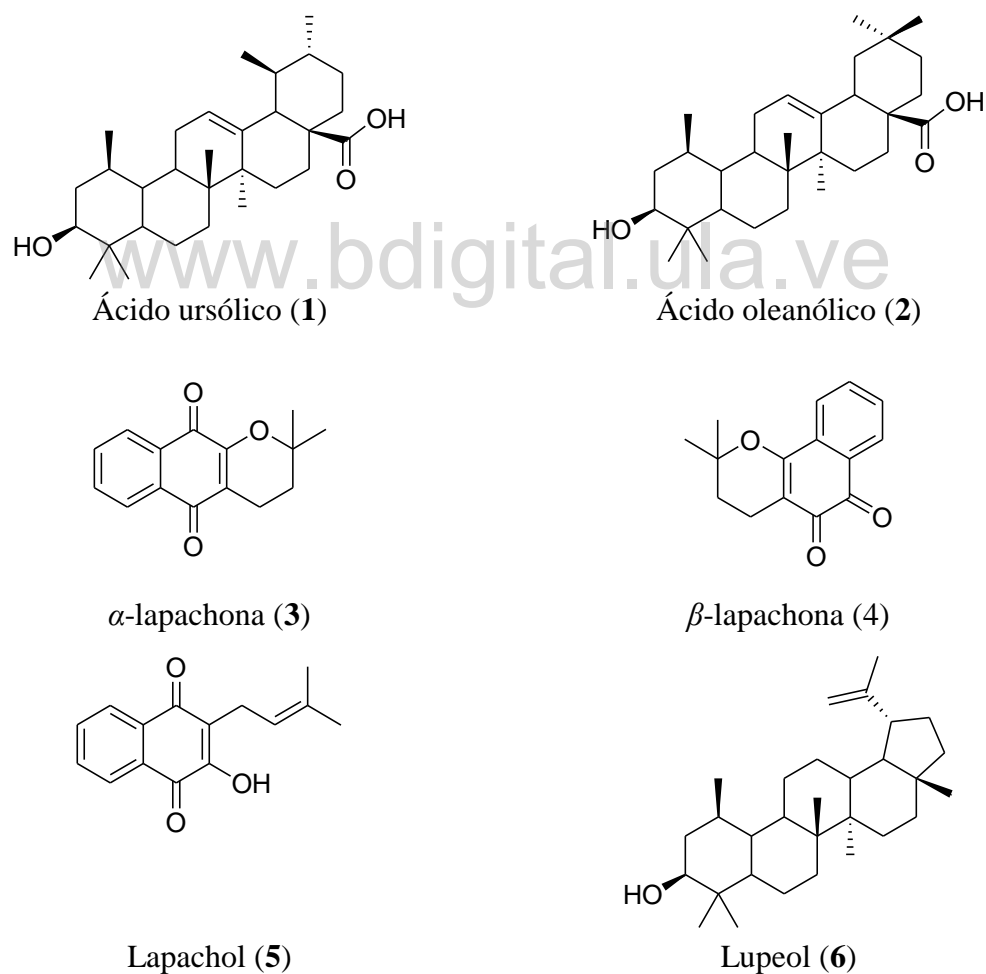
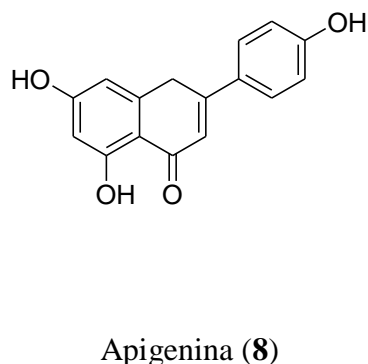
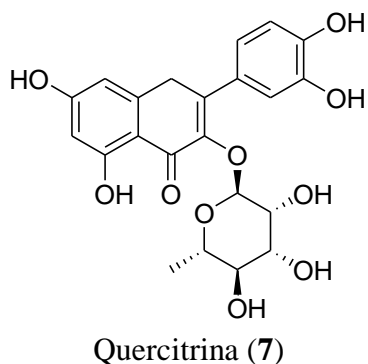


Figura 1. Algunos compuestos aislados de la familia Bignonaceae.
(Continuación)



Género *Tabebuia*

Tabebuia sp (Bignoniaceae) es un género que se encuentra distribuido en América Central y del Sur. Ha sido utilizado en la medicina popular para tratar la diabetes, las úlceras y la sífilis (*Tabebuia impetiginosa*) (Hernández y Gally, 1981).

Botánicamente, este género se caracteriza por especies predominantemente leñosas, de hojas opuestas simples o compuestas. Es un árbol que alcanza una altura de 45 m y un diámetro hasta de 1,20 m. Tronco recto y cilíndrico; su corteza externa es de color grisáceo o parduzca clara, delgada y de apariencia algo escamosa y agrietada, la corteza interna es de color castaño rojiza. Se ha encontrado que sus flores son de color amarillo, blanco y de rosado a violeta y rojo; son pocos los estudios citogenéticos realizados a este género, posiblemente se deba al pequeño tamaño de sus cromosomas o al ennegrecimiento que sufren

las raíces cuando son fijadas, *Tabebuia* presenta un número básico de 20 cromosomas (Hokche y col. 2008).

Tabebuia contiene algunas de las especies más distintivas de árboles neotropicales. Las especies más fáciles de reconocer son los árboles altos con inflorescencias grandes y llamativas que florecen cuando los árboles han dejado caer todas sus hojas. Sin embargo, *Tabebuia* es uno de los géneros más grande y taxonómicamente complejo de Bignoniaceae (aprox. 100 especies) y se ha colocado históricamente en la tribu Tecomeae (Grase y Olmstead, 2007).

Aspectos químicos y farmacológicos del género Tabebuia

Dentro de la familia Bignoniaceae, el género *Tabebuia* ha sido uno de los más estudiados, tal vez por su rica fuente de compuestos 1,4-naftoquinónicos sustituidos y antraquinonas con propiedades anticancerígenas demostradas clínicamente (Raggio y Moro, 2004).

Estudios realizados en 1945 por Hanh y col. reportan la obtención de un pigmento amarillo de la madera dura de *T. capitata* y *T. pallida*, el cual fue aislado posteriormente por Dugand en 1956, a partir de la madera dura de *T. impetiginosa*, e identificado como Lapachol. A partir del estudio químico de la especie *T. flavescens* por Orth y col. se aislaron compuestos del tipo naftoquinónico, lapachol y lapachona. Posteriormente Burnett y Thompson, aislaron siete naftoquinonas y nueve antraquinonas; dentro de las primeras se encuentran lapachol (**5**), α -lapachona (**3**) y dihidro- α -lapachona (Castillo y col. 1996).

El estudio fitoquímico realizado a diversas especies de *Tabebuia* revela la presencia de taninos, flavonoides, esteroides, alcaloides, fenoles y proteínas de diferentes extractos (López, 2004). Se han aislado e identificado naftoquinonas del tipo de lapachol (5), además de furanonaftoquinonas, antroquinonas, glucósidos iridoides, triterpenos, polifenoles, cumarinas, derivados de ácido benzoico y derivados de benzaldehído (Figura 2) (Suo, Ohta, Takano y Jin, 2013).

Diversas especies del género *Tabebuia* han sido utilizadas como antiinflamatorio, anticancerígeno y como agentes antimicrobianos en zonas rurales de Colombia, Bolivia, Brasil y otros países latinoamericanos, en tal sentido este género es comúnmente reconocido como una alternativa terapéutica por poblaciones rurales o remotas (Jiménez, Veloza y Sepulveda, 2013).

A continuación se presentan algunas actividades farmacológicas reportadas para los compuestos aislados del género *Tabebuia*:

Actividad antibacteriana

Se han realizado diversos estudios sobre la actividad antibacteriana de extractos obtenidos de especies del género *Tabebuia*, por ejemplo, el extracto de acetato de etilo obtenido de la corteza de *T. ochracea* y *T. rosea* inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* con una concentración entre 1,25 a 10 µg/mL, pero no fueron activos frente a las cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Jiménez y col, 2013)

Por otra parte, el extracto de hexano de *Tabebuia avellanedae* exhibió actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina,

presentando una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 62,5 µg/mL este efecto inhibitor es atribuido a las naftoquinonas como la α -lapachona (**3**) y α -xiloidona (**9**). Adicionalmente, hay reportes de otros derivados como el lapachol (**5**), β -lapachona (**4**) y 3-hidroxi- β -N-lapachona (**10**) (Figura 2), que presentan actividad frente a *Staphylococcus aureus* con una CIM de 8 µg/mL (Jiménez y col, 2013).

Asimismo, el extracto etanólico de las hojas de *T. rosea* también fue evaluado a concentraciones entre 50 y 300 mg/mL, inhibiendo el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* (Sathiya y Muthuchelian, 2008). Esta la actividad antibacteriana se puede asociar con la presencia de varios principios activos o fitoconstituyentes tales como compuestos fenólicos, quinoides y flavonoides presentes en dicho extracto.

De igual modo, el extracto metanólico de las hojas de *T. chrysantha* inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* a una concentración de 125 mg/mL. Este extracto fue más activo que los de cloroformo y éter utilizados a la misma concentración. Estos resultados sugieren que los compuestos polares encontrados en el extracto metanólico podrían ser responsables de esta actividad; sin embargo, la actividad antibacteriana encontrada fue baja. Además, los autores señalan que ninguno de los extractos obtenidos de *Tabebuia chrysantha* inhibió el crecimiento de *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomona aeruginosa* (Ospina, Aragón, Vergel, Isaza y Pérez, 2011).

Actividad antifúngica

En un centro de investigación en Campinas en Brasil, se seleccionaron seis plantas para evaluar su potencial actividad contra diez especies de *Candida*. Los resultados revelaron que el extracto de metanol de *Tabebuia avellanedae* ejerce una actividad inhibitoria contra *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. utilis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata* y *C. rugosa*, con valores de CIM en el rango de 60 a 0,1 µg/mL., sin embargo, el extracto de diclorometano tuvo actividad inhibitoria solo contra *Candida krusei*, con un valor de CIM de 60 µg/mL (Jiménez y col, 2013).

De igual modo, el extracto etanólico de *Tabebuia caraiba*, inhibió el crecimiento de *Candida albicans* a una concentración de 20000 µg/mL, mientras que los extractos de hexano y diclorometano inhibieron el crecimiento de *Trichophyton rubrum* a concentraciones entre 170,39 a 23,23 µg/mL (Jiménez y col, 2013).

Adicionalmente, hay reportes sobre la amplia actividad antifúngica de los extractos de la corteza de *Tabebuia avellanedae*, en diclorometano fue activo contra *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium gypseum*, *Penicillium purpurogenum*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Trichophyton mentagrophytes*, mientras que los extractos acuoso y metanólico mostraron actividad frente a *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium Gypseum*, *Penicillium purpurogenum* y *Trichophyton mentagrophytes*. De este modo, se ha comprobado que algunas especies del género *Tabebuia* constituyen una alternativa terapéutica como potenciales antifúngicos (Jiménez y col, 2013).

Actividad antiviral

Existen pocos reportes sobre la actividad antiviral de extractos de especies de Bignoniaceae, sin embargo caben destacar la evaluación de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Tabebuia cassinoides* que fueron ensayados contra los virus de la encefalomiocarditis (EMCV), virus del herpes 1 (HHV-1) y virus vaccinia (Western Cepa de reserva, [VACV-WR]), siendo inactivos. Esta falta de actividad probablemente fue causada por la alta citotoxicidad de naftoquinonas presentes en los extractos. Un segundo estudio evaluó la actividad antiviral de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Tabebuia impetiginosa*, *Tabebuia serratifolia* y *Tabebuia stenocalyx* contra los virus EMCV, HHV-1 y VACV-WR. Los resultados demostraron que solo los extractos de *Tabebuia impetiginosa* tuvieron actividad contra HHV-1, con una media concentración efectiva máxima (CE₅₀) de 166,6 µg/mL. (Jiménez y col, 2013).

Actividad antiparasitaria

El estudio de *Tabebuia billbergii* permitió el aislamiento e identificación de dos compuestos del tipo naftofurandionas la 2-(1-hidroxietil)-4H,9H-nafto-[2,3-b]-furano-4,9-diona (**11**) y 2-acetil-nafto-[2,3b]-furan-4,9-diona (**12**) (Figura 2) que presentaron actividad antipalúdica significativa *in vitro* contra *Plasmodium berghei*; en particular, 2-(1-hidroxietil)-4H,9H-nafto-[2,3-b]-furano-4,9-diona (**11**), con una CI₅₀ de 0,002 µM, superando la cloroquina (CI₅₀ 0,110 µM). (Jiménez y col. 2013).

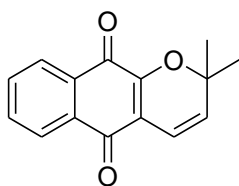
Varios análisis han revelado la actividad tripanocida de las naftoquinonas aisladas del género *Tabebuia* y sus derivados heterocíclicos, como el naftoimidazol β -lapachona, estos estudios han probado la actividad de 38 compuestos contra *Trypanosoma cruzi* y sugieren que las modificaciones químicas de las naftoquinonas, especialmente sus anillo de imidazol, podrían producir compuestos con alta actividad tripanocida (Jiménez y col, 2013).

