



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Evaluación de la actividad fotoprotectora *in vitro* y  
efecto fotoprotector *in vivo* de una formulación a base  
de extracto acuoso liofilizado de *Lepidium meyenii*  
(Maca)**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias  
Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética

**AUTOR**

Malena Liuva CASTAÑEDA ALARCON

**ASESOR**

Carlos Alejandro BELL CORTEZ

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Castañeda M. Evaluación de la actividad fotoprotectora *in vitro* y efecto fotoprotector *in vivo* de una formulación a base de extracto acuoso liofilizado de *Lepidium meyenii* (Maca) [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2019.

---



## Hoja de metadatos complementarios

- **Código ORCID del autor (dato opcional)**
  - 0000 – 0001 - 7347 – 2189
- **Código ORCID del asesor o asesores**
  - 0000 – 0001 – 6457 -9443
  - 0000 – 0001 – 8920-1148
- **Grupo de Investigación :**
- **Institución que financia parcial o totalmente la investigación**
  - Financiación propia
- **Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y/o coordenadas geográficas:**
  - Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM  
Ubicación: Jirón Huanta 1182, Cercado de Lima 15001  
**Coordenadas geográficas: -12.0558004, -77.0235465**
  - Centro Nacional de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud  
Ubicación: Av. Defensores del Morro 2268, Cercado de Lima 15064  
**Coordenadas geográficas: -12.182913, -77.017251**
- **Año o rango de años que abarco la investigación:**

2013-2017



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR  
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS CON MENCIÓN EN CIENCIA Y  
TECNOLOGÍA COSMÉTICA**

Siendo las **03:00 hrs. del 22 de marzo de 2019** se reunieron en el aula B de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por el Dr. Américo Jorge Castro Luna e integrado por los siguientes miembros: Dr. Carlos Alejandro Bell Cortez (Asesor), Dr. Luis Enrique Moreno Exebio y Mg. Bertran Santiago Trujillo; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA IN VITRO Y EFECTO FOTOPROTECTOR IN VIVO DE UNA FORMULACIÓN A BASE DE EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE *Lepidium meyenii* (MACA)"**, presentada por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica **MALENA LIUVA CASTAÑEDA ALARCÓN**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Ciencias Farmacéuticas con Mención en Ciencia y Tecnología Cosmética**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado de sustentación de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

*16 Dieciseis (Bueno)*

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Farmacia y Bioquímica **MALENA LIUVA CASTAÑEDA ALARCÓN**, el Grado Académico de Magíster en **Ciencias Farmacéuticas con Mención en Ciencia y Tecnología Cosmética**.

Siendo las *16:10* hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las *16:20* hrs. del 22 de marzo de 2019.

Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P., D.E.)  
Presidente

Dr. Luis Enrique Moreno Exebio  
Miembro

Dr. Carlos Alejandro Bell Cortez (P.P., T.C.)  
Miembro - Asesor

Mg. Bertran Santiago Trujillo (P. Aux., T.P.)  
Miembro

## *DEDICATORIA*

*“Primero a Dios, a mis padres,  
abuelita, esposo y mi hijo, fuentes  
de estímulo, esfuerzo y  
superación”.*

## AGRADECIMIENTOS

“Al Dr. Carlos Bell Cortez, asesor de esta tesis, mi profundo agradecimiento y mi eterna gratitud por su valiosa y paciente asesoría así como por el generoso tiempo brindado”.

“Al Dr. Armando Rivero Laverde, por las facilidades brindadas en las instalaciones del CNCC para la realización de los análisis Físico químico”.

“Al Dr. Luis Moreno Exebio, por su colaboración, y asesoría en los análisis de Espectrofotometría UV-VIS. En el laboratorio de fisicoquímica del CNCC - INS”

“Al Dr. José Ráez. Del Instituto de Patología de la UNMSM por su apoyo incondicional en el proceso de las muestras histológicas, sobre todo por esa gran amistad que me brindó, por escucharme y aconsejarme”

“A la Dra. Nancy Rojas por su apoyo y tiempo brindado en el manejo del microscopio electrónico en el Instituto de Patología de la UNMSM”.

“Al licenciado Julio Hidalgo y el Sr. Juan Cueva de la UPCH por su ayuda en la liofilización del extracto y el bioensayo”.

“A la Dra. Bertha Jurado Texeira, a la que le estoy muy agradecida por todas facilidades brindadas en el laboratorio de Farmacognosia y su apoyo incondicional en mi tesis, no la veré más en el laboratorio pero quedará en mi corazón”.

Agradezco a todas las personas que me ayudaron de alguna forma en la realización de esta tesis.

## INDICE

RESUMEN	viii
SUMMARY	ix
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Situación problemática.....	1
1.2. Formulación del problema.....	3
1.3. Justificación teórica.....	3
1.4. Justificación práctica.....	4
1.5. Objetivos.....	4
1.5.1. Objetivo general.....	4
1.5.2. Objetivos específicos.....	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Antecedentes de investigación.....	5
2.2. Bases teóricas.....	6
2.2.1. <i>Lepidium meyeri</i> “maca”.....	6
2.2.2. Piel.....	12
2.2.3. Radiación UV.....	16
2.2.4. Fotoprotección.....	19
2.2.5. formulaciones cosméticas y control de calidad.....	22
2.2.6. Factor de protección solar por método espectrofotométrico.....	25
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	28
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	28
3.2. Materiales.....	28
3.2.1. Material biológico.....	28
3.2.2. Equipos, material de laboratorio y reactivos.....	29
3.3. Métodos	
3.3.1. Estudio fisicoquímico.....	30
3.3.2. Formulación de la crema con actividad fotoprotectora.....	32
3.3.3. Bioensayo para evaluar el efecto fotoprotector de la formulación...35	
3.3.4. Análisis físico químico de la formulación fotoprotectora.....	37

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1 Resultados.....	39
4.1.1. Estudio fitoquímico.....	39
4.1.2. Análisis fisicoquímico de la formulación.....	40
4.1.3. Bioensayo.....	41
4.2 Discusión.....	45
Conclusiones.....	49
Recomendaciones.....	50
Referencias bibliográficas.....	51
ANEXOS.....	61

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Espectros de fotoprotectores comerciales .....	22
<b>Tabla 2.</b> Procedimiento para screening fitoquímico.....	32
<b>Tabla 3.</b> Método operatorio de la evaluación de la irradiación UVB en ratones...	36
<b>Tabla 4.</b> Constante determinada por Sayre et al. ( $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ ).....	38
<b>Tabla 5.</b> Compuestos presentes en el extracto acuoso liofilizado de maca.....	39
<b>Tabla 6.</b> Resultados de análisis fisicoquímico de formulación fotoprotectora con extracto acuoso liofilizado de maca al 15%.....	40
<b>Tabla 7.</b> Valores de FPS (Método espectrofotométrico de Mansur et al.).....	40
<b>Tabla 8.</b> Evaluación del grosor en micras de la piel de ratón irradiada con UVB.	41
<b>Tabla 9.</b> Análisis de normalidad.....	62
<b>Tabla 10.</b> Evaluación del grosor en micras de la piel de ratón.....	62
<b>Tabla 11.</b> Determinación del FPS del extracto acuoso liofilizado al 15%.....	63
<b>Tabla 12.</b> Determinación del FPS de Benzofenona-4 al 2%.....	63
<b>Tabla 13.</b> Determinación del FPS de protector solar comercial.....	64

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Acción de la enzima mirosinasa sobre los glucosinolatos .....	9
<b>Figura 2.</b> Capas de la piel .....	12
<b>Figura 3.</b> Estructura de la epidermis y división por estratos .....	13
<b>Figura 4.</b> Radiaciones ultravioleta emitida por el sol .....	16
<b>Figura 5.</b> Penetración de la radiación ultravioleta en la piel .....	17
<b>Figura 6.</b> Fotoenvejecimiento .....	18
<b>Figura 7.</b> Fotocarcinogénesis .....	19
<b>Figura 8.</b> Raíces de maca amarilla seca .....	30
<b>Figura 9.</b> Extracto acuoso de maca .....	31
<b>Figura 10.</b> Extracto acuoso liofilizado de maca .....	31
<b>Figura 11.</b> Crema con extracto acuoso liofilizado de maca .....	33
<b>Figura 12.</b> Flujograma de la fabricación de la crema con extracto liofilizado de maca .....	34
<b>Figura 13.</b> Comparación del grosor en micras entre los grupos .....	42
<b>Figura 14.</b> Gráfica de caja del grosor de la piel en micras por grupos .....	42
<b>Figura 15.</b> Blanco y control (-) .....	43
<b>Figura 16.</b> Control (+) y base crema .....	43
<b>Figura 17.</b> Formulaciones al 5 %, y 15 % .....	44
<b>Figura 18.</b> Animales de experimentación: ratones .....	66
<b>Figura 19.</b> Ratón cepa Zeta Balb-C .....	66
<b>Figura 20.</b> Aplicación tópica de las formulaciones en piel de ratón .....	67
<b>Figura 21.</b> Cantidad de aplicación de cada tratamiento .....	67
<b>Figura 22.</b> Toma fotográfica de corte histológico en microscopio electrónico..	68

## ANEXOS

<b>ANEXO 1.</b> Constancia de identificación taxonómica de raíz tuberosa de maca .....	61
<b>ANEXO 2.</b> Análisis estadístico del Bioensayo en piel de ratón .....	62
<b>ANEXO 3.</b> Ecuación matemática de Mansur .....	63
<b>ANEXO 4.</b> Espectros UV de la crema con extracto liofilizado de maca .....	65
<b>ANEXO 5.</b> Bioensayo para evaluar el efecto fotoprotector de la formulación .....	66
<b>ANEXO 6</b> Certificado métodos de producción orgánica .....	69
<b>ANEXO 7.</b> Cálculos del rendimiento del extracto de acuoso liofilizado de maca .....	70

## RESUMEN

La “maca” es una especie que se cultiva en el piso bioclimático llamado Puna entre los 3850 a 4850 metros de altitud, usado en medicina tradicional por su alto valor nutricional, las raíces fueron recolectadas en Carhuamayo, Departamento de Junín. El objetivo del presente estudio fue evaluar in vitro la actividad fotoprotectora de una formulación a base de extracto acuoso liofilizado de *Lepidium meyenii* “maca”. Se preparó un extracto acuoso liofilizado y se realizó el screening fitoquímico para determinar los grupos funcionales. Se formularon las cremas fotoprotectoras a dos concentraciones 5 % y 15 %, a las cuales se les realizó ensayos de control de calidad. Se evaluó la actividad fotoprotectora en el “Bioensayo” de las formulaciones (5 % y 15 %) en piel de ratones expuestos a los rayos UVB. El Factor de Protección Solar (FPS) de las formulaciones se determinó aplicando un método in vitro desarrollado por Mansur, usando un espectrofotómetro. El screening fitoquímico del extracto acuoso liofilizado de las raíces de maca reportó principalmente la presencia de alcaloides. Los resultados de los ensayos de control de calidad físico químicos fueron conformes. Respecto al Bioensayo, el grupo blanco y el grupo extracto liofilizado más crema 15 %, presentaron los menores grosores en micras en la piel de los ratones, obteniendo un promedio de  $12,8 \pm 2,3$  y  $14,3 \pm 2,8$  respectivamente. Se obtuvo valores de FPS de  $5,480 \pm 0,020$  para la formulación con extracto al 15%;  $6,854 \pm 0,001$  para BZF-4 al 1,5 % y  $11,504 \pm 0,027$  para bloqueador solar del mercado. Se concluye que la formulación a base de extracto acuoso liofilizado de *Lepidium meyenii* tiene actividad fotoprotectora contra la UVB.

