

"AÑO DE LA DIVERSIFICACIÓN PRODUCTIVA Y DEL FORTALECIMIENTO DE LA EDUCACIÓN"

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**EFEECTO FOTOPROTECTOR Y CALIDAD DEL GEL COSMÉTICO A
BASE DEL EXTRACTO DEL ALGA MARINA "*Caulerpa filiformis*
(Suhr) Hering" RECOLECTADA EN LA PROVINCIA DE PISCO - ICA**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. HERNÁNDEZ GÓMEZ, PILAR

Bach. HUAMANÍ SAYRITUPAC, LISSETH ANALÍ

Bach. MIRANO CASAFRANCA, MARITA ALCIRA

ASESORES:

Q.F. CHÁVEZ ORELLANA, SANTOS HAYDEÉ

Q.F. VALLE CAMPOS, MANUEL ALFREDO

Q.F. BENDEZÚ ACEVEDO, ROCÍO

ICA - PERU

2015

A mis padres

Pilar y Mario

*Por darme la vida y por estar conmigo en cada paso que doy,
además de brindarme siempre su inmenso amor y fortaleza, ya
que han sido un pilar fundamental en el trayecto de mi vida,
enseñándome que con perseverancia y fe todo es posible.*

Pilar

A mis padres

Vidalia y Alejandro

*Por todo el apoyo y respaldo durante mis estudios,
gracias por los sacrificios y la paciencia que
demostraron todos estos años; sé que siempre cuento
con ustedes, mis maestros de toda la vida.*

Liseth

A mis padres

Lucia y Mario

Con todo mi cariño y amor por que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

Marita

AGRADECIMIENTOS:

Nuestros sinceros agradecimientos, al Dr. **Manuel Alfredo Valle Campos** por sus enseñanzas, orientación, por sus consejos y su incondicional apoyo.

A la, Dra. **Santos Haydee Chávez Orellana**, por su paciencia, sus consejos y por guiarnos en cada paso del trabajo de tesis y durante nuestra vida universitaria.

A la Dra. **Rocío Bendezú Acevedo**, por brindarnos sus conocimientos y todos los recursos disponibles brindados durante el desarrollo del trabajo de tesis.

Al Dr. **Roberto Garayar Flores**, por su apoyo incondicional cuando lo hemos requerido.

Al Dr. **Nelson Bautista Cruz**, por brindarnos su ayuda profesional durante el trabajo de tesis.

A la Dra. **Julia Palomino Cáceres**, por ampliar nuestros conocimientos sobre la especie en mención y por su apoyo en campo.

Como no mencionar un agradecimiento a nuestra querida **Asociación Científica de Investigación Farmacéutica (ACIF)**, a la cual hemos pertenecido y siempre nos consideraremos parte de ella, parte de la familia Acifana.

También agradecemos a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a nuestro crecimiento personal y profesional.

Los llevamos en nuestros corazones.

Pilar, Lisseth y Marita

ÍNDICE

CONTENIDO:

1.	SUMARY	vii
2.	RESUMEN	ix
3.	INTRODUCCIÓN	1
3.1.	HIPÓTESIS:	3
3.2.	OBJETIVO GENERAL:	3
3.3.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	4
4.	ANTECEDENTES Y DEFINICIONES.....	5
4.1.	ANTECEDENTES:.....	5
4.2.	DEFINICIONES:	8
4.2.1.	ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA PIEL.....	8
4.2.2.	RADIACIÓN:	14
4.2.3.	DAÑO SOLAR:	15
4.2.4.	INFLAMACIÓN:	17
4.2.5.	ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS.....	17
4.2.6.	FOTOENVEJECIMIENTO (HELIODERMIA):	18
4.2.7.	FOTOCARCINOGENÉISIS:	18
4.2.8.	ERITEMA SOLAR.....	20
4.2.9.	PROTECTORES SOLARES.	22
5.	GENERALIDADES.....	25
5.1.	DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DEL GÉNERO "CAULERPA"	25
5.2.	HABITAT Y UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA ESPECIE <i>Caulerpa filiformis</i> (Suhr) Hering	25
6.	PARTE EXPERIMENTAL	27
6.1.	ESTUDIO FITOQUÍMICO:	27
6.1.1.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS:.....	27
6.1.2.	MÉTODOS:.....	29
6.2.	ESTUDIO FARMACOTÉCNICO	36

6.2.1.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS:.....	36
6.2.2.	PRE FORMULACIÓN DEL GEL FOTOPROTECTOR:	37
6.2.3.	FORMULACIÓN DEL GEL FOTOPROTECTOR AL 2.5%, 5%, 10%, 20%.....	38
6.3.	CONTROL DE CALIDAD DEL GEL FOTOPROTECTOR.....	39
6.3.1.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS:.....	39
6.3.2.	ENSAYOS ORGANOLÉPTICOS:.....	40
6.3.3.	ENSAYOS FISICOQUÍMICOS.	40
6.3.4.	CONTROL MICROBIOLÓGICO.....	43
6.4.	EVALUACIÓN DEL EFECTO FOTOPROTECTOR: MODELO BIOLÓGICO DEL CENTRO DE HISTOTERAPIA PLACENTARIA (Rev. Cuba 2013).....	47
6.4.1.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS:.....	47
6.4.2.	GRUPOS DE EXPERIMENTACION:	48
6.4.3.	METODO EXPERIMENTAL:.....	49
6.4.4.	EVALUACIÓN MACROSCÓPICA:.....	49
6.4.5.	EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA:.....	50
6.4.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS.	50
7.	RESULTADOS	51
7.1.	SCREENING FITOQUÍMICO	51
7.2.	ESTUDIO FARMACOTÉCNICO:.....	51
7.3.	CONTROL DE CALIDAD DEL GEL FOTOPROTECTOR.....	52
7.4.	EVALUACIÓN DEL EFECTO FOTOPROTECTOR	57
7.4.1.	EVALUACIÓN MACROSCÓPICA:.....	57
7.4.2.	EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA:.....	62
8.	DISCUSIÓN.....	63
9.	CONCLUSIONES.	67
10.	RECOMENDACIONES.	68
11.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	69
12.	ANEXOS	85

1. SUMMARY

According to epidemiological data from the National Institute of Neoplastic Diseases (INEN) indicates that skin cancer ranks fourth in cancer incidence after the stomach, lung and breast. Ultraviolet (UV). This directly damages the skin, increasing the risk of skin cancer, photoaging promoting and exacerbating dermatitis.

Published in the Journal of Biology Algae Peruvian Studies mentioned that "Caulerpaceae" family has attributed the following pharmacological properties: anti-inflammatory, anticancer, antiviral, antimalarial, antifungal, anticoagulant, antibacterial etc. Also marine species *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering has no chemical studies, therapeutic or cosmetic activity. Therefore we consider the following problem: It has sunscreen effect and meet quality parameters based cosmetic gel extract seaweed "*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering" collected in the province of Pisco-Ica?

The ethanol extract obtained from seaweed "*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering" was obtained by the extraction method "maceration" was formulated gels at concentrations of 2.5%, 5%, 10% and 20% which underwent quality control (controls sensory, physical, chemical and microbiological) gels formulated concluding that meet the requirements for cosmetic products.

The degree of photoprotective effect on the back of experimental animals is also determined by biological model controlled in the UVC region exposed to each mouse at a daily dose of 1.3 mW / cm² for 7 days where daily macroscopic observation was made from the skins and on day 7 we proceeded to slaughter the animals for histopathological evaluation.

It is concluded that the gels at concentrations of 10% and 20% have a high degree of photoprotective effect compared to commercial sunscreen "Bahamas", determining that more concentrated gel extract greater photoprotective effect, this could be due to the presence of secondary metabolites present in marine species (triterpenes, steroids, amino acids), considering concentrations of choice

Keywords: Protection sun, *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering, gel, UVC radiation, seaweed.

2. RESUMEN

Según los datos epidemiológicos del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) indica que el cáncer de piel ocupa el cuarto lugar en la incidencia de cáncer después del estómago, de pulmón y de mama. La radiación ultravioleta (UV) presente daña directamente la piel, incrementando el riesgo de cáncer de la piel, promoviendo el fotoenvejecimiento y exacerbando la dermatosis.

Estudios publicados en el Diario de Biología de Algas peruana menciona que la familia “Caulerpaceae” tiene las siguientes propiedades farmacológicas atribuidas: antiinflamatorio, anticancerígeno, antiviral, antimalárico, antifúngico, anticoagulante, antibacteriano etc. Asimismo la especie marina *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering no tiene estudios químicos, actividad terapéutica o cosmética. Por ello nos planteamos el siguiente problema: ¿Presenta Efecto fotoprotector y cumplirá parámetros de calidad el gel cosmético a base del extracto del alga marina “*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering” recolectada en la provincia de Pisco-Ica?

El extracto etanólico obtenido a partir del alga marina “*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering” se obtuvo por el método de extracción "maceración", se formuló geles a concentraciones de 2,5%, 5%, 10% y 20% a la que se les realizó control de calidad (controles organolépticos, físicos, químicos y microbiológicos) concluyendo que los geles formulados cumplen con las exigencias para productos cosméticos.

Asimismo se determinó el grado del efecto fotoprotector en el lomo de animales de experimentación según modelo biológico controlado en la región UVC exponiéndose a cada ratón a una dosis diaria de 1,3 mW/cm² durante 7 días donde se realizó diariamente observación macroscópica de las pieles y en el día 7 se procedió a sacrificar a los animales para evaluación histopatológica.

Se concluye que los geles a concentraciones de 10% y 20% presentan un alto grado de efecto fotoprotector en comparación con el fotoprotector comercial “Bahamas”, determinando de que a mayor concentración del extracto en gel mayor efecto fotoprotector, esto podría deberse a la presencia de metabolitos secundarios presentes en la especie marina (triterpenos, esteroides, aminoácidos), considerándose concentraciones de elección.

Palabras clave: Protección solar, *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering, Gel, radiación UVC, Algas marinas.

3. INTRODUCCIÓN

La Globalización mundial y el acelerado desarrollo de la industria han conllevado a que cada vez se utilicen más químicos y combustibles fósiles que dañan la capa de ozono, debilitándola y haciendo que estemos más expuestos a la radiación ultravioleta (UV) de lo que sucedía hace medio siglo^{1,2}. Por su ubicación Perú, Ecuador y Colombia reciben la mayor dosis de radiación UV del planeta, un estudio de campo realizados por la EXA (Agencia Espacial Civil Ecuatoriana), la Agencia Ambiental Canadiense, la NASA (Administración Nacional de la Aeronáutica y del Espacio), el KNMI (Real Instituto Meteorológico de Holanda) y el DLR (Centro Aeroespacial Alemán) que prueban la existencia de un gran debilitamiento de la capa de ozono sobre latitudes ecuatoriales³.

La radiación ultravioleta (UVA y UVB) daña directamente la piel, aumenta el riesgo de cáncer de piel, además de promover el fotoenvejecimiento y exacerbar dermatosis fotosensibles. Asimismo la radiación ultravioleta tiene efectos positivos sobre el ser humano, ya que favorece la síntesis de vitamina D, pero puede ser enormemente perjudicial cuando se sobrepasan unos límites de seguridad⁴.

Estudios epidemiológicos han establecido una relación causal entre la exposición solar y todos los principales tipos de cáncer de piel. En el Perú, según el instituto nacional de enfermedades neoplásicas (INEN), se diagnostican entre 3 000 y 5 000 casos de cáncer de piel por año siendo así la cuarta incidencia después del cáncer de estómago, pulmón y mamas^{5,6}.

Desde la historia de la humanidad, la naturaleza ha sido siempre una fuente inagotable de compuestos activos que, desde el punto de vista farmacológico, se han venido utilizando con gran efectividad para el alivio de diversos tipos de enfermedades⁷.

La gran variedad de organismos que habitan en mares, océanos y las posibles propiedades farmacológicas y médicas de sus extractos, hacen del medio marino una fuente potencial de fármacos. Las algas figuran entre los seres vivos más antiguos del planeta tierra, con aproximadamente 1 a 3 millones de años de antigüedad, estos han desarrollado mecanismos de protección contra las radiaciones, es por ello que constituyen una importante fuente de compuestos con actividad que pueden ser utilizados con diferentes propósitos en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria⁸.

El alga "*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering" es una de las más importantes de la familia Caulerpaceae se distribuye por todo el mundo en los mares tropicales y subtropicales formando extensas praderas de algas por su carácter invasivo se localizan en la zona fótica, con una notable exposición a la radiación solar, lo que favorece la generación de radicales libres y esto a su vez pudiera condicionar la biosíntesis de metabolitos como una respuesta a las presiones ecológicas, tales como temperatura, presión, radiación, defensa química para disuadir a los organismos herbívoros, competencia por el espacio, atracción de gametos y fecundación a través de receptores específicos; además de controlar el establecimiento y crecimiento de bacterias y otros organismos que alteran su entorno⁹.

El uso de formas farmacéuticas fotoprotectoras obtenidas a partir de productos naturales constituyen una alternativa válida para la prevención contra daño y perjuicios provocados por la exposición del epitelio a radiación ultravioleta (RUV)^{10,11}.

En la actualidad la tendencia fitocosmética busca nuevas estrategias, métodos de obtención y utilización de recursos naturales con valor agregado a base de productos naturales y que a su vez cumplan con parámetros de calidad garantizando que sean fácilmente absorbidas y metabolizadas por el organismo¹². Por lo cual nos planteamos el siguiente problema: ¿Presentará Efecto fotoprotector y cumplirá parámetros de calidad el gel cosmético a base del extracto del alga marina “*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering” recolectada en la provincia de Pisco-Ica?

3.1. HIPÓTESIS:

El gel cosmético a base del extracto del alga marina *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering recolectada en la provincia de Pisco – Ica, tiene efectividad fotoprotectora y cumple con los parámetros de calidad exigidos por los organismos encargados de asegurar la calidad de los productos cosméticos.

3.2. OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto fotoprotector y parámetros de calidad del gel cosmético a base del extracto del alga marina *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering recolectada en la provincia de Pisco - Ica.

3.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del alga *Caulerpa filiformis (Suhr) Hering* recolectada en la playa el chaco provincia de Pisco – Ica según métodos de estudio fitoquímico.
- Formular un gel a diferentes concentraciones del extracto etanólico del alga *Caulerpa filiformis (Suhr) Hering* recolectada en la playa el chaco provincia de Pisco - Ica.
- Realizar el control de calidad del gel a base del extracto etanólico del alga *Caulerpa filiformis (Suhr) Hering* según lo especificado por los organismos encargados de la regulación y vigilancia de productos Cosméticos ANVISA, ISO y USP.
- Evaluar la efectividad fotoprotectora mediante un ensayo biológico controlado en la región UVC por los métodos macroscópico e histopatológico en lomos de ratones Balb/C.

4. ANTECEDENTES Y DEFINICIONES.

4.1. ANTECEDENTES:

Cabrera CM y López MA (2006). Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel. Concluye que:

La exposición cutánea a la radiación ultravioleta induce diferentes eventos biológicos que modulan la respuesta inmunitaria creando un desequilibrio y estimulan la células de Langerhans, algunas veces no maduras que, al migrar, activan la respuesta celular de linfocitos T, especialmente TH2, lo que disminuye la habilidad para desencadenar una respuesta inmunitaria adecuada hacia antígenos microbianos y hacia el crecimiento celular. La radiación ultravioleta por sí misma es carcinógena y su efecto inmunomodulador puede inducir neoplasias¹³.

Valenzuela K y Espinoza M, (2012). Estrés oxidativo, carcinogénesis cutánea por radiación solar y quimioprotección con polifenoles. Concluye que:

La radiación ultravioleta (UV) tanto procedente del sol como de fuentes artificiales es potencialmente nociva para los organismos a varios niveles. En humanos, la radiación UVB (longitud de onda = 280-315 nm) es responsable de la producción de eritema actínico, quemaduras solares y carcinogénesis además de estar directamente relacionada con procesos de inmunosupresión mientras que la radiación UVA (longitud de onda=315-400 nm) es la responsable del bronceado inmediato de la piel, del fotoenvejecimiento y la fotosensibilización cutánea. La radiación UVA es capaz de reaccionar con moléculas de oxígeno para dar lugar a oxígeno singlete y anión

superóxido, capaces ambos de inducir lesiones de las membranas celulares, desnaturalización proteica y roturas en los enlaces de ADN¹⁴.

López Luengo (2007). Fitocosmética solar. Sostiene que:

Hay una amplia gama de productos para la protección ante la exposición solar elaborados con extractos vegetales con propiedades hidratantes, emolientes, refrescantes, antiinflamatorias y epitelizantes. Normalmente, en estos cosméticos se asocian diferentes plantas para aprovechar las diferentes propiedades de cada una. Así, para aliviar la inflamación de una zona cutánea que presenta un eritema, se puede recurrir a extractos vegetales con propiedades antiinflamatorias, generalmente por la presencia de flavonoides ¹⁵.

Morales-Molina *et al.* Quemaduras solares: fotoprotección y tratamiento. Concluye que: Las medidas protectoras a emplear, son permanecer resguardado de la exposición a las radiaciones ultravioletas, las personas con fotoenvejecimiento sustancial deberían examinarse periódicamente de la presencia de queratosis actínica y cáncer de piel. Pese a que el tratamiento más efectivo frente a las quemaduras solares es la prevención se ha suscitado controversia sobre el uso de los fotoprotectores, los datos disponibles no sugieren que los fotoprotectores incrementen el riesgo de melanoma. Conviene minimizar la exposición a las radiaciones solares en las horas de máxima incidencia de radiaciones ultravioletas (12-16 horas), no hay evidencias de que los fotoprotectores más caros sean los más efectivos, por lo que según recomienda la FDA parece aconsejable generalizar la utilización de FPS ≥ 15 , precisando una mayor protección aquellos pacientes con factores de riesgo. Variables como la edad, embarazo, afecciones cardiovasculares,

estado general, así como localización, profundidad, superficie o extensión de la misma deberían ser tenidas en cuenta a la hora de evaluar la gravedad y morbilidad potencialmente derivables de una quemadura solar ¹⁶.

Concepción *et al* (2001). Evaluación de extractos de algas marinas, con actividad antioxidante y reorganizadora de la fibra colágena. Concluyen en lo siguiente:

En los fenómenos de envejecimiento de la piel, intervienen los procesos de degradación de las fibras colágenas y de las fibras elásticas. Estos procesos se aceleran en caso de un severo fotoenvejecimiento, pues la acción de los rayos UV afecta el funcionamiento de los fibroblastos, células productoras de estas fibras¹⁷.

Batista *et al* (2009). Las algas marinas como fuentes de fitofármacos antioxidantes. Concluyeron en lo siguiente:

Cuando se analiza la actividad antioxidante de un extracto crudo, que pudiera ser explicada por la presencia de una o varias moléculas, a su vez pudiera existir un posible efecto cooperativo o sinérgico entre ellas¹⁸.

Vidotti, E. y Rollemberg, M. (2004). Algas verdes como fuente de metabolitos bioactivos. Afirman lo siguiente:

Las algas verdes pertenecientes a las familias Codiaceae, Udoteaceae y Caulerpaceae, constituye un grupo de macroalgas de gran interés farmacológico caracterizados por contener pigmentos de clorofila a y b, β - carotenos y xantofilas; además, de ser ricas en ácido acrílico, aldehídos, aminoácidos, flavonoides y terpenoides. Tienen efectos: anticancerígenos, antivirales, antimalárico,

antioxidantes, antifúngico, anticoagulantes, antibacterianos, antiinflamatoria, efectos inmunosupresores, entre otros¹⁹.

4.2. DEFINICIONES:

4.2.1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA PIEL

4.2.1.1. ANATOMÍA DE LA PIEL

La piel es un órgano de protección que recubre toda la superficie exterior de nuestro cuerpo. Presenta cuatro capas: la epidermis (la capa más externa), la dermis y la hipodermis²⁰

LA EPIDERMIS:

Es la capa más externa, y está compuesta por dos tipos de células: los **keratinocitos** (la mayoría), los cuales son los responsables de la producción de keratina (proteína encargada de la formación del estrato córneo y constituye un tipo de “esqueleto” de la piel), y las **células dendríticas**.

La función base de los **keratinocitos** consiste en la división y diferenciación celular. Las células son constantemente divididas y esto crea a las células hijas. Estas células hijas ascienden progresivamente hacia la capa de células más externas. Durante este ascenso las células van cambiando morfológicamente.