Los extractos de hexano, cloroformo y etanol obtenidos de la corteza de *Tabebuia serratifolia*, un planta utilizada en la medicina tradicional peruana para tratamiento de la leishmaniasis cutánea, fueron recientemente evaluados por su tripanocida y antileishmania. El extracto de cloroformo fue el más efectivo contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania infantum*, con porcentajes de inhibición mayores de 96 % y concentraciones de extracto entre 400 y 800 $\mu\text{g/mL}$. Del extracto etanólico, se logró aislar una naftoquinona (**11**), este compuesto fue activo frente a *Leishmania infantum* y *Trypanosoma cruzi*, con una concentración de inhibición del crecimiento (CI_{50}) de 0,01 $\mu\text{g/mL}$. Este valor fue menor que el Nifurtimox y similar al de Anfotericina B. Esta naftoquinona fue previamente aislada de *T. cassinoides*, *T. billbergii* y *T. ochracea*. (Jiménez y col, 2013).

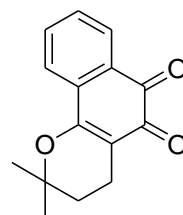
Actividad antioxidante

Del extracto acuoso de *Tabebuia avellanedae* se aislaron tres nuevos glucósidos de fenilpropanoide (**14**, **17**, **18**), junto con tres glucósidos fenilpropanoides conocidos (**13**, **15**, **16**) (Figura 2). Todos los compuestos presentaron fuerte actividad antioxidante en el ensayo DPPH, y el compuesto **17** fue el más activo, con una CI_{50} de 0,12 μM (Suo y col, 2013).

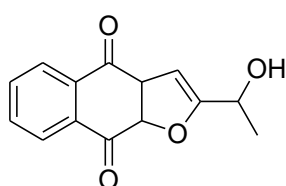
Figura 2. Algunos compuestos bioactivos aislados del género *Tabebuia*



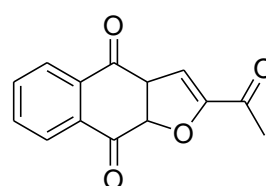
α -xiloidona (**9**)



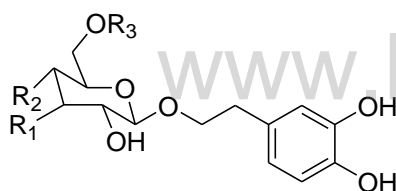
3-hidroxi- β -N-lapachona (**10**)



2-(1-hidroxi-etil)-4H,9H-nafto-[2,3-b]-furano-4,9-dione (**11**)



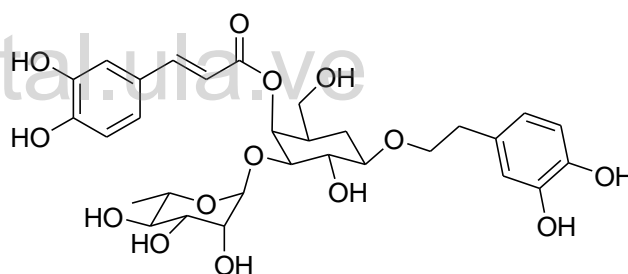
2-acetil-nafto-[2,3b]-furan-4,9-diona (**12**)



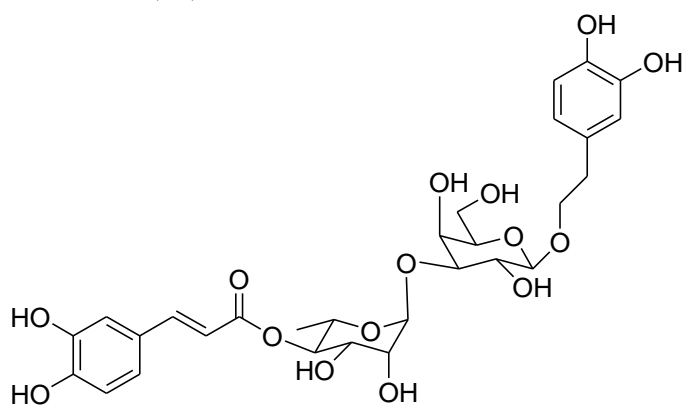
(**13**) R₁=Rha R₂=Cafeoil R₃=H

(**14**) R₁=Fuc R₂=Cafeoil R₃=H

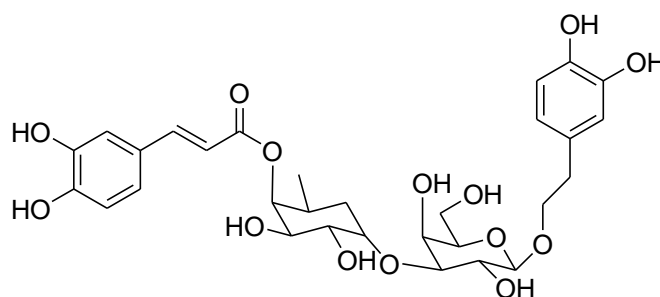
(**15**) R₁=Rha R₂=H R₃=Cafeoil



(**16**)



(**17**)



(**18**)

Diversos estudios reportan la actividad antioxidante *in vitro* frente a los radicales hidroxilo, peroxilo y superóxido de los extractos de *T. chrysantha*, *T. pallida* y *T. argéntea* indicando que son una fuente potencial de antioxidantes, por lo que podrían ser útiles en la industria farmacéutica para tratar a base de plantas varias enfermedades causadas por radicales libres (Ospina y col, 2011; Govindappa, Channabasava, Sunil y Pushpalatha, 2013; Rahman, Islam, Biswas y Alam, 2015).

El género *Tabebuia* está enriquecido con una diversidad de metabolitos secundarios, responsables de la actividad biológica de las especies de este género, los compuestos fenólicos son los responsables del poder antioxidante, efecto citotóxico y las actividades anticancerígenas reportadas para este género (Rhaman y col, 2019).

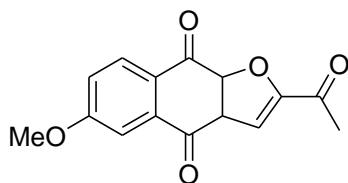
Actividad citotóxica

Las especies del género *Tabebuia* han sido utilizadas para el tratamiento del cáncer en la medicina popular, en 1982, fueron aisladas de *Tabebuia cassinoides* dos naftoquinonas (Figura 3): 2-(1-hidroxietil)-nafto-[2,3-*b*]-furan-4,9-diona (**19**) y 2-acetilnafto-[2,3-*b*]-furan-4,9-diona (**20**), ambos compuestos fueron activos contra células KB que producen carcinoma epidermoide oral. Posteriormente, se investigó el compuesto **20** como agente anticancerígeno *in vitro*, y se descubrió que esta quinona muestra citotoxicidad moderada contra varios líneas celulares de cáncer, incluido el carcinoma escamoso oral humano, carcinoma de próstata humano (DU-145), melanoma humano (C8161),

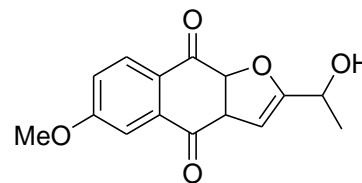
adenocarcinoma de pulmón humano (A549) y carcinoma epitelial humano células (HeLa3–6) (Inagaki, Ninomiya, Tanaka, Watanabe y Koketsu, 2013).

Otros estudios sobre el lapachol (**5**) y β -lapachanona (**6**), compuestos comunes en las especies de *Tabebuia*, reveló que poseen actividad significativa contra un rango de líneas celulares tumorales, incluyendo mama, leucemia y próstata, así como varias líneas celulares resistentes a diversos fármacos. La actividad biológica de la quinonas está relacionada con la capacidad del resto quinona para aceptar electrones para formar aniones radicales o especies de dianiones, y estimular así la producción intracelular de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (Gómez, Prieto y Heinrich, 2009).

Figura 3. Naftoquinonas con actividad citotóxica aislados de *T. avellaneda*



2-(1-hidroxietyl)-nafto-[2,3-*b*]-furan-4,9-diona (**19**)



2-acetilnafto-[2,3-*b*]-furan-4,9-diona (**20**)

Productos Naturales

Los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos que se definen “Productos Naturales” o “Metabolitos Secundarios”, que se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios o productos bioquímicos que presentan una utilidad definida y que son

comunes en todos los seres vivos, como son: Carbohidratos, Lípidos y Proteínas (Marcano y Hasegawa, 2002).

En general, se distinguen dos grandes grupos de productos naturales; los metabolitos primarios y los metabolitos secundarios, los primarios que se refieren a los procesos químicos que la planta debe realizar para sobrevivir y reproducir su actuación, como son: La fotosíntesis que da lugar a los ácidos carboxílicos del ciclo de Krebs. Estos metabolitos primarios se caracterizan por: (De Ugaz, 1994):

- Tener una función metabólica directa.
- Ser compuestos esenciales intermedios en las vías catabólica y anabólica.
- Encontrarse en todas las plantas.
- Tratarse de carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos o clorofilas.
- Son precursores de los metabolitos secundarios.

Por otra parte, los metabolitos secundarios son en principio no esenciales para la vida pero contribuyen en la adaptación y supervivencia de las especies. La química que conduce a la formación de un producto natural se caracteriza por ser más común en un grupo biológico en particular, tal como una familia o un género. Estos metabolitos poseen otras características como son (De Ugaz, 1994):

- No tienen funciones metabólicas directas aparentes.
- Ser importantes para la supervivencia e interacción con el entorno.
- Presentar diferente distribución en el reino vegetal.

La clasificación de los metabolitos secundarios puede hacerse de acuerdo a sus estructuras, biosíntesis, fuente de producción o a su acción biológica. En estos casos es inevitable la superposición. Por ejemplo, por ser moléculas generalmente polifuncionales es difícil ubicarlas en un determinado grupo químico, debido a que dos compuestos totalmente diferentes tienen la misma acción, o la misma fuente de producción puede originar simultáneamente compuestos muy distintos. Aparentemente el criterio más acertado es aquel que usa la biosíntesis como denominador común, la cual, en su esquema básico engloba la formación de los metabolitos primarios y secundarios (Marcano y Hasegawa, 2002).

Biosíntesis de productos naturales

Los metabolitos secundarios se forman por distintas vías y como siguiendo el criterio biogenético, una misma clase de compuestos por ejemplo los alcaloides, puede tener varios orígenes. Todos los compuestos orgánicos están constituidos por carbono e hidrógeno, a menudo contienen oxígeno y menos frecuentemente azufre, fósforo y halógenos. La formación de los productos naturales comienza con la fotosíntesis que tiene lugar en las plantas superiores, algas y algunas bacterias. Es un proceso endotérmico que requiere de luz solar: aquellos organismos incapaces de absorber la luz, obtienen su energía de la degradación de carbohidratos. Tales compuestos pueden en realidad, ser resultados de sistemas enzimáticos particulares de una dada clase de organismos, que incluyen variedades y/o mutantes que cambian su metabolismo de acuerdo a las condiciones ambientales (Marcano y Hasegawa, 2002).

Se sabe que la concentración de ciertos metabolitos aumenta cuando el vegetal se encuentra en estado de estrés. Las condiciones biomiméticas: condiciones de laboratorio que tratan de imitar a las producidas por el sistema enzimático, pueden representar ese estado de estrés en el organismo vivo y generar ciertos esqueletos no abundantes y a veces específicos, para la especie bajo estudio. La formación de metabolitos primarios y secundarios en la biosíntesis ocurre a través de reacciones enzimáticas. Las plantas sintetizan cientos de compuestos, encontrándose en estos lo metabolitos secundarios, dentro de los cuales se pueden mencionar los siguientes (Marcano y Hasegawa, 2002):

- **Alcaloides:** Se conoce con el nombre de alcaloides a las sustancias que actúan como metabolitos secundarios de las plantas que han sido sintetizados partiendo de aminoácidos. Derivan de aminoácidos los alcaloides verdaderos, siendo por lo tanto nitrogenados.
- **Taninos:** Sustancia astringente que se encuentra en algunos tejidos vegetales, como la corteza de los árboles y el hollejo de la uva.
- **Saponinas:** Las saponinas (del latín "sapo", "jabón") son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades semejantes a las del jabón: cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (el esteroide o el triterpenoide) y un elemento soluble en agua (el azúcar), y forman una espuma cuando se las agita en agua. Las saponinas son tóxicas, y se cree que su toxicidad proviene de su habilidad para formar complejos con esteroides, por lo que podrían interferir en la

asimilación de estos por el sistema digestivo, o romper las membranas de las células tras ser absorbidas hacia la corriente sanguínea.

- **Flavonoides:** Flavonoide (del latín "flavus", "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua.
- **Terpenos:** Hidrocarburos que se encuentra en los aceites volátiles obteniéndose de las plantas y principalmente de las coníferas y de los frutos cítricos.
- **Triterpenos:** Son los terpenos de 30 carbonos. Son por lo general generados por la unión cabeza-cabeza de dos cadenas de 15 carbonos, cada una de ellas formada por unidades de isopreno unidas cabeza-cola.
- **Esteroides:** Sustancias de estructura policíclica de la que derivan compuestos de gran importancia biológica, tales como los ácidos biliares y algunas hormonas.
- **Fenoles:** Alcoholes derivados del benceno, obtenidos por la destilación de los aceites de alquitrán que se usa como antiséptico en medicina.

- **Antraquinonas:** Son quinonas tricíclicas derivadas del antraceno que a menudo contienen uno o más grupos hidroxilo: Si poseen dos grupos OH en posiciones 1 y 2 tienen propiedades colorantes y si se encuentran en las posiciones 1 y 8 el efecto es laxante.

Extractos Vegetales

El término extracción se refiere, a la separación de sustancias biológicamente activas de los materiales inertes o inactivos de una planta mediante la utilización de un disolvente seleccionado y de un proceso de extracción adecuado, donde generalmente se obtienen dos componentes; el extracto (solución extraída de un disolvente) y el residuo o bagazo. A continuación se mencionan algunas técnicas de extracción (Valcarcel y Gómez, 1988):

- **Mecánicas:**

- Por Expresión: La planta se introduce en una prensa hidráulica y se exprime hasta obtener su jugo, es un método usado para obtener los zumos de cítricos, aceites y otros.