**Palabras clave:** *Lepidium meyenii* (maca), capacidad fotoprotectora, extracto liofilizado, bioensayo, eritema solar, radiación ultravioleta.

## SUMMARY

The “maca” is a species that is grown in the bioclimatic floor called Puna between 3850 to 4850 meters of altitude, used in traditional medicine for its high nutritional value, the roots were collected in Carhuamayo, Department of Junín. The objective of the present study was to evaluate *in vitro* the photoprotective activity of a formulation based on a lyophilized aqueous extract of *Lepidium meyenii* (maca). A lyophilized aqueous extract was prepared and phytochemical screening was performed to determine the functional groups. The photoprotective creams were formulated at two concentrations, 5 % and 15 %, to which quality control tests were carried out. The photoprotective activity (Bioassay) of the two formulations (5 % and 15 %) in the skin of mice exposed to UVB rays was evaluated. The Sun Protection Factor (SPF) of the formulations was determined by applying an *in vitro* method developed by Mansur, using a spectrophotometer. Phytochemical screening of the lyophilized aqueous extract of maca roots mainly reported the presence of alkaloids. The results of the chemical physical quality control tests were in accordance. Regarding the Bioassay, the white group and the lyophilized extract plus 15 % cream group had the smallest micron thickness in the skin of the mice, obtaining an average of  $12,81 \pm 2,28$  and  $14,27 \pm 2,84$  respectively. FPS values of  $5,480 \pm 0,020$  were obtained for the formulation with 15 % extract;  $6,854 \pm 0,001$  for BZF-4 at 1,5 % and  $11,504 \pm 0,027$  for Sunscreen on the market. It is concluded that the formulation based on lyophilized aqueous extract of *Lepidium meyenii* (maca) has photoprotective activity against UVB radiation.

**Key words:** *Lepidium meyenii* (maca), photoprotector, freeze-dried extract capacity. Bioassay, solar erythema, ultraviolet radiation.

## **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Situación problemática**

La exposición a la radiación ultra violeta (RUV), es causa de numerosas alteraciones cutáneas, incluido el cáncer de piel. El progresivo aumento de este tipo de cáncer en las últimas décadas ha suscitado una gran preocupación sanitaria y social por lo cual, todos los aspectos relacionados con la foto protección son objeto de investigación desde diversos puntos de vista: físico, químico, biológico y sanitario (Mulero, 2004: 8).

Las luz solar es importante para el ser humano, sin embargo, las radiaciones solares en exceso sin fotoprotección puede causar efectos dañinos tanto a corto como a largo plazo. Para prevenir estos efectos nocivos, Sabemos que la fitoterapia nos puede proporcionar extractos vegetales con las propiedades adecuadas para elaborar tanto productos fotoprotectores, como fitocosméticos calmantes y antieritema para después del sol (López, 2007: 67).

Serra, nos dice que el termino filtro o pantalla solar se puede definir como “cualquier producto capaz de disminuir la penetración de los rayos solares en la piel” (Serra, 1994: 58). Son formulaciones que se usan vía tópica y se presentan forma de cremas, emulsiones, lociones, geles lápices de labios o aerosol. Los fitros solares se clasifican entre “Los filtros químicos” que se caracterizan por “absorber la zona del ultravioleta” Camacho (2001) y “los filtros físicos en los cuales su mecanismo de acción se basa en la reflexión y dispersión de la luz ultravioleta” (Serra 1994: 58).

Los metabolitos de cierto tipo de plantas que se pueden usar como filtros solares poseen “la capacidad de absorber diferentes radiaciones y, normalmente, se formulan asociadas a otros componentes de síntesis y/o de pigmentos minerales,

para asegurar la eficacia del filtro antisolar” (López, 2007: 67). “La naturaleza proporciona sustancias vegetales, así tenemos a la acerola (*Malpighia glabra L.*) y el propóleo verde, los cuales a partir de sus compuestos extraídos presentan la capacidad de disminuir los daños producidos por las radiación ultravioleta de la luz solar, previendo así las quemaduras solares, fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis” (Piovesana *et al.*, 2013). “Estos extractos vegetales deben cumplir las características del filtro solar, es decir, han de presentar una absorción de la radiación que oscile entre 290-400 nm, han de ser estables en las condiciones normales de uso y fabricación de cosméticos, deben ser compatibles con los excipientes y el material de acondicionamiento de los productos utilizados en las líneas solares. Además, deben ser atóxicos” (López, 2007).

Yang (2006) menciona que “algunos organismos como las plantas han desarrollado sistemas para adaptarse a este aumento de la radiación”, el autor hace referencia a lugares en la provincia de Qinghai en China, “se ha demostrado que el contenido total de alcaloides de una planta cada vez más a estas altitudes (*Meconopsis quintuplinervia*) aumentó con la elevación y no con la latitud”. Además, Spitäler *et al.* (2006), evidenció “la variación de altitud sobre el contenido de metabolitos secundarios en las cabezas de floración de *Árnica montana*”. Además, el nivel de los derivados del ácido cafeico también está relacionado con la altitud del sitio. Estos autores sugieren una protección a la radiación ultravioleta.

En el Perú, es posible encontrar plantas que crecen a mayor altura que se informó anteriormente (Spitäler *et al.*, 2006). “La maca, *Lepidium meyenii*, es una planta crucífera que crece exclusivamente a 4000 - 4500 metros de altitud en los Andes Centrales, caracterizado por ser lugares muy fríos, con una alta intensidad solar, alta RUV y fuertes vientos, que no permiten crecer otras plantas” (Valerio, 2005). La Maca se usa tradicionalmente como un nutriente y para la fertilidad. “Ambas propiedades de la maca han sido científicamente demostradas en ratas y seres humanos” (Canales *et al.*, 2000). Sin embargo, no hay informe o información tradicional que demuestre que la maca tiene un efecto sobre la radiación ultravioleta. Se sabe que la RUV se incrementa con el aumento de altitud (Godar, 2005). Entonces, es posible que los organismos que viven en estas partes altas

hayan desarrollado mecanismos de protección en contra de este alto RUV, y esto podría ser útil si se demuestra protección en otros organismos cuando se administre tópicamente.

El presente estudio ha sido diseñado para determinar si la maca, debido a su hábitat extremo, puede proteger la piel de la RUV. Para ello se prepara un extracto y producto terminado vía tópica, se evalúa si evita el daño a la piel producido por radiación UVB en ratones.

## **1.2. Formulación del problema**

Molgo *et al.* (2005), nos dice que “La evidencia epidemiológica sugiere que la exposición a radiación ultravioleta y la sensibilidad del tipo de piel a esta, son factores de riesgo comunes para desarrollar cáncer de piel; el incremento en la exposición acumulativa se asocia a cáncer no-melanoma y el tipo de exposición aguda e intermitente (quemaduras solares) se vincula con el melanoma cutáneo”. Sabemos que la luz solar tiene es importante para el ser humano por ejemplo en la síntesis de vitamina D, los rayos ultravioleta también produce daño en el ADN, ARN, proteínas, lípidos de membranas y organelas celulares presentes en la epidermis y la dermis incluyendo el sistema vascular (Romaní, et al., 2005).

¿Una formulación a base de extracto acuoso liofilizado de *Lepidium meyenii* (maca) tendrá actividad fotoprotectora in vitro y en vivo?

## **1.3. Justificación teórica**

La radiación ultravioleta (RUV) tiene tres diferentes bandas dependiendo de su longitud de onda. UVA y UVB son conocidos para llegar a la superficie de la tierra y producen varios tipos de efectos (Molgo et al., 2005). El tipo de daño que producen estas radiaciones sobre la piel dependerá del tiempo de exposición, la intensidad recibida y la longitud de onda (Romaní *et al.*, 2005). En un nivel epidérmico, que se ha visto que la radiación UV puede generar eritema, queratinocitos apoptóticos, y la hiperplasia epidérmica y los daños y perjuicios la permeabilidad de la barrera epidérmica, (Camacho, 2001). Por las razones expuestas, todos los intentos para encontrar los productos a los que prevengan los

efectos de estas radiaciones serán de beneficio para la sociedad (Food and Drug Administration, 2011). El producto cosmético que se propone contribuirá a que la población tenga acceso a un producto natural.

#### **1.4. Justificación práctica**

Con la presente investigación se amplía el conocimiento sobre los beneficios de *Lepidium meyenii* (maca), ahora en la elaboración de productos cosméticos de actividad fotoprotectora y así contribuir a un mejor uso de esta especie, dado que frecuentemente es empleada por los pobladores andinos debido a tener un alto aporte nutricional, usado como energizante y con propiedades en la fertilidad. Al haberse realizado el estudio como cosmético con actividad fotoprotectora a base de extracto acuoso liofilizado, se comprueba su compatibilidad química con los excipientes pudiendo ser usado como producto terminado con actividad fotoprotectora.

#### **1.5. Objetivos**

##### ***1.5.1. Objetivo general***

Evaluar *in vitro* e *in vivo* la actividad fotoprotectora de una formulación a base de extracto acuoso liofilizado de *Lepidium meyenii* (maca)

##### ***1.5.2. Objetivos específicos***

1. Realizar el estudio fitoquímico del extracto acuoso liofilizado *Lepidium meyenii* (maca).
2. Formular una base cosmética compatible químicamente, con el extracto acuoso liofilizado de "*Lepidium meyenii*".
3. Evaluar el efecto fotoprotector del producto formulado mediante irradiación UVB en ratones (*in vivo*).
4. Determinar el Factor de Protección Solar mediante ensayos fisicoquímicos (*in vitro*)

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Antecedentes de investigación**

Esparza *et al.* (2015), dice que los efectos del proceso de secado en los niveles de las macamidas bioactivas y de sus supuestos precursores metabólicos (Figura 1) durante las prácticas de procesamiento poscosecha tradicionales e industriales, muestran que las amidas son un producto intrínseco del proceso de secado que implica la liberación hidrolítica y la transformación metabólica de lípidos y glucosinolatos en sus precursores de ácido graso libre y bencilamina.

Gonzales (2006), realizó un estudio con extracto hojas de maca negra, hojas amarillas y hojas de maca roja, y además un protector solar; los cuales fueron colocados en el dorso de ratones expuestos a radiación UV-B. Los resultados mostraron que la radiación UV-B sin tratamiento genera destrucción de la epidermis, evidenciada por necrosis de gran parte del tejido. Esta necrosis no se observa a pesar de la exposición a radiación UV-B, en ninguno de los animales que fueron previamente tratados con los extractos de maca, ni en los que fueron tratados con protector solar. La ausencia de tratamiento previo a la irradiación genera células de quemadura solar (sunburn cells) y queratinocitos atípicos.

Se había demostrado que extractos acuosos de tubérculos de maca amarilla tienen un efecto protector contra la exposición a radiación UV-B (Gonzales–Castañeda & Gonzales, 2008). La relación al grosor epidérmico tanto los extractos de hojas de maca amarilla como de maca roja provocaron una mayor reducción de la altura epitelial que los extractos de hoja de maca negra. Este efecto fue incluso superior al efecto del protector solar. (Gonzales, 2009).

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. *Lepidium meyenii* “maca”

(1) **Clasificación taxonómica** (según Arthur Cronquist, 1988)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dillenidae

Orden: Capparales

Familia: Brassicaceae

Género: *Lepidium*

Especie: *Lepidium meyenii* Walp

Nombre Común: “Maca”

Fuente: Museo de historia Natural UNMSM (ANEXO 1.)