La epidermis está compuesta a su vez por cuatro capas del fondo hacia la superficie:

Capa basal o germinativa: Esta capa consiste de células que están constantemente dividiéndose para crear células hijas las cuales ascenderán hacia la capa más externa de células de la epidermis. La capa basal está compuesta de las células recién creadas. Son de forma cilíndrica con un núcleo alargado. Estas células son unidas a la membrana basal por pequeñas protuberancias, los hemidesmosomas. Las células

basales se dividen en constante y regular manera, resultando en una completa renovación de la epidermis en aproximadamente 1 mes de tiempo.

Capa espinosa: Llamado así por la presencia de dermosomas, los cuales mantienen las células juntas como pequeñas espinas. Esta capa consiste de un número variable de capas: de 3 a 4 en los ojos y de 10 a 20 en las palmas. Estas células son poligonales y tienen un núcleo largo.

Capa granular: Llamado así por la cantidad de gránulos largos encontrados en el citoplasma de estas células. El estrato granuloso varía en grosor de acuerdo a su localización.

Capa lúcida: Esta capa no siempre está presente. Es descrita como una capa clara.

Capa cornea: Está formada de una capa en la cual las estructuras de las células han sido irreconocible. Las células se encuentran bajo completa queratinización. La parte base de la capa córnea tiene una función protectora importante. Esto significa que las sustancias tóxicas, alérgenos y microorganismos son bloqueados en este nivel y no pueden penetrar en el cuerpo^{21,20}.

Las *células dendríticas*, en su citoplasma forma brazos o dendritos que van entre los keratinocitos²².

LA DERMIS:

Comprende dos secciones:

La dermis papilar, localizada justo debajo de la epidermis. Esta parte de la dermis tiene numerosos capilares y varias terminaciones nerviosas.

La dermis reticular, esta es la más delgada y más sólida de la dermis y está compuesto por colágeno y fibras de elastina. La dermis contiene células, fibras,

sustancia intermedia, vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios, fibras musculares y anexos de la piel²³.

LA HIPODERMIS:

Contiene numerosos lóbulos bien desarrollados de grasa, de hecho como un tipo de cojín para proteger al órgano en la parte más basal contra agresiones externas²⁰.

4.2.1.2. FISIOLÓGÍA DE LA PIEL.

La piel juega un rol importante en el rol fisiológico en toda la vida de una persona. Este rol fisiológico es esencialmente el de protección del organismo. La piel es una barrera estructurada y continuamente adaptable entre la parte interna del organismo y del exterior.

Se pueden distinguir tres funciones importantes de la piel:

- Protección
- Termorregulación
- Órgano sensorial ²⁴.

4.2.1.2.1. PROTECCIÓN:

Entre estas existen:

PROTECCIÓN MECÁNICA:

Esta protección es resultado de la anatomía de la piel:

La **epidermis** está formada de células localizadas firmemente y es cubierta por una capa córnea, la cual está formada por una capa de keratina. La keratina es una

proteína compleja la cual forma fibras, que forman caminos específicos: éstos son casi perpendiculares a la capa dermo-epidérmica, pero cerca de la superficie ellos corren prácticamente paralelos a la superficie de la piel. El grosor de la capa córnea también juega un rol de protección.

La **dermis** también juega una parte importante en la protección mecánica. Contiene una sustancia viscosa, la matriz, la cual con paquetes de colágeno constituyen el soporte de la piel.

La **hipodermis** contiene bastantes lóbulos bien desarrollados de grasa, de hecho como un tipo de cojín para proteger al órgano en la parte más basal contra agresiones del exterior ²⁵.

PROTECCIÓN CONTRA LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA:

Los rayos ultravioletas son dañinos. Ellos dañan al núcleo de la célula. La protección contra los rayos UV es referida al pigmento celular o melanocitos. Los melanocitos, los cuales están localizados en la capa celular basal, son células dendríticas, ellos tienen dendritos los cuales penetran entre los keratinocitos y los tatúan con el pigmento melanina ²⁶.

La melanina es sintetizada en el melanocito, comenzando de la amina ácido tirosina, bajo la influencia de la enzima llamada tirosinasa.

Bajo la influencia de la tirosinasa, la tirosina es oxidada a dihydroxyphenylalanina o DOPA, esta sustancia luego, bajo una serie de reacciones de oxidación y polimerizaciones, eventualmente producen melanina. La epidermis contiene aproximadamente 2 000 melanocitos por mm² de piel. Este número es constante en todas las razas ²⁷.

Cuando nosotros exponemos la piel a un baño de sol, suceden dos estados:

La pigmentación inmediata, la cual sucede durante la exposición a la radiación UV, la cual tiene su pico después de las 6 a 8 horas y desaparece después de 24 horas. Esta pigmentación no es resultado de un incremento de la síntesis de melanina, pero si de una estimulación del llamado “tatuaje de keratinocitos”.

La pigmentación atrasada, tiene lugar aproximadamente 48 horas después de la exposición a la radiación UV y resulta de un incremento de la síntesis de la melanina en el melanocito combinado con un incremento del tatuaje de los keratinocitos. El pigmento de melanina marrón absorberá los rayos UV, reduciendo así significativamente el daño de los rayos UV ²⁸.

PROTECCIÓN CELULAR CONTRA AGRESIONES INTERNAS Y EXTERNAS:

Células localizadas en la epidermis (células de Langerhans) y la dermis también contribuyen a la protección celular de una persona.

Las células polinucleares (“las asesinas”) y los macrófagos (“los comensales”) localizarán, atacarán y tratan de neutralizar a los atacantes ²⁹.

4.2.1.2.2. TERMORREGULACIÓN:

La homeotermia, el mantenimiento de una temperatura constante en el cuerpo, está asegurada por las glándulas sudoríparas ecrinas, los lóbulos de grasa y los vasos sanguíneos de la piel³⁰.

El número de glándulas sudoríparas ecrinas es de 2 a 5 x 10⁶. Bajo condiciones normales ellos eliminan aproximadamente 600 mL de agua cada 24 horas, las cuales

corresponden al 25% del total de pérdida de fluidos en un día. Algunas veces estas pérdidas de fluido pueden aumentar a 2 litros por hora ³¹.

Los vasos sanguíneos también forman un rol importante, ellos se expanden (vasodilatación) para perder calor, y se contraen (Vasoconstricción) para preservar el calor ³².

4.2.1.2.3. ÓRGANO SENSORIAL:

La piel es un órgano sensorial y de contacto. Las fibras nerviosas presentan terminaciones, ellas entran en contacto con las células de Merkel de la epidermis, como los melanocitos, están localizadas en la capa basal de la epidermis. Las fibras nerviosas pueden también presentarse encapsuladas, como los corpúsculos de Vater-Pacini (sensaciones de presión y vibración), los corpúsculos de Meissner (sensación de tacto). Las fibras nerviosas nos dan sensaciones de tacto, presión, frío, calor, y dolor ³³.

La piel es un órgano sensorial y de contacto. Las fibras nerviosas presentan terminaciones, ellas entran en contacto con las células de Merkel de la epidermis, como los melanocitos, están localizadas en la capa basal de la epidermis. Las fibras nerviosas pueden también presentarse encapsuladas, como los corpúsculos de Vater-Pacini (sensaciones de presión y vibración), los corpúsculos de Meissner (sensación de tacto). Las fibras nerviosas dan sensaciones de tacto, presión, frío, calor, y dolor

³³.

4.2.2. RADIACIÓN:

El sol proporciona un cierto número de radiaciones llamadas radiaciones actínicas. No todas llegan al suelo. Las radiaciones que recibimos se distribuyen de la siguiente manera:

Los UV C y las longitudes de onda más cortas son retenidos por la capa de ozono. Sólo llegan a nivel del suelo alrededor del 2%.

Los UV A y B representan alrededor del 12% de las radiaciones actínicas incidentes. Este tipo de longitudes causan en la piel un daño actínico, el cual entendemos como las lesiones cutáneas producidas por las radiaciones que llegan a la superficie terrestre: UV-B(290- 320nm), UV-A(320-400nm) y radiación visible hasta 515nm ³⁴.

El 70% de la radiación UVB es absorbida por el estrato córneo de la epidermis, a diferencia de la radiación UVA que es absorbida entre el 70-80% por células de la dermis y melanocitos de la epidermis basal¹³.

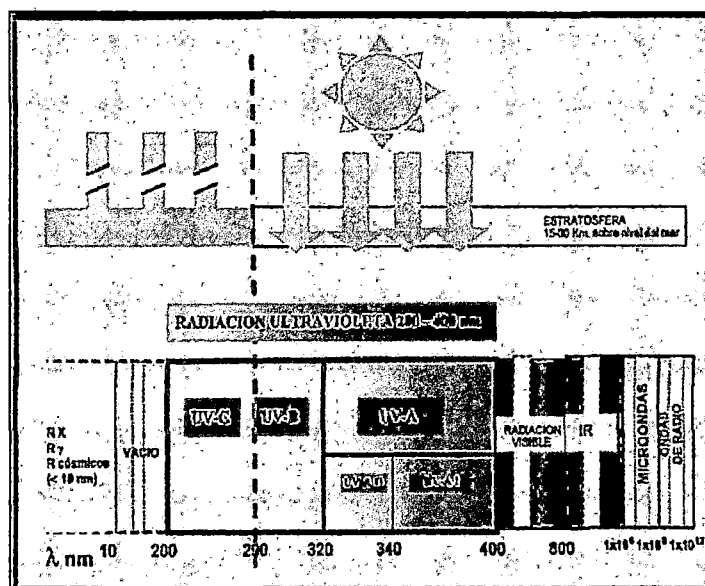


Fig. N° 1. Radiaciones electromagnéticas emitidas por el sol.

4.2.2.1. PENETRACIÓN DE LA RADIACIÓN SOLAR EN LA PIEL:

- A pesar de la capa cornea y de la melanina, una parte de la radiación solar penetra en las distintas capas de la piel.
- La penetración es función de la longitud de onda de las distintas radiaciones.
- Cuanto mayor es la longitud de onda de una radiación, penetra más profundamente en la piel.

Entonces, aunque la piel posee un sistema de defensa natural frente a las radiaciones solares que se manifiesta con la producción de melanina, pigmento fotoprotector que se encarga del bronceado de la piel, muchas veces no es suficiente, por lo que es necesaria una protección adicional ⁴.

4.2.3. DAÑO SOLAR:

Los parámetros fotobiológicos precedentes, son determinantes de tipo, intensidad y trascendencia del daño actínico resultante:

UVB (290-320 nm):

- Quemadura (eritema) solar.
- Inmunosupresión.
- Cánceres cutáneos.
- Dermatitis actínica en pieles fotosensibles.
- Reacciones fototóxicas y fotoalérgicas.

UVA (320-400 nm):

- Fotoenvejecimiento cutáneo.
- Inmunosupresión.

- Cánceres cutáneos.
- Cataratas.
- Reacciones fototóxicas y fotoalérgicas.
- Dermatitis actínicas en pieles fotosensibles.
- Daño aditivo al producido por UV-B especialmente por UVA II.

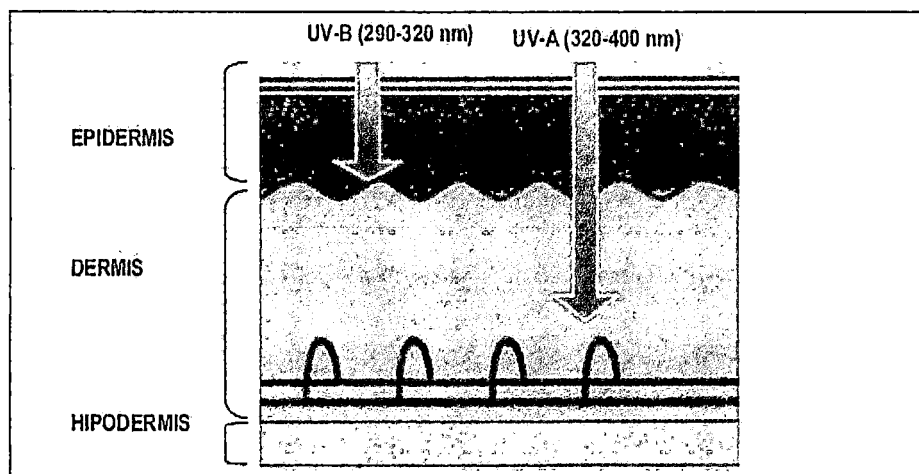


Figura N° 2: Penetración de radiación ultravioleta en la piel

Las personas que trabajan en ambientes cubiertos; reciben el 3% de la radiación ambiental en cambio los que lo hacen al aire libre reciben un 25%. (10 veces más). Los efectos adversos causados por sobre exposición solar en cualquier individuo sano, se pueden separar en aquellos que se observan a corto plazo: eritema solar reacción de pigmentación y alteraciones inmunológicas; y aquellos que sólo se manifiestan después de muchos años de exposiciones solares exageradas y reiteradas: fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis ¹³.

4.2.4. INFLAMACIÓN:

La exposición a la luz UV origina inflamación la cual puede ser aguda por exposición brusca en una piel no adaptada o bien por exposiciones repetidas se provoca una inflamación crónica. La radiación ultravioleta estimula la inflamación por 3 mecanismos:

- Induce liberación de óxido nítrico.
- Estimula la liberación de neuropéptidos.
- Estimula la proliferación y queratinización⁴.

4.2.5. ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS

La exposición de la piel a UV-B causa una disminución de la respuesta inmune celular en el sitio irradiado. Sin embargo si se incrementan las dosis, es también posible observar alteraciones sistémicas.

Experimentalmente se alteran 2 tipos de respuestas inmunológicas:

- La respuesta de hipersensibilidad retardada, por alteración de la presentación de antígenos por las células de Langerhans.
- La respuesta de rechazo de tumores malignos antigénicos inducidos por luz UV.

La UVA I inhibe el número y la migración de las células de Langerhans, provoca tolerancia de los linfocitos T "helper" (CD4+), inhibe la producción de interferón (y disminuye la producción de moléculas de adhesión (ICAM-1) por el queratinocito, entre otros cambios ¹.

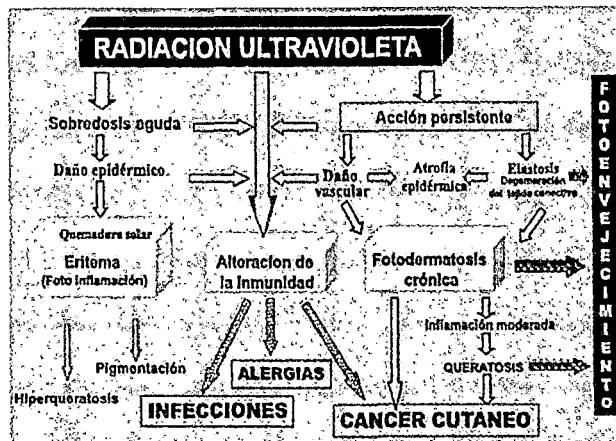


Figura N° 3: Fotoenvejecimiento

4.2.6. FOTOENVEJECIMIENTO (HELIODERMIA):

Este término comprende los cambios clínicos y microscópicos de la piel foto expuesta crónicamente. Tiene fenómenos propios, clínicos e histológicos que permiten diferenciarlo del envejecimiento fisiológico. 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^{35,36}.

4.2.7. FOTOCARCINOGENÉISIS:

La fotocarcinogénesis está relacionada con un efecto acumulativo dosis dependiente de luz UV y el tipo de piel. Entre las evidencias que apoyan que la radiación solar es un factor causal del cáncer de piel destacan:

- Asociación en blancos, del cáncer de piel con las áreas fotoexpuestas.

- Asociación inversa con la protección contra la UV. El cáncer de piel es poco frecuente en las razas de piel oscura.
- Asociación con la cantidad de exposición solar.
- Asociación con la intensidad de la exposición solar.
- Experimentalmente, con la luz UV se ha demostrado una clara dosis respuesta en el desarrollo de acantosis, papilomatosis y eventualmente cáncer invasor.
- Evidencia clínica: Enfermedades genéticas con fotosensibilidad como Albinismo y Xeroderma pigmentoso se asocian a desarrollo precoz de cáncer 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 a lo cual se asocia a un defecto de la inmunidad y alteración de los mecanismos de reparación de la piel^{4, 16}.

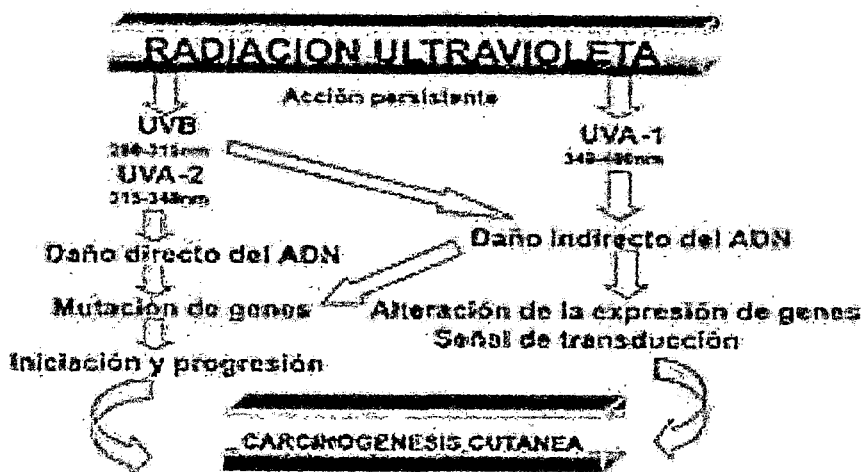


Figura 4: La Fotocarcinogénesis: Resume los principales factores en la fotocarcinogénesis.

4.2.8. ERITEMA SOLAR.

El daño producido por la radiación UV: Eritema solar, se entiende como el proceso inflamatorio agudo producido por sobre exposición al sol. La quemadura solar alcanza su máximo a las 24 horas.

Los signos y síntomas cutáneos son:

- Enrojecimiento de la piel.
- Edema.
- Vesiculación.
- Dolor.
- Formación de 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 polimorfos nucleados y monocitos³⁷.

En los últimos años, numerosos estudios han incidido en el posible uso de antioxidantes biológicos, adecuadamente formulados, para su aplicación tópica con fines protectores o reparadores^{38, 39}.

Miller *et al.* 1, hace más de 10 años, demostraron que la agresión del UV a la piel humana incrementaba de forma evidente la síntesis de Prostaglandina E2 (PGE2), utilizando para ello una vía metabólica que dependía de la actividad tirosinasa⁴⁰.

Diversos autores, como Buckman *et al.* Comprobaron que la piel humana expuesta a la radiación UV estimulaba la expresión de la ciclooxigenasa-2 (COOX-2), y que esta enzima era responsable de la síntesis de la PGE2. Posteriormente, Chang *et al* responsabilizaron a la radiación UV de la expresión de la Sintasa no inducible en la epidermis humana expuesta⁴¹.

Las investigaciones de Notoya et al. Han dado lugar a considerar que tanto PGE2 como Óxido Nítrico (NO) actúan como segundos mensajeros de la agresión UV al epitelio cutáneo humano, y son los principales responsables de que se desencadene un proceso inflamatorio implicado en la respuesta eritematogénica de la piel⁴².

Es evidente que tanto el eritema como la mayoría de los daños solares que causa la radiación UV en la piel humana son consecuencia de una verdadera cascada de procesos oxidativos, en la medida que superan el potencial antioxidante que posee el tejido cutáneo en la zona afectada por la agresión. Por tanto, numerosos estudios han investigado el posible uso de antioxidantes biológicos, adecuadamente formulados, para su aplicación tópica con fines protectores o reparadores⁴³.

4.2.9. PROTECTORES SOLARES.

Son sustancias de aplicación tópica que reducen los efectos de la radiación UV absorbiendo, reflejando o desviando los rayos. Usualmente las preparaciones farmacéuticas contienen una mezcla de estas sustancias para proteger de la radiación solar en un espectro amplio. Estas preparaciones podemos clasificarlas: en filtros químicos y filtros físicos.

4.2.9.1. FILTROS QUÍMICOS

Los filtros químicos absorben fotones de luz ultravioleta en diferente ámbito de longitud de onda. Generalmente se absorben en la piel y no son visibles. Ejemplos de estos químicos son el ácido para- Aminobenzoico (PABA) y sus ésteres padimate A, padimate O, las benzofenonas como la oxibenzona y la dioxibenzona, cinnamatos, salicilatos, anthralinatos, acrilatos. Algunos filtros son tan selectivos que se pueden clasificar en protectores UVA o UVB. Por esto generalmente se debe mezclar varias sustancias para proteger en el ámbito UVB y UVA ⁴³.