- Por Incisiones: Con el fin de obtener exudados del material vegetal, pueden ser gomas, resinas, mieles y otros productos que se producen en gran cantidad al realizarle inclusiones o cortes a la planta viva.

- **Destilación:**

- Por Arrastre de Vapor: Es el proceso de extracción mediante el cual se obtienen aceites esenciales, los cuales son productos grasos

compuestos por un número muy grande de compuestos químicos aromáticos, muy volátiles de estructura y composición muy compleja.

La mayoría son terpenos de bajo peso molecular.

➤ **Extracción discontinua:**

- **Maceración:** La planta seca y molida se pone en contacto con el disolvente a temperatura ambiente, dejando la mezcla en reposo (aproximadamente de 3 a 10 días). Transcurrido el tiempo de maceración, se decanta el extracto y se elimina el residuo vegetal, es recomendable hacer una segunda extracción.
- **Infusión:** El disolvente se hierve y posteriormente se introduce la planta a extraer, dejándose enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente. El extracto recibe el nombre de infusión o té.
- **Decocción o cocimiento:** La planta es cubierta con el disolvente (agua), y se lleva a ebullición por 15 a 30 minutos posteriormente se enfría y se filtra.

➤ **Extracción Continua:**

- **Percolación:** El material vegetal se coloca en una columna y está en contacto permanente con el disolvente que gotea por la parte inferior. Constantemente es necesario agregar disolvente puro por la parte superior de la columna, y así lograr compensar la cantidad de disolvente que sale por la parte inferior.

- Soxhlet: El material vegetal seco es sometido a una extracción continua. El aparato (Soxhlet) asegura en todo momento la provisión del disolvente puro, que pasa por el material arrastrando los principios activos. El extracto obtenido suele concentrarse eliminando total o parcialmente el disolvente.

Análisis Fitoquímico

La Fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal, estos metabolitos secundarios se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos de ellos presentan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diversos usos y aplicaciones como: medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes, cremas, entre otros (Marcano y Hasegawa, 2002).

El análisis fitoquímico es un proceso que comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal y la metodología que se sigue depende de los objetivos de tales estudios. Sin embargo existen etapas comunes, que no necesariamente ocurren al mismo tiempo, las cuales se resumen a continuación (Marcano y Hasegawa, 2002):

- Selección del Material.
- Prueba de Actividad Biológica.
- Examen Químico de las Muestras.
 - Pruebas Químicas de Campo.
 - Pruebas Químicas de Laboratorio.

- Que partes del Material se Analiza.
- Métodos de Extracción y Fraccionamiento.
- Cromatografía.

Para determinar la presencia de ciertos grupos químicos en una planta se efectúan una serie de pruebas, que dependiendo de las características estructurales y solubilidad pueden realizarse la identificación de los mismos. Entre estas pruebas se encuentran:

- **Ensayo de Liberman-Bourchard (triterpenos y/o esteroides):** Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por poseer ambos un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo β y en la posición 5-6. Se considera positiva la prueba cuando aparecen coloraciones roja (triterpenos), verde o azul (esteroides) (Martínez, Valencia y Jiménez, 2004).
- **Ensayo de Shinoda (flavonoides):** el zinc en polvo reacciona con ácido clorhídrico concentrado. El hidrógeno generado produce por reducción el ión flavilio de color rojo escarlata (Varia desde rosa muy débil hasta el rojo escarlata). Todos los flavonoides, excepto chalconas, auronas e isoflavonas dan positiva esta reacción (Domínguez, 1973).
- **Ensayo de Dragendorff, Wagner y Mayer (alcaloides):** Se basa generalmente en la combinación de los alcaloides con metales pesados. Se llevan a cabo en solución acuosa ácida. Los reactivos más utilizados para la precipitación de los alcaloides son ácidos de elevado peso molecular. Como el reactivo yodado de Dragendorff (yodo bismutato potásico,

precipitado rojo-naranja); el reactivo de Mayer (mercurio tetrayodado potásico, precipitado blanco-amarillento) y el reactivo Wagner (yoduro de potasio, precipitado marrón) (Domínguez, 1973).

- **Ensayo de hidróxido de amonio (cumarinas):** se basa en la apertura y solubilización en medio básico. Las cumarinas se caracterizan por su intensa absorción de la región UV del espectro, las cuales al ser examinadas a la luz ultravioleta presenta coloración exaltada en presencia de amoniaco (Tamayo, Verdecia y Mojera, 2011).
- **Ensayo de Börntrager (quinonas):** La naftoquinonas y antraquinonas libres al ser tratadas con la solución de hidróxido amónico forman complejos de color rojo cereza. Esta reacción es utilizada para la detección directa de quinonas en los extractos vegetales (Tamayo y col. 2011).
- **Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5% (quinonas):** Las quinonas α - y β -hidroxiladas con las solución de hidróxido de sodio al 5 % dan soluciones coloreadas, que van del amarillo pasando por el rojo al violeta con máximos de absorción en la región de 450 a 668 nm. Esta reacción puede servir para conocer si un determinado extracto vegetal contiene pigmentos quinónicos; la solución de hidróxido de sodio también se emplea como reactivo para detectar pigmentos quinónicos por cromatografía sobre papel (Thompson, 1958).
- **Prueba de la espuma (saponinas):** El extracto acuoso se agita, la aparición de espuma es indicio de estos compuestos (Marcano y Hasewaga, 2002).

Radiación Solar

Los rayos del sol impactan en la tierra en forma de luz visible, infrarroja (IR) y radiación ultravioleta (RUV). Estas tres entidades son las más importantes del espectro electromagnético el cual también incluye radioondas, microondas, rayos X y radiación gamma. La radiación visible es aquella percibida por el ojo humano, cada color de la luz visible representa un rango de longitud de onda diferente. Aproximadamente la mitad de la radiación solar es infrarroja y responsable del efecto calórico el cual se siente en la exposición solar. La RUV abarca el área del espectro electromagnético que se considera biológicamente activo y por lo tanto de mayor impacto en la salud (Baron y Suggs, 2014). En relación a lo anterior, se pueden clasificar las radiaciones en las siguientes: (Balaguer y Montero, 1995):

- **Radiación Directa:** Es aquella que llega directamente del sol, sin haber sufrido cambio alguno en su dirección. Este tipo de radiación se caracteriza por presentar una sombra definida de los objetos opacos que la interceptan.
- **Radiación Difusa:** Parte de la radiación que atraviesa la atmósfera es reflejada por las nubes o absorbidas por estas. Esta radiación, que se denomina difusa, va en todas direcciones, como consecuencia de las reflexiones y absorciones, no solo de las nubes sino de las partículas de polvo atmosférico, montañas, arboles, edificios, el propio suelo, entre otros. Este tipo de radiación se caracteriza por no producir sombra alguna respecto a los objetos opacos interpuestos.

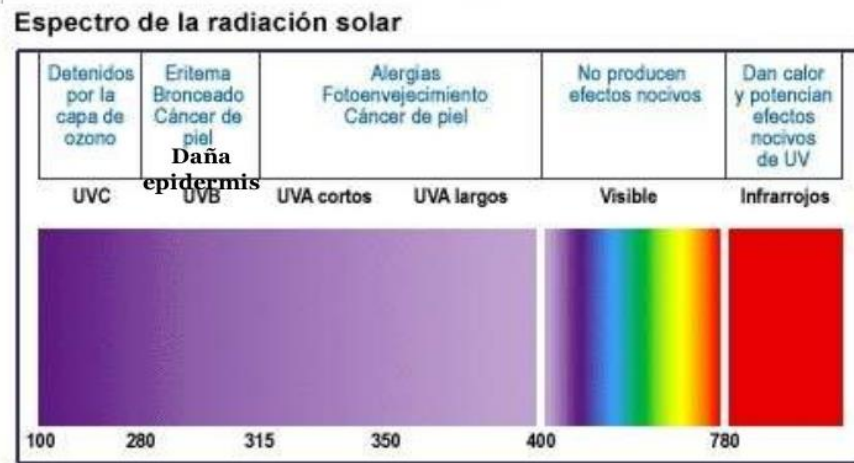
- **Radiación Reflejada:** Es aquella reflejada por la superficie terrestre. La cantidad de radiación depende del coeficiente de reflexión de la superficie, también llamado albedo. Las superficies horizontales no reciben ninguna radiación reflejada, porque no ven ninguna superficie terrestre y las superficies verticales son las que más radiaciones reflejadas recibe.

La RUV comprende longitudes de onda de 100-400 nm (Figura 4). Históricamente, esta banda de longitud de onda ha sido subdividida en tres regiones que se definen a continuación (Greinert, Vries y Erdmann, 2015):

- **Radiación Ultravioleta A (UVA 320-400 nm):** Alcanza aproximadamente el 90-99 % de la superficie de la tierra, no es filtrada por la capa de ozono en la atmósfera, tiene longitud de onda larga y de baja energía que penetra profundamente en la piel, provoca el envejecimiento de la piel e induce a la pigmentación inmediata y persistente (bronceado).
- **Radiación Ultravioleta B (UVB 290-320 nm):** Alcanza del 1 al 10 % de la superficie de la tierra, es filtrada por la capa de ozono en la atmósfera, tiene longitud de onda corta y de alta energía que pueden penetrar las capas superiores de la epidermis, es responsable de causar quemaduras de sol, bronceado, arrugas, fotoenvejecimiento y cáncer de piel, es carcinógeno y mil veces más lesiva en causar quemaduras de sol que la radiación UVA.
- **Radiación Ultravioleta C (UVC 100-290 nm):** Es filtrada por la capa de ozono en la atmósfera antes de llegar a la tierra, las principales fuentes

artificiales son las lámparas germicidas, queman la piel y causan cáncer de piel.

Figura 4: Tipos de radiaciones UV y sus efectos en la piel.



Tomado y modificado de Narayanana y Saladi, 2010

La Piel

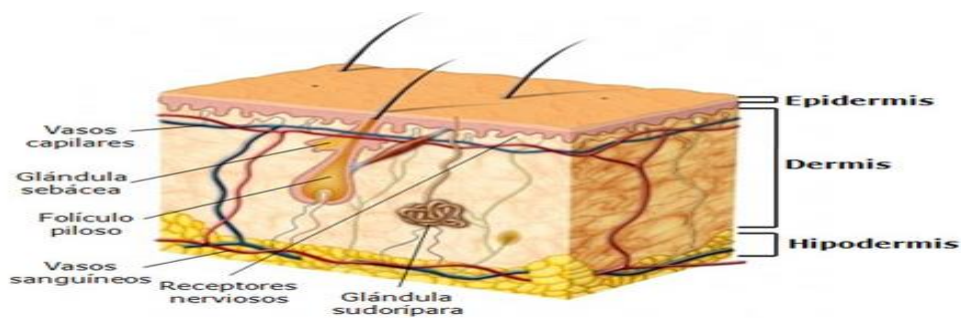
La piel es el órgano más extenso del cuerpo, al que recubre en su totalidad. Las características, es decir, el grosor, el color, la textura de la piel no son uniformes en todo el cuerpo, así el grosor puede variar según la región anatómica desde 0,5 mm en los párpados hasta 6 a 8 mm en las palmas y plantas respectivamente. Su peso representa el 6 % del corporal. La piel es una estructura heterogénea compuesta de tres capas súper puestas, la epidermis, dermis e hipodermis (Figura 5) (Martini, 2005):

- **Epidermis:** Es la parte más superficial y se encuentra constituida por dos grupos de células: Queratinocitos o células no dendríticas y células dendríticas; los queratinocitos a su vez se organizan en capas o estratos, que de la más superficial hacia adentro son: Capa cornea, Capa Lucida,

Capa Granulosa, Capa Espinosa y Capa Basal. Mientras que en las dendríticas se encuentran los melonocitos, las células de Langerhans y células indeterminadas.

- **Dermis:** Está situada por debajo de la epidermis y está constituida por tejido conectivo. El tejido conectivo a su vez está formado por tres tipos de fibras: colágenas, elásticas y reticulares.
- **Hipodermis:** Llamada también panículo adiposo tejido celular subcutáneo, está constituido por células grasas, que se conocen con el nombre de adipocitos los cuales se disponen en lóbulos separados por tejido conectivo llamado septos o tabiques interlobulillares.

www.bdigital.ula.ve
Figura 5: Capas de la Piel



Tomado y modificado de Martini, 2005

Tipos de Piel

De acuerdo al tipo de piel, unas personas producen más de una sustancia colorante denominada melanina, la cual es fabricada por los melonocitos. Esta situación, sumada a la cantidad de sangre que fluye por los vasos sanguíneos y a

otros factores, es lo que determina el color de piel de cada persona (Marín y Del Pozo, 2005).

Teniendo en cuenta la función primaria de defensa de la piel contra los efectos dañinos del medio ambiente, existen diversos mecanismos de protección frente a la radiación UV. Desde una perspectiva clínica la reacción detallada de cada paciente frente a la luz solar permite conocer el riesgo relativo de desarrollar procesos agudos o crónicos debidos a la exposición a radiación ultravioleta (RUV), incluyendo melanoma y el resto de neoplasias cutáneas. Es así como se ha desarrollado una clasificación de los tipos de piel en relación a su reacción a la exposición solar, que incluye 6 fototipos, ilustrados en la tabla 1 (Marín y Del Pozo, 2005).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 1. Fototipos de Piel y su reacción a la exposición solar.