(2) **Descripción morfológica**

*Lepidium meyenii* es una crucífera, que crece en la región andina domesticada por los pobladores de la zona, La maca es una planta anual, leñosa y de aspecto parecido a los arbustos. Presenta “ramas decumbentes 20 a 35 cm de longitud, en forma de roseta de 40 a 70 cm de diámetro y tallo principal reducido; su inflorescencia terminal y axilar es de tipo racimo de 2,5 a 5 cm de longitud, con 6 estambres, dos fértiles en el ciclo extremo con filamento de 0,3 a 0,5 mm de longitud”. (Castañeda et al., 2010).

(3) **Ubicación geográfica**

*Lepidium meyenii*, es una especie que se cultiva en el piso bioclimático llamado Puna entre los 3 850 a 4 850 metros de altitud. Sabemos que “hay cultivos en: San Pedro de Cajas, Vico, Huayre, Junín, Carhuamayo, Ondores del Departamento de Junín; y en Ninacaca, Huallay, Tingihuarco, Simón Bolívar y otros caseríos del Departamento de Pasco a una altitud de 3700 a 4500 metros que corresponden a piso ecológico de la puna” (Bianchi, 2003).

La maca “cuyo hábitat natural se encuentra por encima de los 3800 metros de altitud, una altura típica de la puna andina que pocas plantas pueden crecer debido a los vientos constantes y a su gélido e inhóspito clima” (Quiroz, 1997).

(4) **Usos en la medicina popular**

*Lepidium meyenii* (maca), se usó desde la época pre-Inca en la Meseta del Bombón, por su alto valor nutricional (Castañeda, *et al.*, 2010). “A la maca se le atribuyen muchas propiedades nutraceuticas, entre ellas el incremento de la fertilidad, el aumento de la capacidad espermática, la mejora del rendimiento sexual y la reducción del tamaño de próstata inflamada” (Wang *et al.*, 2007).

(5) **Composición química**

Los metabolitos presentes en la maca son divididos en metabolitos primarios y componentes fitoquímicos, a los que se le atribuye sus propiedades médicas. Los contenidos nutricionales y funciones farmacológicas de la maca son diferentes de acuerdo a los colores de los ecotipos (Marin, 2002 y McCollon *et al.*, 2005).

***Metabolitos primarios***

La maca reporta “un contenido de carbohidratos de 59 %, de lípidos de 2,2 % y de proteínas 10,2 %. De los ácidos grasos presentes destacan dos ácidos grasos insaturados como el linoleico y el oleico. También se han encontrado los ácidos 7-tridecenoico, tridecanoico, 7-pentadecenoico, pentadecanoico, 9-heptadecenoico, heptadecanoico, 11-nonadecenoico, nonadecanoico, 15-eicosenoico, eicosanoico, docosanoico, 15-tetracosenoico, tetracosanoico, láurico, mirístico, palmítico, palmitoleico y esteárico. Muchos de estos ácidos grasos insaturados, por estar presentes en la maca, también se les conoce como macaenos. La maca contiene aminoácidos como leucina, arginina, fenilalanina, lisina, glicina, alanina, valina, isoleucina, ácido glutámico, serina, ácido aspártico, en concentraciones entre 50 a 150 mg/g de proteína; otros aminoácidos se encuentran en menor proporción. Contiene también minerales como hierro, calcio, cobre, zinc y potasio, entre otros” (Lock, 2002: 27).

***Componentes fitoquímicos***

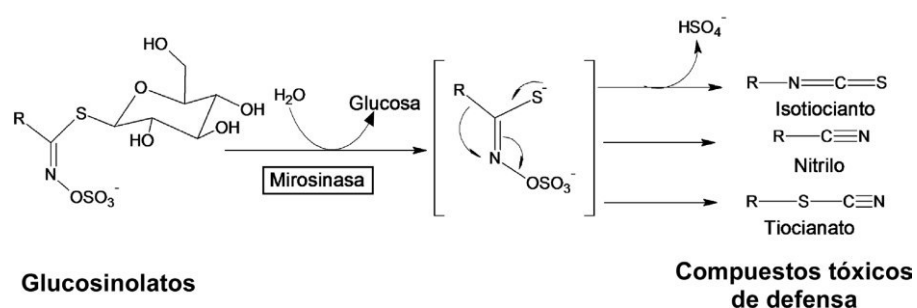
La maca, ha desarrollado armas de defensas químicas y biológicas para protegerse del duro ecosistema donde crece, como por ejemplo la

formación de alcaloides, amidas y oxilipinas (derivados oxidados de ácidos grasos C18, que en el caso de la maca se denominan macaenos), y la liberación de compuestos de raíz. “El sistema mirosinasa-glucosinolato, el equivalente a un arma química binaria, en el cual la enzima (mirosinasa, una tioglucosidasa) y el sustrato (glucosinolato) están localizados en compartimentos separados en el interior de la célula (Figura 1). Cuando se produce la ruptura celular, por el ataque de un herbívoro, por ejemplo, el glucosinolato queda expuesto a la enzima y se produce la hidrólisis que genera isotiocianatos, nitrilos o tiocianatos volátiles que son altamente reactivos o tóxicos. Estos compuestos son los responsables del sabor amargo y picante en la maca fresca” (Esparza *et al.*, 2015).

**a. Glucosinolatos e isotiocianatos**

Los glucosinolatos “son sales orgánicas sulfatadas relativamente estables, presentes en las plantas en la forma potásica, son moléculas altamente cargadas, en la cual el grupo sulfato con un pKa - 9 es ionizado en casi todas las circunstancias” (Fahey, 1999). Los glucosinolatos son metabolitos secundarios presentes generalmente en la familia Brassicaceae, la cual abarca las hortalizas como la Col, Coliflor, Brócoli. Coles de Brusela, Nabo, Rábano Berro, etc. (Wuarton, et al., 2001). Los glucosinolatos mayoritarios terminados en la maca son bencilglucosinolato, p-metoxibencilglucosinolato, p-hidroxi bencil-glucosinolato. La maca fresca contiene 1 % (peso/peso) de estos componentes expresados como bencilglucosinolato (Conoway, 2000). El isotiocianato determinado en la maca seca por cromatografía gaseosa es el bencilisotiocianato. (Walker, 1998). El bencilisotiocianato presente en la maca y su respectivo glucosinolato ha sido reportado como un potente anticancerígeno de las glándulas mamarias y del estómago (Gutiérrez & Montaña, 2002). En la muestra seca, los glucosinolatos se encuentran en menor cantidad que en la muestra vegetal fresca. Fahey & Talalay (1999), nos dice que para evitar la hidrólisis en las muestras frescas, primero se debe inactivar la enzima mirosinasa bajo corriente de hidrogeno a 100 grados centígrados por 3 minutos.

Conoway (2000), dice que al secar a temperatura mayor a 60 °C en el horno se desnaturaliza la enzima mirosinasa y por lo tanto si se seca la muestra a estas condiciones dará como resultado un mayor nivel de cantidad de glucosinolatos que cuando se seca al ambiente. “A la temperatura ambiente, cuando se almacena por periodos de tiempos largos estos pueden hidrolizarse fácilmente hacia sus aglicones” (Griffiths, *et al.*, 2001. La diferencia en la composición entre estos productos es, como se esperaba, significativa y depende del grado de actividad que hayan tenido varias enzimas hidrolíticas, especialmente las tioglucosidasas endógenas (mirosinasas). Yábar *et al.* (2011) también describen una menor actividad de mirosinasa durante un proceso de secado en el campo después de 90 días de secado (alrededor del 20 – 30 %), pero aún tienen actividad. Por lo tanto, un criterio considerado importante para la calidad del producto seco son los niveles de glucosinolatos, que se espera que se asemejen tanto como sea posible a los valores originales (Xing-Hao, *et al.*, 2014) y de sus metabolitos hidrolíticos, tales como isotiocianatos aromáticos y sus aldehídos, nitrilos y alcoholes más estables.



**Figura 1.** Acción de la enzima mirosinasa sobre los glucosinolatos.- Para formar compuestos volátiles tóxicos como defensa frente a herbívoros e insectos. En el caso de la maca  $R = C_6H_5$  (bencilo).

## b. Las macamidas

Son bencilalquilamidas secundarias bioactivas reportadas en tubérculos de *L. meyenii*, la amidas benziladas encontradas son N-benzil-5-oo-6E, Eoctadecadienam-da y N-bencilhexa-decanamida, tiene también el ácido ketoacíclico 5-oxo-6E-octadeca-dienoico. (McCollom *et al.*; 2005; Zhao *et al.*, 2005; Muhammad *et al.*, 2002). Aunque el material utilizado para el análisis en estas publicaciones consistía en tubérculos secos o productos

comercialmente disponibles obtenidos a partir de ellos, se ha supuesto que las macamidas estaban presentes también en tubérculos frescos, como es el caso con otras especies que se informa que contienen alcanidas, (Clifford et al., 2002). Debe observarse que la síntesis de macamida se sigue produciendo hasta el punto final del proceso de secado con un 13 % de contenido de agua en el tejido (Esparza et al., 2015).

### c. Alcaloides

Los alcaloides son sustancias nitrogenadas (alcalino), por lo general formando parte de un heterociclo (contienen un átomo de Nitrógeno) y que se presentan importantes propiedades fisiológicas. (Reyna, 2014). Los alcaloides forman parte principalmente en la naturaleza del reino vegetal en hojas, semillas, raíces y frutos (Sifuentes-Penagos 2015). “Los alcaloides no son hormonas ni proteínas, éstos son sustancias nitrogenadas complejas, principios activos de vegetales, gozan de propiedades básicas. Los alcaloides de la maca se combinan con los ácidos formando de sales de alcaloides, éstos son cristalizables y solubles en el agua” (Sifuentes-Penagos, 2015).

Boaling et al., (2003) indica que han aislado tres tipos de alcaloides provenientes de las raíces de maca, de los cuales dos de los alcaloides imidazólicos de la maca se denominan lepidilinas de las que se conocía A y B: cloruro de 1,3-dibenzil-4,5-dimetilimidazolio y cloruro de 1,3-dibenzil- 2,4,5-trimetilimidazolio respectivamente (Chacón, 1961; Cui et al., 2003). Recientemente “se identificaron las fracciones lepidiline C y D (cloruro de 3-benzil-1-(3- metoxibenzil)4,5-dimetilimidazolio y cloruro de 3-benzi-1-(3-metoxibenzil)-2,4,5 trimetilimidazolium respectivamente)” (Jin et al., 2016). La maca también contiene el derivado benzilado de 1,2-dihidro-N-hidroxipiridina, denominado “macaridina” (Muhammad et al., 2002)

### d. Esteroles

Fitosteroles son metabolitos secundarios que “están compuestos generalmente de  $\beta$ -sitosterol, campesterol, brassicasterol, estigmasterol y

el ergosterol, presentándose en forma libre (aglicones), formando ésteres o como parte de un glicósido (saponinas). Estos compuestos derivan biogénicamente del escualeno, todos contienen el núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno, presentan un grupo -OH en el carbono C3, poseen una cadena lateral de 8 a 10 carbonos y un doble enlace en el carbono C5, por lo cual, se pueden representar con la estructura básica del colestanol, a la cual los grupos metilo y etilo se unen al carbono C24, El  $\beta$ -sitosterol es un análogo del colesterol diferenciado por el grupo etilo adicional en su cadena lateral. Se ha identificado componentes nuevos en los extractos lipídicos en los últimos estudios realizados” (Gutiérrez & Montaña, 2002: 15).

#### **e. Flavonoles**

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se enumeran del 2 al 8, y los del anillo B desde 2 al 6 (figura 9) (Martínez et al., 2002).