4.2.9.2. BLOQUEADORES (ALGUNOS SON FILTROS TAMBIÉN) FÍSICOS

Los filtros físicos y bloqueadores bloquean físicamente el paso de los fotones o los reflejan. Usualmente son preparaciones opacas que contienen dióxido de titanio, óxido de zinc, talco, caolín, cloruro férrico e ictamnol. Actualmente la opacidad está disminuyendo con el uso de preparaciones micronizadas. No debemos olvidar que el vehículo de la preparación es muy importante y de él dependen características como resistencia al agua, sabor, capacidad de irritar, o sensibilizar las mucosas, el olor, etc ⁴⁴.

Los filtros y bloqueadores que originalmente fueron considerados cosméticos ahora se les considera drogas porque protegen la estructura y función de la piel. La mayoría de los filtros absorben o bloquean la UVB en alguna medida, pero pocos son capaces de absorber o bloquear la UVA y si lo hacen es solo en forma parcial ⁴⁵.

Este factor debe ser tomado en cuenta cuando se prescribe un producto pues podemos dejar parcialmente protegido a nuestro paciente. Según la capacidad que los filtros y bloqueadores tengan de protegernos de la luz UVB se les asigna una potencia de protección solar (SPF). Este factor se calcula teniendo en cuenta la dosis de radiación UVB mínima capaz de producir eritema en la piel y ha sido utilizado por la U. S. Food and Drug Administration (FDA) desde 1978. Un filtro que tenga un SPF 15, nos protege de la luz UVB 15 veces más que cuando no lo utilizamos⁴⁶.

La piel normalmente se protege de la luz UV o produce melanina y por el grosor de estrato córneo (capa más superficial). La piel de los seres humanos se clasifica según el color y la capacidad de producir enrojecimiento y quemaduras. Entre más melanina (más oscura) tenga la piel y más gruesa sea, más tolera la luz UV sin quemarse. Un individuo muy blanco cuando se expone al sol, se broncea poco y se quema fácil. Pero un individuo de piel oscura se broncea mucho y casi no se quema²⁵.

Con base en la tolerancia a la radiación UV la piel se ha clasificado en 6 tipos.

- *La piel de tipo I*, cuando se expone al sol, siempre se quema en forma severa y no adquiere bronceado.
- *La piel tipo II*, se quema en forma severa y adquiere poco bronceado.

- *La piel tipo III*, se quema y se broncea moderadamente.
- *La piel tipo IV*, se quema poco y se broncea fácilmente.
- *La piel tipo V*, rara vez se quema y siempre se broncea
- *La piel tipo VI*, nunca se quema⁴⁵.

Varias organizaciones en el mundo entre ellas, la Academia Americana de dermatología (AAD de sus siglas en inglés), Centers for Disease Control and Prevention (CDC de sus siglas en inglés) han sugerido medidas para la protección de los rayos solares. La forma más práctica de protegerse del sol es usando ropa adecuada: pantalones, camisas (de material denso y seco) y sombrero. La ropa de algodón se considera que posee un factor de protección solar (SPF de sus siglas en inglés) de 8. A los niños menores de seis meses de edad se recomienda protegerlos con ropas adecuadas y no usar bloqueadores solares. Debemos evitar exponernos al sol en horas en que hay mucha radiación⁴⁷.

En el Perú el 5 de noviembre del 2013, se ha establecido la ley N° 30102 que regula las diversas medidas preventivas contra los efectos nocivos para la salud por la exposición prolongada a radiación solar⁴⁸.

Asimismo la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (Digemid) recomendó a la población aplicarse únicamente bloqueadores de calidad estos deben de aplicarse cada dos horas El jefe del equipo de Atención Farmacéutica de la Digemid, Aldo Álvarez Risco, sugirió que los bloqueadores deben aplicarse media hora antes de la exposición al Sol y repetir la acción cada dos horas, pues el agua y la sudoración lo eliminan⁴⁹.

5. GENERALIDADES

5.1. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DEL GÉNERO “CAULERPA”

Caulerpa es un género que se incluyen dentro de las algas verdes, de la Familia Caulerpaceae, El término proviene del griego, de caulos (tallo) y erpo (yo reptó).

En el género Caulerpa se observa diversos órganos (rizoides, cauloides y filoides), se caracteriza por presentar talo de organización sifonal (normalmente no hay tabiques separando células), y talo pseudoparenquimático formado por sifones cilíndricos gruesos y otros anchos de aspecto laminar cuyas paredes están conectadas internamente por trabéculas de xilano. Su pared celular conteniendo diversos polisacáridos (con variaciones dentro del ciclo biológico): xilano, celulosa, manano y glucano. Además presenta reproducción asexual con zoosporas estefanocontas. Es capaz de crecer hasta una longitud de sesenta o cien centímetros ⁵⁰.

5.2. HABITAT Y UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA ESPECIE *Caulerpa*

filiformis (Suhr) Hering

Las especies marinas *Caulerpa filiformis (Suhr) Hering* y *Caulerpa racemosa* constituyen las dos únicas especies de nuestra flora marina representantes del género Caulerpa, siendo la primera la más frecuente y conspicua. El área de distribución de *Caulerpa filiformis* es global tropical a subtropical en el Perú es como sigue: Islas Lobos de Afuera (Lambayeque), Sechura, Matacaballo, Parachique, Paita y Máncora (Piura) ⁵¹.

Caulerpa filiformis es común en el norte del Perú. A nivel mundial ha sido registrada en las costas este y oeste de Sudáfrica, India Subcontinental e India Oceánica⁵².

Su gran abundancia se debe al tipo de reproducción (asexual) del género. Además, cuando el alga es arrancada, cada uno de los fragmentos puede readherirse al sustrato y regenerar en una nueva planta. Crece hasta los 20 m de profundidad, dependiendo de la claridad de las aguas y disponibilidad de luz ⁵³.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. ESTUDIO FITOQUÍMICO:

6.1.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS:

- **MATERIALES**
- **Material biológico:**
 - Alga Marina *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering
- **Material de campo:**
 - 02 Madejas de hilo de cordel.
 - 05 Bolsas grandes herméticas.
 - 04 Bolsas de viaje.
 - 02 Tinajas.
 - 20 Jaulas metálicas.
 - 02 Cuadernillo de apuntes.
 - 05 Tijeras.
 - 20 Papeles Kraf.
- **Materiales de laboratorio:**
 - 06 Baguetas simples.
 - 02 Cocinas.
 - 02 Rejillas de asbesto.
 - 03 Soportes universales.
 - 01 Probeta de 10 ml, 50 ml ,100 y 500 ml Pírex.
 - 01 Beaker de 5, 10, 50 y 1000 ml.
 - 01 Pipeta de 1 ml, 5 ml y 10 ml.
 - 05 Embudos Pírex.

- 02 Pinzas metálicas.
- 02 Porta embudos
- 02 Balones de fondo redondo.
- 02 Lunas de reloj.
- 06 Frascos grandes de vidrio de diferentes capacidades.
- 03 Espátulas metálicas.
- 10 Tubos de ensayo.
- 01 Placa escavada.
- 01 Pera de bromo.
- EQUIPOS:
 - Cocina MIRAY.
 - Evaporador rotatorio HEIDOLPH LABORATORA 4000.
- REACTIVOS:
 - Etanol 96°.
 - Agua desionizada.
 - Diclorometano.
 - Acetato de Etilo.
 - Éter de petróleo.
 - Acetato de etilo.
 - Ácido clorhídrico.
 - Ácido sulfúrico.
 - Alcohol 96°.
 - Alcohol isoamílico.
 - Cloruro férrico.

- Diclorometano.
- Gelatina.
- Gelatina incolora.
- Hidróxido de amonio.
- Hidróxido de sodio.
- Limaduras de magnesio.
- Metanol.
- n-Hexano.
- Ninhidrina.
- Reactivo de Dragendorff.
- Reactivo de Kedde.
- Reactivo de Mayer.
- Reactivo de Wagner.

6.1.2. MÉTODOS:

6.1.2.1. RECOLECCIÓN, SELECCIÓN, SECADO Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA.

Caulerpa filiformis (Suhr) Hering fue recolectada en el balneario el Chaco, playa que se encuentra en el distrito de Paracas, en la provincia de Pisco, departamento Ica. Posteriormente se transportó para su secado a la ciudad de Ica⁵⁴

Parte de la muestra fue separada y debidamente tratada, para su clasificación taxonómica en el Museo de Historia Natural. Posteriormente se seleccionó las algas en buen estado, separando manualmente las deterioradas, manchadas o

contaminadas. Para luego secarlas por un periodo de 30 días, obteniéndose aproximadamente 10 Kg de alga seca ⁵⁵.

6.1.2.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

Como resultado de la Clasificación Taxonómica según El sistema Clasificación de Guiry, M. D. & Guiry, G. M. (2014) y determinado por el Blgo. Mario Benavente Palacios, la muestra vegetal tiene la siguiente posición taxonómica.

DIVISIÓN: CHLOROPHYTA

CLASE: ULVOPHYCEAE

ORDEN: BRYOPSIDALES

FAMILIA: CAULERPACEAE

GÉNERO: *Caulerpa*

ESPECIE: *Caulerpa filiformis (Suhr) Hering.*

Nombre vulgar: “Caulerpa”.

6.1.2.3. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO.

El extracto etanólico se obtuvo a partir del alga seca y triturada. Se maceró, en un envase de vidrio opaco de 4 000 mL, (se colocaron 150 g del alga seca y 3 000 mL de etanol de 96°) por 14 días, posteriormente se filtró y se llevó a concentrar a un Evaporador rotatorio BÜCHI hasta sequedad a temperatura no mayor a 40° C. Se obtuvo 60 g de extracto seco de color verde oscuro, éste extracto fue utilizado en: la marcha fitoquímica, el ensayo de solubilidad, y en la formulación del gel ⁵⁶.

6.1.2.4. SCREENING FITOQUÍMICO.

Consiste en la extracción de metabolitos secundarios con solventes apropiados y la aplicación de las reacciones de coloración y precipitación, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en el extracto.

Para la determinación cualitativa de los principales grupos de constituyentes químicos presentes en el extracto, se realizó una marcha fitoquímica con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración, obteniéndose 6 fracciones denominadas A, B, C, D, E y F.

6.1.2.5. OBTENCIÓN DE FRACCIONES.

A partir de extracto etanólico obtenido se separa la **fracción A**, aproximadamente 2 g para efectuar las reacciones e identificación y el resto se extrae con HCL al 1%, se filtra y se obtiene dos partes:

6.1.2.5.1. INSOLUBLE:

Se lava hasta pH neutro con agua destilada seguidamente se disolvió con 5 ml de diclorometano, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró, este filtrado constituye la **FRACCION B**.

6.1.2.5.2. SOLUCIÓN ÁCIDA:

Se filtró y se alcalinizó con amoníaco y se extrajo con diclorometano obteniéndose 2 fases:

- **Fase Diclorometánica:** Se lavó con 10 ml de agua destilada luego la fase diclorometánica se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra obteniéndose la **FRACCION C.**
- **Fase Acuosa:** Se saturó con 5 g de sulfato de sodio anhidro y se extrajo con diclorometano: etanol (3:2). Obteniéndose 2 fases:
 - **Fase orgánica** (diclorometanicaetanólica): Se lavó con solución de sulfato de sodio anhidro reuniendo las fases acuosas, seguidamente la fase orgánica se deshidrató con un gramo de sulfato de sodio anhidro, se filtra, y esto constituye la **FRACCION D.**
 - **Fase acuosa:** A esta se adicionó a los residuos acuosos obtenidos del lavado de la fase orgánica esto constituye la **FRACCION E.**

6.1.2.6. DETECCIÓN DE GRUPOS FUNCIONALES Y METABOLITOS SECUNDARIOS.

Separadas las fracciones se procedió a realizar sobre estas reacciones de coloración o precipitación para identificar grupos funcionales y metabolitos secundario.

➤ FRACCIÓN A

Detección de Taninos:

Reacción de Gelatina- sal.- Se vierte 0,5 mL de extracto sobre 5 mL de solución de NaCl 5%, gelatina 1% y gelatina-sal la precipitación con este último reactivo o con ambos el 1° y 2° es indicativo de la presencia de taninos, si solamente ocurre con el 1°, podría ser un falso positivo.

Reacción de Cloruro Férrico.- En un tubo de ensayo se colocó 0.5 mL de la Fracción A y se le agregó una gota de solución acuosa de FeCl₃ 1%.

La reacción es positiva cuando aparecen colores azul-negro, verde o azul verdoso.

Detección de Aminoácidos:

Reacción de Ninhidrina.- Sobre tiras de papel de filtro se coloca con una pipeta capilar:

- Una gota de Fracción A + una gota del reactivo Ninhidrina al 2%.
- Blanco: Solución etanólica de ninhidrina al 2%.
- Testigo: una gota de solución de metionina 5%.

Luego del secado a temperatura ambiente las tiras de papel se colocan en la estufa a 110 - 120°C hasta la aparición de un color en el blanco. Se compara con la mancha azul violácea de la solución testigo.

La reacción es positiva si el papel de la muestra presenta un color azul violáceo.

Detección de Flavonoides:

Reacción de Shinoda.- En una placa se vertieron 3 gotas de la Fracción A, 5 limaduras de Mg, y 2 gotas de HCl concentrado.

La reacción es positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

➤ FRACCIÓN B

Detección de Triterpenoides y/o Esteroides:

Reacción de Liebermann Burchard: Sobre 1 mL de la Fracción se vertieron 5 gotas de ácido acético y 3 mL de anhídrido acético/ácido sulfúrico (50:1).

La reacción es positiva si aparecen colores verde, azul verdoso (vías rojo o azul).

Detección de Antraquinonas:

Reacción de Bornträger.- Sobre el resto de la Fracción B se agregan 5 mL de NaOH 5% y se agita suavemente.

La reacción es positiva si la fase acuosa toma un color rojo.

➤ **FRACCIÓN C**

Detección de Esteroides y/o Triterpenoides:

Reacción de Liebermann Burchard

Detección de Cardenólidos:

Reacción de Kedde.- Solución A: ácido 3,5-dinitrobenzoico 2% en metanol. B: Hidróxido de potasio 5.7% en agua. Mezclar a + b, volúmenes iguales esto constituye el reactivo (R).

Colocar en un tubo de ensayo 1mg de muestra + 2 gotas del reactivo.

Si la reacción es positiva se formará un color púrpura o violáceo.

Detección de Alcaloides:

El resto de la Fracción C se evapora a sequedad y luego se agrega 2 mL de HCl 1%, filtrar. Se realizan las reacciones de precipitación, de Dragendorff, Mayer, Hager, Wagner.

La reacción es positiva si aparece un precipitado.

➤ **FRACCIÓN D**

Se evaporó a sequedad y luego se agregó 2,5 mL de etanol, efectuándose las siguientes reacciones:

Detección de Flavonoides: Reacción de Shinoda

Detección de Leucoantocianidinas y catequinas:

Reacción de Rosenheim.- A 0,2 mL de la Fracción D se agregó 0,1 mL de HCl concentrado, se calienta durante 10 minutos a 100°C, se enfría y se adiciona 2 mL de agua y 0,4 mL de alcohol amílico, agitar y observar el color en la fase amílica.

La reacción se considera positiva si aparece un color que va desde el rosado débil hasta carmesí oscuro.

Si es rojo indica presencia de antocianidinas. Si es marrón indica presencia de catequinas.

Detección de Cardenólidos:

Reacción de Kedde

Detección de Esteroides y/o Triterpenoides:

Reacción de Liebermann Burchard.

Detección de Alcaloides:

Reacción de Mayer, Dragendorff, Hager y Wagner

➤ FRACCIÓN E

Detección de Flavonoides:

Reacción de Shinoda.

Detección de Leucoantocianidinas:

Reacción de Rosenheim

➤ FRACCIÓN F

Detección de Saponinas:

Prueba de espumas⁵⁷.

6.2. ESTUDIO FARMACOTÉCNICO

6.2.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS:

➤ MATERIALES

• Materiales de laboratorio:

- 06 Baguetas simples.
- 01 Probeta de 10 ml, 50 ml ,100 y 500 ml Pírex.
- 01 Beaker de 5, 10, 50 y 1000 ml.
- 01 Pipeta de 1 ml, 5 ml y 10 ml.
- 04 Morteros y pilón.
- 10 Tubos de ensayo.
- 01 Gradilla para tubos de ensayo.

• Excipientes:

- Carbopol 940.
- Metilparabeno.
- Propilparabeno.
- Glicerina.
- Trietanolamina.
- Propilenglicol.

➤ EQUIPOS:

- Balanza Analítica METTLER TOLEDO.
- Cocina MIRAY.

➤ **REACTIVOS QUÍMICOS:**

- Etanol 96°.
- Agua desionizada.

➤ **OTROS:**

- 30 envase pote para 100 cc con tapa rosca

6.2.2. PRE FORMULACIÓN DEL GEL FOTOPROTECTOR:

6.2.2.1. ENSAYO DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL ALGA MARINA.

Se realizaron los ensayos de solubilidad del extracto en excipientes que se emplearían en el proceso de elaboración del gel, sirviéndonos de criterio para la elección del excipiente adecuado, permitiendo su incorporación durante la elaboración del gel.

Esta prueba se realizó de la siguiente manera:

- Se colocó 2 mL de glicerina, alcohol, propilenglicol y agua desionizada en cada uno de los tubos de ensayo.
- Se procedió a pesar 0.1 g del extracto etanólico del alga marina y se colocó en cada tubo de ensayo.
- Se realizaron agitaciones contantes y se registró el grado de solubilidad observado ^{58, 59}.

6.2.3. FORMULACIÓN DEL GEL FOTOPROTECTOR AL 2.5%, 5%, 10%, 20%

➤ FÓRMULA⁶⁰:

- | | |
|---------------------------|--------|
| - Carbopol | 5% |
| - Trietanolamina (TEA) | 1 % |
| - Glicerina líquida | 6 % |
| - Propilparabeno | 0.005% |
| - Metilparabeno | 0.005% |
| - Extracto etanólico | X% |
| - Agua Desionizada c.s.p. | 100 mL |

➤ PROCEDIMIENTO

- En un vaso precipitado se calentó agua desionizada a 80°C e incorporamos propilparabeno y metilparabeno, se agitó hasta completa disolución y se enfrió hasta temperatura ambiente.
- Añadimos Carbopol 940 y agitamos contantemente hasta la formación de un gel homogéneo. - Adicionamos la trietanolamina gota a gota hasta que el preparado adquiera consistencia del gel.
- Seguidamente incorporamos el extracto a base del alga marina “Caulerpa filiformis (Suhr) Hering” y agitamos lentamente hasta conseguir un gel homogéneo.
- Finalmente colocamos el gel en envases de plástico, estos deben estar debidamente rotulados^{61,62}.

6.3. CONTROL DE CALIDAD DEL GEL FOTOPROTECTOR.

6.3.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS:

➤ MATERIALES

• Materiales de laboratorio:

- 03 Baguetas simples.
- 01 Probeta de 10 ml, 50 ml ,100 y 500 ml Pírex.
- 01 Beaker de 5, 10, 50 y 1000 ml.
- 30 placas Petri
- 02 Placas de vidrio 20 x 20 cm

➤ EQUIPOS:

- Balanza Analítica METTLER TOLEDO.
- Viscosímetro BROKFIELD.
- pHmetro METTLER TOLEDO
- Contador de Colonias HELIGE.
- Autoclave GREET MED MODELO YX -280 D.
- Estufa BOEKEL.
- Mechero BUNSEN.

➤ MEDIOS DE CULTIVO

- Agar Soya Caseína
- Agar Sabouraud Dextrosa
- Caldo MacConkey (CMcC).
- Agar MacConkey.
- Caldo Soya Caseína (CSC)

- Agar Cetrimide
- Agar Manitol Sal
- **REACTIVOS QUÍMICOS:**
- Agua desionizada.
- Buffer fosfato pH 7,2

6.3.2. ENSAYOS ORGANOLÉPTICOS:

Son procedimientos utilizados para evaluar las características de un producto detectable por los órganos de los sentidos: aspecto, color, olor, gusto y tacto, siendo estas suigeneris de alga marina.

Aspecto: Se observó visualmente si la muestra en estudio presento cambio en la separación de fases, precipitaciones, nubosidad, etc.

Olor: Se utilizó una tira para introducirla en un extremo de la muestra, luego retiramos el papel para percibir el olor presente en el gel.

Color: Se tomó una pequeña cantidad del gel en una luna de reloj limpio y seco, para luego registrar el color observado.^{60, 63}

Estas cualidades organolépticas fueron medidas a las 24 horas, 7, 15, 30 días, desde su preparación.