Fototipo	Acción del sol sobre la piel	Características pigmentarias
I	Presenta intensas quemaduras solares, casi no se pigmenta nunca y descama de forma ostensible.	Individuos de piel muy clara, ojos azules, pelirrojos y con pecas en la piel. Su piel, habitualmente, no está expuesta al sol y es de color blanco-lechoso.
II	Se quema fácil e intensamente, pigmenta ligeramente y escama de forma notoria.	Individuos de piel clara, pelo rubio, ojos azules y pecas, cuya piel, que no está expuesta habitualmente al sol, es blanca.
III	Se quema moderadamente y se pigmenta correctamente. Se quema moderadamente y se pigmenta correctamente.	Razas caucásicas (europeas) de piel blanca que no está expuesta habitualmente al sol.

Tabla 1. Fototipos de Piel y su reacción a la exposición solar. (Continuación).

IV	Se quema moderada o mínimamente y pigmenta con bastante facilidad y de forma inmediata al exponerse al sol.	Individuos de piel morena o ligeramente amarronada, con pelo y ojos oscuros (mediterráneos, mongólicos, orientales).
V	Raramente se quema, pigmenta con facilidad e intensidad (siempre presenta reacción de pigmentación inmediata).	Individuos de piel amarronada (amerindios, indostánicos, árabes e hispanos).
VI	No se quema nunca y pigmenta intensamente (siempre presentan reacción de pigmentación inmediata)	Razas negras

Tomado y modificado de Marín y Del Pozo, 2005.

Efectos de la Radiación Solar en la Piel

El deterioro de la capa de ozono, desde la década de los setenta hasta la actualidad ha incrementado la radiación solar sobre la superficie terrestre siendo la RUV contenida en la luz solar uno de los mutágenos físicos ambientales más dañinos existentes en la actualidad. Existen efectos nocivos agudos y crónicos que se describen a continuación (Gonzales, Fuentes y Vernhes, 2016):

Efectos Agudos:

- **Quemadura Solar y Eritema:** Una quemadura solar es la inflamación aguda en respuesta a la exposición de la radiación UV, el cual causa vasodilatación de los vasos sanguíneos de la dermis, generando calor, dolor, inflamación y enrojecimiento de la piel, que se asocia con malestar sistémico cuando es grave. (Liu, Fernández y Hamilton, 2014). La

radiación UVB es mil veces más lesiva que la radiación UVA en inducir eritema de quemadura solar (Greinert y col, 2015).

- **Bronceado:** Es el oscurecimiento de la piel que ocurre en algunas horas o en pocos días después de la exposición a la RUV. El bronceado también es conocido como melanogénesis, reconocido como la principal defensa de la piel (Polefka, Meyer y Agin, 2012).

Según la longitud de onda UV se distinguen dos tipos de bronceado: pigmentación temprana inducida por UVA (pigmentación inmediata de oscurecimiento) y pigmentación retardada inducida por UVB (retraso de bronceado). El primer tipo, el oscurecimiento inmediato es causado por la redistribución de los melanosomas (son los empaquetadores de la melanina) y la fotooxidación de la melanina (es decir, el pigmento), ya que está presente en la piel. La piel se vuelve inicialmente gris y se decolora a marrón en cuestión de minutos. El segundo tipo es representado principalmente por la melanogénesis verdadera (es decir, la síntesis de la nueva melanina) que típicamente comienza 2 a 3 días después de la exposición (Brenner y Hearing, 2008).

- **Inmunosupresión:** La exposición a la radiación UVB suprime el sistema inmunitario por 4 razones principales: Induce la producción de mediadores inmunosupresores; daña y desencadena la migración prematura de las células presentadoras de antígeno, necesarias para estimular respuestas inmunitarias; induce la generación de células supresoras e inhibe la

activación de las células T efectoras y de memoria (Brenner y Hearing, 2008).

Efectos Crónicos:

- **Fotocarcinogénesis:** La radiación UVB crea mutaciones en los genes p53 supresores de tumores; estos son genes que están involucrados en la reparación del ADN o la apoptosis de las células que tienen daño en el ADN. Por lo tanto, si los genes p53 están mutados, ya no podrán ayudar en el proceso de reparación del ADN y como resultado hay desregulación de la apoptosis, expansión de los queratinocitos mutados e iniciación del cáncer de piel (Narayanana y col, 2010).
- **Fotoenvejecimiento:** Consiste en los cambios en apariencia y funciones de la piel como resultado de una exposición solar repetida, más que por el simple paso del tiempo. A diferencia del envejecimiento cronológico (intrínseco), con líneas finas y laxitud cutánea modesta, la piel fotoenvejecida (extrínseca) se caracteriza por los siguientes signos clínicos: sequedad, pigmentación moteada, piel pálida, surcos y arrugas profundas, lesiones precancerosas y aspecto coriáceo (Narayanana y col, 2010).

Protectores Solares

La recomendación de la comisión Europea define como producto de protección solar a cualquier preparado (como crema, aceite, gel o aerosol) de aplicación sobre la piel humana con la finalidad principal de proteger contra la RUV absorbiéndola, dispersándola o reflejándola. Inicialmente, el protector solar se usó para contrarrestar los efectos agudos de la radiación ultravioleta. Actualmente, se busca disminuir los efectos crónicos, para prevenir la aparición de carcinomas de piel y disminuir la formación de dímeros de pirimidinas, y además, proteger de la inmunosupresión cutánea desencadenada por la depleción de células de Langerhans (Balaguer y col, 1995).

Para prevenir quemaduras de sol y proteger contra el daño grave de la piel los protectores solares deben cumplir con las siguientes características: (Al-Jamal, Griffith y Lim, 2005)

- Ser fotoestables (idealmente 100 %) y disipar la energía absorbida de manera eficiente a través de vías fotofísicas y fotoquímicas que rigen la formación de oxígeno, otras especies reactivas del oxígeno y otros intermediarios reactivos nocivos
- No deben penetrar la piel, ni ser transportados a las células humanas donde puedan causar daño al ADN.
- Minimizar la radiación UVB y UVA que pueden llegar al ADN en los núcleos celulares.

Según el grado de protección solar los fotoprotectores se clasifican según se especifica en la Tabla 2. El límite mínimo para que un producto sea anunciado

como protector solar el FPS debe ser mayor a 2. El límite máximo a anunciarse es 50+, para ello, el producto debe tener un FPS de 60 ó más (International Sun Protection Factor, 2006).

Tabla 2. Clasificación de los fotoprotectores

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

Tomado y modificado de International Sun Protection Factor, 2006

Filtros Solares

Los filtros solares ejercen un efecto dermoprotector al absorber o reflejar la radiación ultravioleta. Su eficacia frente a la radiación ultravioleta B (290-320 nm) viene determinada por el llamado factor de protección solar (FPS), que no es más que el cociente entre la dosis ultravioleta mínima necesaria para provocar eritema en la piel protegida por el filtro solar y la dosis necesaria en ausencia de dermoprotección; los filtros solares que ofrecen también protección frente a la radiación ultravioleta A (320-400 nm) se denominan filtros de amplio espectro (Costa y col, 2015). En función de su mecanismo de acción, se clasifican los protectores o filtros solares se clasifican en físicos y químicos (Azcona, 2003):

- **Filtros físicos:** Son pigmentos minerales que actúan como pantallas opacas reflejando y dispersando las radiaciones UVB y UVA y la luz visible, según el tamaño de partícula y el grosor de la capa aplicada. Los filtros físicos son químicamente inertes, por lo que no suelen producir

fotosensibilidad. Las principales sustancias que forman parte de este grupo son: dióxido de titanio, óxido de cinc, óxido de hierro, talco y silicatos como la arcilla, el caolín y la bentonita. Muchos fabricantes recubren las micro partículas de estos filtros con sales inorgánicas como el óxido de aluminio o el dióxido de circonio, o incluso con moléculas orgánicas como las siliconas, para disminuir su actividad fotocatalizadora. En su mecanismo de acción se utilizan dos procesos (Azcona, 2003):

- **Dispersión:** Ocurre cuando los rayos ultravioleta chocan contra una película o pantalla que desvía su trayectoria, lo cual permite que se disipe en el entorno, por ejemplo, las pantallas solares.
- **Absorción:** En este caso, las moléculas del protector solar absorben la radiación ultravioleta. Implica la incorporación de energía en la estructura del protector. Los fotones son absorbidos hasta alcanzar la piel y conducidos en forma de calor.

Los filtros físicos proporcionan protección a través del efecto de cobertura sobre la piel. En su mecanismo de acción se verifica que no ocurre interacción entre el fotón y la partícula del filtro, son utilizados en los productos destinados al público infantil y deportes acuáticos. En general, son sustancias reflectoras opacas que protegen contra la luz visible y las radiaciones ultravioletas A y B. Sin embargo, pueden ser cosméticamente poco aceptables (Bologna, Schaffer, y Cerroni, 2018).

- **Filtros químicos:** Las moléculas aceptadas como filtros químicos suelen tener una estructura formada por uno o dos grupos bencénicos, que actúan

como cromóforos absorbiendo los fotones de una determinada longitud de onda. Esta energía se libera escalonadamente mediante procesos de fluorescencia, emisión de calor o fotoionización. Así, la cantidad de radiación que alcanza la epidermis queda disminuida considerablemente. En general, se emplea una combinación de filtros para aumentar su efectividad y abarcar un espectro de absorción más amplio. De esta manera, se utilizan en menor concentración, disminuyendo así los posibles efectos adversos (Azcona, 2003).

- **Fotoprotectores UVB:** Los fotoprotectores UVB incluyen el ácido para-aminobenzoico (PABA) y sus ésteres (padimato A y O), los cinamatos, los salicilatos y el octocrileno. Todos ellos bloquean de forma eficaz alrededor del 90 % de las radiaciones UVB en su espectro completo (290-320 nm) y por tanto ofrecen protección frente a la quemadura y el eritema inducidos por estas radiaciones (Gilaberte, Cosojuela, Sáenz y González, 2003).
- **Fotoprotectores UVA.** La mayoría de los filtros de la radiación UVA absorben también algo de UVB. Incluyen las benzofenonas, las antralinas, la avobenzona y el ácido tereftalideno-dialcanfor sulfónico (Mexoryl SX). La oxibenzona es la benzofenona más utilizada y absorbe los UVB y los UVA (Bologna y col, 2018).
- **Fotoprotectores UVB y UVA.** Algunos filtros absorben tanto las radiaciones UVB como las UVA. El drometrisol trisiloxano (Mexoryl XL) absorbe los UVB y los UVA II, y formulado con el

Mexoryl SX potencia su efecto fotoprotector. En los últimos años ha aparecido un filtro orgánico, el dibenzotriazol, que posee un espectro de absorción amplio (UVB, UVA cortos y UVA largos) y es muy fotoestable (Bologna y col, 2018).

- **Filtros Biológicos:** Son sustancias con propiedad antioxidante como la vitamina A, la vitamina E que para poder aplicarlos se emplean en forma de acetato o palmitato con el fin de aumentar la protección contra los rayos UV y al mismo tiempo que fortalecer al sistema inmunológico de la piel (Esteva, 2005).

Factor de Protección Solar

Se denomina Factor de Protección Solar (FPS) al número de veces que el fotoprotector aumenta la capacidad de defensa natural de la piel frente al eritema o enrojecimiento previo a la quemadura. Se debe tener en cuenta que la definición solo indica la capacidad de protección frente al eritema y no frente a los otros efectos producidos por la radiación UVA (Batle, 2005).

Físicamente el FPS es un número que indica cual es el múltiplo de tiempo al que se puede exponer la piel protegida para conseguir el mismo efecto eritematoso que se obtendría sino se hubiese aplicado ninguna protección. De esta manera se evita el eritema, en comparación con el mismo tiempo de exposición pero sin la protección del filtro solar, solo da información de la protección frente al UVB (Alcalde y Baldellou, 2019).

El FPS, es el principal índice de la protección UVB y es por eso que se cuantifica, para saber cuan eficaz es. Cuanto más alto sea el FPS mayor será la protección frente a la radiación UVB. Se considera que un protector solar debe tener, por lo menos, un FPS 30+ y que, al adicionarle filtros UVA, se potencia su eficacia contra el espectro de radiación ultravioleta. No hay consenso sobre la medición del factor de protección contra la UVA (Costa, Detoni y Branco, 2015).

Para establecer que un protector solar es de amplio espectro UVA, debe brindar protección contra una longitud de onda de 370 nm, por lo menos, y la pigmentación tardía debe corresponder a un factor de protección UVA superior a 4. La mayoría de los filtros solares con un FPS de 15 o mayor, hacen un excelente trabajo de protección contra los rayos UVB. El modelo del FPS tiene ciertos puntos a considerar; en primer lugar, ningún protector solar, independientemente de su capacidad, continúa siendo eficaz sin replicarse cada dos horas, en segundo lugar, el enrojecimiento de la piel es una reacción a los rayos UVB y dice poco sobre el daño que los rayos UVA puedan hacer (Costa, Detoni y Branco, 2015).