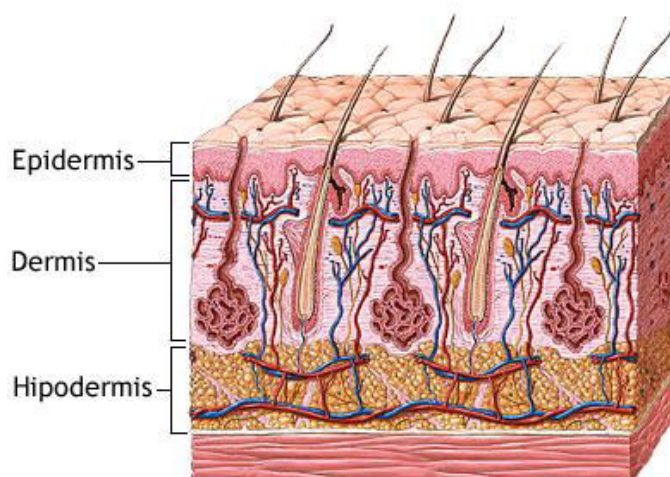
Según sus características estructurales se clasifican en: Antocianidinas, Flavonas (ejemplo la Diosmetina), Flavonoles (como las Quercetina), Flavanos (ejemplo: Catequina)

Gutiérrez & Montaña (2002) nos dice que a presencia de flavonoles en maca determinada por HPLC, “tiene un bajo contenido de flavonoles expresado como catequina en comparación con el té verde (2,5 mg/g vs 145 mg/g). Se informa la detección de 04 alcaloides denominándolos macaína 1, 2, 3 y 4 determinados por cromatografía de papel, las cuales hasta la actualidad no se han caracterizado”. Gonzalez & Gonzales (2007) sostienen que la maca tiene polifenoles y con propiedades de protección contra los rayos UV.

## 2.2.2 Piel

### (1) Anatomía de la piel

La piel tiene una estructura compleja dividida en cuatro capas: “la epidermis, la dermo-epidermis, la dermis y la hipodermis” (Rodríguez, 2004).



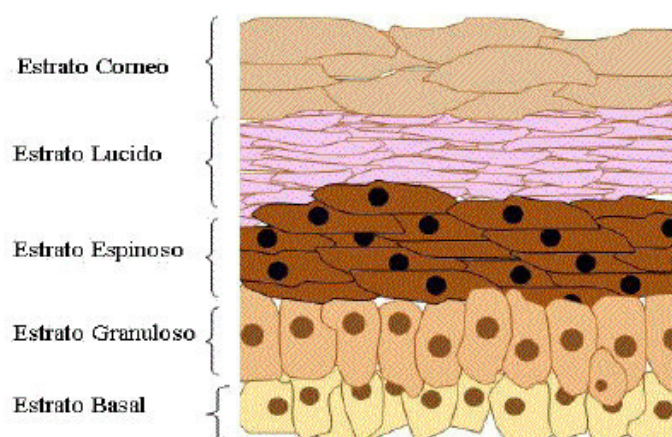
**Figura 2.** “Capas de la piel”.

(Fuente: [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_ima\\_gepages/8912.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_ima_gepages/8912.htm))

- **La Epidermis:** es un tejido estratificado y es la capa más externa, Compuesta de cinco capas celulares:
  - **Capa basal o germinativa:** constituidas de células cilíndricas que están dividiéndose en nuevas células regularmente. La capa basal se compone de celular nuevas con citoplasma basófilo y núcleo ovoide. Estas células, los “queratinocitos”, son unidas entre si por desmosomas y a la membrana basal por pequeñas protuberancias, los “hemidesmosomas”. La epidermis se renueva en aproximadamente un mes.
  - **Capa espinosa:** consta de células poliédricas “ en mosaico” llamado así por la presencia de dermosomas, están unidas por

filamento parecido a pequeñas espinas. Su citoplasma es rico en tonofilamentos (precursores de la queratina)

- **Capa granular:** denominado así por presentar una cantidad de gránulos largos de “queratohialina” en el citoplasma de estas células, consta de 2 o 3 hiladas de células superpuestas varía en ancho dependiendo de su ubicación.
- **Capa lúcida:** solo se observa en piel muy gruesa y como una capa clara.
- **Capa córnea:** capa formada por células que contienen “queratina” muertas, son células aplanadas y sin núcleo. Tiene una función protectora importante. Los microorganismos no pueden penetrar en el cuerpo gracias a esta capa que cumple la función de bloqueo. (Roseeuw, 2008 & Manzur, 2002)



**Figura 3.** “Estructura de la epidermis y división por estratos”. (Fuente: [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_ima\\_gpages/8912.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_ima_gpages/8912.htm))

- **La Dermo-epidermis:** capa constituida por papilas dérmicas, unida a la epidermis por los hemidesmosomas por un lado, y a la dermis por fibrillas. La capa intermedia asegura una firmeza entre la dermis y la epidermis y también regula ciertas interacciones entre estos dos componentes.
- **La Dermis:** se consideran 2 porciones. La dermis papilar, se encuentra debajo de la epidermis, presenta capilares y varias terminaciones nerviosas. La dermis reticular es la más fina y más sólida; está compuesta por colágeno y fibras de elastina. La dermis contiene células, fibras, sustancia intermedia,

vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios, fibras musculares y anexos de la piel.

## (2) **Fisiología de la piel**

La piel es una barrera importante, esencialmente de protección del organismo, adaptable entre la parte interna y externa del organismo. Las funciones importantes de la piel son las siguientes (Mansur, 2002):

### a. **Protección.** Entre estas existen:

#### Mecánica:

La epidermis está formada de células que forman la capa córnea, (queratina) y actúa como capa impermeable. La queratina es una proteína compleja, forma una coraza dura y resistente.

La dermis participa en la protección mecánica, posee la matriz, sustancia viscosa que contiene colágeno como paquetes que brinda una especie de cojín y soporte a la piel.

La hipodermis posee lóbulos de grasa, que protege como un colchón contra agresiones externas.

#### La radiación UV :

Los rayos UV causan daño al núcleo celular. El pigmento celular o melanina se encuentran capa basal. Los melanocitos, células que protegen la piel contra las radiaciones actínicas, marcan con el pigmento “melanina”, esta refleja o absorbe la luz. La epidermis posee 2 000 melanocitos por mm<sup>2</sup> de piel.

Estados de la piel al exponerse al sol:

**La pigmentación inmediata**, tiene su pico después de las 6 a 8 horas después de la exposición a RUV y desaparece después de 24 horas. Se produce una estimulación denominada “tatuaje de queratinocitos”.

**La pigmentación atrasada**, después de 48 horas de expuesta la piel a la “radiación UV”, se incrementa la síntesis de la “melanina” en el “melanocito” observándose un aumento del “tatuaje” de los queratinocitos, los cuales absorberán los rayos UV.

Microbiológica y química:

La piel cumple la función de proteger al organismo contra los microorganismos (bacterias y hongos) y sustancias químicas, mediante la capa hidrolipídica y córnea.

**La capa hidrolipídica**, es “una secreción oleosa de las glándulas sebáceas y secreción acuosa de las glándulas sudoríparas que cubre a la piel, se produce una emulsión de agua en aceite con un rango de pH de 4,2 a 5,6” (Roseeuw, 2008).

**La capa barrera o capa córnea**, posee un grosor de 10 a 15  $\mu\text{m}$ , los queratinocitos están unidos mediante la capa hidrolipídica. Ésta barrera no es 100% impermeable.

Agresiones internas y externas

Las células de “Langerhans” y las células polinucleares “las asesinas” y los macrófagos “los comensales” determinan donde se encuentran los agresores de la piel para destruirlos o neutralizarlos.

**b. Termorregulación**

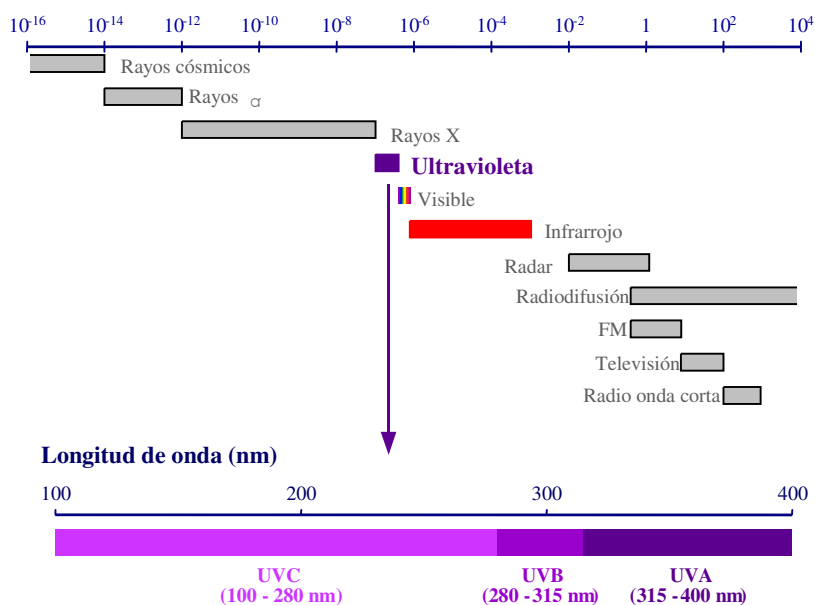
Es una función relacionada con la temperatura y la transferencia de calor en el cuerpo, los mecanismos implicados son vasoconstricción – vasodilatación participando en ello las glándulas sudoríparas ecrinas, los lóbulos de grasa y los vasos sanguíneos de la piel.

**c. Órgano sensorial**

Las fibras nerviosas de la piel dan sensaciones de tacto, presión, frío, calor, y dolor y presentan terminaciones están en contacto con las células de Merkel de la epidermis. Las fibras nerviosas brindan sensaciones de presión y vibración, “corpúsculos de Vater-Pacini” y sensación de tacto, “corpúsculos de Meissner” (Roseeuw, 2008).

### 2.2.3 Radiación Ultravioleta

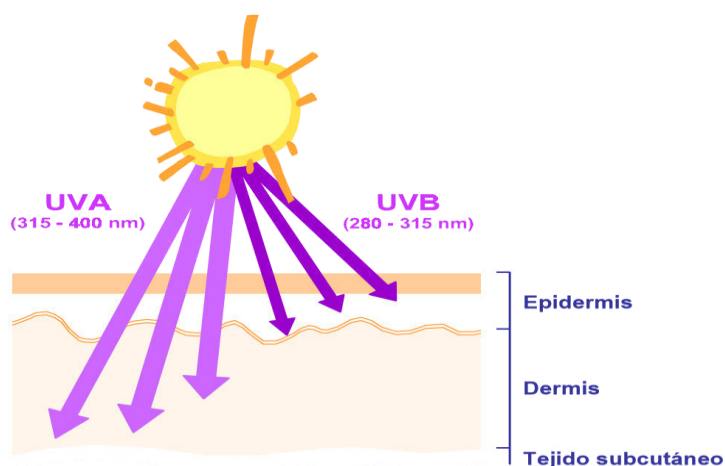
El sol es importante para la vida y produce radiaciones llamadas radiaciones actínicas. Las radiaciones ultravioletas se clasifican en : “UVA :315-400 nm; UVB: 280 - 315 nm; UVC:100 - 280 nm; y radiación visible hasta 515 nm” (OMS, 2003 & Marie-Cloud, 2005)(Figura 2).