6.3.3. ENSAYOS FISICOQUÍMICOS.

6.3.3.1. EXTENSIBILIDAD:

Bajo de denominación de extensión o extensibilidad de un gel se entiende su capacidad para ser aplicado y distribuido en la piel.

Este método consiste en valorar el índice de extensibilidad, basándose en el aumento de la superficie de una determinada cantidad de muestra al ser sometida, progresivamente, a presiones crecientes a iguales intervalos de tiempo, aunque el área de extensibilidad no se describe como ensayo oficial, permite estimar la consistencia en semisólidos⁶⁰.

Procedimiento:

- Colocar la placa inferior de vidrio (20 x 20 cm) sobre una hoja de papel milimetrado.
- Trazar las diagonales.
- Colocar 0.2 g± 0.01 g de gel sobre el punto de intersección.
- Pesar la placa de vidrio superior y poner la placa de vidrio sobre la formulación.
- Colocar las pesas en el centro de la placa superior.
- Después de 1 minuto, medir el diámetro (cm) de la circunferencia o elipse formada (diámetro inicial), se tomaron los valores de los 8 radios formados.

El área de extensibilidad (AE) se calculó según la siguiente expresión:

$$AE = \pi * r^2$$

Dónde:

r= radio promedio de las 8 mediciones (mm)⁶⁴.

6.3.3.2. DETERMINACIÓN DE PH:

Se define el pH como el valor dado por un instrumento potenciométrico (medidor de pH) apropiado, adecuadamente normalizado, capaz de reproducir valores de pH de hasta 0,02 unidades de pH que emplea un electrodo indicador

sensible a la actividad del ión hidrógeno, el electrodo de vidrio y un electrodo de referencia apropiado.

Procedimiento:

- Se tomó 10g de gel, luego se colocó en un vaso de precipitado.
- Se sumergió el electrodo directamente dentro de la muestra, se esperó hasta que la lectura se estabilice, para proceder a registrar el resultado.
- Previamente se ajustó el equipo con la solución reguladora de pH.
- Se tomó medidas de pH por triplicado para cada concentración ⁶⁵.

6.3.3.3. DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD:

La viscosidad es la resistencia que el producto ofrece a la deformación o al flujo, es una variable que caracteriza reológicamente un sistema. La evaluación de este parámetro ayuda a determinar si un producto presenta la consistencia o fluidez apropiada y puede indicar si la estabilidad es adecuada, es decir, indica el comportamiento del producto a lo largo del tiempo ^{66, 63}.

Procedimiento:

- Se colocó 25g de la muestra en el viscosímetro de Brookfield a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, velocidad de 10 rpm y spin N° 4, durante 2 minutos.
- Finalmente se tomó el tiempo desde el punto de partida hasta la señal indicada en el viscosímetro Brookfield.
- Finalmente se registró el resultado en cP (Centipoise) ⁶⁷.

6.3.4. CONTROL MICROBIOLÓGICO.

Estas pruebas se basan en la capacidad de determinar la presencia de microorganismos a través del uso de medios de cultivo: nutritivos, de enriquecimiento, selección y/o diferenciales, capaces de permitir su recuperación a partir de materias primas o productos no estériles y/o de evidenciar ciertas características bioquímicas, producto del metabolismo de los diferentes microorganismos a investigar.

6.3.4.1. PRUEBAS DE RECUENTO MICROBIANO:

RECUENTO TOTAL DE MICROORGANISMOS AEROBIOS (MÉTODO DEL VACIADO EN PLACA O SIEMBRA EN PROFUNDIDAD).

Procedimiento:

- Transferir 10 g de la muestra y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 mL de buffer fosfato pH 7,2 estéril. Agitar el frasco vigorosamente (25 veces) o hasta homogenizar. Rotular 10^{-1} .
- Con una pipeta y con el uso de las tiras indicadoras de pH determinar el pH de la dilución anterior. El mismo debe estar entre 6 y 8.
- Transferir con una pipeta estéril, 10 mL de la dilución 10^{-1} a un frasco de dilución con 90 mL de buffer fosfato pH 7,2 estéril. Agitar y rotular 10^{-2} .
- Con una pipeta estéril, transferir porciones de 1 mL de la dilución 10^{-1} a cada una de 2 placas de Petri estériles.

- Con una pipeta estéril, transferir porciones de 1 mL de la dilución 10^{-2} a cada una de 2 placas de Petri estériles.
- Verter en cada una de las placas, 15 mL de Agar Soya Caseína, fundido y enfriado a 45°C , mezclando cuidadosamente las muestras con el agar. Dejar solidificar e incubar en posición invertida a $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 3 a 5 días ⁶⁸.

RECuento TOTAL DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS (MÉTODO DEL VACIADO EN PLACAS O SIEMBRA EN PROFUNDIDAD).

Procedimiento:

- Transferir 10 g de la muestra y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 mL de buffer fosfato pH 7,2 estéril. Agitar el frasco vigorosamente (25 veces) o hasta homogenizar. Rotular 10^{-1} .
- Con una pipeta y con el uso de las tiras indicadoras de pH determinar el pH de la dilución anterior. El mismo debe estar entre 6 y 8.
- Transferir con una pipeta estéril, 10 mL de la dilución 10^{-1} a un frasco de dilución con 90 mL de buffer fosfato pH 7,2 estéril. Agitar y rotular 10^{-2} .
- Con una pipeta estéril, transferir porciones de 1 mL de la dilución 10^{-1} a cada una de 2 placas de Petri estériles.
- Con una pipeta estéril, transferir porciones de 1 mL de la dilución 10^{-2} a cada una de 2 placas de Petri estériles.
- Verter en cada una de las placas, 15 mL de Agar Sabouraud Dextrosa, fundido y enfriado a 45°C , mezclando cuidadosamente las muestras con el agar. Dejar solidificar e incubar en posición vertida a $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 5 a 7 días ⁶⁸.

6.3.4.2. PRUEBAS DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS:

DETECCIÓN DE *Escherichia coli*.

Procedimiento:

- Transferir 10 g de la muestra y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 mL de buffer fosfato pH 7,2 y agitar.
- Determinar el pH de la dilución anterior con el uso de una pipeta Pasteur y de tiras indicadoras de pH. El mismo debe estar entre 6 y 8.
- Transferir con una pipeta estéril, 10 mL de la mezcla anterior a un balón o fiola que contiene 90 mL de Caldo Soya Caseína y agitar.
- Incubar a $32,5 \pm 2,5^\circ \text{C}$ por 18 a 24 horas.

Aislamiento de *E. coli*:

- Agitar la mezcla anterior (CSC) y transferir 1 mL a un balón o fiola con 100 mL de Caldo MacConkey (CMcC). Incubar a $42 - 44^\circ \text{C}$ por 24 - 48 horas.
- Agitar la mezcla incubada (CMcC) y con el uso del asa hacer un aislamiento a partir del Caldo MacConkey a una placa con Agar MacConkey. Incubar a $32,5 \pm 2,5^\circ \text{C}$ por 18 - 72 horas^{68, 69}.

DETECCIÓN DE *Pseudomona aeruginosa*.

Procedimiento:

- Transferir 10 g de la muestra y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 mL de buffer fosfato pH 7,2 y agitar.

- Determinar el pH de la dilución anterior con el uso de una pipeta Pasteur y de tiras indicadoras de pH. El mismo debe estar entre 6 y 8.
- Transferir con una pipeta estéril, 10 mL de la mezcla anterior a un balón o fiola que contiene 90 mL de Caldo Soya Caseína (CSC) y agitar.
- Incubar a $32,5 \pm 2,5^\circ \text{C}$ por 18 a 24 horas.

Aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa*:

- Agitar la mezcla incubada (CSC) y con el uso del asa hacer un aislamiento a Agar Cetrimide. Incubar a $32,5 \pm 2,5^\circ \text{C}$ por 18 - 72 horas ^{68,70}.

DETECCIÓN DE *Staphylococcus aureus*.

Procedimiento:

- Transferir 10 g de la muestra y añadirlos a un frasco de dilución que contiene 90 mL de buffer fosfato pH 7,2 y agitar.
- Determinar el pH de la dilución anterior con el uso de una pipeta Pasteur y de tiras indicadoras de pH. El mismo debe estar entre 6 y 8.
- Transferir con una pipeta estéril, 10 mL de la mezcla anterior a un balón o fiola que contiene 90 mL de Caldo Soya Caseína (CSC) y agitar.
- Incubar a $32,5 \pm 2,5^\circ \text{C}$ por 18 a 24 horas.

Aislamiento de *Staphylococcus aureus*:

- Agitar la mezcla incubada (CSC) y mediante un asa hacer aislamiento a Agar Manitol Sal. Incubar a $32,5 \pm 2,5^\circ \text{C}$ por 18 - 72 horas ⁶⁸.

6.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO FOTOPROTECTOR:

MODELO BIOLÓGICO DEL CENTRO DE HISTOTERAPIA

PLACENTARIA.

MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS:

➤ MATERIALES

• Material biológico:

- Ratones albinos cepa Balb/c

• Material de campo:

- 20 Jaulas metálicas.
- 02 Cuadernillos de apuntes.

• Materiales de laboratorio:

- 30 Frascos para muestras biológicas.
- 02 Cámaras de vidrio.

➤ EQUIPOS:

- Cámara de Bioseguridad.
- Espectrofotómetro UNICO-UV 2100.
- Balanza Analítica METTLER TOLEDO.

➤ REACTIVOS:

- Formol al 10%.

➤ PRODUCTOS COMERCIALES:

- Crema depiladora *Depilé®*
- Gel fotoprotector *Bahamas®*

6.4.2. GRUPOS DE EXPERIMENTACION:

Se usaron 25 ratones albinos de la cepa Balb/C con un promedio de peso entre 24-26g, obtenidos del Bioterio de la facultad de Medicina (UNMSM); se distribuyó en 8 grupos experimentales (cuadro 01), separados en jaulas independientes, manteniéndose en condiciones estables de humedad, temperatura e iluminación, y fueron depilados con una crema depiladora *Depilé®* en el área del lomo del animal de experimentación 72 horas antes de iniciar el ensayo ⁷¹.

Cuadro 01: Distribución de ratones albinos de cepa Balb/C en grupos para la evaluación biológica.

Grupo A: Animales solo depilados. (No expuesto a radiación UVC)
Grupo B: Animales sin aplicación de producto alguno (Expuestos a radiación UVC).
Grupo C: Animales con previa aplicación tópica del gel base (Expuestos a radiación UVC).
Grupo D: Animales con previa aplicación tópica del gel al 2.5%*(Expuestos a radiación UVC).
Grupo E: Animales con previa aplicación tópica del gel al 5%* (Expuestos a radiación UVC).
Grupo F: Animales con previa aplicación tópica del gel al 10%* (Expuestos a radiación UVC).
Grupo G: Animales con previa aplicación tópica del gel al 20%* (Expuestos a radiación UVC).
Grupo H: Animales con previa aplicación tópica fotoprotector comercial (expuesto a radiación UVC).

Fuente: Los autores / (*) Concentración del gel a base del extracto etanólico del alga marina

Caulerpa filiformis (Suhr) Hering

6.4.3. METODO EXPERIMENTAL:

Se utilizó gel del extracto etanólico a concentraciones de 2.5% , 5% , 10% y 20% de concentración del extracto etanólico del alga marina; formulación Gel base (es decir exceptuando el extracto de la fórmula) y el fotoprotector comercial *Bahamas®*, los que fueron aplicados en el lomo del ratón en un área de 2 mg/cm² , 30 minutos antes de ser irradiado con la lámpara UVC de 8.3 w a una distancia 30 cm por encima del ratón, para una dosis única de 23,4 j/cm², recibiendo cada ratón una radiación 1,3 mW/cm² durante 30 minutos ⁷¹.

6.4.4. EVALUACIÓN MACROSCÓPICA:

Los animales de experimentación fueron observados minuciosamente inmediatamente después de transcurrir el tiempo de exposición a la lámpara UVC el 1º, 2º, 3º,4º, 5º,6º y 7º día, se evaluó las características y expresiones clínicas en la piel de los ratones tomando como referencia una escala establecida⁷¹ (Cuadro 02).

Cuadro 02.-Escala numérica para la evaluación clínica “Reacciones Cutáneas”

REACCIONES CUTANEAS ⁷²	PUNTAJE
Piel normal / ausencia de eritema	0
Eritema apenas perceptible	1
Eritema perceptible (leve)	2
Eritema (bien definido)	3
Eritema dérmico (moderado a grave)	4
Eritema intenso (rojo intenso, lesiones profundas)	5
Lesiones dérmicas cóstricas	6
Lesiones costro-descamativas	7

Fuente: Los autores

6.4.5. EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA:

Para la evaluación histopatológica el 7º día se tomaron lomos de los animales a fin de procesar dichos tejidos por las técnicas clásicas de hematoxilina – eosina ⁷³.

Aspectos Éticos: Durante el estudio los animales de experimentación fueron tratados de acuerdo a lo estipulado en el Código de Ética, basado firmemente en el principio de las tres “Rs” (Reemplazar, Reducir y Refinar) ^{74, 75}.

6.4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS.

Se consideró variables cualitativas, indicando las características observacionales de las expresiones clínicas en la piel (lomo) de los ratones.

Cada característica corresponde a una categoría y fue medida bajo la clasificación de dichos atributos. Las variables cualitativas son de tipo ordinal, ya que están identificadas por una escala establecida.

7. RESULTADOS

7.1. SCREENING FITOQUÍMICO

Tabla N° 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico obtenido a partir del alga *Caulerpa Filiformis (Suhr) Hering*.

FRACCIONES	METABOLITOS	RESULTADOS
A	Taninos	-
	Aminoácidos	+
	Flavonoides	-
B	Triterpenos y/o Esteroides	+
	Quinonas	-
C	Alcaloides	-
	Triterpenos y/o Esteroides	+
D	Alcaloides	-
	Flavonoides	-
	Triterpenos y/o esteroides	+
	Leucoantocianidinas	-
E	Leucoantocianidinas y/o Catequinas	-
	Flavonoides	-
F	Saponinas	+

Leyenda: signo (+) indica presencia, signo (-) indica ausencia.

Fuente: Los autores/ / Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.ICA

7.2. ESTUDIO FARMACOTÉCNICO:

Tabla N° 2.- Ensayo de Solubilidad de extracto etanólico del alga marina “*Caulerpa filiformis (Suhr) Hering*”.

Solubilidad	Alcohol 2 mL	Glicerina 2 mL	Propilenglicol 2 mL	Agua Desionizada 2 mL
Extracto etanólico 0,1g.	+++	+++	++	+

Leyenda: Muy soluble (+++), soluble (++) , poco soluble (+), insoluble (-).

Fuente: Los autores/ / Laboratorio de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.ICA

7.3. CONTROL DE CALIDAD DEL GEL FOTOPROTECTOR

Tabla N° 3.- Cualidades Organolépticas que presentan los geles al 2.5%, 5%, 10% y 20%.

Geles	Parámetros Organolépticos	Especificación	Resultados
2.5%	Olor	Característico	<i>Característico</i>
	Color	Verde	<i>Verde claro</i>
	Aspecto	Viscoso	<i>Gel viscoso</i>
	Textura	Uniforme	<i>Uniforme</i>
5%	Olor	Característico	<i>Característico</i>
	Color	Verde	<i>Verde claro</i>
	Aspecto	Viscoso	<i>Gel viscoso</i>
	Textura	Uniforme	<i>Uniforme</i>
10%	Olor	Característico	<i>Característico</i>
	Color	Verde	<i>Verde</i>
	Aspecto	Viscoso	<i>Gel viscoso</i>
	Textura	Uniforme	<i>Uniforme</i>
20%	Olor	Característico	<i>Característico</i>
	Color	Verde	<i>Verde oscuro</i>
	Aspecto	Viscoso	<i>Gel viscoso</i>
	Textura	Uniforme	<i>Poco Uniforme</i>

Fuente: Los autores/ / Laboratorio de Química y Análisis Instrumental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.ICA

Las características organolépticas del producto se mantuvieron constantes durante el estudio lo cual demuestra que no se produjeron degradaciones en las formulaciones y garantizando la aceptabilidad sensorial del producto⁶⁰.

Tabla N° 4.- Determinación de la extensibilidad de geles al 2.5%, 5%, 10% y 20%.

CONCENTRACIÓN DEL GEL (%)	ESPECIFICACIÓN (cm²)	RESULTADOS
Gel al 2.5%	Máximo 4.5 cm ²	4.5 cm ²
		4.4 cm ²
		4.2 cm ²
Gel al 5%	Máximo 4.5 cm ²	4.3 cm ²
		4.1 cm ²
		4.5 cm ²
Gel al 10%	Máximo 4.5 cm ²	4.2 cm ²
		4.5 cm ²
		4.0 cm ²
Gel al 20%	Máximo 4.5 cm ²	4.0 cm ²
		4.2 cm ²
		3.9 cm ²

Fuente: Los autores // Laboratorio de Química y Análisis Instrumental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.ICA

Los geles evidencian una óptima extensibilidad conforme se le agregaba el peso correspondiente, lo que permite una buena extensión del producto sobre la piel y un grosor adecuado de capa de gel ⁶⁴; contribuyendo a la fotoprotección por reflexión y bloqueo físico de los rayos UV. ⁷⁶.

Tabla N° 5.- Determinación del pH de los geles al 2.5%, 5%, 10% y 20%.

CONCENTRACIÓN DEL GEL (%)	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Gel al 2.5%	5.5 – 6.5	6.0
		5.9
		5.8
Gel al 5%	5.5 – 6.5	5.8
		5.7
		5.5
Gel al 10%	5.5 – 6.5	5.8
		5.7
		5.9
Gel al 20%	5.5 – 6.5	5.8
		5.9
		5.5

Fuente: Los autores/ / Laboratorio de Química y Análisis Instrumental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N.ICA.

Los resultados expresados en la tabla N°5 indican que el pH de las formulaciones son ligeramente ácidos, siendo compatibles con el pH de la piel (4.5 – 5.9), impidiendo el desarrollo de microorganismos patógenos ⁷⁷.

Asimismo el grado de acidez ideal (pH 5.5) que conserva el manto ácido de la piel, ayuda a renovarla y protegerla, ya que los productos alcalinos arrasan con el manto

ácido, asimismo, los productos cosméticos con pH 7 neutro alteran la función ácido protectora de la piel o agravan problemas de pieles delicadas, reactivas o sensibles ⁷⁸.

Tabla N° 5.- Viscosidad de los geles al 2.5%, 5%, 10% y 20%.

Gel (%)	ESPECIFICACIÓN	RESULTADOS
Gel al 2.5 %	30 000 – 60 000 centipoise	32 250 centipoise
Gel al 5 %	30 000 – 60 000 centipoise	36 465 centipoise
Gel al 10 %	30 000 – 60 000 centipoise	44 070 centipoise
Gel al 20 %	30 000 – 60 000 centipoise	59 030 centipoise

Fuente: Los autores/ Laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

Los valores de viscosidad obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos lo cual garantiza la consistencia o fluidez apropiada del gel e indican que el producto es estable y tendrá buen comportamiento reológico lo largo de su tiempo de vida⁶³.

Asimismo, observamos que a mayor concentración los geles presentaron mayor viscosidad, y Según Alamo P., Contreras M., Sifontes G. (2012), a mayor viscosidad, mayor permanencia de los protectores solares en la piel, esta característica coadyuva a la fotoprotección contra daño solar ⁷⁹.

Tabla N° 6.- Control Microbiológico de geles al 2.5%, 5%, 10% y 20%.

GELES X%	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO S
2.5%	Recuento de aerobios mesófilos	1000 UFC/g máximo	1000 UFC /g
	Recuento de mohos y levaduras	100 UFC /g máximo	100 UFC /g
	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Ausente/1g</i>	<i>Ausente/1g</i>
	<i>Pseudomona Aeruginosa</i>	<i>Ausente/1g</i>	<i>Ausente/1g</i>
5%	Recuento de aerobios mesófilos	1000 UFC /g máximo	1000 UFC /g
	Recuento de mohos y levaduras	100 UFC /g máximo	100 UFC /g
	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Ausente/1g</i>	<i>Ausente/1g</i>
	<i>Pseudomona Aeruginosa</i>	<i>Ausente/1g</i>	<i>Ausente/1g</i>
10%	Recuento de aerobios mesófilos	1000 UFC /g máximo	1000 UFC /g
	Recuento de mohos y levaduras	100 UFC /g máximo	100 UFC /g
	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Ausente/1g</i>	<i>Ausente/1g</i>
	<i>Pseudomona Aeruginosa</i>	<i>Ausente/1g</i>	<i>Ausente/1g</i>
20%	Recuento de aerobios mesófilos	1000 UFC /g máximo	1000 UFC /g
	Recuento de mohos y levaduras	100 UFC /g máximo	100 UFC /g
	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Ausente/1g</i>	<i>Ausente/1g</i>
	<i>Pseudomona Aeruginosa</i>	<i>Ausente/1g</i>	<i>Ausente/1g</i>

Fuente: Los autores / Laboratorio de Análisis Microbiológico de la Facultad de Ciencias,

Escuela de Biología de la U.N.ICA

Los Geles cumplen con las especificaciones para recuento microbiano y prueba para microorganismos específicos según Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP 37), lo cual garantiza la inocuidad de las formulaciones ⁶⁸.