Métodos para la Determinación del Factor de Protección Solar

La industria cosmética utiliza diferentes metodologías para determinar el FPS, en algunos países han adoptado diferentes guías para determinarlo, métodos *in vitro* por medio de espectrofotometría y métodos *in vivo*, pero todos determinan la pigmentación inmediata o tardía. Existen diferentes métodos de evaluación del FPS, los más reconocidos son (International Sun Protection Factor, 2006):

- **FDA, americano:** Fue en 1978 cuando se estableció el primer método estándar que ha sido modificado posteriormente en varias ocasiones. Es vigente actualmente en USA.
- **DIN, alemán (1986):** Se diferencia del resto de test publicados en relación, por ejemplo, al tipo de lámpara utilizada, cantidad de producto a aplicar, tratamiento matemático estadístico, etc. Ha sido desplazado por el método COLIPA y actualmente ya no se utiliza.
- **SAA, australiano:** Es un híbrido entre el FDA y el DIN. Actualmente, solamente es válido para el continente australiano.
- **Método COLIPA:** Se refiere al método de la asociación europea de fabricantes de cosméticos y perfumería, creada en 1962 con sede en Bruselas (Suso, De Pera y Palacio, 2006).

El proceso para desarrollar este método comenzó mediante una crítica a los métodos ya existentes y una identificación de los factores o áreas de perfeccionamiento. Este método considera, pues, muchos elementos descritos en otros métodos e incluye además una serie de mejoras generales entre los que se mencionan:

- Número de selección de los voluntarios y tipos de pieles.
- Cantidad de producto aplicado.
- Método y técnica de aplicación.

- Definición de la fuente de luz.
- Utilización de productos estándar bajos y altos.

Al haber aplicado todas las mejoras tecnológicas que la ciencia ofrece actualmente, constituye el método de evaluación más moderno, serio y fiable de todos los existentes. Este método consiste en un estudio clínico, con voluntarios sanos a los que se les aplica una dosis de 2 mg/cm² del producto y luego se procede a irradiar con una fuente de radiación UV artificial (simulador solar), la cual emite un espectro continuo en la región UV (290-400 nm) (International Sun Protection Factor, 2006).

El método *in vivo* se basa en la respuesta eritematosa de la piel frente a la radiación UVB, las áreas protegidas y no protegidas de los sujetos están expuestas a la luz solar artificial por varios períodos de tiempo. El FPS se define como la Dosis Mínima de Eritema (DME) la cual es la dosis de radiación UVB que produce un enrojecimiento visible en la piel protegida dividida por la DME de la piel desprotegida. El cálculo se realiza mediante la siguiente ecuación (International Sun Protection Factor, 2006).

$$\text{FPS} = \frac{\text{DME piel protegida}}{\text{DME piel no protegida}}$$

- **UV-A, IR,** Es importante también que el etiquetado informe de la protección que el fotoprotector ofrece frente a otro tipo de radiaciones como el UV-A y el infrarrojo.
- **Métodos *in vitro*:** Aun cuando no se ha encontrado una buena correlación entre los métodos *in vivo* e *in vitro*, estos últimos son empleados con frecuencia por el investigador, a modo de obtener la primera orientación del valor del FPS de su producto (Pissavini, Ferrero, Alard, Heinrich, Tronnier y Kockott, 2003).

Los procedimientos *in vitro* reducen los riesgos relacionados con la exposición UV de los humanos, son en general de dos tipos: métodos que implican la medición de la absorción o la transmisión de radiación UV a través de películas de productos de protección solar en placas de cuarzo o biomembranas y métodos en los que las características de absorción de los agentes de filtro solar se determinan basándose en el análisis espectrofotométrico de las disoluciones diluidas. Los FPS *in vitro* se determinan por el método descrito de Mansur y Vogelmann (Malsawmtluangi, Nath, Jamatia, Zarzoliana y Pachuau, 2013).

- **Método de Mansur:** consiste en un método espectrofotométrico en el cual la formulación se diluye en etanol hasta una concentración de 0,2 mg/mL, condición establecida por el autor para establecer una correlación con el método *in vivo* a través de la fórmula matemática desarrollada según el método, se relacionan los valores

de absorbancia obtenidos de las muestras con el FPS de la formulación (Mansur, Breder y Mansur (1986):

$$\text{FPS} = \text{FC} \times \{ \text{EE} (\lambda) \times \text{I} (\lambda) \times \text{Abs} (\lambda) \}$$

Dónde: **FPS**: Factor de Protección Solar; **FC**: 10 (factor de corrección); **EE** (λ): Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda; **Abs** (λ): Absorbancia de la solución en la longitud de onda

La relación entre el efecto eritemogénico y la intensidad de la radiación de cada longitud de onda es una constante determinada por (Sayre, Desrochers y Marlow, 1980) como se observa en la tabla 3:

Tabla 3: Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda

Longitud de onda (nm)	290	295	300	305	310	315	320	Total
EE (λ) x I (λ)	0,0150	0,0817	0,2874	0,3278	0,1868	0,0839	0,0180	1,0

Tomado y modificado de Sayre y col (1980).

- **Método de Vogelmann:** En este método se determina el FPS *in vitro*, las lecturas se realizan tomando en cuenta el espectro de absorción UVB y la longitud de onda crítica (308 nm) establecida en el Método Internacional para la determinación del FPS (Vogelman, Nieves, Brind, Nash y Orentreich, 1985):

$$FPS \text{ in vitro} = \frac{FPS \text{ patron} \times \sum A \text{ muestra (260 - 360 nm)}}{A \text{ patron (260 - 360 nm)}}$$

Dónde:

FPS patrón = Protector solar con FPS conocido; **ΣA muestra** = Sumatoria de picos de absorbancia en el rango 260–360 nm.; **A patrón** = Absorbancia del protector solar con FPS conocido.

Definición Operacional de Términos

- **Actínica:** Proteína filamentosa constituyente del citoesqueleto celular, que interviene en la contracción muscular.
- **Antihelmíntico:** Que actúa contra los gusanos parásitos. Aplicado a un medicamento o a una sustancia.
- **Ápice:** Extremo superior o punta de algo.
- **Carcinógeno:** es un agente físico, químico o biológico potencialmente capaz de producir cáncer al exponerse a tejidos vivos.
- **Carminativo:** Que favorece la expulsión de los gases desarrollados en el tubo digestivo.
- **Coriáceo:** Perteneciente o relativo al cuero, parecido al cuero.
- **Dehiscente:** Dicho de un fruto que se abre naturalmente para que salga la semilla.

- **Estoma:** Abertura microscópica en la epidermis de las partes verdes de los vegetales superiores que permite el intercambio de gases y líquidos con el exterior.
- **Eritema:** Enrojecimiento de la piel debido al aumento de la sangre contenida en los capilares.
- **Fotones:** Cada una de las partículas que, según la física cuántica constituyen la luz y en general la radiación electromagnética.
- **Fototipo:** Capacidad de adaptación al sol que tiene cada persona desde que nace, es decir, el conjunto de características que determinan si una piel se broncea o no, y en qué grado lo hace. Cuanto más baja sea esta capacidad, menos se contrarrestarán los efectos de las radiaciones solares en la piel.
- **Fotoenvejecimiento:** es un tipo de envejecimiento prematuro causado por la exposición prolongada a los rayos del sol.
- **Foliáceas:** Pertenece o relativo a las hojas de las plantas.
- **Mutágeno:** Agente capaz de producir mutaciones.
- **Psoriasis:** Dermatitis generalmente crónica.
- **Queratosis:** Crecimiento córneo del tegumento, como una verruga o una callosidad.

Operacionalización de Variables

Las variables se operacionalizan con la finalidad de transformar los conceptos abstractos en empíricos, en consecuencia se podrán medir a través de los indicadores respectivos. En tal sentido, se operacionalizaron las variables dependientes como el factor de protección solar (Tabla 4) y la variable independiente (Tabla 5) la composición química de los extractos de *Tabebuia serratifolia*.

Tabla 4. Operacionalización de la variable dependiente: Factor de Protección Solar

Variable	Tipo	Definición conceptual
Factor de Protección Solar (FPS)	Dependiente	Indica el número de veces que el fotoprotector aumenta la capacidad de defensa natural de la piel frente al eritema o enrojecimiento previo a la quemadura (Batle, 2005).
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Método espectrofotométrico de Mansur y Vogelmann	Metabolitos secundarios que absorben luz UV en el rango de 290-320 nm y 260-360 nm	FPS mayor a 2

Elaborado por Lobo y Pérez, 2019

Tabla 5. Operacionalización de la variable independiente: Composición química de la corteza de *Tabebuia* sp.

Variable	Tipo	Definición conceptual
Composición química de la corteza de <i>Tabebuia</i> sp	Independiente	Metabolito secundario es aquel que es propio de una especie, se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza (Marcano y Hasegawa, 2002).
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Pruebas químicas de coloración y/o precipitación	<ul style="list-style-type: none"> • Alcaloides • Fenoles • Flavonoides • Triterpenos/Esteroles 	<ul style="list-style-type: none"> • Aparición de turbidez y un precipitado. • Formación de una coloración que varía de verde azul. • Coloración naranja o violeta se considera prueba positiva. • Coloración roja o verde se considera prueba positiva.

Elaborado por Lobo y Pérez, 2019

Hipótesis

Investigaciones previas han demostrado que especies del género *Tabebuia* biosintetizan metabolitos secundarios que poseen actividad biológica; por lo cual, es de esperar que los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp contengan compuestos estructuralmente relacionados y con actividad fotoprotectora.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Este capítulo tiene la finalidad de dar a conocer las técnicas de observación utilizadas y los procedimientos de análisis empleados para que sea posible a otros investigadores y no sólo para repetirla sino también para verificar la adecuación de dichas técnicas y procedimientos al objeto de estudio, así mismo, se desarrollaron cada una de las pautas que permitieron reconocer la presente investigación.

Tipo de Investigación

Según Hurtado (2010), los tipos de investigación pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. Particularmente, la investigación de tipo confirmatoria se lleva a cabo cuando ya existen investigaciones previas de carácter exploratorio, descriptivo y explicativo, y a la vez, se puede predecir el efecto a partir de la causa o inferir la causa a partir del efecto. Por lo tanto esta investigación es de tipo confirmatoria, ya que se estableció la relación de causa-efecto entre los componentes químicos de los extractos de *Tabebuia* sp, y la actividad fotoprotectora.

Diseño de Investigación

Hurtado (2010), manifiesta que el diseño de la investigación se refiere a las estrategias que se implementarán para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber. En ese sentido, el diseño de la presente investigación es de tipo experimental, porque la especie vegetal fue sometida a determinadas condiciones, estímulos o tratamientos, para observar los efectos o reacciones que se producían en la variable dependiente. El diseño de investigación experimental es netamente explicativo, por cuanto su propósito es demostrar que los cambios en la variable dependiente fueron causados por la variable independiente. Es decir, se pretende establecer con precisión una relación causa-efecto; este estudio se realizó en un lapso de tiempo determinado, por lo tanto es un tipo de diseño de investigación transversal, porque los datos se recolectan en un solo momento y en un tiempo único (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

Población y Muestra

Unidad de Investigación

Estuvo representada por la especie vegetal *Tabebuia* sp (Bignonaceae) recolectada Ciudad de Upata, al nor-este del Estado Bolívar.

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra estuvo integrada por la recolección de 3000 gramos de corteza fresca de la especie vegetal *Tabebuia* sp.

Sistema de Variables

Mediante el proceso de Operacionalización de las Variables, se visualizan las propiedades del objeto que no son cuantificables directamente, son llevadas a expresiones más concretas y directamente medibles. Según su función las variables estudiadas en la presente investigación se clasifican en:

- ✓ **Variable Dependiente:** Factor de protección solar (Tabla 4)
- ✓ **Variable Independiente:** Composición química de la corteza de *Tabebuia* sp (Tabla 5).

Instrumento de Recolección de Datos

Los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos fueron fotografías y tablas donde se registraron los resultados de la composición química y determinación del factor de protección solar de los extractos estudiados.

Procedimientos de la Investigación

Recolección y preparación del material vegetal

Las muestras de la corteza de *Tabebuia* sp (Figura 6) fueron colectadas en los alrededores de la Ciudad de Uputa, al nor-este del Edo. Bolívar (7° 96´ N y 62° 31´ O), a una altura promedio de 350 m.s.n.m. (Figura 7). La muestra fue donada por el Prof. Jesús Velásquez (Laboratorio de Anatomía de la Madera. Universidad Nacional Experimente de Guayana, UNEG).

La corteza (3000 g) se retiró en la base del árbol a una altura no mayor de 1 m sobre el nivel del suelo. Posteriormente se colocó en la estufa a 40 °C hasta completa sequedad (2500 g).

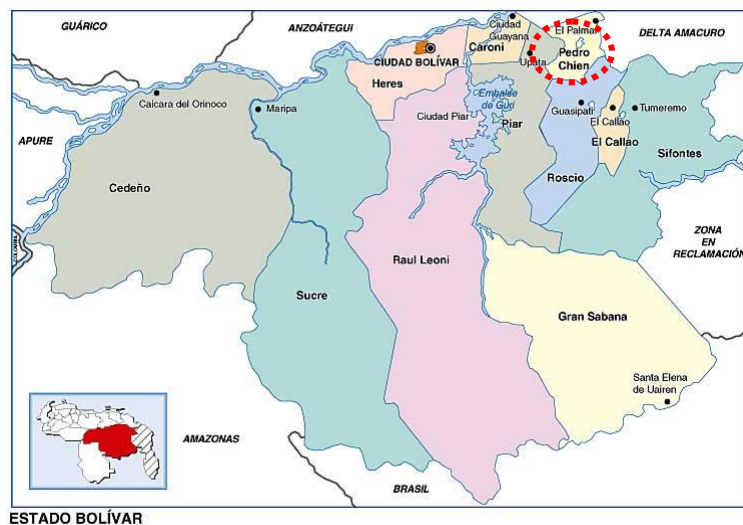
Figura 6: Corteza de *Tabebuia* sp



Fuente: Prof. Jesús Velásquez. Laboratorio de Anatomía de la Madera. Laboratorio de Biotecnología de la Madera. Universidad Nacional Experimental de Guayana (UNEG).

www.bdigital.ula.ve

Figura 7: Ubicación geográfica de la Ciudad de Upata (Berroterán 2003)



Obtención de los extractos

El material vegetal seco (2500 g), fue molido utilizando un equipo especial de carpintería, luego se tomaron 200 g y se realizó un proceso de extracción (maceración a temperatura ambiente) usando como solventes hexano, acetona y etanol, en cada caso, se filtró y el solvente fue evaporado hasta completa sequedad en un rotavapor, obteniendo 1,81 g del extracto de hexano, 1,48 g del extracto de acetona y 1,98 g del extracto etanólico.