**Figura 4.** Radiaciones ultravioleta emitida por el sol (Fuente: Algaba, 2004)

#### Penetración de la radiación solar en la piel

La radiación solar penetra en los estratos de la piel y esto depende de la longitud de onda, penetra más profundamente en la piel cuanto más grande sea la longitud de onda. La piel posee un sistema de protección natural frente a las radiaciones ultravioleta (Guevara, 2011:26).



**Figura 5.** Penetración de la radiación ultravioleta en la piel (Fuente: Algaba, 2004)

### **Daño solar**

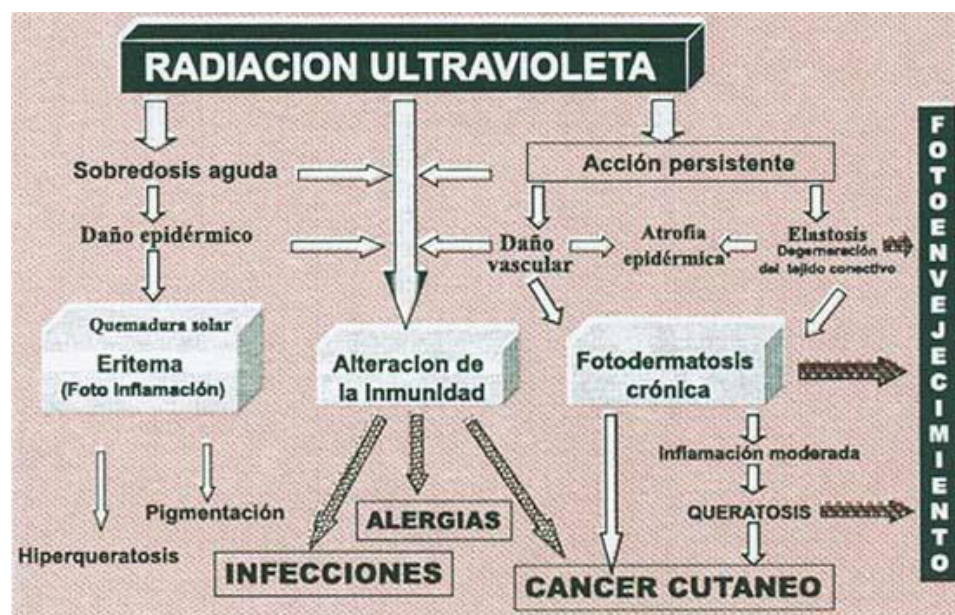
“Son lesiones cutáneas producidas por las radiaciones que llegan a las superficie terrestre UVB (290-320 nm) quemadura (eritema) solar, inmunosupresión, cáncer de piel, dermatosis actínica en pieles fotosensibles, reacciones fototóxicas y fotoalérgicas. UVA (320-400 nm): fotoenvejecimiento cutáneo, inmunosupresión, cáncer de piel, cataratas, reacciones fototóxicas y fotoalérgicas, dermatosis actínicas en pieles fotosensibles” (De los Santos, 2003: 82).

### **Inflamación**

La absorción de las radiaciones solares por los cromóforos cutáneos y la melanina puede producir inflamación aguda, y la exposición repetida puede producir inflamación crónica. “Se conocen 3 mecanismos: liberación de óxido nítrico, liberación de neuropéptidos, proliferación y queratinización” (Honeyman, 2002: s.p.)

### **Alteraciones inmunológicas**

Manzur nos dice que “la interrelación entre RUV y el sistema inmune humano es una relación compleja a través de diversos elementos celulares cutáneos, a los cuales afecta y varios inmunomoduladores inducidos por la acción fotosensibilizadora” (Manzur, 2002: 98) (Figura 3).



**Figura 6.** Fotoenvejecimiento (Fuente: Guevara, 2011)

### Fotoenvejecimiento (heliodermia)

Significa que la piel fotoexpuesta mostrara cambios clínicos y microscópicos. Tiene patrones que hacen posible marcar la diferencia con la piel envejecida fisiológicamente. “Clínicamente se encuentran arrugas superficiales y profundas, surcos, piel engrosada, manchas pigmentarias, coloración amarillenta o cetrina, laxitud, telangiectasias, histológicamente, el sello del fotoenvejecimiento está dado por la elastosis de la dermis debido a un proceso degenerativo de la fibra elástica propio del daño por luz UV” (Barco *et al.*, 2006: 65).

### Fotocarcinogénesis

“Está relacionada con un efecto acumulativo dosis dependiente de luz UV y el tipo de piel. La fotocarcinogénesis provocada por una exposición solar excesiva persiste por 10 - 20 años (efectos acumulativos). La UVB y UVA corta (320-340) provocan mutaciones del ADN (Figura 4) a lo cual se asocia a un defecto de la inmunidad y alteración de los mecanismos de reparación de la piel” (Guevara, 2011:30).



**Figura 7.** Fotocarcinogénesis. (Fuente: Guevara, 2011:31)

### **Eritema solar**

De los santos (2003) nos dice que “se entiende como el proceso inflamatorio agudo producido por sobre exposición al sol. La quemadura solar alcanza su máximo a las 24 horas, siendo uno de los estándares de medida del SPF” (p,82).

Los signos y síntomas en la piel son: piel enrojecida, edema, formación de vesículas, dolor, ampollas, necrosis, costras, pigmentación desigual.

Las alteraciones microscópicas son:

“A nivel epidérmico: Edema intracelular, vacuolización e hinchamiento de los melanocitos, queratinocitos disquertósicos, Migración de células Langerhans); A nivel dérmico (Edema intersticial, Hinchamiento de las células endoteliales, Edema perivascular, Degranulación y pérdida de mastocitos, Infiltración de polimorfonucleados y monolitos” (De los santos, 2003: 82).

#### **2.2.4. Fotoprotección**

Es toda medida tomada para prevenir los efectos dañinos producidos por la luz solar, para lo cual se usaran ropas, accesorios y protectores solares a fin de evitar quemaduras solares, fotoalérgias, fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis.

## **Protectores solares**

La Comisión Europea define a los protectores solares a las sustancias que se aplican en tópicamente con la finalidad de absorber y filtrar, dispersar o reflejar la radiación UV. Evitando daño a la epidermis y dermis, previniendo el de cáncer de piel y el fotoenvejecimiento. En la FDA son considerados fármacos, mientras que la COLIPA, siguen la normatividad vigente para fármacos y cosméticos (Cazorla 2013: 12).

Clases de protectores solares:

**Filtros inorgánicos o físicos:** (barrera física) son moléculas estables a la luz, absorben y dispersan la radiación UV. Los compuestos como filtros inorgánicos son: “el dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y el óxido de zinc ( $\text{ZnO}$ ), su desventaja pueden dejar sensación de máscara blanquecina” (Gilaberte & González, 2010), (Cabrera, 2005) (Tabla 1).

**Filtros orgánicos o químicos:** son compuestos que absorben la radiación UV hacia su los anillos aromáticos conjugados. “Una vez que existe la exposición UV, los electrones de estos compuestos son energizados y saltan hacia un excitado e inestable estado. A su tiempo, los electrones regresan a su estado estable y liberan la energía en forma de calor” (Wang et al., 2010). Se subdividen según el espectro de absorción UVA o UVB (Tabla 1).

Espectro UVB son:

- Los aminobenzoatos son derivados de ácido paraaminobenzoico (PABA) tienen uso restringido por producir reacciones adversas cutáneas (Magliano *et al.*, 2011).
- Los salicilatos.
- Los cinamatos son el “octinoxato” (octylmethoxycinnamate) y el “cinoxato” (2-ethoxyethylmethoxycinnamate, se caracteriza por brindar resistencia al agua y baja irritación de la piel.
- “El octocrileno (2-ethylhexyl-2-cyano- 3,3-diphenylarylate), tiene muy buen perfil de seguridad y bajo potencial de irritación,

fototoxicidad y fotoalergénico. Sin embargo no es eficaz en el agua o sudor” (Reena *et al.*, 2012).

Espectro UVA son:

- Las bezofenonas, pertenecen a las cetonas aromáticas como la “oxybenzona” (benzophenone-3), “Este compuesto ha sido considerado como uno de lo más alérgenos que existen pues está implicado en diversos casos de dermatitis fotoalérgica” (Magliano, 2011).
- La avobenzona (butyl methoxydibenzoylmethane) es más efectiva para UVA, pero es “fotoinestable” pudiendo degradarse en aproximadamente 60 minutos después de ser expuesto frente a la luz solar.
- El ácido tereftalideno dialcanfor sulfónico (meroxyl SX) es fotoestable, resiste frente a medio acuosos y es de menor absorción sistémica (Reena *et al.*, 2011)

**Tabla 1.** Espectros de fotoprotectores comerciales.

<b>FILTROS</b>	<b>Rango (nm)</b>	<b>ESPECTRO</b>
<b>Físicos (Inorgánicos)</b>		
Dióxido de Titanio	<b>315 - 340</b>	UVB UVAII
Óxido de zinc	<b>380</b>	UVA
<b>Químicos (Orgánicos)</b>		
<b>Aminobenzoatos:</b>		
Derivados del "PABA")	<b>283</b>	UVB
Octil dimetil PABA	<b>311</b>	
<b>Salicilatos:</b>		
Octisalato	<b>290 - 315</b>	UVB
Homosalato		
Trolamina salicilato		
<b>Los cinamatos:</b>		
Octinoxato	<b>270 - 328</b>	UVB
Cinoxato		
Octocrileno	<b>290 - 360</b>	UVB
<b>Benzofenonas:</b>		
Oxybenzona (benzophenone-3)	<b>270 - 350</b>	UVB UVA2
Avobenzona	<b>310 - 400</b>	UVA
Ácido tereftalideno dialcanfor sulfónico (meroxyl SX)	<b>290 - 390</b>	UVA

*Fuente: Propia* (Buenaño 2014, Alamo 2012)

La radiación UV en elevadas cantidades dañan las moléculas biológicas, como los nucleótidos, ácidos nucleicos y proteínas formándose radicales libres. (Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2006).

### 2.2.5 Formulaciones cosméticas y control de calidad

#### (1) Formulaciones dermocosméticas

Son formulaciones tópicas que contiene activos que embellecen, protegen y mantienen la piel (Yaringao, 2015:14). Se le puede agregar ingredientes activos

de extractos de plantas (Soares *et al.*, 2009). Se debe tener en cuenta las interacciones, su eficacia y tolerancia, y algunos “factores como: el sinergismo entre los componentes, estabilidad, características reológicas y sensoriales del vehículo, facilidad de uso y costos del producto” (Yaringao, 2015: 15). Un protector solar eficaz, estable, con óptimas características organolépticas, fisicoquímicas, que sea de fácil aplicación, suave al tacto y que otorgue una buena apariencia estética, es una tarea compleja para el formulador (Alamo, Contreras y Sifonte, 2012).

- **Crema**

Son sistemas semisólidos, “usualmente una emulsión aceite-en-agua que contienen una o más activos disueltos o dispersados en una base adecuada, o una dispersión microcristalina acuosa de ácidos grasos de cadena larga o alcoholes que son lavables con agua y son aceptables en cosmética y estética” (Gupta, 2002). “Las emulsiones son formulaciones más complejas que contienen agentes emulsificantes y se puede solubilizar sustancias hidrosolubles y liposolubles” (Rodríguez, 2004).

## (2) **Estabilidad de las formulaciones**

La estabilidad de una emulsión nos indica la ausencia de cambios en un período de tiempo a condiciones específicas. “El estudio de la estabilidad de productos cosméticos proporciona informaciones que indican el grado de estabilidad relativa de un producto en las variadas condiciones a las que pueda estar sujeto desde su fabricación hasta su expiración” (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2004: 11).