7.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO FOTOPROTECTOR

7.4.1. EVALUACIÓN MACROSCÓPICA:

CUADRO 03.- Efectos observados después administración tópica de los Geles durante los 7 días de Evaluación Clínica.

Grupos	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
A	Piel normal	Piel normal	Piel normal	Piel normal	Piel normal	Piel normal	Piel normal
B	Eritema perceptible (leve)	Eritema dérmico moderado	Eritema intenso	Lesiones dérmicas cóstricas	Lesiones costro-descamativas	Lesiones dérmicas cóstricas	Lesiones dérmicas cóstricas
C	Eritema perceptible (leve)	Eritema (bien definido)	Eritema (bien definido)	Eritema dérmico moderado	Lesiones dérmicas cóstricas	Eritema intenso	Lesiones dérmicas cóstricas
D	Eritema perceptible (leve)	Eritema (bien definido)	Eritema dérmico moderado	Eritema dérmico moderado	Eritema intenso	Eritema intenso	Eritema intenso
E	Eritema perceptible (leve)	Eritema (bien definido)	Eritema (bien definido)	Eritema (bien definido)	Eritema (bien definido)	Eritema (bien definido)	Eritema (bien definido)
F	Eritema apenas perceptible	Eritema perceptible (leve)	Eritema intenso	Eritema perceptible (leve)	Eritema (bien definido)	Eritema perceptible (leve)	Eritema apenas perceptible
G	Eritema apenas perceptible	Eritema perceptible (leve)	Eritema perceptible (leve)	Eritema perceptible (leve)	Eritema perceptible (leve)	Eritema apenas perceptible	Eritema apenas perceptible
H	Eritema apenas perceptible	Eritema apenas perceptible	Eritema perceptible (leve)	Eritema perceptible (leve)	Eritema apenas perceptible	Eritema apenas perceptible	Eritema apenas perceptible

Fuente: Los autores / Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y

Bioquímica de la U.N.ICA

Los datos obtenidos durante los 7 días de técnica, demostraron que los grupos D y E presentaron eritemas bien definidos y eritemas apenas perceptible

respectivamente y los grupo F y G presentaron eritemas apenas perceptibles demostrando un alto grado de fotoprotección similar al gel fotoprotector *Bahamas*®.

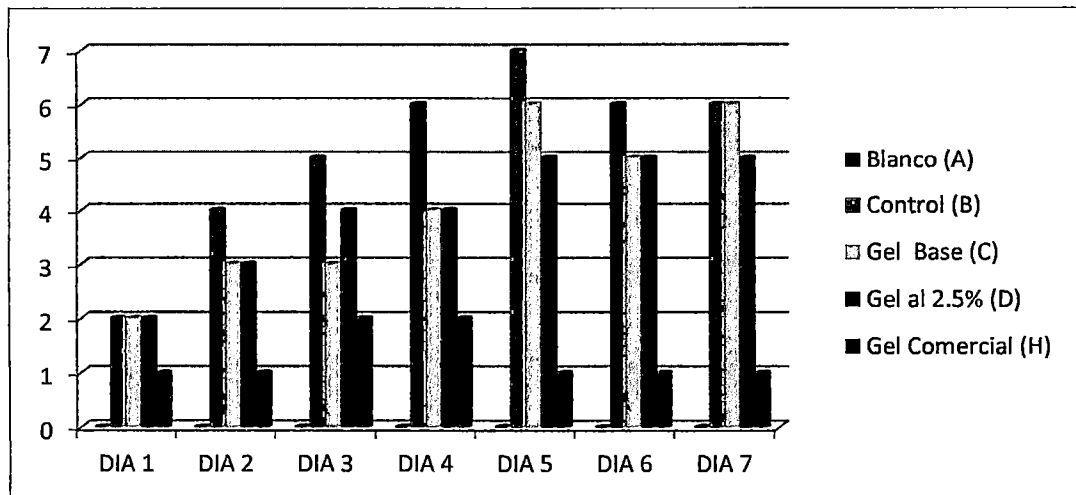
CUADRO 04.- Valoración de la Evaluación Clínica de acuerdo a la Escala numérica para la evaluación clínica “Reacciones Cutáneas” (Cuadro 02)

Columna1	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5	DIA 6	DIA 7
Blanco (A)	0	0	0	0	0	0	0
Control (B)	2	4	5	6	7	6	6
Gel Base (C)	2	3	3	4	6	5	6
Gel al 2.5% (D)	2	3	4	4	5	5	5
Gel al 5% (E)	2	3	3	3	3	3	3
Gel al 10% (F)	1	2	3	2	3	2	1
Gel al 20% (G)	1	2	2	2	2	1	1
Gel Comercial (H)	1	1	2	2	1	1	1

Fuente: Los autores

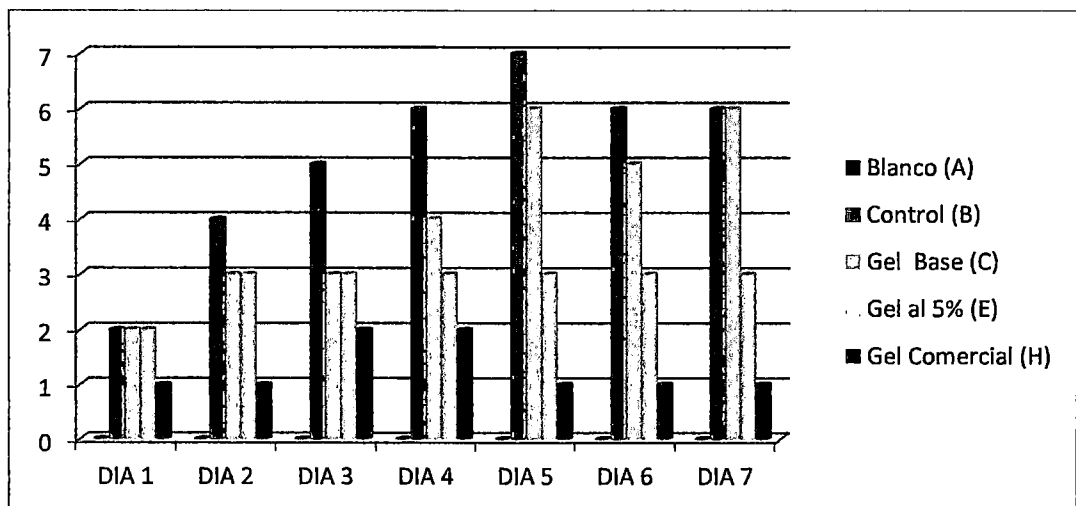
En esta tabla se aprecia los datos cuantitativos del **Cuadro 03** de acuerdo a la Escala de Reacciones Cutáneas⁷².

GRÁFICO N° 01.- Comportamiento de la evaluación clínica de la administración del gel al 2.5% de extracto etanólico obtenido a partir de *Caulerpa filiformis* (Suhr) *hering*.



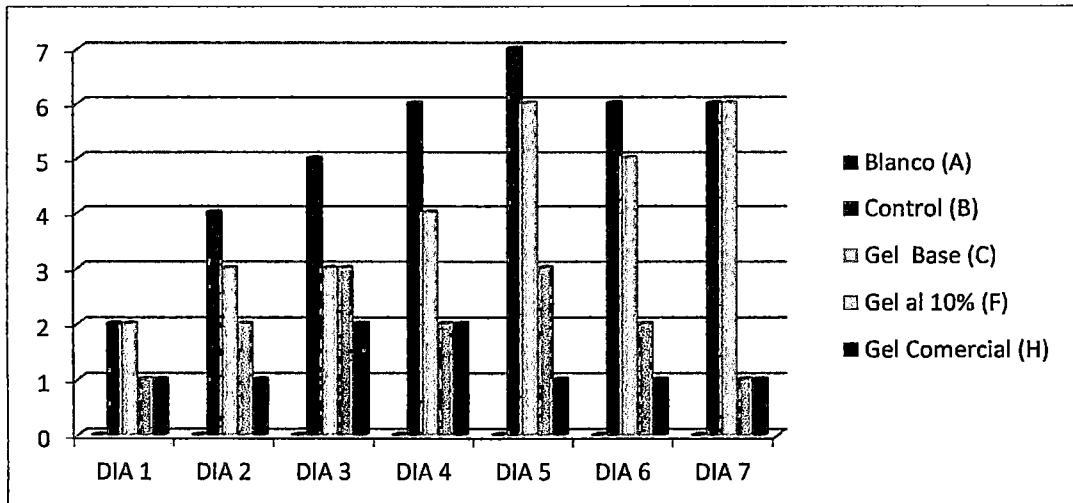
Fuente: CUADRO N° 04

GRÁFICO N° 02.- Comportamiento de la evaluación clínica de la administración del gel al 5% de extracto etanólico obtenido a partir de *Caulerpa filiformis* (Suhr) *Hering*.



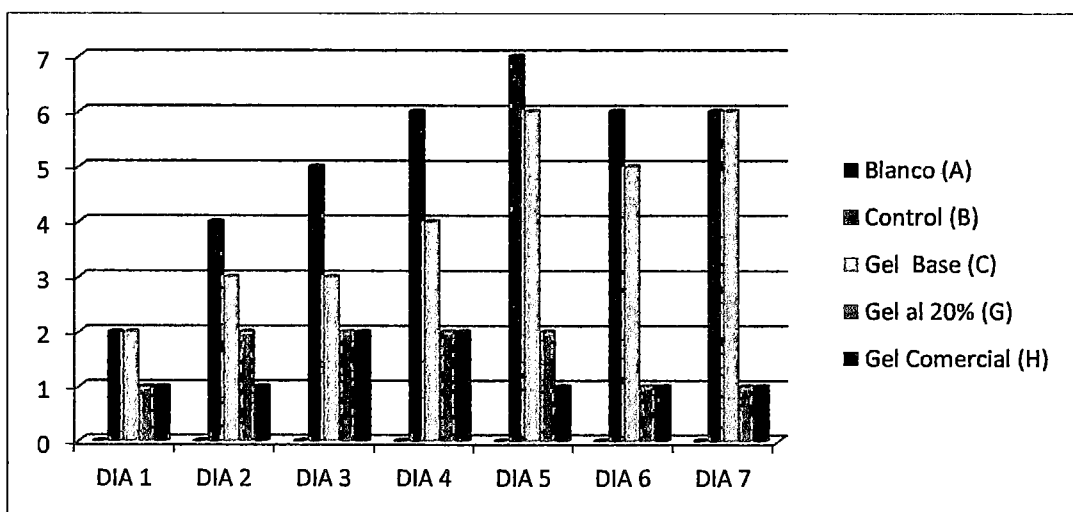
Fuente: CUADRO N° 04

GRÁFICO N° 03.- Comportamiento de la evaluación clínica de la administración del gel al 10% de extracto etanólico obtenido a partir de *Caulerpa filiformis* (Suhr) *Hering*.



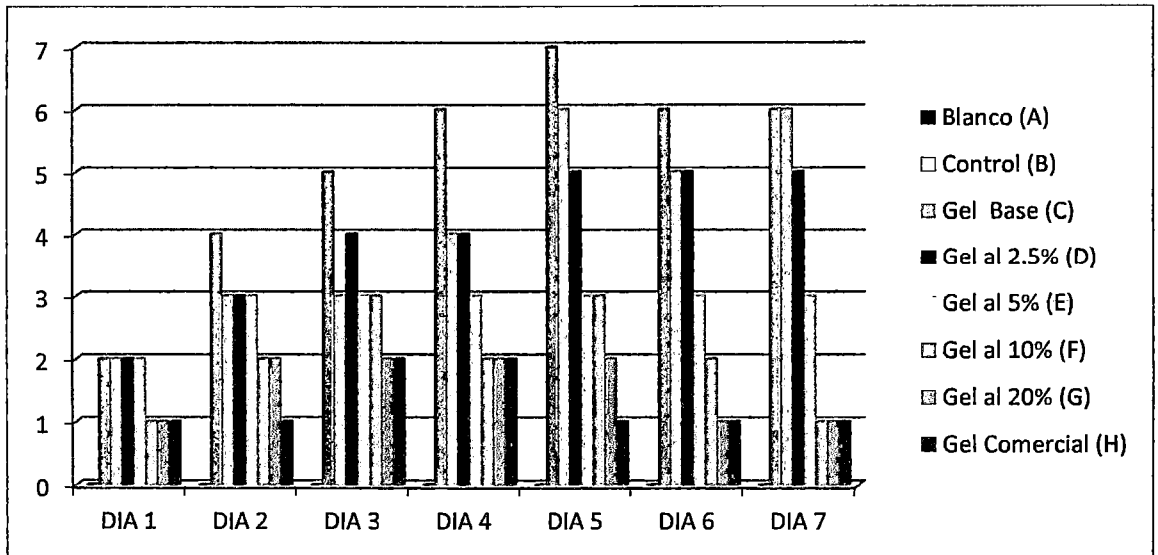
Fuente: CUADRO N° 04

GRÁFICO N° 04.- Comportamiento de la evaluación clínica de la administración del gel al 20% de extracto etanólico obtenido a partir de *Caulerpa filiformis* (Suhr) *Hering*.



Fuente: CUADRO N° 04

GRÁFICO N° 05.- Comparación de la evaluación clínica entre los a base de extractos obtenido a partir de *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering.



Fuente: CUADRO N° 04

En el grafico N° 05 se observa que grupo Control (B) presenta un alto grado de lesión dérmica por exposición a radiación UVC en comparación con el grupo con aplicación tópica del Gel comercial (H) los cuales presentan lesiones dérmicas mínimas. Asimismo se confirma que las formulaciones al 2,5% (grupo D), 5% (grupo E), 10% (grupo F) y 20% (grupo G) presentan efecto fotoprotector, evidenciándose que hay una relación directamente proporcional entre la concentración del gel y el grado de fotoprotección; sin embargo ninguna concentración alcanzó a superar la eficacia del gel comercial *Bahamas*®.

7.4.2. EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA:

Tabla 06.- Análisis microscópico del efecto de la administración del gel a base del extracto etanólico del alga marina *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering.

GRUPO DE EVALUACIÓN	ANÁLISIS HISTIOLÓGICO
Grupo A: Control (Exposición UV)	Epidermis y dermis sin alteraciones significativas.
Grupo B: Blanco (Sin exposición UV)	Epidermis: necrosis leve con formación focal de ampolla con escasa reacción inflamatoria aguda constituida por polimorfonucleares, Dermis: infiltrado perivascular de linfocitos de grado leve a nivel intersticial polimorfonucleares de grado leve.
Grupo C: Gel Base sin extracto	Epidermis: necrosis leve con polimorfonucleares. Dermis: infiltrado inflamatorio perivascular de grado leve a nivel intersticial polimorfonucleares de grado moderado.
Grupo D: Gel a base de extracto al 2.5%	Epidermis: con leve acantosis y espongiosis suprabasal con paraqueratosis leve. Dermis: infiltrado inflamatorio perivascular de grado leve a nivel intersticial polimorfonucleares de grado moderado proliferación de fibroblastos.
Grupo E: Gel a base de extracto al 5%	Epidermis: necrosis con abundante cuerpo apoptótico. Dermis: infiltrado inflamatorio perivascular de linfocitos a nivel intersticial polimorfonucleares de grado levé.
Grupo F: Gel a base de extracto al 10%	Epidermis: necrosis con poco cuerpo apoptótico. Dermis: infiltrado inflamatorio perivascular de linfocitos a nivel intersticial polimorfonucleares.
Grupo G: Gel a base de extracto al 20%	Epidermis: acantótica con queratosis marcada. Dermis: infiltrado inflamatorio perivascular de linfocitos a nivel intersticial polimorfonucleares y escasa proliferación de fibroblastos.
Grupo H: Gel comercial "Bahamas"	Epidermis: acantótica con queratosis marcada. Dermis: infiltrado inflamatorio perivascular de linfocitos a nivel intersticial polimorfonucleares y moderada proliferación de fibroblastos.

Fuente: Anatomía patológica (Hospital Regional de Ica).

Los estudios histológicos realizados por la patóloga verifican el observado durante los 7 días de evaluación clínica.

8. DISCUSIÓN.

La luz solar produce daño cutáneo debido a que las radiaciones ultravioleta (RUV) son absorbidas por el ADN, ARN, proteínas, lípidos de membranas y organelas celulares presentes en la epidermis y la dermis, incluyendo el sistema vascular produciendo daños a nivel celular y tisular; estos efectos de la RUV son acumulativos y dosis-dependientes y están en relación a la duración, frecuencia e intensidad de la radiación; como efecto inmediato conducen a la liberación de histamina, prostaglandinas y citoquinas que producen inflamación, y como efecto tardío cáncer de piel^{80,1}.

La radiación UVA es responsable de la pigmentación directa de la piel, penetran hasta la dermis produciendo daños acumulativos en el colágeno y la elastina conocidos como fotoenvejecimiento, juega un papel esencial en el desencadenamiento de alergias solares y determina daño en el ADN induciendo al melanoma maligno. Los rayos UVB son causantes del eritema solar y originan mutaciones en los oncogenes y genes supresores de tumores del tipo carcinoma basocelular y espinocelular ^{35, 80}. La radiación UVC es considerada la más perjudicial para la salud humana⁷¹, ya que son capaces de romper los enlaces moleculares de los compuestos orgánicos pudiendo dar lugar a mutaciones ⁸¹.

El uso de fotoprotectores solares constituye una alternativa para atenuar estos efectos por exposición solar, los primeros fotoprotectores a base de productos naturales contenían sólo filtros UVB y estaban creados para prevenir el eritema. Actualmente encontramos fórmulas con combinaciones que protegen de una gran parte del abanico de RUV e Infrarrojos ^{82, 83}.

Actualmente la industria cosmética emplea algas marinas como materia prima para la formulación de protectores solares, ya que poseen moléculas biológicamente activas con capacidades antioxidantes y capaces de absorber radiación UV¹².

Es así que los geles al 2.5%, 5%, 10% y 20% a base del extracto etanólico del alga marina "*Caulerpa filiformis (Suhr) Hering*" constituyen una alternativa para la protección frente a rayos UV, los cuales cumplen con los controles de calidad realizados evidenciando buenas características reológicas, un sistema estable durante la formulación⁶⁷, óptima extensión del producto sobre la piel ⁶⁴ contribuyendo a la fotoprotección por reflexión y bloqueo físico de los rayos UV ⁷⁶, compatibilidad con el pH de la piel^{78,84, 65} demostrando inocuidad ⁶⁸ y aceptabilidad sensorial del producto ⁶³.

Según evaluación macroscópica al 7mo día de tratamiento se concluye que los geles al 2.5% y 5% presentan moderado efecto fotoprotector, en comparación con los geles al 10% y 20% que alcanzaron mayor efectividad de fotoprotección observándose mínimo enrojecimiento de piel e histológicamente se evidenció epidermis acantótica con queratosis marcada, necrosis con poco cuerpo apoptótico, y dermis con infiltrado inflamatorio perivascular de linfocitos a nivel intersticial polimorfonucleares y escasa proliferación de fibroblastos, pero ninguno alcanzó a

superar la eficacia del gel comercial *Bahamas*®. Concluyendo de que a mayor concentración del extracto en el gel mayor efectividad fotoprotectora.

Los diferentes metabolitos encontrados en las algas de este género, han mostrado considerable actividad en diferentes ensayos biológicos. Los Triterpenos y/o esteroides son los principales metabolitos sintetizados por las algas verdes del género *Caulerpa*⁹, estos actúan como antioxidantes protegiendo los lípidos, la sangre y demás fluidos corporales del ataque de radicales libres de especies del oxígeno⁸⁵ que dañan que dañan directamente fibras elásticas y colágenas y la matriz extracelular dérmica⁴, los que fueron evidenciados en el Screening fitoquímico realizado, además de identificarse saponinas y aminoácidos.