Análisis fitoquímico preliminar

Para determinar la presencia de metabolitos secundarios en los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp se efectuó una serie de pruebas químicas cualitativas para lograr la identificación de los mismos. Entre estas pruebas se encuentran:

- **Ensayo de Liebermann-Burchard (Terpenos y/o Esteroides):** para el desarrollo de esta prueba en dos tubos de ensayos limpios, secos y debidamente identificados, se tomaron pequeñas cantidades de los extractos previamente llevados a sequedad, y se adicionó 0,5 mL de solución clorofórmica anhidra, luego se añadió 0,5 mL de anhídrido acético y cuidadosamente por la pared del tubo una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se consideró positiva la prueba cuando aparecieron coloraciones rojas, verdes o azuladas (Martínez, Valencia y Jiménez, 2004).
- **Ensayo de Shinoda (Flavonoides):** se procedió a tomar 1,0 mL del extracto, luego se añadieron algunas limaduras de magnesio (Mg) y se

adicionó cuidadosamente por la pared del tubo unas gotas de HCl concentrado. La aparición de coloraciones naranja o violeta, se considera prueba positiva (Martínez y col, 2004).

- **Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (Alcaloides):** una alícuota del extracto y/o tintura se disuelve en 1,0 mL de HCl al 5 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade una gota de HCl concentrado. Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, se divide en tres tubos y luego se añaden 0,5 mL del reactivo correspondiente (Dragendorff, Mayer, Wagner); el resultado es positivo si hay precipitado naranja (Martínez y col, 2005).
- **Ensayo con FeCl₃ (Compuestos fenólicos):** la muestra se disolvió en agua y se agregó unas gotas de solución de cloruro de hierro (III) diluido. La formación de una coloración roja, azul, verde, o púrpura indica la presencia de fenoles (Martínez y col, 2005).
- **Ensayo de gelatina al 1 % (Taninos):** se disolvió la muestra en agua y se adicionaron 2 gotas de reactivo de gelatina. La formación de un precipitado blanco indica presencia de taninos (Domínguez, 1990).
- **Ensayo con hidróxido de amonio (Cumarias):** Se concentró una porción del extracto y se le adicionó 0,5 mL de etanol y dos gotas de hidróxido de amonio concentrado. Se considera positiva la prueba se presenta una fluorescencia azul-violeta bajo la luz UV (Domínguez, 1990).
- **Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5% (Quinonas):** En un tubo de ensayo se colocaron 10 mg de la muestra, 0,2 mL de etanol y 0,4

mL de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5 %. Se observa si hay formación de coloración roja, indica la positividad de la prueba (Thompson, 1958).

- **Prueba de Altura y estabilidad de espuma (Saponinas):** En cada tubo de ensayo colocar 1,0 mL de cada extracto, agitar vigorosamente y observar la altura de la espuma. Se considera positivo si la espuma alcanza una altura de 8 a 10 mm y se mantiene por 30 minutos (Domínguez, 1990).

Determinación del Factor de Protección Solar

El factor de protección solar (FPS) se determinó siguiendo dos metodologías *in vitro* (Mansur y col, 1986; Vogelmann y col, 1985):

- **Método de Mansur:** Para obtener las diluciones a una concentración de 0,2 mg/mL se pesó 500 mg de cada extracto (acetona y etanol) y se transfirió a un balón aforado de 50 mL, se agregó 40 mL de etanol, se agitó durante 5 minutos, y luego se diluyó a volumen con etanol, se homogeneizó y luego se filtró descartando los primeros 10 mL. Se tomó una alícuota de 0,5 mL del filtrado se transfirió a un balón aforado de 25 mL y se diluyó a volumen con etanol. Las absorbancias de las soluciones se determinaron en un espectrofotómetro Genesys Bio10 en el rango de 290 a 320 nm, con intervalos de 5 nm utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm. Los análisis fueron realizados por triplicado y el FPS fue calculado de acuerdo con la ecuación desarrollada por (Mansur y col, 1986).

➤ **Método de Vogelmann:** para obtener concentraciones finales de 0,01 mg/mL, se procedió a pesar 5 mg de cada extracto (acetona y etanol) y se transfirió a un balón aforado de 25 mL, se agregó 15 mL de etanol, se agitó durante 5 minutos, y luego se diluyó a volumen con etanol, se homogeneizó y luego se filtró. Posteriormente se tomó una alícuota de 0,5 mL y se llevó a un balón aforado de 10 mL y se llevó a volumen con etanol. Se utilizó como patrón un protector solar comercial que declara un FPS de 15, el estándar fue tratado igual que los extractos. Las absorbancias de las soluciones se determinaron en el rango de 260 a 360 nm, con intervalos de 5 nm utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm. Los análisis fueron realizados por triplicado y el FPS fue calculado de acuerdo con la ecuación desarrollada por (Vogelman y col, 1985).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio fitoquímico

El análisis fitoquímico de los extractos obtenidos de la corteza de *Tabebuia* sp se realizó cualitativamente mediante pruebas químicas. Los mismos se colocaron en contacto con diversos reactivos químicos y se observaron las reacciones de coloración o precipitación que determinaron la presencia de ciertos metabolitos secundarios.

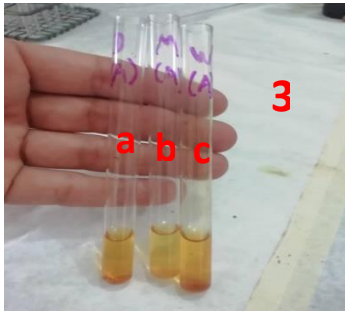
A través del análisis cualitativo de los extractos de *Tabebuia* sp se comprobó la presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y quinonas en los extractos de acetona y etanol; por otra parte, en el extracto de hexano solo se encontró la presencia de esteroides. Sin embargo, es necesario resaltar, que el extracto de acetona presenta mayor proporción de compuestos fenólicos y quinonas (Tabla 6; Figura 8).

Tabla 6: Resultados de la caracterización fitoquímica de los extractos obtenidos de la corteza de *Tabebuia* sp

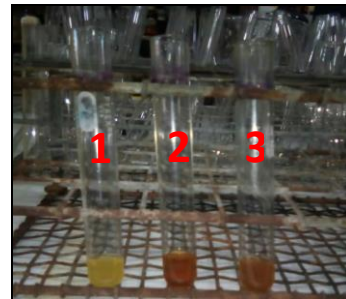
Metabolitos	Ensayo	Resultados	EH	EA	EE
Alcaloides	Dragendorff Mayer Wagner	Formación de precipitado Naranja	ND	ND	+ + +
Flavonoides	Shinoda	Aparición de coloración a rojiza	-	++	+
Cumarinas	Hidróxido de amonio concentrado	No hubo fluorescencia bajo la luz UV	-	-	-
Taninos y Compuestos Fenólicos	FeCl ₃ al 3 %	Coloraciones verdes	ND	++	+
Taninos	Gelatina 1 %	No se formó precipitado	ND	-	-
Tripertenos y Esteroles	Liebermann-Burchard	Cambio a verde (hexano, acetona) Cambio a rojizo (etanol)	+	+	+
Saponinas	Espuma	Formación de espuma que desaparece rápidamente	ND	-	-
Quinonas	Hidróxido de sodio al 5 %	Formación de color rojo	-	++	+
<p>EH: Extracto de Hexano. EA: Extracto de Acetona. EE: Extracto de Etanol. (+): Presencia. (++): Abundante. (-): Ausencia. ND: No determinado</p>					

Figura 8. Caracterización Fitoquímica de los extracto de la corteza de *Tabebuia* sp

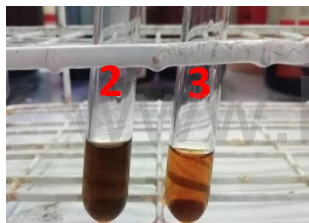
Alcaloides
a) Dragendorff b) Mayer c) Wagner



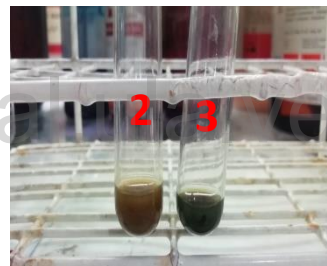
Flavonoides: Ensayo de Shinoda



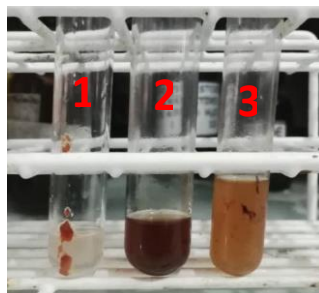
Triterpenos y esteroides: Ensayo de Liebermann-Burchard



Taninos y compuestos fenólicos: FeCl₃



Quinonas: Solubilidad en NaOH al 5 %



1: extracto de hexano. **2:** extracto de acetona. **3:** extracto de etanol

Estos resultados se asocian con estudios similares realizados en investigaciones previas donde se reportan que de los extractos de *Tabebuia* se han podido aislar diferentes moléculas, como: naftoquinonas, furanonaftoquinonas, lapachol, glucosidoiridoides, dialdehidos ciclopentanos, derivados del ácido

benzoico y flavonoides (Sharma, Khanna, Rohatgi y Thomson, 1988; Kreher, Lotter, Cordell y Wagner, 1988; Ueda y col, 1994; Koyama, Morita, Tagahara y Hirai, 2000).

Como se puede apreciar, en los estudios fitoquímicos del género *Tabebuia*, los componentes principales son derivados fenólicos y quinonas, y en la presente investigación esos fueron los compuestos detectados en los extractos analizados. Por otra parte, llama la atención que en los extractos de acetona y etanol dio positivo para alcaloides por lo que se podría presumir un falso positivo debido a la presencia de sistemas lactónicos en algunos de los compuestos fenólicos obtenidos de este género (Figura 2) que pueden generar interferencias por la aparición de precipitados (Miranda y Cuellar, 2012). Según la revisión realizada se han detectado alcaloides en tamizajes fitoquímicos realizados en extractos de *T. rosea* (Sathiya y Muthuchelian, 2010), *T. serratifolia* (Lobato y col, 2014) y *T. hypoleuca* (Regalado, Sánchez y Mancebo, 2015) pero no se ha logrado el aislamiento de los mismos. En tal sentido, se recomienda realizar una extracción específica para compuestos alcaloidales para poder confirmar la presencia de estas sustancias en dichos extractos.

Actividad Fotoprotectora

Según, Castanedo y Torres (2017), los filtros solares comerciales deben de ser capaces de proveer de amplia protección contra los rayos ultravioletas, para ello, los protectores necesitan poseer moléculas que absorban, reflejen o dispersen la radiación.

En la determinación del FPS *in vitro*, existen algunos factores que intervienen, tales como, la solubilidad de la muestra, la concentración, el solvente usado para disolver el protector solar (Trujillo, Lauzan y González, 2014). En el presente trabajo, para la realización de la actividad fotoprotectora *in vitro*, se emplearon los métodos de Mansur (290-320 nm) y Vogelmann (260-360 nm). A continuación se presentan los resultados de la determinación del factor de protección solar de los extractos de acetona y etanol de la corteza de *Tabebuia* sp.

Método de Mansur

Se prepararon 3 muestras de cada extracto a una concentración de 0,2 mg/mL y se leyeron en el espectrofotómetro en un rango entre 290 y 320 nm, con los datos de absorbancias obtenidos se aplicó la fórmula matemática desarrollada según el método (Mansur y col, 1986), en las tablas 7 y 8 se presentan los resultados.

$$\text{FPS} = \text{FC} \times \left\{ \sum \text{EE}(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda) \right\}$$

Tabla 7. Resultados del FPS del extracto de acetona de *Tabebuia* sp por el método de Mansur

(λ) nm	Abs M₁	Abs M₂	Abs M₃	Abs X ± DE	EE * I	FC	FPS CALC
290	1,7250	2,0960	1,5960	1,806 ± 0,259	0,0150	10	0,271
295	1,5545	1,8935	1,4280	1,625 ± 0,2407	0,0817	10	1,328
300	1,3820	1,6850	1,2630	1,443 ± 0,2176	0,2874	10	4,148
305	1,1990	1,4640	1,0900	1,251 ± 0,1923	0,3278	10	4,101
310	1,0560	1,2900	0,9560	1,101 ± 0,1714	0,1868	10	2,056
315	0,9625	1,1765	0,8690	1,003 ± 0,1576	0,0839	10	0,841
320	0,9260	1,1310	0,8340	0,964 ± 0,1520	0,0180	10	0,173
Factor de Protección Solar							12,92
<p>(λ) nm: Longitud de onda Abs.: Absorbancia M1: Muestra 1; M2=Muestra 2; M3: Muestra 3 X ± DE: Media ± Desviación Estándar EE*I: Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda FPS CALC: Factor de protección solar calculado</p>							

Tabla 8. Resultados del FPS del extracto de etanol de *Tabebuia* sp por el método de Mansur.