Los principales mecanismos que favorecen una desestabilización de una emulsión son cuatro

- a. **Sedimentación o “cremado”**: Es la separación de las gotitas dispersas en la emulsión causada la gravedad ya que pueden poseer una densidad más baja que el medio en el que están dispersas. “De acuerdo con la ley de Stokes, la velocidad de sedimentación es proporcional al cuadrado del diámetro de partícula, y el proceso de sedimentación (creaming) es la causa predominante de inestabilidad de la emulsión cuando el tamaño de gota se encuentra alrededor de 2-5  $\mu\text{m}$ ” (Rodríguez, 2004: 24):

- b. **Floculación:** Es la adhesión de las gotitas entre sí, formando una red sin perder su identidad por lo tanto “la medida de las gotas no se modifica y la emulsión original puede recuperarse mediante una agitación suave (proceso reversible). La velocidad de floculación es proporcional al volumen de fase dispersada” (Rodríguez, 2004: 24).
- c. **Coalescencia:** “Es el proceso en el cual dos gotas se fusionan y forman una más grande. La película de líquido que separa las gotas llega a alcanzar un espesor de 200 Å, y es susceptible a romperse, llevando a una separación de fases en la emulsión. Este proceso es por lo tanto irreversible” (Rodríguez, 2004: 24).
- d. **Maduración de Ostwald:** “Se trata del crecimiento de las gotas más grandes de la emulsión a expensas de las más pequeñas. La razón de este proceso es que el potencial químico del líquido en las gotas disminuye al incrementar el radio de la misma. Controlando la tensión interfacial y el coeficiente de difusión se puede retardar este proceso” (Nguyen et al., 2001).

### (3) **Parámetros de control de calidad**

Los parámetros a seguir según la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria en su Guía de estabilidad de productos cosméticos (2004) se menciona lo siguiente:

**Características organolépticas:** son pruebas que evalúan como se encuentra la muestra por medio de los órganos de los sentidos y comparaciones (aspecto, color, olor sabor tacto). Se realiza para identificar alteraciones como separación de fases, cambios de color (oxidación), precipitación, turbidez, grumos, puntos etc. Se debe utilizar una muestra de referencia o patrón de comparación, (guardado a temperatura ambiente) para evitar modificaciones en las características organolépticas del mismo.

**Características fisicoquímicas:** se realizan mediante ensayos físico químicos y nos ayudan a evidenciar posibles errores en la formulación como la estabilidad y la calidad.

- **pH de las cremas:** El pH de las formulaciones tópicas debe aproximarse al pH de la piel que se encuentra entre 4 a 6,5. Si el pH de las formulaciones están fuera del rango, puede producir

irritaciones o cambios dañinos a la piel, por tal motivo se debe tomar en cuenta este parámetro en el desarrollo y control de calidad de la cremas (Yaringao, 2015: 16).

**Características microbiológicas:** Los productos cosméticos más susceptibles a la contaminación “son los que presentan agua en su formulación como emulsiones, geles, suspensiones o soluciones. La utilización de sistemas conservantes adecuados y validados (prueba de desafío del sistema conservante - Challenge Test), así como el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación son necesarios para la conservación adecuada de las formulaciones” (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2004: 13). Por lo tanto a toda formulación se le debe realizar el análisis microbiológico. Se debe guardar una muestra patrón (muestra de referencia), almacenada a temperatura y humedad controladas y protegidas de la luz. (Yaringao, 2015:18).

#### **2.2.6. Factor de Protección Solar (FPS) in Vitro**

##### **Factor de Protección Solar**

El valor de SPF puede definirse como la relación de la cantidad de la energía ultravioleta disponible para producir una dosis mínima de eritema (MED) o una quemadura solar mínima a través de una película de producto de protección solar a una cantidad comparable de energía ultravioleta requerida para producir el mismo efecto sin tratamiento.

$$FPS = \frac{\text{dosis mínima de eritema (MED) en la piel con protección}}{\text{dosis mínima de eritema (MED) en la piel sin protección}}$$

##### **Espectrofotometría ultravioleta**

La espectrofotometría ultravioleta “es el estudio de la interacción entre la radiación y la materia como función de la longitud de onda. En el espectro electromagnético las moléculas son sometidas a transiciones electrónicas. En donde esta técnica es complementaria al espectro fluorescente que se basa en las transiciones desde el estado basal al estado excitado” (Harris, 2008: 619). La espectrometría UV visible “se utiliza para determinar iones metálicos de transición y determinar compuestos orgánicos que se encuentran en las

sustancias los mismos que se denominan dienos conjugados” (Buenaño, 2014: 6). Respecto a los disolventes: “los apropiados son el agua, alcoholes, cloroformo, hidrocarburos de cadena corta, éteres y soluciones diluidas de ácidos y álcalis fuertes. Se debe tener precauciones para utilizar disolventes libres de contaminantes que absorban en la región espectral que se utiliza” (Farmacopea de los Estados Unidos 38, 2016)

La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) ha propuesto un método *in vivo* para determinar un factor de protección solar (SPF), que es una medida de la eficacia de la protección solar. (U.S. Food & Drug Administration, 1978). Desarrollaron varias técnicas experimentales para determinar el valor SPF para productos de protección solar en humanos, conejillo de indias o piel de ratón sin pelo cuando los sujetos están expuestos a la luz natural del sol o a una fuente de luz artificial, sin embargo, se ha informado de que los valores de SPF así determinados pueden variar considerablemente como resultado del tipo de piel, la fuente de energía utilizada la sustentividad del protector solar después del lavado, la composición del vehículo, el espesor de la película aplicada, humedad ambiental y temperatura de la piel (Vogelman *et al.*, 1984).

Los métodos *in vitro* son dos:

- a. Métodos que miden de la absorción o la transmisión de radiación UV a través de pantallas o filtros de protección solar en placas de cuarzo o biomembranas,
- b. Métodos espectrofotométricos, en los que la capacidad de absorción de los filtros o pantallas solares se determinan con base en el análisis de soluciones diluídas (Mansur *et al.*, 1986; Pissavini *et al.*, 2003). Mansur *et al.* (1986), desarrolló una ecuación matemática muy simple que sustituye el método *in vitro* propuesto por Sayre *et al.* (1979), utilizando espectrofotometría UV y la siguiente ecuación:

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

Dónde:	
FPS:	Factor de Protección Solar
FC:	10 (factor de corrección)
EE ( $\lambda$ ):	Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda $\lambda$
I ( $\lambda$ ):	Intensidad del sol en la longitud de onda $\lambda$
Abs ( $\lambda$ ):	Absorbancia de la solución en la longitud de onda $\lambda$

Además, también se han descrito varios métodos espectrofotométricos *in vitro* con el fin de evaluar la eficacia de los filtros solares. En su mayor parte, éstos consisten en películas delgadas y técnicas monocromáticas en las que la absorbancia del filtro solar se determina en una o más longitudes de onda predeterminadas en la región ultravioleta de interés. Durante el curso de la evaluación de las propiedades espectrales de los filtros solares, se hizo evidente que se necesitaba un nuevo método para proporcionar una indicación del SPF esperado antes de las pruebas cutáneas *in vivo*, particularmente cuando se usaban combinaciones de absorbentes. El propósito del presente informe es describir un método espectrofotométrico simple que se puede usar para determinar los valores relativos de SPF *in vitro* de las preparaciones de filtro solar antes de las pruebas cutáneas *in vivo* (Vogelman, 1984).

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo y diseño de investigación

El presente es un estudio de tipo analítico y experimental. Se evaluó la “actividad fotoprotectora” de una formulación a base de extracto acuoso liofilizado de maca en piel de ratones expuestos a la radiación UVB. El Factor de Protección Solar (FPS) de la formulación se determinó aplicando un método *in vitro* desarrollado por Mansur (Mansur, 1986) usando un método espectrofotométrico UV-VIS (Inocente, 2014).

### 3.2. Materiales

#### 3.2.1 *Material biológico*

1. Raíces de *Lepidium meyenii* “maca” procedentes de Junín.
2. Animales de experimentación: ratones cepa Zeta Balb-C, de aproximadamente 10 semanas de edad, sexo macho, se utilizaron para todos los experimentos del presente estudio. Los ratones fueron obtenidos del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

#### 3.2.2.- *Equipos, material de laboratorio y reactivos.*

##### **Equipos de laboratorio**

- Espectrofotómetro UV –VIS. Modelo V-650, marca: Jasco.
- Potenciómetro Modelo 691, Marca METROHM
- Viscosímetro - Reómetro. Modelo DV III Ultra, marca Brookfield
- Microscopio Clínico. Marca Nikon eclipse Ci y accesorio Nikon DS Camera Control Unit DS-L3,
- Lámpara emisión Ultra Violeta (Spectroline, LongLife filtro no.1575586, NY, EE.UU
- Radiómetro (UDT 371 Instrumentos Ópticos Medidor de Potencia Modelo # 268 UVC; Thorlabs, Newton, Nueva Jersey, EE.UU).

- Balanza Analítica con precisión mínima de 0,1 mg METTLER TOLEDO modelo XP 205
- Agitador estándar *con indicador digital*.
- Estufa *WTB*
- Centrífuga velocidad variable marca HETTICH serie 94862

#### **Materiales de laboratorio**

- Tubos de ensayo de 15 x100 mm
- Beaker 10, 50, 100, 250, 500 y 1000 mL
- Fiolas de 10, 25, 50 y 100 mL
- Pipetas volumétricas 0,5; 1; 5 y 10 mL
- Micro pipetas rango variable de 100-1000  $\mu$ L

#### **Reactivos**

- Benzofenona-4

#### **Listado de materias primas utilizadas para formulación de la crema:**

- PGG-100 estearato
- Palmitato de isopropilo
- Myristol
- Carbomer
- Simulgel
- EDTA (Etilendiaminotetracético)
- BHT (Butilhidrotolueno)
- Ciclometicona,
- Elastómero
- Glicerina,
- Trietanolamina
- Agua desionizada.
- Fenoxietanol y caprililglicol

### 3.3.- Métodos

#### 3.3.1. Estudio fitoquímico

(1) **Recolección, secado e identificación del material botánico.**

- Las raíces de maca fueron recolectadas de cultivos en la zona alto andinas de Pachacayo a 3600 metros de altitud, provincia de Jauja y Distrito de Canchaylla en el Departamento Junín, durante los meses de Mayo del 2014. Se usó la variedad amarilla (Figura 5).
- Las raíces de maca fueron secadas bajo sol en Pachacayo.
- La identificación se realizó en el museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo 1).

(2) **Preparación de la muestra de maca.**

- Se seleccionó y clasificó las raíces y se eliminó la colilla, luego se cortaron en pequeños fragmentos.
- La muestra se sometió a molienda artesanal, utilizando un molino casero, hasta obtener una muestra pulverizada uniforme.



**Figura 8.** Raíces de maca amarilla seca.

(3) **Preparación del “extracto acuoso liofilizado de maca”.**

**Extracción.** Se utilizó el método de cocimiento, el cual consistió en pesar 500 g de muestra seca (maca) se colocó con 7,5 litros de agua desionizada y se dejó hervir durante 60 minutos. (Gonzales-Castañeda C, 2008). El extracto acuoso recuperado después del hervido fue de aproximadamente 3,5 litros. Se dejó enfriar aproximadamente media

hora y se procedió a filtrar con papel de filtro rápido, guardándose el filtrado a  $-20^{\circ}\text{C}$  (Figura 6).