Estudios recientes sugieren que las saponinas poseen propiedades anticancerígenas e inmunoestimuladoras. Las propiedades anticancerígenas de las saponinas parecen deberse al resultado de sus efectos antioxidantes, inmunomoduladores y reguladores de la proliferación celular⁸⁵. También poseen actividad antiinflamatoria⁸⁶ que probablemente reduce los efectos de la exposición a radiación solar coadyuvando a la acción fotoprotectora del gel.

La efectividad fotoprotectora gel a base del extracto del alga marina, puede deberse también a la presencia de aminoácidos de tipo micosporinas (MAAs) que tienen actividad conocida actuando en las formulaciones como filtros químicos frente a la radiación UV, absorbiendo de la radiación solar, captando la energía y la transformándolo en una longitud de onda distinta inocua para la piel y por su

actividad antioxidante en la disminución de los efectos causados por los radicales libres ¹².

La clorofila presente en la familia Caulerpaceae podría ejercer protección contra daño solar formado a nivel del estrato corneo, una película aumentaría la reflexión de radiación UV y refractaría los rayos solares⁸⁷ también actúa como reconstituyente sanguíneo estimulando la activación fibroblástica, aumentan la síntesis de colágeno y de ácidos mucopolisacáridicos e inhibiendo la fase inflamatoria de células hipertróficas y queloides ⁸⁸. Entre los componentes de la clorofila destaca el fitol que es un diterpeno ⁸⁵. Por lo tanto, la presencia de los metabolitos triterpenos y/o esteroides, saponinas, aminoácidos en el extracto etanólico del alga marina podrían ser responsables de efecto fotoprotector, por otra la naturaleza de la formulación coadyuvaría al efecto.

De acuerdo a los resultados obtenidos se podría considerar como concentraciones de elección los geles al 10% y 20% por evidenciar mayor efecto fotoprotector en la evaluación macroscópica e histológica.

Estos estudios proporcionan una base científica y abren el camino a futuras investigaciones para el uso de nuevas alternativas fotoprotectoras, a base de compuestos naturales de origen marino, atenuando los efectos por sobreexposición a los rayos ultravioleta siendo este un problema que se viene intensificando ¹.

9. CONCLUSIONES.

1. Según el tamizaje fitoquímico realizado sobre el extracto etanólico del alga marina *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering se detectaron: aminoácidos y metabolitos secundarios (Triterpenos y/o esteroides, saponinas).
2. Se obtuvo alto grado de solubilidad con los siguientes excipientes de la formulación: alcohol, glicerina líquida, propilenglicol, agua; permitiendo su incorporación durante la elaboración del gel.
3. Se formularon Geles a base del extracto del alga marina a diferentes concentraciones: 2.5%, 5%, 10% y 20%, siendo las concentraciones del 10 % y 20% más efectivas frente al daño solar, según los datos obtenidos de la evaluación macroscópica e histológica.
4. Los geles a concentraciones 2.5%, 5%, 10% y 20% cumplen con los controles de calidad: parámetros organolépticos, ensayos fisicoquímicos y control microbiológico, según la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP vigente) y la Serie de Calidad de Productos Cosméticos de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA).
5. Los metabolitos secundarios presentes en el alga marina podrían ser los responsables de la efectividad fotoprotectora coadyuvados por las propiedades de las formulaciones que facilitan su biodisponibilidad.

10. RECOMENDACIONES.

1. Continuar con la investigación fitoquímica y farmacológica de otras actividades biológicas atribuidas a la especie.
2. Elaborar otras formas farmacéuticas compatibles con los metabolitos del alga marina "*Caulerpa filiformis (Suhr) Hering*".
3. Elucidar el o los metabolitos responsables de la actividad fotoprotectora del alga marina "*Caulerpa filiformis (Suhr) Hering*".
4. Determinar el factor de protección solar (FPS), para cuantificar la efectividad del producto para prevenir las quemaduras solares causadas por los rayos UVB.
5. Determinar la vida útil del producto terminado del gel cosmético a base del alga marina "*Caulerpa filiformis (Suhr) Hering*".

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Gonzalez M., Vernhes M., Sanchez A., La radiación ultravioleta. Su efecto dañino y consecuencias para la salud humana. *Theoria*, Vol. 18 (2): 69-80, 2009. Disponible en: <http://www.ubiobio.cl/miweb/webfile/media/194/v/v18-2/06.pdf>
2. Carrasco L. Effect of Ultraviolet-B Radiation in Plants. *Inv. Scielo*. [Internet]. 2009 [citado Dic 2009] Volumen (27): páginas 59-76. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292009000300009
3. EXA: Agencia Espacial Civil Ecuatoriana [Internet]. Ecuador: EXA; 2009 [citado Enero 2009]. Centro de Imágenes Satelitales en Tiempo Real – CISTR, estaciones climatológicas de Guayaquil y Quito. [Aprox. 1 pantalla]. Disponible en: <http://www.exa.ec/bp21/index-es.html>
4. Honeyman, J. Efectos de las radiaciones ultravioleta en la piel. *Rev. Peruana de dermatologia*. 2002; 12 (2) 5 . Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v12_n2/fototerapia_ultravioleta.htm
5. INEN sld.pe [Internet]. Perú; INEN; 2015 [actualizado 06 Mar 2015; citado 6 mar 2015]. Disponible en: <http://www.inen.sld.pe/portal/estadisticas/datos-epidemiologicos.html>
6. INEN [Internet]. Perú; INEN; 2009 [Actualizado 2009; citado 6 mar 2015]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/22292005/INEN-Guia-de-Practica-Clinica-en-Cancer-de-Piel#scribd>

7. Hernandez D, Sanchez E, Márquez M. Combatiendo el cáncer con los productos marinos. RDU 2013 [citado 06 Feb 2014]: 14 (9). Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.14/num9/art33/>
8. De la Calle F, Fármacos de Origen Marino. PharmaMar SAU. 2007: Vol. 58 (2007) 141-155.
9. Martinez L. Evaluación de los metabolitos secundarios y la actividad biológica del alga invasora caulerpa racemosa (Modalidad: Tesis de Grado). 2012 [citado enero 2014]. Disponible en: http://ri.biblioteca.uo.edu.ve/bitstream/123456789/3820/1/TESIS_LMS.pdf
10. Martínez, N.; Casillas, C.; Rodríguez, L.; Rodríguez, J. y Torres, L. 1966. Antibiotic properties of marine algae. *Botanica Marina*, 9: 21-26.
11. De Souza E, Pereira D, Cavalcanti A., Costa J, Bezerra A., Campessato E, et al. The Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of Caulerpin, a Bisindole Alkaloid Isolated from Seaweeds of the Genus *Caulerpa*. *Marine Drugs* [Internet] .(2009) [citado ene 2014]: 7(4), 689–704. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1660-3397/7/4/689>.
12. Bayo A, Andalucía Innova. SLD [Internet]. 2010 [citado mar 14]. Disponible en: http://www.andaluciainvestiga.com/revista/pdf/n27/27p18_19.pdf.
13. Cabrera CM, Lopez MA. Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel. *Oncología (Barc.)* v.29 n.7 Madrid sep. 2006. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0378-48352006000700003&script=sci_arttext

14. Valenzuela K, Espinoza M, Estrés oxidativo, carcinogénesis cutánea por radiación solar y quimioprotección con polifenoles. *Piel (Barcelona)* [Internet]. 2012 [citado 13 dic 2014]. ; 27(8):446 – 452. Disponible en :
http://www.sciencedirect.com/science?_ob=PdfExcerptURL&_imagekey=1-s2.0-S0213925112000081-main.pdf&_piikey=S0213925112000081&_cdi=277686&_orig=article&_zone=centerpane&_fmt=abst&_eid=1-s2.0-S0213925112000081&_user=12975512&md5=18e7e89fc15c329cbf45368f3ba941cd&ie=/excerpt.pdf
15. Lopez M. Fitocosmética solar. Actualidad Profesional. Editorial. OFFARM.Barcelona, 2007. Vol 26. Num 07. Disponible:
http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?f=10&pident_articulo=13108304&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v26n07a13108304pdf001.pdf&ty=128&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es
16. Morales-Molina JA *et al.* Quemaduras solares: fotoprotección y tratamiento. *Ars Pharm* [Internet] 2006 [citado 20 abr 2014]; 47 (2): 119-135. Disponible en : <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/348.pdf>
17. Concepción A, Ángel R, Miguel D, Pérez F, Fernández A, Mata A. Evaluación de extractos de algas marinas, con actividad antioxidante y reorganizadora de la fibra colágena [Internet]. 2001 [citado Julio 2014];

- 20 (1): 10. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002001000100001
18. Batista A, Charles B; Mancini-Filho J; Vidal A, Las algas marinas como fuentes de fitofármacos antioxidantes [Internet]. 2009 [citado Enero 2014]; 14 (2). Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000200009
19. Vidotti, E. y Rollemberg, M. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. *Quimica Nova*. [Internet]. 2004 [citado 10 nov 2014];27 (1): 139- 145. Disponible en:
<http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n1/18822.pdf>
20. Honeyman J, Fisiología de la piel. Universidad Católica de Chile. 86. Disponible en: <http://antoniorondonlugo.com/blog/wp-content/uploads/2010/05/178-FISIOLOGIA-DE-LA-PIEL2.pdf>
21. Navarrete G, Histología de la Piel. Rev Fac Med UNAM [Internet]. 2003 [citado 10 dic 2014];46(4) 2003: 130. Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un034d.pdf>
22. Coronato Silvia, et al. Celulas Dendriticas y su papel en Patologia. Medicina [Internet]. 1998. [Citado 6 ene 2015]; 58 (2): 209 – 218. Disponible en:
<http://www.medicinabuenosaires.com/demo/revistas/vol58-98/2/celulasdendriticas.htm>
23. Klaus Wolf, et al. Dermatologia en Medicina General. 7ª Ed – Buenos Aires: Médica Panamericana. 2009

24. Saludymedicinas.com.mx. [Internet]. Mexico: Saludymedicinas;20015 [actualizado 10 ene 2013]; citado 4 feb 2014. Disponible en: <http://www.saludymedicinas.com.mx/centros-de-salud/dermatologia/esquemas/piel.html>
25. Eucerin.es [Internet] .España ;2015 [actualizado ene 2015; citado 4 mar 2015].Disponible en: <http://www.eucerin.es/acerca-de-la-piel/conocimientos-basicos-sobre-la-piel/estructura-y-funcion-de-la-piel>
26. Aris M. Origen del melanocito normal y maligno. Acta bioquím. clín. latinoam. . [Internet]. 2009 [citado 3 ene 2014]; 43(3).Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-29572009000300007&script=sci_arttext
27. Dermatologialeal.com [Internet]. Dermatologialeal ; 2012 [citado 08 ene 2015]. Disponible: <http://www.dermatologialeal.com/generalidades/general.htm>
28. Dmedicina.com. . [Internet]. España: Dmedicina 2004, [actualizado 21 may 2004].Disponible en: <http://www.dmedicina.com/vida-sana/2004/05/21/efectos-biologicos-sol-15151.html>
29. Palomino M, Fisiología de la piel. Revista Peruana de Dermatología. . [Internet]. 2001. [citado 23 nov 2014]; 11 (2) . Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v11_n2/fisio_piel.htm
30. Neurowikia.es. . [Internet]. España: Neurowikia;2013 [citado 24 ene 2014]. Disponible en: <http://www.neurowikia.es/content/anatomia-y-fisiologia-de-las-glandulas-sudoriparas>

31. Emecolombia.foroactivo.com.[Internet].Colombia: Emecolombia; 2014 [actualizado 20 may 2014; citado 3 ene 2014]. Disponible en: <http://emecolombia.foroactivo.com/t1997-tejido-tegumentario>
32. Mazinger.sisib.uchile.cl . [Internet] Chile: Mazinger; 2013[citado 02 ene 2014]. Disponible: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmac_euticas/steinera/parte04/02q.html
33. Welsch U., Sobotta J., Histología, [Internet]. 2 Ed. España: Editorial Panamerica; 2009. [oct 2009]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=7zFxo6bmxl0C&pg=PA568&dq=piel+como+organo+sensorial&hl=es-419&sa=X&ei=tT9jVfXIA4WwggSXpoDoDQ&ved=0CCAQ6AEwAQ#v=onepage&q=piel%20como%20organo%20sensorial&f=false>
34. Organización Mundial de la Salud. Índice UV solar mundial. Ginebra Suiza: OMS; 2003. [Citado 02 ene 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/uv/publications/en/uvispa.pdf>
35. Mulero M, Efecto de la radiación ultravioleta (RUV) sobre los procesos de estrés oxidativo e inmunodepresión cutánea. Efecto protector de los filtros solares. [Tesis doctoral]. España: Facultad de Medicina Universidad “Rovira I Virgili”. 2004. Disponible en: <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8710/TESISMULERO.PDF?sequence=1>

36. Villegas A, *et al* .Radiación ultravioleta. Fotoenvejecimiento cutáneo. Medisur [Internet]. 2005 [citado 05 dic 2014]; 3 (1): 14-33. Disponible: <http://www.redalyc.org/pdf/1800/180020172002.pdf>
37. De Los Santos C. Farmacia clínica del daño actínico. Evolución conceptual en la prevención y tratamiento de las fotodermatosis. Presente y futuro [Internet] 2002 [citado 04 dic 2014]. Disponible en: [file:///C:/Users/Pc/Downloads/260-1294-1-PB%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Pc/Downloads/260-1294-1-PB%20(2).pdf)
38. Pons L. Control de la inflamación actínica mediante derivados del tocoferol. Offarm [Internet]. 2006 [citado 23 dic 2014]; 25(11) Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-control-inflamacion-actinica-mediante-derivados-13096641>
39. Ortega G, María A. Efectos de los aceites de almendras dulces y de crisálida del gusano de la seda sobre el fotoenvejecimiento cutáneo inducido en ratones SKH1/CRL por radiación UV. [Tesis Doctoral]. España: Depósito de la Universidad de Murcia, Universidad de Murcia. 2014. Disponible en: <https://digitum.um.es/xmlui/handle/10201/38751>
40. Miller CC, Hale P, Pentland AP. Ultraviolet B injury increases prostaglandin synthesis through a tyrosine kinase-dependent pathway. Evidence for UVB -induced epidermal growth factor receptor activation. J Biol Chem [Internet]. 1994 [citado 26 abril 2015]. ; 269(5):3529-33. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8106395>
41. Buckman SY, *et al*. COX-2 expression is induced by UVB exposure in human skin: implication for the development of skin cancer.

- Carcinogenesis. Ncbi [Internet]. 1998 [citado 06 feb 2015]; 19(5):723-9.
 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9635856>
42. Notoya K, *et al* . The induction of cell death in human osteoarthritis chondrocytes by nitric oxide is related to the production of prostaglandin E2 via the induction of cyclooxygenase-2. Ncbi. [Internet]. 2000 [citado 09 dic 20014]. 165(6):3402-10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10975859>
43. Llorens P. Control de la inflamación actínica mediante derivados del tocoferol. Cosmetica al Día. [Internet]. 2006 [citado 06 dic 2014]; 25 (11): 86 -87 Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13096641&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=4&ty=93&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=4v25n11a13096641pdf001.pdf
44. Orozco V., Actividad Fotoprotectora del Taxo (*Passiflora Tripartita*) y Albahaca (*Ocimum Basilicum*), en fototipos III (*Homo Sapiens*) para la elaboración de un protector solar . [Tesis de Grado]. Ecuador. Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia. Disponible en: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:7o9w84S5e78J:space.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2564/1/56T00331.pdf+&cd=4&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe>
45. Freer-Bustamante E. El uso adecuado de protectores solares en Costa Rica. Rev. costarric. cienc. méd. [Internet]. 1999 [citado 14 Oct 2014];

20(1):1-2; Disponible en:
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29481999000100010&lng=pt&nrm=iso&tlng=es

46. Food and Drug Administration. La FDA aclara sobre Protectores Solares. Estados Unidos: US Department of Health & Human Service. FDA; 2012. Disponible en:
<http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm259673.htm>
47. Academia Americana de la fuente de Dermatología. Las nuevas reglas de la protección solar del FDA ayudarán a reducir riesgo de cáncer de piel. News Medical [Internet]. 2011, [citado 14 Oct 2014]. Disponible en:
<http://www.news-medical.net/news/20110615/13626/Spanish.aspx>
48. Perú. Ley N° 30102: 05-11-2013: Ley de prevención de la radiación solar. Diario Oficial El Peruano. Lima, Perú, 5 de junio de 2013
49. Andina.com.pe. Solo bloqueadores de calidad protegen de la alta radiación. [sede Web] Perú: DIGEMID; [actualizada 18 feb 2015; citado 25 mar 2015]. Disponible en:
<http://www.andina.com.pe/agencia/noticia-digemid-solo-bloqueadores-calidad-protegen-de-alta-radiacion-543913.aspx>
50. C. Romero Zarco - Universidad de Sevilla, 2001-2003. Prácticas de Biología marina: algas verdes macroscópicas. Página publicada el 3-04-2001, © C, Universidad de Sevilla - Actualizada el 24-07-2003. Disponible en: <http://www.aloj.us.es/carromzar/algas/Caulerpales.htm>

51. Acleto C y Zúñiga R. Introducción a las algas.6.Universidad Mayor de San marcos: Breña.1998.
52. Imarpe. Com [Internet]. Perú: Imarpe; 2008 [actualizado 2008; citado abr 2014]. Disponible en: http://www.imarpe.pe/imarpe/index.php?id_seccion=I0139010000000000
53. Pacheco M, Pacheco I, Miranda J, Cetz N y Soto J. Presencia del género Caulerpa en la Bahía de Campeche, Camp. [Internet].2010 [citado Abril 2013]; 20(1):1-5. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0188-88972010000100006&script=sci_arttext
54. Vergara C, Descripción de métodos de recolección y conservación de algas. Inbio [Internet]. [citado 14 enero 2014]. Disponible en: http://www.inbio.ac.cr/web_herbarios/web/pdf/protocolo-macroalgas.pdf
55. Florez-Leiva L,, Gavio B, Díaz-Ruiz M, Camacho O, Díaz-Pulido G. Recolección y preservación de macroalgas marinas: una guía para estudios ficológicos. Intropic [internet].2010 [citado 25 abr. 2014]; 161 (5) 97 – 103. Disponible en: http://www.inbio.ac.cr/web_herbarios/web/pdf/protocolo-macroalgas.pdf
56. Moromi H., *Et al.* Efectividad in vitro e in vivo de un gel a base de Camellia sinensis “té verde” frente a microorganismos de importancia en procesos periodontales. ISSN [Internet]. 2011 [citado 19 dic 2014]; 14(2): 10-12. Disponible en:

http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2011_n2/pdf/a04v14n2.pdf

57. Lock De Ugaz O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de Productos Naturales. [Internet]. 2da ed. Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994 [actualizado Jun 1994; citado 5 abr 2014]. Disponible en: <http://books.google.com.pe/books?hl=es&id=N36g2QOccXkC&q=shinoda#v=onepage&q&f=false>
58. Conde J., Díaz M., Félix P., Ramírez M., Vicuña R. Formulación de una crema con actividad antiinflamatoria obtenida del extracto etanólico purificado de *Baccharis Tricuneata* (L.f.) Pers. "taya". ECI2012V. [Internet]. 2012 [citado 20 nov 2014]; 9 (1): 16-21. Disponible en: <http://www.revistadeciencias.com/REVISTA%20ECI2012V%20COMPLETA.pdf>
59. United States Pharmacopeia. Test of formulation 36a ed. NF 31. Información General/ Desempeño de Excipientes . Rockville: USP; 2013 <1059>; 731.
60. Cruz P. Elaboración y Control de Calidad del Gel Antimicótico de Manzanillo (*Matricaria Chamomilla*), Matico (*Aristiguetia Glutinosa*) y Marco (*Ambrosia Arborescens*) para Neo fármaco. [Tesis de Grado]. Ecuador: Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2009. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/218/1/56T00192.pdf>
61. García M, Molinero J, Formulación magistral. *Prácticas de laboratorio* [Internet] 1ra edición. Ediciones Paraninfo, S.A; 2013 [citado marzo

2014]: 158; Disponible de:

<http://books.google.com.pe/books?id=FLHXAgAAQBAJ&pg=PA158&q=elaboracion+de+geles&hl=es&sa=X&ei=QcJNVKyILYfLggTqioDACw&ved=0CB8Q6AEwAQ#v=onepage&q=elaboracion%20de%20geles&f=false>

62. Instituto Dermocosmética Natural. Elaboración de Gel Base con Carbopol por el Instituto de Dermocosmética Natural. [Video]. España. 2014. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=V6VGTd0mi84>
63. Anvisa. [Internet]. Argentina. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria: 2005 [citado 4 abr 2014]. Disponible en: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4e066f804863da3e8dd68d2bd5b3ccf0/guia_serie_tematica_cosmeticos_espanhol.pdf?MOD=AJPERES
64. Perez P., Rodrigues Y., Morales I., Soler D., De la Paz N., Comportamiento reológico y extensibilidad de una formulación semisólida a partir del extracto acuoso de *Rhizophora mangle* L. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal; [Internet] 2011 [citado 25 mar 2015] ; 26 (2):75-79. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48221175003>
65. United States Pharmacopeia. Pruebas Físicas/ PH <791>. 37 ed. NF 32: USP; 2014.
66. Palate L. Viscosidad. [monografía en Internet]. Ecuador: monografias.com; 2004 [accesado 1 de noviembre 2014] Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos13/visco/visco.shtml>

67. United States Pharmacopeia. Test of formulation 37a ed. NF 32. Pruebas físicas/Viscosidad. Rockville: USP; 2014 <912>; 619.
68. United States Pharmacopeia. Microbiological test. <61> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbiological Enumeration Test. NF 32 ed. Rockville: USP 37; 2014.
69. Analisisavanzados.com [Internet]. Detección de *Escherichia coli* en cosméticos según NORMA ISO 21150:2006; Lima: 2013 [citado 26 ene 2014]. Disponible en: http://www.analisisavanzados.com/modules/mod_tecdata/normas_cosmetica/ISO_21150_Escherichia_coli.pdf
70. Analisisavanzados.com [Internet]. Detección de *Pseudomonas aeruginosa* en cosméticos según NORMA ISO 22717:2006; Lima: 2013 [citado 26 ene 2014]. Disponible en: http://www.analisisavanzados.com/modules/mod_tecdata/normas_cosmetica/ISO_22717_Ficha_Pseudomonas_aeruginosa.pdf
71. Hollands IE, Gómez-Barry H, Miyares CM. Modelo biológico para evaluar la acción fotoprotectora de un extracto de cordón umbilical humano. Rev Cubana Farm [Internet]. 2003 [citado 12 Jun 2014]; 37(1): 1-2, Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152003000100003
72. Farmacopea de lo Estados Unidos e América. USP NF31 .Pruebas biológicas/capitulo <88> Prueba de reactividad biológica in vivo. Estados Unidos. Pág. 121.