(λ) nm	Abs M₁	Abs M₂	Abs M₃	Abs ± DE	EE * I	FC	FPS CALC
290	0,9230	0,9100	1,2650	1,033 ± 0,2013	0,0150	10	0,155
295	0,8265	0,8050	1,1200	0,917 ± 0,1760	0,0817	10	0,749
300	0,7520	0,7250	1,0090	0,829 ± 0,1568	0,2874	10	2,382
305	0,6810	0,6510	0,9070	0,746 ± 0,1399	0,3278	10	2,446
310	0,6260	0,5940	0,8290	0,683 ± 0,1274	0,1868	10	1,276
315	0,5910	0,5610	0,7840	0,645 ± 0,1210	0,0839	10	0,541
320	0,5990	0,5630	0,7870	0,650 ± 0,1203	0,0180	10	0,117
Factor de Protección Solar							7,67
<p>(λ) nm: Longitud de onda Abs.: Absorbancia M1: Muestra 1; M2=Muestra 2; M3: Muestra 3 X ± DE: Media ± Desviación Estándar EE*I: Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda FPS CALC: Factor de protección solar calculado</p>							

Método de Vogelmann

Se prepararon 3 muestras de cada extracto (acetona y etanol) y un estándar (FPS 15) a una concentración final de 0,01 mg/mL, posteriormente se procedió a realizar las lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro en un rango entre 260 y 360 nm, con los datos de absorbancias obtenidas se determinó el FPS utilizando la fórmula propuesta por Vogelmann y col (1985) y en la longitud de onda crítica (308 nm de acuerdo al Método Internacional para la determinación del FPS) (Tablas 9,10, 11).

$$FPS \text{ in vitro} = \frac{FPS_{\text{patrón}} \times \Sigma A \text{ muestra (260-360 nm)}}{A_{\text{patrón (260-360 nm)}}$$

www.bdigital.ula.ve

Tabla 9. Absorbancias del estándar comercial (FPS=15)

Estándar	Σ Abs (260-360 nm)	Abs X \pm DE
Abs 1	0,0873	0,0837 \pm 0,05
Abs 2	0,0801	
Abs 3	0,0839	
Abs.: absorbancia Σ Abs (260-360 nm): sumatoria de los picos de absorbancia X \pm DE: Media \pm Desviación Estándar		

Tabla10. Determinación del FPS del extracto de acetona y etanol por el método de Vogelmann.

Extracto	Muestras	Σ Abs (260-360 nm)	FPS CALC	X del FPS \pm DE
Acetona	M1	0,0717	13,25	12,96 \pm 0,72
	M2	0,0730	13,05	
	M3	0,00657	12,12	
Etanol	M4	0,0393	7,27	7,29 \pm 0,20
	M5	0,0406	7,51	
	M6	0,0384	7,10	
Σ Abs.: sumatoria de los picos de absorbancia X \pm DE: Media \pm Desviación Estándar FPS CALC: Factor de protección solar calculado				

Tabla 11. Resultados del FPS a 308 nm (longitud de onda crítica)

Extracto	Muestras	Abs 308 nm	FPS CALC	X del FPS \pm DE
Acetona	M1	0,062	11,06	11,12 \pm 0,65
	M2	0,067	11,95	
	M3	0,058	10,34	
Etanol	M4	0,034	6,06	6,24 \pm 0,18
	M5	0,036	6,42	
	M6	0,035	6,24	
Abs 308 nm.: absorbancia a la longitud de onda crítica X del FPS \pm DE: Media \pm Desviación Estándar FPS CALC: Factor de protección solar calculado				

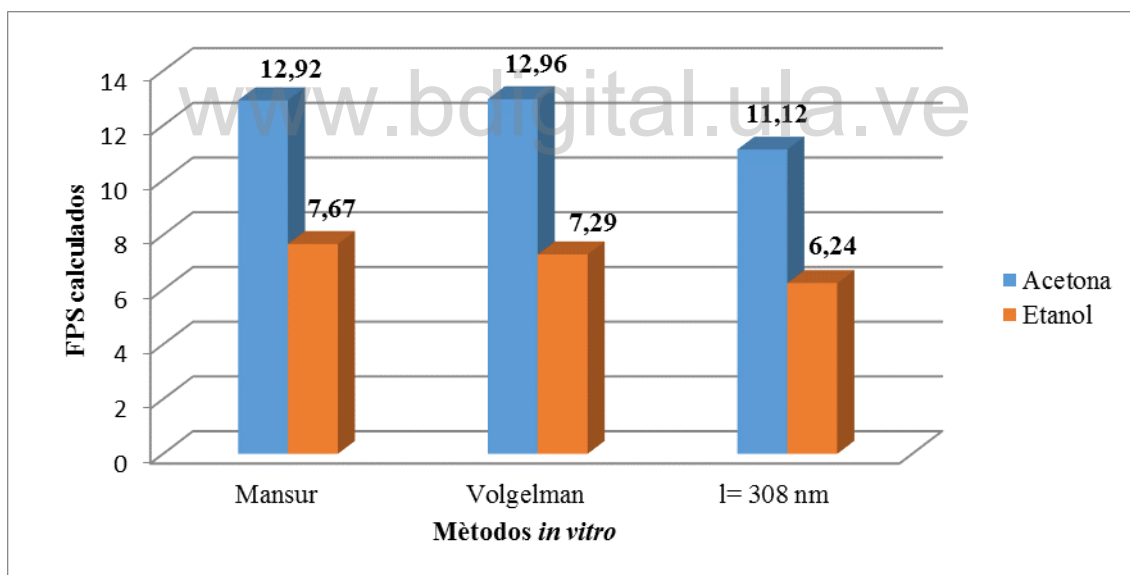
El factor de protección solar fue determinado *in vitro* por diversos métodos espectrofotométricos, los resultados de la medición fueron similares entre los métodos (Tabla 12, Gráfica 1), el extracto de acetona tuvo un FPS de 12,92 por el método de Mansur, 12,94 por el método de Vogelmann y 11,12 tomando en cuenta la longitud de onda crítica. Asimismo, el extracto de etanol presentó un FPS de 7,67; 7,29 y 6,24, respectivamente, según el orden de los métodos mencionados anteriormente. En tal sentido, según la clasificación de COLIPA los extractos de

acetona y etanol obtenidos de la corteza de *Tabebuia sp* reflejaron una protección solar alta y media.

Tabla 12. Resumen de los FPS calculados de los extractos de *Tabebuia sp*

Método	Extractos	FPS CALC
Mansur (290-320 nm)	Acetona	12,92
	Etanol	7,67
Vogelman (260-360 nm)	Acetona	12,96
	Etanol	7,29
Longitud de onda crítica (308 nm)	Acetona	11,12
	Etanol	6,24

Grafico 1. FPS *in vitro* de los extractos de *Tabebuia sp*



Por otra parte, cabe resaltar que el extracto de acetona posee mayor potencial como agente fotoprotector (FPS \approx 13), según COLIPA ofrece un nivel de protección alto. Este resultado se relaciona directamente con la composición química del mismo, y el tamizaje fitoquímico realizado demostró que contiene

compuestos fenólicos, flavonoides y quinonas en mayor proporción que el extracto de etanol, por lo cual se puede inferir que la actividad fotoprotectora de ambos extractos se debe a la presencia de dichos compuestos, debido a que la estructura química de los metabolitos secundarios detectados, presentan insaturaciones conjugadas o grupos cromóforos (donadores de electrones) que pueden absorber las radiaciones en el espectro UV.

De igual modo, los resultados obtenidos se relacionan con reportes previos donde evalúan la actividad fotoprotectora de extractos de plantas, por ejemplo, en su estudio sobre la detección de la actividad fotoprotectora de extractos de acetato de etilo de plantas medicinales, utilizaron materia prima fresca y seca, y se destaca las flores de pensamientos (*Viola tricolor var. hortensis*) con un FPS de 25,69 y la caléndula (*C. officinalis*) 12,01 de los cuales la caléndula es utilizada en fotoprotectores (Tacuri, 2019).

Por otra parte, Santamaría (2016), evaluó la actividad fotoprotectora de extractos de *Passiflora manicata* (Juss.) Pers obteniendo como resultado un FPS *in vitro* de $23,76 \pm 0,0065$ que corresponde a la fracción de etanol a 2000 ppm, concluyendo que los extractos de esta planta se puede utilizar como agente fotoprotector en formulaciones farmacéuticas, cosmeceúticas y/o cosméticas a futuro.

Con respecto a los procedimientos *in vitro*, estudios previos reportan que presentan una buena analogía con lo referente al método *in vivo*, porque relacionan la absorbancia del agente fotoprotector con el efecto eritematógico de

la radiación solar ultravioleta en una longitud de onda de 290-320 nm, siendo estos procedimientos *in vitro* una herramienta rápida debido a que reduce un número de experimentos *in vivo* y los riesgos que se relacionan con la exposición de los seres humanos en estudio (Proaño, 2017).

De acuerdo a lo anteriormente expuesto, los extractos de acetona y etanol de la corteza de *Tabebuia* sp constituyen una alternativa terapéutica natural y de bajo costo para la protección solar, ya que contiene compuestos bioactivos que pueden ser utilizados en productos tópicos, ya sea de manera exclusiva o en combinación con los filtros solares convencionales.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El análisis fitoquímico cualitativo realizado a los extractos de *Tabebuia* permitió determinar la presencia de esteroides en el extracto de hexano y de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y quinonas en los extractos de acetona y etanol, siendo más abundantes en el de acetona.

La capacidad fotoprotectora de los extractos fue obtenida a través del cálculo *in vitro* del FPS usando el método de Mansur siendo el FPS del extracto de acetona de 12,92 y del extracto de etanol 7,67 lo cual permite clasificarlos en una categoría de protección alta (acetona) y media (etanol) según la nomenclatura COLIPA.

El FPS por el método de Vogelmann fue de 12,96 y 7,29 para los extractos de acetona y etanol, respectivamente. Asimismo, al tomar en cuenta, la longitud de onda crítica (308 nm) para el extracto de acetona el FPS fue de 11,12 y de 6,24 para el extracto de etanol, ambas determinaciones permitieron observar que no ocurrió desplazamiento de la banda de absorción de los extractos evaluados, con estos dos parámetros se obtiene un estimado de la capacidad de absorción UVB analizada de manera *in vitro*.

Los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp constituyen una alternativa terapéutica natural y de bajo costo para la protección solar, ya que contiene compuestos bioactivos que pueden ser utilizados en fitocosmética en el futuro.

Recomendaciones

Realizar el ensayo de FPS *in vivo* con la finalidad de comprobar la actividad fotoprotectora y respaldar los resultados obtenidos de FPS *in vitro*.

Formular productos de protección solar como cremas, lociones y/o geles con los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp.

Realizar más investigaciones sobre esta especie vegetal ya que cuenta con compuestos de interés para otras determinaciones en el área de productos naturales.

BIBLIOHEMEROGRAFIA

- Acosta P. (2008). Botánica General. Guía didáctica. Técnica particular de Loja. Escuela de Ciencias de la Educación. Ecuador. Editorial Universal.
- Agati G, Brunetti C, Di Ferdinando M. (2013). Funciones de los flavonoides en fotoprotección y nueva evidencia de lección del pasado. *Fisiología y bioquímica de las plantas* 30: 1-11.
- Albornoz A. (1980). Productos Naturales. Estudio de las sustancias y drogas extraídas de las plantas. Publicaciones de la Universidad Central de Venezuela. Caracas- Venezuela.
- Alcalde M, Baldellou M. (2019). Protección Solar. Colegio de Farmacéuticos de Barcelona. 3(2): 67-72
- Aldahan A, Shah V, Mlacker S, Nouri K. (2018). The history of sunscreen. *Jama dermatology*, 151(12):1316.
- Al-Jamal M, Griffith J, Lim H. (2004). Fotoprotección en pieles étnicas. *Dermatología clínica*. 4(3):127-132.
- Azcona L. (2003). Farmacéutica Comunitaria de Bizkaia. Master en Cosmética y Dermofarmacia. 17(2): 98-102.
- Balaguer F, Montero J. (1995). Método de Colipa para la evaluación del factor de protección solar (FPS). IX reunión. Salamanca.
- Barón E, Suggs A. (2014). Introducción a la fotobiología. *Dermatología Clínica*. 9(2): 56-60
- Batle C. (2005). Factor de protección solar. México. Editorial Elsevier.

- Berroterán J. (2003). Ordenamiento territorial de la reserva forestal Imataca y sus áreas adyacentes (Bases del Plan de Ordenamiento). Ministerio del ambiente y de los recursos naturales, dirección general de planificación y ordenación del ambiente dirección general del recurso forestal. Editores de la biblioteca de Ayacucho-Venezuela.
- Bologna J, Schaffer J, Cerroni L. (2018). Dermatologic. Editorial Elsevier health sciences. 4. 2880 Recuperado de <https://books.google.com.pe/>
- Brenner M, Hearing V. (2008). The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochem photobiol*, 5(3): 110-115.
- Castillo F, Gómez H, Estrada E, Rodríguez R, Domingo J. (1996). Estudio químico preliminar del extracto con diclorometano de la corteza del tallo de *Tabebuia billbergii*. *Revista Colombiana de Química*. 25. 1 – 2.
- Costa S, Detoni C, Branco C. (2015). Efectos fotoprotectores *in vitro* de extracto etanólico de *Marcetia taxifolia* y su potencial para protector solar. *Revista de Farmacognosia*. 25: 419-418.
- Castanedo J, Torres B. (2017). The use of commercial sunscreens in medicine. *Salud y ciencia*, 22. 580 -582
- De Gálvez M. (2010). Antioxidantes en fotoprotección ¿realmente funcionan? *Actas de dermo- sifiliográficas*, 101:(3) 197-200.
- De Ugaz O. (1994). Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. Perú. Editorial pontificia de la Universidad católica del Perú. 2da Edición.