**Figura 9.** Extracto acuoso

**Liofilización.** Se llevó a cabo en la Universidad Cayetano Heredia (Ver Figura 7). Se colocó la muestra en un frasco especial que soportó grandes presiones. Se congeló la muestra a una temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$ . Luego se colocó en el equipo de Liofilización por un tiempo de 72 horas. Se retiró y colocó la muestra en frascos herméticos conservándose refrigerado  $-20\text{C}$ . El rendimiento del extracto fue aproximadamente 10 % (Oré, 2008).



**Figura 10.** Extracto acuoso liofilizado

#### (4) **Screening fitoquímico del extracto liofilizado**

Identificación de metabolitos secundarios se realizó por reacciones de coloración y/o precipitación, (tabla 2).

**Tabla 2. Procedimiento para screening fitoquímico**

Metabolito	Reactivo	Ensayo	Reacciones
TANINOS	Gelatina-sal	Se adicionó solución de gelatina 1g en 100 mL de H <sub>2</sub> O y 10 g de NaCl.	Positivo cuando hay precipitación
AMINOACIDOS	Ninhidrina	2 mL de solución nihidrina al 0,25 % se calienta por 5 a 10 min. en baño maría,	Positiva cuando se desarrolla un color azul violáceo
FENOLES	Fe Cl III	Se agregó Acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de tricloruro férrico al 5%	Positivo si te torna de color verde intenso o azul
ALCALOIDE	Dragendorff	2 o 3 gotas de Reactivo de Dragendorff	Positivo si hay; precipitado anaranjado marron
	Mayer	Reactivo Mayer	Positivo: cuando hay Precipitado blanco a crema,
QUINONAS	Borntrager	1 mL de NaOH al 5%.	Coloración anaranjada o roja la intensidad del color será proporcional a la concentración
ESTEROLES /TRITERPENOS	Liebermann-Burchard	1 mL de anhídrido acético y adicionar 2 a 3 gotas de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> cc. por las paredes del tubo.	Rosa violáceo- azul muy rápido; luego verde claro y pasa a verde oscuro rápido y negro al final.
AZUCARES reductores	Fehling	Reactivo de Fehling	Positivo si se colorea de rojo.
GLICOSIDOS	Molish	3 gotas de $\alpha$ -naftol y 5 gotas de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> cc.	Positivo formación de un anillo color violeta en la interfase.
FLAVONOIDES	Shinoda	Se agregó un trozo de cinta de magnesio y gotas de HCl cc., dejar por 5 min, se adicionó 1 mL de alcohol amílico	Positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja o rojo

Fuente: adaptada de (Miranda, 2000)

### 3.3.2 Formulación de la crema con actividad fotoprotectora

#### Elaboración de la crema (emulsión)

En un vaso de precipitado (250 mL) previamente tarado, se pesó en balanza analítica, los componentes de la fase grasa. En otro vaso de precipitado (Beaker) de 250 mL previamente tarado, se pesó en balanza analítica, los componentes de la fase acuosa, luego se fundió los componentes de fase grasa, a temperatura de 80 °C +/- 3 °C, asimismo se calentó otro Beaker de 500mL con los compuestos de la fase acuosa hasta llegar a una temperatura de 80 °C +/- 3 °C. Se vertió la fase grasa sobre la acuosa, con agitación constante hasta

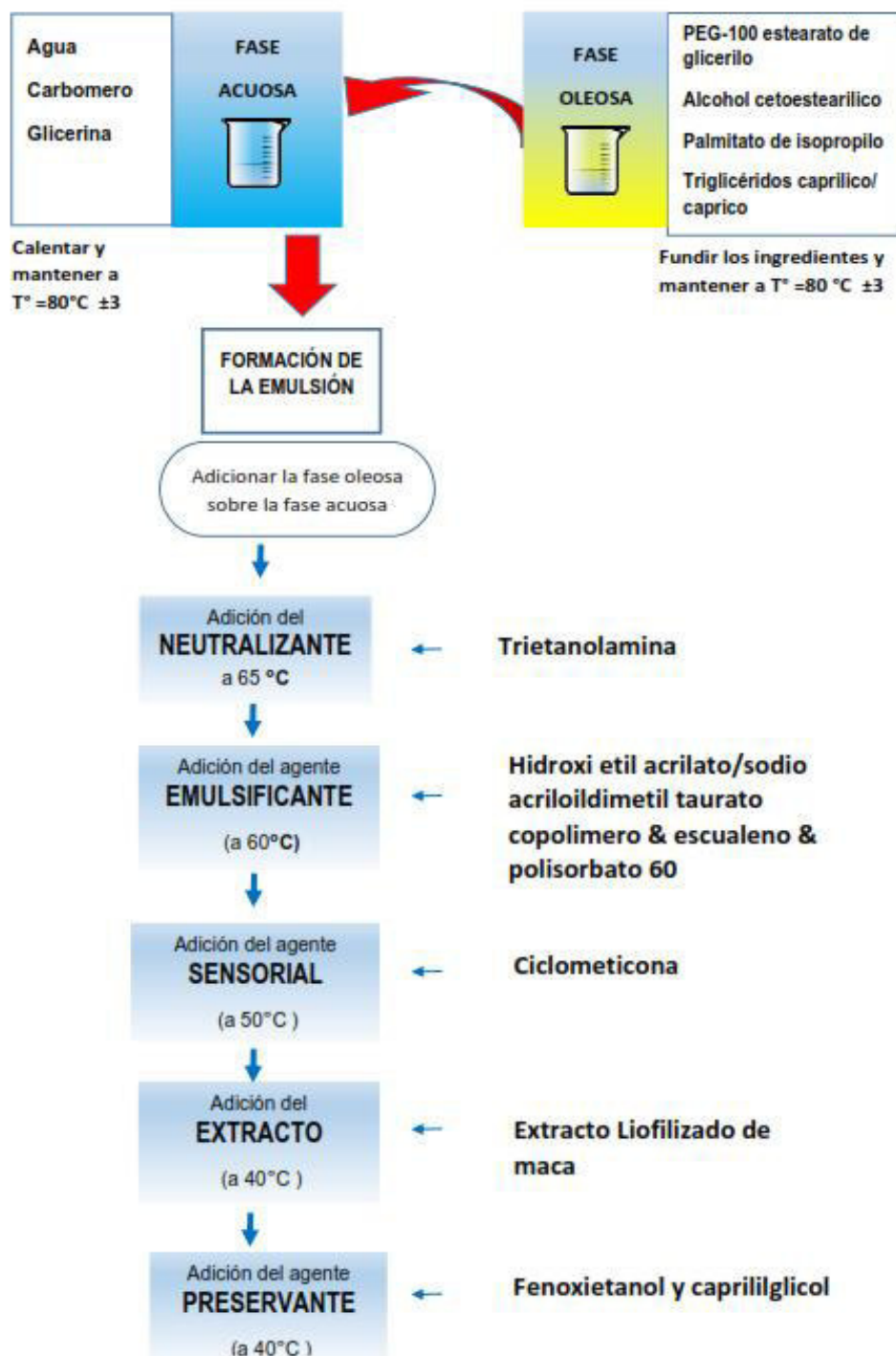
que la emulsión alcanzó una temperatura aproximada de 40 °C. (Cabrera, 2006:12) (Figura 9).

### **Elaboración de la crema con extracto liofilizado de maca**

A la emulsión preparada a temperatura por debajo de 40° C, se incorporó el extracto liofilizado de maca a dos concentraciones 5 % y 15 % respectivamente (Figura 8).



**Figura 11.** Crema con extracto acuoso liofilizado de maca



**Figura 12.** Flujograma de la formulación con “extracto liofilizado de maca”.

### 3.3.3.- *Bioensayo para evaluar el efecto fotoprotector de la formulación.*

(1) **Preparación de los animales de experimentación: ratones**

Los ratones de cepa Balb-C, de peso de experimentación (de aproximadamente 10 semanas de edad, sexo macho) fueron alojados individualmente en jaulas acondicionadas a una temperatura de 20-22 °C y una humedad de 60 - 70 % y con un ciclo de 12 horas de luz: 12 horas de oscuridad. Se les administró a los ratones comida y agua ad libitum. En el estudio se cumplió con las directrices descritas en la Guía OECD *Guía para la Atención y El uso de animales de laboratorio* (National Research Council, 2011) y (INS, 2008).

(2) **Pruebas de irradiación UV**

Cuarenta y ocho horas antes de la irradiación, los ratones fueron afeitados en su superficie dorsal, minutos antes del experimento, los animales fueron anestesiados con pentobarbital (30 mg/kg). Para hacer la irradiación localizada, cada animal tuvo una zona delimitada (un círculo aproximadamente de 2 cm de diámetro) en su superficie dorsal, la cual se expuso a los rayos UVB. Los animales se colocaron individualmente en la jaula UVB. Cada ratón fue colocado a unos 15 cm de distancia de la fuente de luz durante 30 minutos (Choy, 2005). La irradiación UV se llevó a cabo una vez al día durante 3 días consecutivos (Spectroline, LongLife filtro no.: 1575586, NY, EE.UU.) El total de dosis de energía UVB recibidas fue de 3,3 mW/cm<sup>2</sup>. Esto fueron medidos por medio de un radiómetro (UDT 371 Instrumentos Ópticos Medidor de Potencia Modelo # 268 UVC; Thorlabs, Newton, Nueva Jersey, EE.UU).

(3) **Evaluación de Dosis-respuesta de la formulación fotoprotectora con extracto acuoso de maca contra la radiación UV en ratones**

Para observar el efecto del “extracto liofilizado de maca” en la formulación fotoprotectora contra la radiación UVB, Se trabajó con 7 grupos de animales, 5 ratones por grupo fueron tratados tópicamente (Tabla 3). Se delimitó (un círculo aproximadamente de 2 cm de diámetro) en su superficie

dorsal, las cantidad de aplicación de cada tratamiento fue de 100 uL por cada círculo (Figura 18), la cual se expuso a los rayos UVB.

**Tabla 3.** Método operatorio de la evaluación de la irradiación UVB en ratones

GRUPOS	TRATAMIENTO	APLICACIÓN	CANTIDAD (por círculo de piel)	Irradiación UVB
GRUPO I	BLANCO	Ninguna	-	No recibió radiación
GRUPO II	CONTROL (-)	Ninguna	-	Si
GRUPO III	CONTROL (+)	Protector solar comercial SPF 30	(100uL)	Si
GRUPO IV	BASE CREMA	Emulsión (sin extracto)	(100uL)	Si
GRUPO V	EXTRACTO LIOFILIZADO + AGUA 15%	Extracto liofilizado disuelto en agua al 15%	(100uL)	Si
GRUPO VI	EXTRACTO LIOFILIZADO + CREMA 5%	Extracto acuoso liofilizado de maca al 5% disuelto en crema (base)	(100uL)	Si
GRUPO VII	EXTRACTO LIOFILIZADO + CREMA 15%	Extracto acuoso liofilizado de maca al 15% disuelto en crema (base)	(100uL)	Si

Fuente: Propia

#### (4) **Evaluación histológica**

Dos horas después de la última exposición UV, los animales fueron sacrificados por inhalación de cloroformo.

Se recortó una muestra de un centímetro de piel en las zonas de tratamiento; se sujetó la piel en una placa de tecnopor y se fijó en formol al 10 % por un tiempo de 24 a 48 horas. Los fragmentos de piel se procesaron por la técnica de inclusión de parafina y coloración con hematoxilina y eosina para su estudio histopatológico.

Las observaciones se llevaron a cabo utilizando un microscopio óptico. Treinta mediciones por secciones se llevaron a cabo entre el estrato granulosum y la unión dermoepidérmica (Gonzales-Castañeda, 2008).