73. Cátedra de Biología. Técnica Histológica. Universidad Nacional de San Juan [Internet]. Argentina; [citado 25 nov 2014]. Disponible en:
dea.unsj.edu.ar/biologia1/th.pdf
74. Olfert E, Brenda M, Cross D, McWilliam A. Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación. Consejo Canadiense de Protección animal. Manual del CCPA, 1998
75. Ángel R, Concepción A, De la Peña & García J, Acta Bioetica OMS/OPS. Acercamiento al accionar ético-moral del científico que trabaja con animales de experimentación. Disponible en:
<http://actabioethica.cl/docs/acta15.pdf>
76. Sánchez L., Lanchipa P., Pancorbo J., Regis A., Sánchez E., Fotoprotectores Tópicos. Revista Peruana de Dermatología [Internet], 2002. [citado 25 ene 2014]; 12:02. Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v12_n2/fotoprotectores_topicos.htm
77. Oclandí M., Piel sana y manto acido. Dermatología Cosmética. [Internet]. 2004 [citado 30 nov 2014]; 15 (2): 121-124. Disponible en :
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol15_n2/pdf/a10.pdf
78. Terra.com [internet]. México: Terra [citado 2 de mar 2015.] Disponible en:
<http://www.sv.terra.com/salud/interna/0,,O13821495-EI5483,00.html>
79. Alamo P., Contreras M., Sifontes G. Evaluación de la influencia de la formulación en el FPS in vitro de un protector solar. [Tesis Doctoral]. Venezuela. Facultad de Farmacia Especialidad Ciencia y Tecnología

Cosmética. 2012. Disponible en:

[http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v12_n2/fotoprotector
es_topicos.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v12_n2/fotoprotector_es_topicos.htm)

80. Vallejo E, Vargas N, Martínez L, Agudelo C, Ortiz C. Perspectiva genética de los rayos UV y las nuevas alternativas de protección solar. Scielo [Internet]. 2013 [citado feb 2014]. 94 (3). Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2013000300002
81. López F., Análisis transdisciplinar sobre la destrucción de la capa de ozono e incremento de radiación ultravioleta y sus efectos sobre el medio ambiente y salud humana [Internet]. Universidad de Malaga - España [citado 04 ene 2015]. Disponible en: <http://www.fyboa.uma.es/wp-content/uploads/2012/03/camcli/1.pdf>
82. Centelles P. Novedades en Fotoprotección. Farmacia Profesional. Jun 2001: 2-6.
83. Moseley H, Cameron H, MacLeod T, et al. New sunscreens confer improved protection for photosensitive patients in the blue light region. Br J Dermatol 2001; 145: 789-794.
84. La Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos. Farmacopea de los Estados Unidos de América: Pruebas físicas. Vol 1. 37a ed. Estados Unidos de America: United Book Press; 2014.
85. García M., Fitoquímicos: nutrientes del futuro. Casapia . [Internet]. 2010 [citado 28 Dic 2014]. 8 pag. Disponible en:

<http://www.casapia.com/informaciones/Fitoquimicos-Nutrientes-Futuro/Terpenos.htm>

86. Vidanaturalia.com [Internet] España: Vidanaturalia ; 2014 [citado 12 Mar 2014]. Disponible en: <http://www.vidanaturalia.com/principios-activos-de-las-plantas-medicinales/>
87. Rodríguez, J. Productos naturales de origen marino, una perspectiva en la búsqueda de nuevos fármacos. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, [Internet]. (2003) [citado agosto 2014]. 2, 5-13. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/28204849_Mirando_a_nuestro_entorno_Productos_naturales_de_origen_marino_una_perspectiva_en_el_descubrimiento_de_nuevos_farmacos
88. Sureda, A., Box, A., Enseñat, M., Alou, E., Tauler, P., Deudero, S. & Pons, A. Enzymatic antioxidant response of a labrid fish (*Coris julis*) liver to environmental caulerpenyne. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Parte C, 1-6. (2006).

12. ANEXOS

ANEXO 01

Clasificación taxonómica del alga marina "*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering"



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Herencia del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

CONSTANCIA N° 12-USM-2014

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa), recibida de Pilar HERNANDEZ GÓMEZ, Marita Alcira MIRANO CASAFRANCA y Lisseth Anali HUAMANI SAYRITUPAC, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; ha sido estudiada y clasificada como: *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2014).

DIVISION: CHLOROPHYTA

CLASE: ULVOPHYCEAE

ORDEN: BRYOPSIDALES

FAMILIA: CAULERPACEAE

GENERO: *Caulerpa*

ESPECIE: *Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering

Nombre vulgar: "Caulerpa"

Determinado por: Bijo. Mario Benavente Palacios.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 22 de enero de 2014



[Firma]
Dra. HAYDÉE MONTOYA TERREROS
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

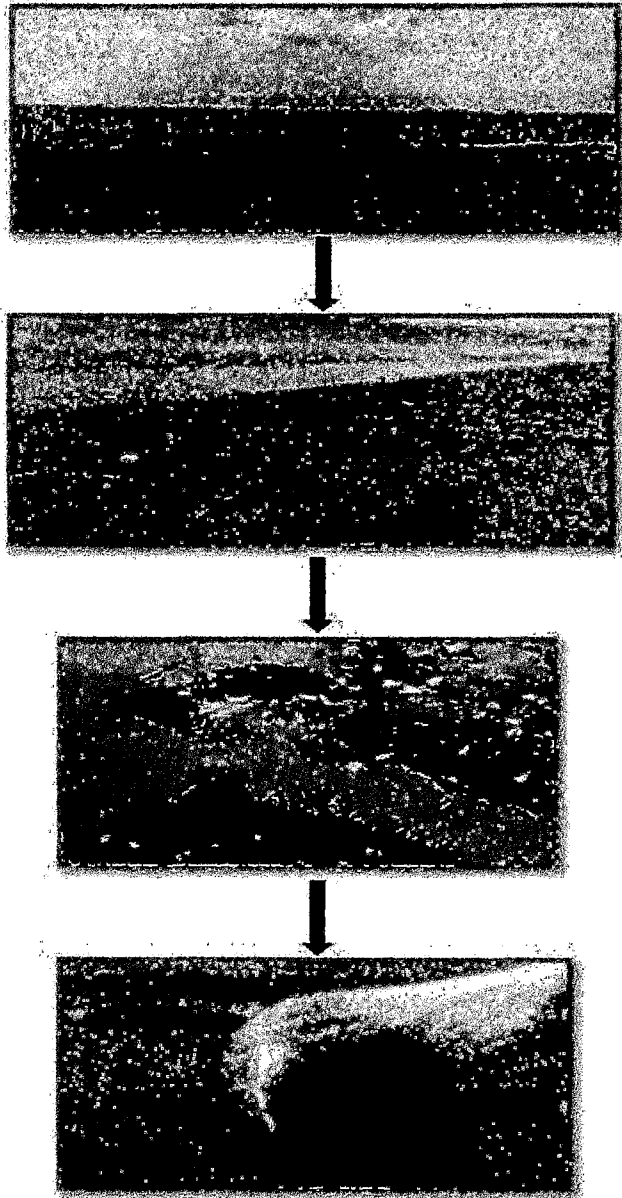
Av. Alameda 1254, Jesús María
Ayuda: 14-0414, Lima 14, Perú

Tel.: (01) 971 0117, 475-6677,
475-7914, 619-7977 ext. 530

correo: historia@unmsm.edu.pe
<http://www.unmsm.edu.pe>

ANEXO 02

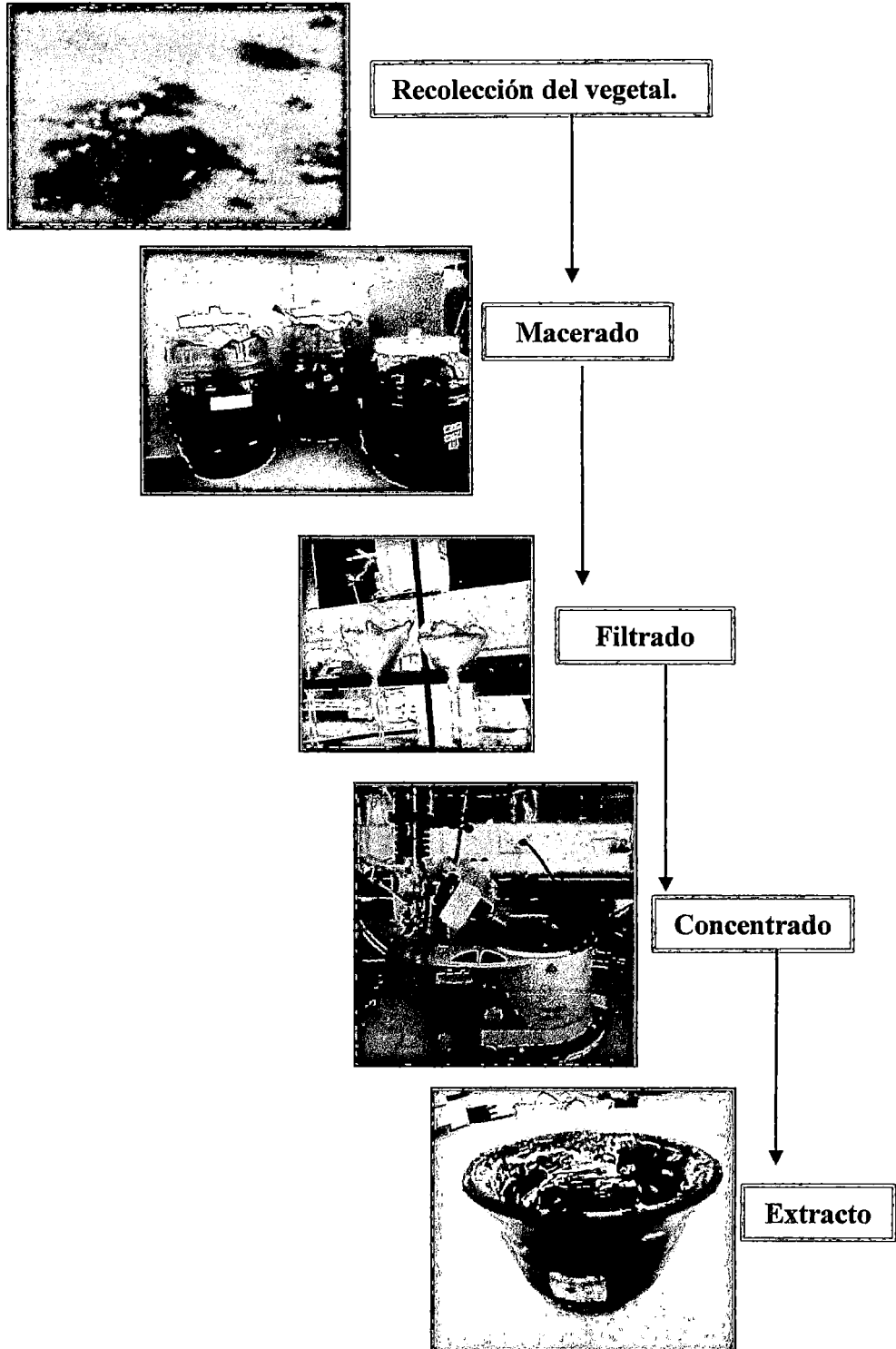
Playa Chaco - Paracas: Ubicación del lugar de recolección de "*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering"



ANEXO 03

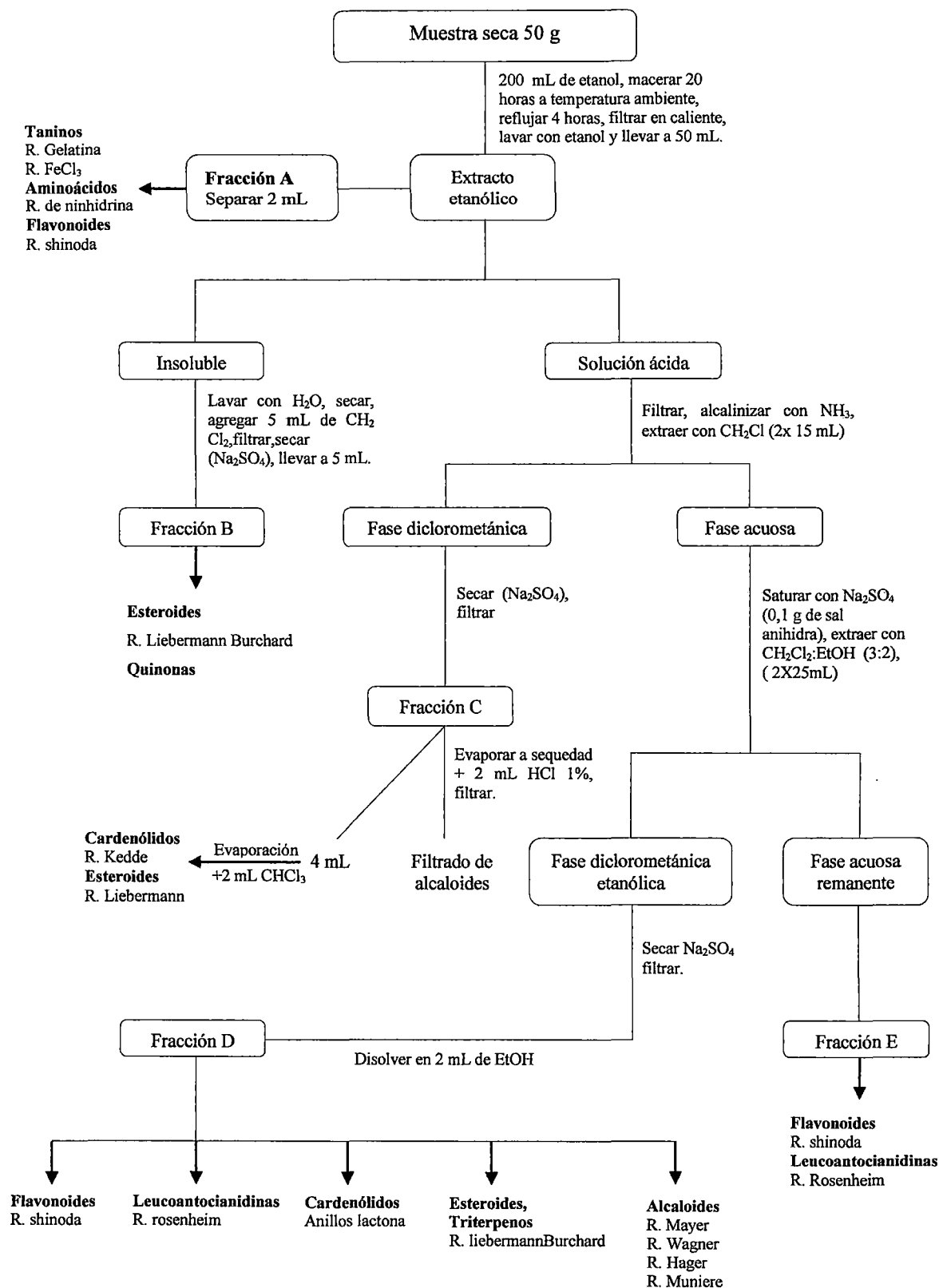
Obtención del extracto etanólico del alga marina "*Caulerpa filiformis* (Suhr)

Hering".



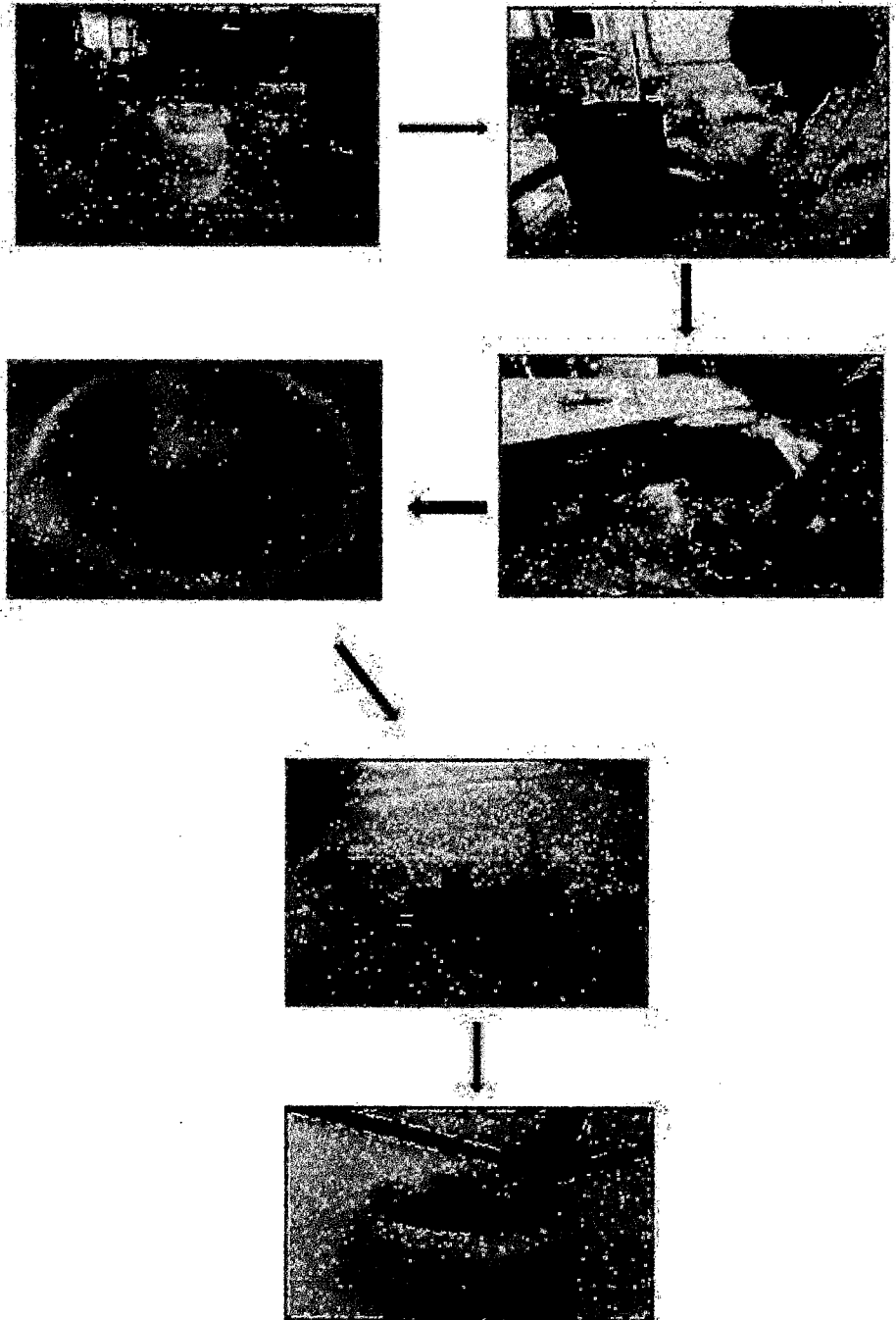
ANEXO 04

MARCHA FITOQUIMICA: Esquema general de una marcha Fitoquímica.