- Domínguez X. (1973). Métodos de Investigación Fitoquímica. México. Editorial Limusa. 69-76.
- Domínguez A. (1990). Phytochemistry methods frontiers. Revista Latinoamericana de Química. 2(1):27-35.
- Eichholz I, Rohn S, Gamm A. (2012). Síntesis de flavonoides. México. Editorial interamericana.
- Esteva E. (2005). Fotoprotección. Consejos, precauciones y productos solares. Dermatología Clínica. España. 24(5)70.
- Ferrari M, Oliveira M, Nakano A. (2007). Determinación de factor de protección solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsiones con óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). Revista Brasileira de farmacognosia. 4(1):67-69
- Fonnegra R, Jiménez S. (2007). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Antioquia-Colombia. Editorial Universidad de Antioquia.
- Garcez L. (2005). Bignoniaceae. Un nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Caracas-Venezuela. Editorial Quirón.
- Gentry A. (1982). Flora de Venezuela: Bignoniaceae. Ediciones fundación educación ambiental. Caracas-Venezuela.
- Gentry A. (1992). A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. Ann. Missouri Bot. Gard, 79. 53-64.
- Gilaberte Y, Coscojuela C, González S. (2003). Fotoprotección sun protection. Actas dermo-sifiliográficas. 94:(5). 271-293.
- Gonçalves de Oliveira R, De Souza C, Rocha G, Leite A, De Oliveira A, Gomes de Lima-Saraiva S, Silva Morais A, Sousa J, Guedes da Silva J. (2005). *In*

in vitro antioxidant and photoprotective activities of dried extracts from *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). Journal of Applied Pharmaceutical Science. 3(1): 122-127.

Gonzales M, Fuentes F, Vernhes M. (2016). El extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* protege al ADN plasmídico del daño inducido por radiación UVC. Acta farmacéutica. 12(4):112-118

Gómez R, Prieto J, Heinrich M. (2009) Red Lapacho (*Tabebuia impetiginosa*). A global ethnopharmacological commodity. Journal of Ethnopharmacology. 121:1-13.

Govindappa M, Channabasava R, Sunil K, Pushpalatha K. (2013). Antioxidant activity and phytochemical screening of crude endophytes extracts of *Tabebuia argentea*. American journal of plant sciences, 4. 1641-1652.

Grase S, Olmstead G. (2007). Evolución de un caldo carismático neotropical: filogenia molecular de *Tabebuia crescentiae* y géneros aliados (Bignoniaceae). Tesis de pregrado. Departamento de Biología. Universidad de Washington.

Greinert R, Vries E, Erdmann F. (2015). European code against cancer. Ultraviolet radiation and cancer. Cancer epidemiol. 4(2):26-32.

Hernández Gally. (1981). Plantas medicinales. Colombia. Editorial, S.A.

Hernández R, Fernández C, Baptista P. (2010). Metodología de la Investigación. México. Quinta edición. Editorial McGraw Hill.

- Hokche O, Berry P, Huber O. (2008). Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela.
- Hurtado J. (2010). El Proyecto de la Investigación. Compresión holística de la Metodología y la investigación. Caracas-Venezuela. Sexta Edición. Editorial Quirón.
- Inagaki R, Ninomiya M, Kaori T, Kunitomo W, Mamoru K. (2013). Synthesis and cytotoxicity on human leukemia cells of furonaphthoquinones isolated from *Tabebuia* plants. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 61(6): 670–673.
- Inocente M, Tomas G, Huaman M. (2014). Actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una loción y gel elaborado con extracto estabilizado de *Myrriacaria dubia kunth*. Revista Sociedad Química del Perú. 80(1): 65-76.
- International Sun Protection Factor (SPF) Test Method. CTFA SA, COLIPA, JCIA, CTFA. (2006).
- Jiménez F, Veloza A, Sepúlveda J. (2013). Anti-infectious activity in plants of the genus *Tabebuia*. Universitas scientiarum. 18(3): 257-267.
- Koyama J, Morita I, Tagahara K, Hirai K. (2000). Cyclopentene dialdehydes from *Tabebuia impetiginosa*. Phytochemistry. 53(8):869–72. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10820794>.
- Kreher B, Lotter H, Cordell G, Wagner H. (1988). New furanonaphthoquinones and other constituents of *Tabebuia avellanadae* and their immunomodulating activities *in vitro*. Planta Medica. 54: 562–563.

- Leon H, Williams J. (2007). Anatomía del xilema secundario de diez especies de la familia Bignoniaceae de Venezuela. *Acta Botánica de Venezuela*. 30 (2):361-384.
- Lim H; Draelos D. (2009). *Clinical guide to sunscreens and photoprotection*. Estados Unidos. Editor. USA. 322.
- Liu D, Fernández B, Hamilton A. (2014). UVA irradiation of human skin vasodilates arterial vasculature and lower blood pressure independently of nitric oxide synthase. *Journal of Investigative Dermatology*.42(2):34-38
- Lobato J, Duarte L, Mota J, e Susan S, Da Silva M, De Almeida. (2014). Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Ipê Amarelo). *Macapá*. 4(1):33-43.
- López D, Brea M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista especial de Quimioterapia*. 16(4):8-12.
- López V. (2004). *Botánica General*. *Revista Internacional de Botánica Experimental*. Argentina. 8(1):67-72.
- Malsawmtluangi C, Nath D, Jamatia I, Zarzoliana E, Pachuau L. (2013). Determination of sun protection factor (SPF) number of some aqueous herbal extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 3(9): 150-151
- Manrique J, Ordoñez M. (2016). *Manual de prevención de cáncer de piel inducido por la exposición prolongada a la radiación ultravioleta (RUV)*. Departamento de promoción de la salud, prevención y control nacional del cáncer. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Organismo Público Ejecutor del Sector Salud.

- Mansur J, Breder M, Mansur, M. (1986). Determinación del factor de protección solar por espectrometría. Brasil. Grupo Editorial Planeta.
- Marcano D, Hasegawa H. (2002). Fitoquímica Orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas – Venezuela.
- Martínez A, Valencia G, Jiménez M. (2004). Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica. Departamento de Farmacia. Universidad de Antioquía, Medellín. Colombia.
- Martínez A. (2005). Flavonoides. Tesis para optar al título de Doctor en Química Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquía, Medellín. Colombia.
- Marín D, Del Pozo A. (2005). Fototipos Cutáneos. Conceptos generales de farmacia. 24(5): 136-137.
- Martini M. (2005). Introducción a la dermofarmacia y a la cosmetología. Zaragoza. España. Editorial Acribia, S.A.
- Miranda M, Cuéllar A. (2012). Farmacognosia y productos naturales. 2da edición. Editorial Félix Varela. La Habana. 135-158.
- Moya T, Osorio R. (2017). Actividad fotoprotectora de formulación tópica a base del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. (*fresa*). Tesis de pregrado para optar al título de profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica

- Mukche O, Paul E, Berry O. (2008). Nuevo catálogo de la flora de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. "Dr. Tobias Lasser". Caracas Venezuela. Editorial Quirón.
- Najera M. (1983). La Herbustaría en la República Argentina. Acta farmacéutica Bonaerense, 2(55):48-54.
- Narayanana D, Saladi R, Fox J. (2010). Ultraviolet radiation and skin cáncer. International Journal of Dermatology. 2(1):6-8.
- Ospina L, Aragón D, Vergel N, Isaza G, Pérez J. (2011). Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Phenax rugosus* (poir.) wedd and *Tabebuia chrysanta* G. Nicholson. Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. 18(1):18-20.
- Pissavini M, Ferrero L, Alard V, Heinrich U, Tronnier H, Kockott D. (2003). Determination of the *in vitro* PF. Journal of Cosmetic Dermatology; 118 (10), 63-72.
- Polefka T, Meyer T, Agin P. (2012). Effects of solar radiation on the skin. Journal of Cosmetic Dermatology. 153 (8):
- Proaño M. (2017). Determinación de la actividad fotoprotectora *in vitro* de los extractos de *Chusquea* sp. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador.
- Prudencio J, Bustamante A. (2018) .Determinación *in vitro* de la actividad fotoprotectora UVB en una crema de protección solar formulada con extracto hidroglicólico de *Lepidium meyenii* (Maca). Tesis para optar al

título de Profesional Químico Farmacéutico. Universidad Nacional mayor de San Marcos. Lima – Perú.

Raggio M, Moro N. (2004). Estudio botánico, fitoquímico y antimicrobiano de *Tabebuia aurea*. Revista Internacional de Botánica Experimental. 221-228.

Rahman M, Hossain S, Mostofa G, Ali Khan M, Rezwana A, Mosaddik A, Golam S, Alam K. (2019). Evaluation of anti-ROS and anticancer properties of *Tabebuia pallida* L. Leaves. Clinical phytoscience. 5 (17).

Rahman M, Islam B, Biswas M and Alam K. *In vitro* antioxidant and free radical scavenging activity of different parts of *Tabebuia pallida* growing in Bangladesh. BMC Res Notes (2015) 8:621

Ramos S. (2009). Actividad antibacteriana, composición química y fraccionamiento del aceite esencial de *Origanum mojarana*. Tesis de pregrado. Facultad de Farmacia y Bioanálisis Universidad De Los Andes. Mérida-Venezuela.

Rahmatullah M, Samarrai W, Jahan R, Rahman S, Sharmin N, Ullah E, Majeedul H, Chowdhury A, Sazzadul B, Farhana J, Anwarul B, Shamima A. (2010). An ethnomedicinal, Pharmacological and phytochemical review of some Bignoniaceae family plants and a description of Bignoniaceae plants in folk medicinal uses in Bangladesh. Advances in Natural and Applied Sciences, 4(3): 236-253.

Rahman M, Islam B, Biswas M and Alam K. *In vitro* antioxidant and free radical scavenging activity of different parts of *Tabebuia pallida* growing in Bangladesh. BMC Res Notes (2015) 8:621

- Reis M, Guimaraes S, Cerqueira C. (2016). *In vitro* e *in vivo*. Evaluación de la eficacia y seguridad de las formulaciones fotoprotectoras que contiene extractos antioxidantes Brasil. *Revista de farmacognosia*. 26: 251-258.
- Regalado A, Sánchez L, Mancebo B. (2015). Actividad anti-inflamatoria de los extractos metanólicos de hojas y de tallos de *Tabebuia hypoleuca*. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 3(5): 109-117.
- Santamaría S. (2016). Evaluación de la actividad fotoprotectora *in vitro* de extractos de *Passiflora manicata* (Juss.). Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador.
- Sayre R, Desrochers D, Marlow E. (1980). Sunscreen testing methods *in vitro* predictions of effectiveness. *Soc. cosmet. chem.* 1(4):17-19
- Sathiya M, Muthuchelian K. (2010). Antitumor potential of total alkaloid extract from *Tabebuia rosea*. Leaves on MOLT-4 Cells *in vitro*. *Nature and Science*. 8 (9): 77-85
- Silvia R, Costa S, Branco C. (2016). *In vitro* photoprotective activity of the *Spondias purpurea*. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. *Industrial Crops and Products*; 83:509-514.
- Suo M, Ohta T, Takano F, Jin S. (2013). Glucósidos fenilpropanoides bioactivos de *Tabebuia avellaneda*. Tesis de posgrado. Departamento de farmacognosia y química de productos naturales. Facultad de Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Kanazawa. China.

- Suso N, De Pera M, Palacio S. (2006). Método Internacional de determinación “*in vivo*” del factor de protección solar. 2:(92)05-13
- Stevens P. (2001). Angiosperm phylogeny website. Recuperado de <http://www.mobot.org/>
- Sharma P, Khanna R, Rohatgi B, Thomson R. (1988). Tecomaquinone-III: A new quinone from *Tabebuia pentaphylla*. *Phytochemistry*. 27(2):632-3. Recuperado por <http://www.sciencedirect.com/science/>
- Tacuri M. (2019). Evaluación del potencial de los aceites esenciales de Albahaca (*Ocimum basilicum*), Caléndula (*Calendula officinalis*) y Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y sus mezclas como fotoprotectores. Tesis de pregrado para optar al título de Bioquímico Farmacéutico. Universidad de Cuenca. Cuenca – Ecuador.
- Tamayo R, Verdecia A, Mojera I. (2011). Tamizaje Fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreo y acuosos de las hojas y tallo de la *Isocarpha cubana* B. red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. 15(3):68-74.
- Trujillo M, Lauzan E, González Y. (2014) *In vitro* determination of the sun protection factor of the gel fotoprotector epidérmico by ultraviolet spectrophotometry. *Centro de histotertapia*. 8(3):6-8.
- Thompson M. (1958). Naturally occurring quinones. Academic press, Nueva York. 6 (2).
- Ueda S, Umemura T, Dohguchi K, Matsuzaki T, Tokuda H, Nishino H, Iwashima

- A. (1994). Production of anti-tumour promoting furanonaphthoquinones in *Tabebuia avellanae* cell cultures. *Phytochemistry* 36: 323–325.
- Urbach F. (2011). The historical aspects of sunscreens. *J Photochem Photobiol B Biol*, 64(2–3):99–104. Recupero de <https://www.sciencedirect.com>.
- Valcargel M, Gómez, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. Barcelona. 1era Edición. Editorial Reverte.
- Vogelman, J, Nieves E, Brind J, Nash R, Orentreich N. (1985). Spectrophotometric method for determining relative SPF values of sunscreen preparations. *Cosmetologic*. 2(1):1-11.

www.bdigital.ula.ve