### **3.3.4. Análisis físico químico de la formulación fotoprotectora.**

#### **(I) Determinación de FPS *in Vitro***

El Factor de Protección Solar (FPS) de la formulación fotoprotectora, se determinó siguiendo un método espectrofotométrico *in vitro* descrito por Mansur *et al.* (Mansur *et al.*, 1986: 121). Este ensayo se realizó diluyendo la formulación en agua hasta obtener una concentración de 0,2 mg/mL, “condición establecida por el autor para crear 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” (Inocente, 2014: 70). Este método solo determina el FPS en el rango UVB (290 a 320 nm).

Se diluyeron las formulaciones hasta obtener una solución de 0,2 mg/mL, para ello se pesó 1,0 g de cada muestra en fiola aforada de 100 mL, se agregó 50 mL de agua, se agitó por 5 minutos, a continuación se diluyó con agua; se homogenizó y luego se filtró (se descartó los primeros 10 mililitros). Se tomó 5,0 mL del filtrado y se coloca en una fiola de 50 mL, se diluyó a volumen con agua, después se tomó nuevamente 5,0 mL de la última dilución y se trasvaso a una fiola de 25 mL y se llevó a volumen con agua (Inocente *et al.* 2014: 70). La medición de las absorbancias se realizó por triplicado, empleando el espectrofotómetro (rango de 290 a 320 nm, con intervalos de 5 nm) se usó una cubeta de cuarzo de 1 cm. Se midió así la intensidad de la radiación y la longitud de onda de los compuestos cromóforos (Buenaño, 2014: 31). El FPS fue calculado de acuerdo con la ecuación de Mansur *et al.*

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

“La relación entre el efecto eritemogénico y la intensidad de la radiación de cada longitud de onda ( $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ ) es una constante determinada por Sayre *et al.* 1976” (Tabla 4).

**Tabla 4. Constante determinada por Sayre et al. ( $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ ).**

Longitud de onda (nm)	290	295	300	305	310	315	320	TOTAL
$EE(\lambda) \times I(\lambda)$	0,0150	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0839	0,0180	1,000

Fuente: Sayre R, Desrochers D, Marlow E., Datos tomados de Inocente (2014)

## (II) Ensayos de control de calidad: Métodos

### a) Características organolépticas

Se determinó sensorialmente el aspecto, color y olor las cremas formuladas evitando el contacto con la luz solar.

### b) Determinación de pH

El método de la Farmacopea Americana versión 38 fue usado para este ensayo en su capítulo <791> pH.

Se calibró el equipo usando las soluciones buffers (pH 4,00 y pH 7,00). Luego se determinó del pH de cada formulación en ensayo, se colocó el electrodo en 10 g de muestra (formulación) por 1 minuto.

### b) Determinación de la viscosidad

Se usó el método de ensayo: MET-CNCC-034 Ejecución de Ensayo de Viscosidad. Edición 02. Referencia USP 38 Capítulo General <912> Viscosidad.

La viscosidad se determinó utilizando el viscosímetro Modelo DV-II BROOKFIELD y baño maría termostático.

Una vez homogénea la muestra y libre de burbujas de aire, se vertió aproximadamente 600 mL en el vaso de precipitados de 750 mL de capacidad a una temperatura de la muestra de  $25 \pm 0,1$  °C.

Se determinó la viscosidad con el spin N° 6 a una velocidad de 50 rpm.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Resultados

**4.1.1. Estudio fitoquímico:** Screening del extracto acuoso liofilizado de *Lepidium meyenii* (maca)

**Tabla 5. Compuestos presentes en el extracto acuoso liofilizado de maca.**

Grupo de metabolito	Reactivo utilizado	Extracto acuoso liofilizado de maca
Taninos	Gelatina	-
Proteínas (aminoácidos)	Nihindrina	-
Compuestos fenólicos	Tricloruro de hierro	+
Alcaloides o compuestos nitrogenados	Dragendorff	++
Alcaloides	Mayer	++
Quinonas	Borntrager	-
Esteroles	Lieberman	-
Azúcares reductores	Fehling	++
Glicósidos	Molish	+
Flavonoides	Shinoda	-

Nota: (-) ausencia; (+) poca cantidad; (++) regular cantidad; (+++) abundante cantidad.

Se observa la evaluación cualitativa, de acuerdo a reacción de color o precipitado.

Fuente. Propia;

#### 4.1.2 Análisis fisicoquímico de la formulación

**Tabla 6.** Resultados de análisis fisicoquímico de formulación fotoprotectora con extracto acuoso liofilizado de maca al 15 %.

PARAMETRO	ESPECIFICACIONES <sup>(1)</sup>	RESULTADOS
Aspecto	Crema homogénea	Homogéneo (Ausencia de grumos)
Color	Amarillo pardo	Amarillo pardo
Olor	Característico	Sui generis
pH (25°C)	4,5 -7,00	4,96
Viscosidad cps (25°C)	800 - 1 200 cps	1 059 cps

<sup>(1)</sup> Referencia “ANVISA (2004), Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos”.

**Tabla 7.** Valores de FPS (Método espectrofotométrico de Mansur et al.

FPS	Extracto acuoso liofilizado al 15%	(filtro solar químico) BZF-4 al 1.5%	Bloqueador solar del mercado
FPS PROMEDIO	5,480	6,854	11,504
SD	0,020	0,001	0,027
FPS FINAL	5,480 ± 0,020	6,854 ± 0,001	11,504 ± 0,027

Fuente. Propia. Ver Anexo 3.

#### Espectro de absorción UV

En el espectro de absorción UV se observa las formulaciones fotoprotectoras son capaces de absorber la radiación UVB del espectro, desde el rango de 290-320 nm. Asimismo, el espectro de absorción muestra que el “extracto liofilizado de maca al 15 %” presenta mayor absorción que el “extracto liofilizado de maca al 5 %”. La línea inferior es el placebo, el cual muestra la menor absorción (ANEXO 4).

### 4.1.3 Bioensayo

**Efecto de la radiación UVB en piel de ratón del extracto acuoso liofilizado de la maca.-** El estudio histológico demuestra que la radiación UVB daña la epidermis del ratón, produciendo una hiperproliferación de las células epiteliales. Esto se evidencia por un aumento del grosor epitelial en el grupo control irradiado y en el grupo crema base.

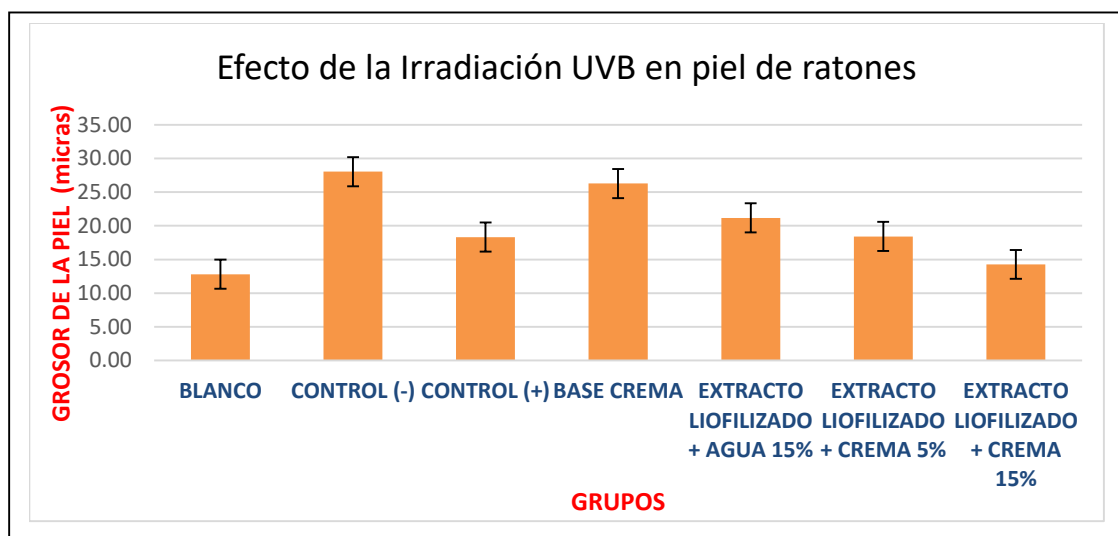
La actividad fotoprotectora se evaluó estadísticamente midiendo el grosor en micras de la piel de ratón, los indicadores de la inflamación, el estado de la piel de ratón y la determinación FPS in vitro (Tabla 8).

**Tabla 8.** Evaluación del grosor la piel de ratón (micras) irradiada con UVB.

GRUPOS	TRATAMIENTO	GROSOR DE LA PIEL Promedio (micras)	DE
GRUPO I	BLANCO	12,8	2,3
GRUPO II	CONTROL (-)	28,0	4,4
GRUPO III	CONTROL (+)	18,3	0,1
GRUPO IV	BASE CREMA	26,3	3,5
GRUPO V	EXTRACTO LIOFILIZADO + AGUA 15%	21,2	5,3
GRUPO VI	EXTRACTO LIOFILIZADO + CREMA 5%	18,4	3,0
GRUPO VII	EXTRACTO LIOFILIZADO + CREMA 15%	14,3	2,8

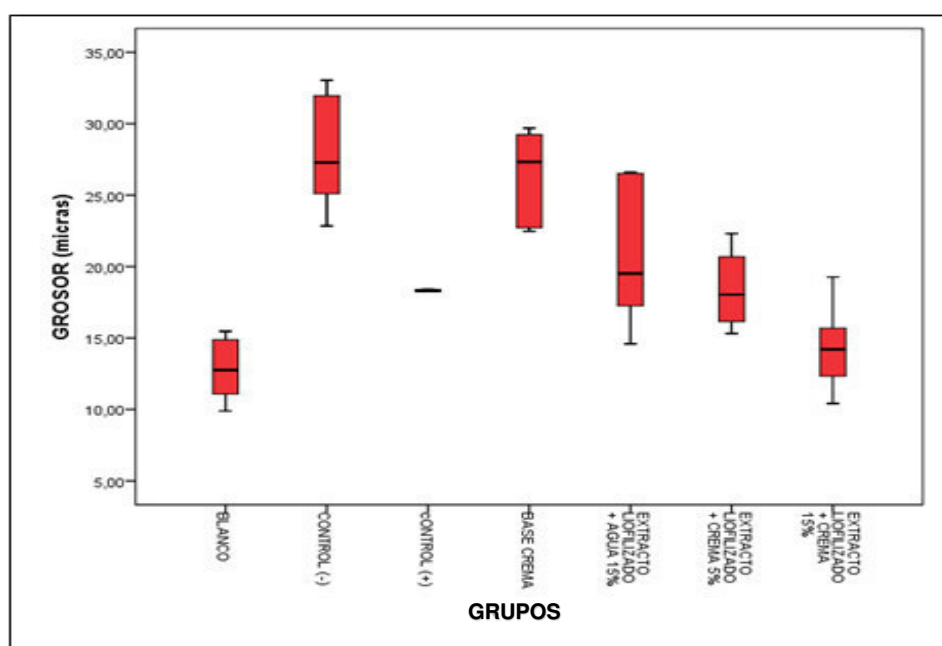
DE: Desviación Estándar

\* Prueba de ANOVA = 14.796  $p < 0,05$



**Figura 13.** Comparación del grosor en micras entre los grupos.

Altura epitelial epidérmica de piel de ratones expuestos a la radiación UVB con diferentes tratamientos. Los valores se expresan como promedios + SE



**Figura 14.** Gráfica de caja del grosor de la piel en micras por grupos