ANEXO 05

Pre formulación y formulación del gel fotoprotector a base de extracto etanólico del alga "*Caulerpa filiformis* (Suhr) Hering".



ANEXO 06

Determinación de la viscosidad de los geles al 2.5%, 5%, 10% y 20%



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Por la presente, se deja:

CONSTANCIA

Que, en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, se realizó la determinación de viscosidad con viscosímetro **Brokfield** del producto: gel cosmético a base de extracto del alga marina "*Caulerpa filiformis* (Suhr) *Hering*", al 2.5%, 5% y 10%, 20%. La cantidad de muestra utilizada fue de 25 g, la medición se realizó a 25 °C, con el spin N° 1 y a 10 rpm.

Los resultados obtenidos fueron:

Al 2.5%: 32 250 cP.


Al 5%: 36 465 cP

Al 10%: 44 070 cP

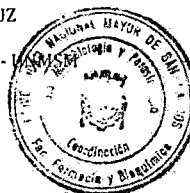
Al 20%: 59 030 cP

Se expide la presente constancia a solicitud de las tesis, para su uso cuando se requiera.

Lima, 06 de abril de 2015

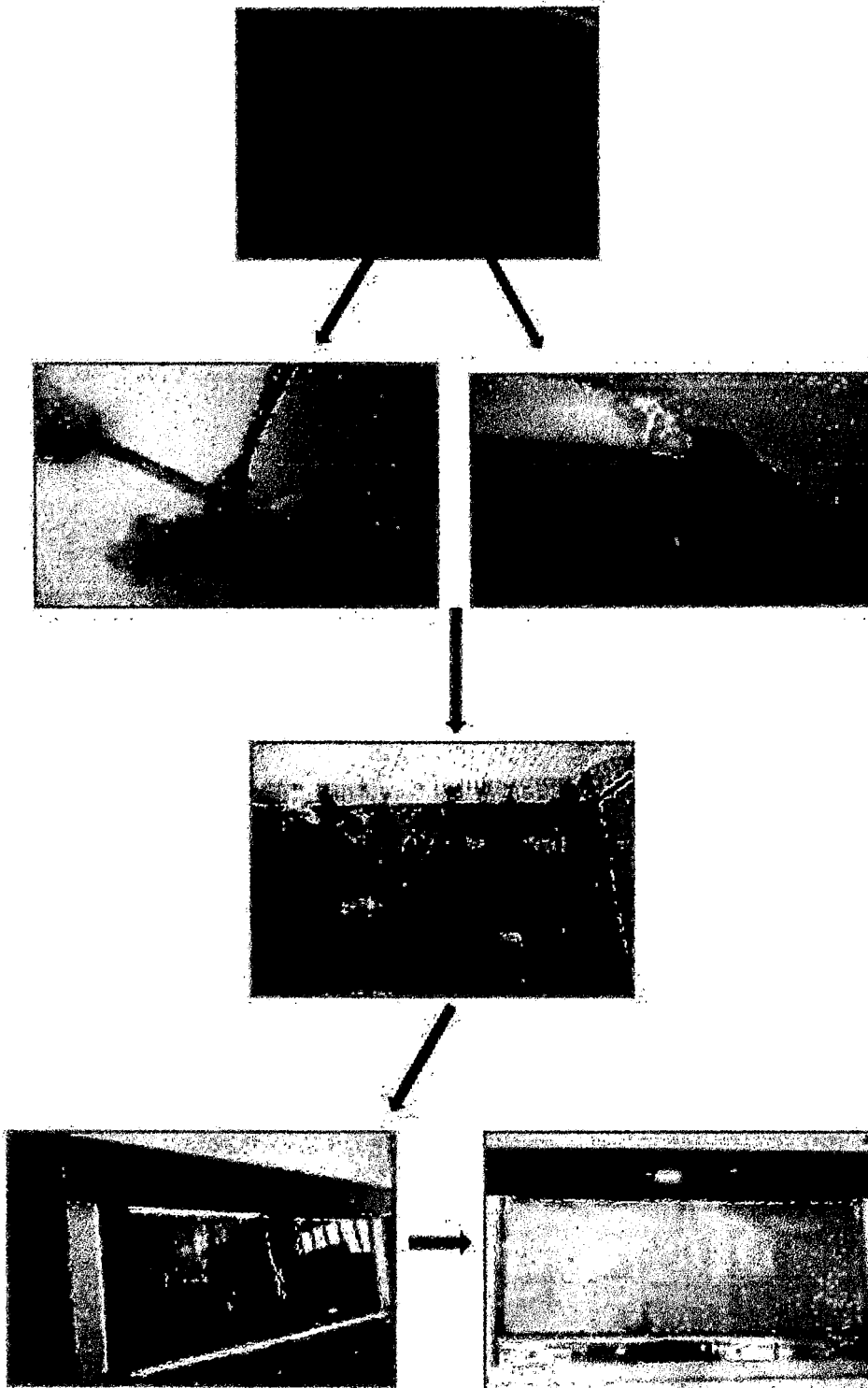

Q.F. NELSON BAUTISTA CRUZ
Docente Investigador

Facultad de Farmacia y Bioquímica -



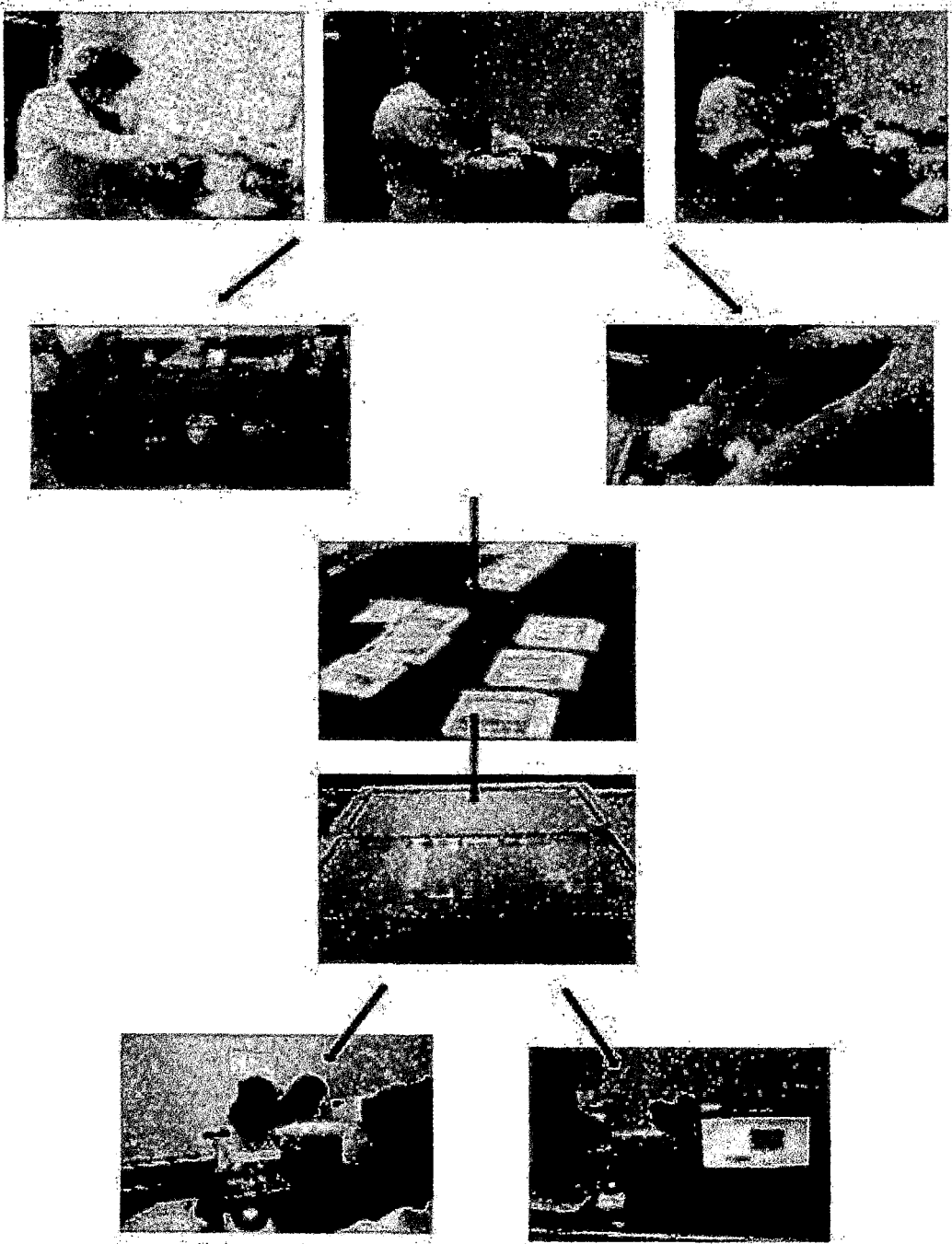
ANEXO 07

Evaluación biológica del efecto fotoprotector de los geles al 2.5%, 5%, 10% y 20%



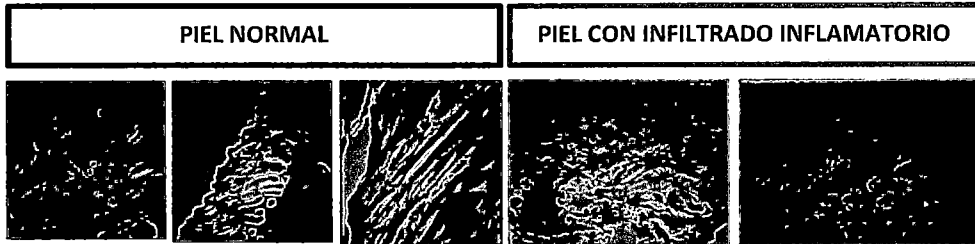
ANEXO 08

Análisis microscópico, tratamiento de muestras por el método de hematoxilina-eosina.

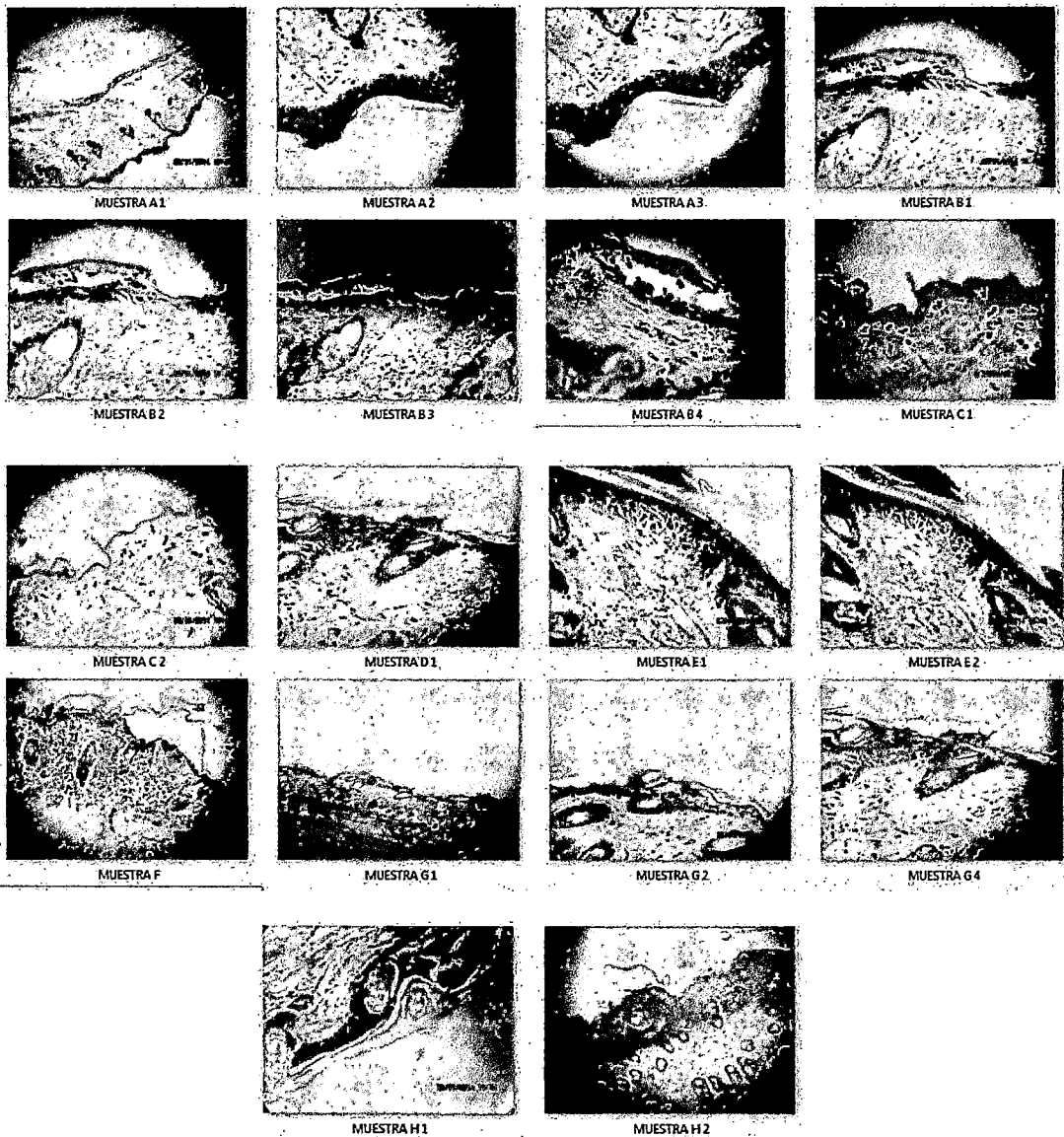


ANEXO 09

Resultado microscópico del tratamiento al finalizar el séptimo día, con el gel protector a base de extracto etanólico del alga.



GRUPOS EVALUADOS



ANEXO 10

DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLÓGICO: Anatomía Patológica (Hospital Regional – Ica)

DIAGNÓSTICO MICROSCÓPICO (ANATOMOPATOLÓGICO)

MUESTRA A

AL EXAMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVA EPIDERMIS Y DERMIS SIN ALTERACIONES SIGNIFICATIVAS

MUESTRA B

AL EXAMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVA EN LOS 2/3 SUPERIORES DE LA EPIDERMIS NECROSIS CON FORMACIÓN FOCAL DE AMPOLLA CON ESCASA REACCIÓN INFLAMATORIA AGUDA CONSTITUIDA POR POLIMORFONUCLEARES, DERMIS INFILTRADO PERIVASCULAR DE LINFOCITOS DE GRADO LEVE A NIVEL INSTERTICIAL POLIMORFONUCLEARES DE GRADO LEVE.

MUESTRA C

AL EXAMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVA EPIDERMIS EN LOS 2/3 SUPERIORES DE LA EPIDERMIS NECROSIS CON PRESENCIA DE POLIMORFONUCLEARES DE GRADO LEVE, DERMIS INFILTRADO INFLAMATORIO PERIVASCULAR DE GRADO LEVE, A NIVEL INSTERTICIAL POLIMORFONUCLEARES DE GRADO MODERADO.

MUESTRA D

AL EXAMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVA EPIDERMIS CON LEVE ACANTOSIS Y ESPONGIOSIS SUPRABASAL CON PARAQUERATOSIS LEVE, DERMIS PRESENTA INFILTRADO INFLAMATORIO PERIVASCULAR DE GRADO LEVE, A NIVEL INSTERTICIAL POLIMORFONUCLEARES DE GRADO MODERADO Y PROLIFERACIÓN DE FIBROBLASTOS.

MUESTRA E

AL EXAMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVA EPIDERMIS QUE PRESENTA EN LOS 2/3 SUPERIORES NECROSIS CON ABUNDANTE CUERPO APOPTOSICO, DERMIS PRESENTA INFILTRADO INFLAMATORIO PERIVASCULAR DE LINFOCITOS, A NIVEL INSTERTICIAL POLIMORFONUCLEARES DE GRADO LEVE.

DIAGNÓSTICO MICROSCÓPICO (ANATOMOPATOLÓGICO)

MUESTRA F

AL EXAMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVA EPIDERMIS QUE PRESENTA EN LOS 1/3 SUPERIOR NECROSIS CON CUERPOS APOPTOSICOS, DERMIS PRESENTA INFILTRADO INFLAMATORIO PERIVASCULAR DE LINFOCITOS, DERMIS A NIVEL DE INSTERTICIO POLIMORFONUCLEARES.


MUESTRA G

AL EXAMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVA EPIDERMIS ACANTOTICA CON QUERATOSIS MARCADA, DERMIS INFILTRADO INFLAMATORIO PERIVASCULAR DE LINFOCITOS, POLIMORFONUCLEARES Y MODERADA PROLIFERACIÓN DE FIBROBLASTOS.

MUESTRA H

AL EXAMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVA EPIDERMIS ACANTOTICA CON QUERATOSIS MARCADA, DERMIS INFILTRADO INFLAMATORIO PERIVASCULAR DE LINFOCITOS, INSTERTICIO PRESENTA POLIMORFONUCLEARES Y ESCASA PROLIFERACIÓN DE FIBROBLASTOS.


Dra. Lidia Quispe Galindo
MEDICO ANATOMOPATOLOGO
C.M.P. 39285 P.E. 19334


Dra. Lidia Quispe Galindo
MEDICO ANATOMOPATOLOGO
C.M.P. 39285 P.E. 19334

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Yo, **Chávez Orellana, Santos Haydee**; asesora del trabajo de Tesis titulado: **Efecto fotoprotector y calidad del gel cosmético a base del extracto del alga marina "Caulerpa filiformis (Suhr) Hering"** obtenida en la provincia de Pisco-Ica. Presentado por las Bachilleres de Farmacia y Bioquímica:

- Hernández Gómez, Pilar
- Huamaní Sayritupac, Lisseth Analí
- Mirano Casafranca , Marita Alcira

Certifico mediante la presente que el borrador de Tesis, ha sido revisado y corregido, ante lo cual autorizo la presentación del borrador de Tesis a la Comisión de Grados y Títulos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, para el nombramiento del jurado evaluador y programación de fecha de sustentación.

Ica, 17 de Marzo del 2015.


.....
Dra. QF Chávez Orellana, Haydee Santos

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Yo, **Valle Campos**, Manuel Alfredo; asesor del trabajo de Tesis titulado: **Efecto fotoprotector y calidad del gel cosmético a base del extracto del alga marina "Caulerpa filiformis (Suhr) Hering"** obtenida en la provincia de Pisco-Ica. Presentado por las Bachilleres de Farmacia y Bioquímica:

- Hernández Gómez, Pilar
- Huamaní Sayritupac, Lisseth Analf
- Mirano Casafranca , Marita Alcira

Certifico mediante la presente que el borrador de Tesis, ha sido revisado y corregido, ante lo cual autorizo la presentación del borrador de Tesis a la Comisión de Grados y Títulos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, para el nombramiento del jurado evaluador y programación de fecha de sustentación.

Ica, 17 de Marzo del 2015.



Dr. QF Valle Campos, Manuel Alfredo

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

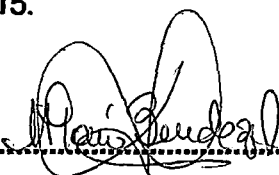
Facultad de Farmacia y Bioquímica

Yo, **Bendezú Acevedo, Rocío**; asesora del trabajo de Tesis titulado: **Efecto fotoprotector y calidad del gel cosmético a base del extracto del alga marina "*Caulerpa filiformis (Suhr) Hering*" obtenida en la provincia de Pisco-Ica. Presentado por las Bachilleres de Farmacia y Bioquímica:**

- Hernández Gómez, Pilar
- Huamaní Sayritupac, Lisseth Anali
- Mirano Casafranca, Marita Alcira

Certifico mediante la presente que el borrador de Tesis, ha sido revisado y corregido, ante lo cual autorizo la presentación del borrador de Tesis a la Comisión de Grados y Títulos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, para el nombramiento del jurado evaluador y programación de fecha de sustentación.

Ica, 17 de Marzo del 2015.



.....

Dra. QF Bendezú Acevedo, Rocío