

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO**

UNIDAD DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN “CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS COSMÉTICAS”

Tesis previa a la obtención del título de:

“MAGISTER EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS COSMÉTICAS”

TEMA:

**EFICACIA COSMÉTICA “*IN VIVO*” DE UNA EMULSIÓN FORMULADA A
PARTIR DEL EXTRACTO SECO DE HOJAS DE “*Ficus citrifolia*”**

AUTORES:

ESPERANZA ROBALINO ANDRADE

MARÍA SUSANA GUARDERAS PÉREZ

DIRECTOR:

Quím. PACO NORIEGA RIVERA. Msc. PhD.

Quito, ABRIL 2015

2. DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL TRABAJO DE GRADO

Nosotras, María Susana Guarderas y Esperanza Robalino autorizamos a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de grado y su reproducción sin fines de lucro.

Además declaramos que los conceptos y análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad de las autoras.

Emma Esperanza Robalino Andrade

C.C. 1710656677

María Susana Guarderas Pérez

C.C. 1714298864

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a la Universidad Politécnica Salesiana, al Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad CIVABI y un agradecimiento especial a nuestro director de tesis Dr. Paco Noriega por su acertada guía en este trabajo.

ABSTRACT

En el presente trabajo se evaluó la actividad antioxidante de las hojas de *Ficus citrifolia*, se encontró que el extracto seco tiene 54.44 % de fenoles totales. Se evaluó también la actividad antioxidante del extracto seco de *Ficus citrifolia* mediante el ensayo con DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). El IC₅₀ obtenido para el extracto de *Ficus citrifolia* es de 8,139003 mg/mL, que inhibe el 50% de la oxidación de DPPH.

Se preparó una emulsión al 0.5 y 1% de concentración, se realizó un estudio in vivo no invasivo con 18 voluntarias. Para la medición se utilizó el Cutometer MPA 580 que evidencia la viscoelasticidad y firmeza en la piel en el día cero (antes de aplicar la crema) y después de 21 días de tratamiento. Para evaluar los resultados se realizó un análisis de varianza. Los resultados del estudio demostraron que las cremas muestran una mejora significativa en la viscoelasticidad y firmeza de la piel.

Por lo tanto el extracto seco de las hojas de *Ficus citrifolia* puede ser considerado como materia prima en la elaboración de productos cosméticos debido a que presenta actividad antioxidante.

Palabras clave: antioxidante, viscoelasticidad, firmeza

ABSTRACT

The present work is to evaluate the antioxidant activity of the *Ficus citrifolia* leaves; it was found that the dry extract has 54.44 % of the total of phenols. The antioxidant activity extract of the dry *Ficus citrifolia* through the essay with DPPH (2,2-diphenil-1-picrilhidracil). The IC50 obtained for the extract of the *Ficus citrifolia* was about 8.139003 mg/mL that inhibits the 50% of the oxygenation of DPPH.

An emulsion was prepared at 0.5 and 1% of concentration, a none invasive study alive was made with 18 volunteers. To measure this Cutometer MPA 580 that evidences the viscoelasticity and firmness of the skin in the zero day (before applying the cream) was used and after 21 days of treatment. To evaluate the results an analysis of varieties was realized. The results of the studies demonstrate that the creams show an important improvement in the viscoelasticity and firmness of the skin.

Therefore the dry extract of the *Ficus citrifolia* leaves can be considered a prime material in the elaboration of cosmetic products due to the antioxidant activity that represents.

Key words: Antioxidant, viscoelasticity, firmness.

ÍNDICE

CAPÍTULO I	8
INTRODUCCIÓN	8
1.1 ANTECEDENTES	8
1.2 JUSTIFICACIÓN	10
1.3 HIPÓTESIS	12
1.4 OBJETIVOS	12
CAPÍTULO II	14
EL MARCO TEÓRICO	14
2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DEL “ <i>Ficus citrifolia</i> ”	14
2.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	16
2.3 USOS MEDICINALES	16
2.4 RADICALES LIBRES Y MECANISMOS DE PROTECCIÓN	17
2.5 ESTUDIOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL GÉNERO FICUS	20
2.6 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y FLAVONOIDES	21
2.7 LOS ANTIOXIDANTES VEGETALES	23
2.8 BENEFICIOS DE LOS ANTIOXIDANTES EN LA PIEL	24
2.9 COSMÉTICOS ANTIOXIDANTES	25
2.10 EVALUACIÓN DE EFICACIA COSMÉTICA	26
CAPÍTULO III	29
MARCO METODOLÓGICO	30
3.1 RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	30
3.2 ELABORACIÓN DE LOS EXTRACTOS SECOS	31
3.3 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN EL EXTRACTO	33
3.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DE “ <i>Ficus citrifolia</i> ”	35
3.5 FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN	38
3.6 EVALUACIÓN DE EFICACIA COSMÉTICA POR ESTUDIOS “In Vivo”	45
3.7 EVALUACIÓN DE LA VISCOELASTICIDAD CON EL CUTOMETER 580 ®	48
CAPÍTULO IV	51
RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN	51
4.1 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE EXTRACTO SECO	51

4.2 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES _____	52
4.3 Determinación de la Actividad Antioxidante _____	54
4.4 Análisis estadísticos de los resultados con el Cutometer 580® _____	61
<i>CAPÍTULO V</i> _____	75
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES _____	75
<i>BIBLIOGRAFÍA</i> _____	76
<i>ANEXOS</i> _____	80

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

La industria cosmética está desarrollando productos que ayudan a prevenir la acción de los radicales libres en la piel humana, motivo por el cual, en los últimos años se aprecia un crecimiento en la oferta de productos cosméticos que utilizan componentes de acción antioxidante para tratar problemas de la piel tales como acné, daños por efecto del sol y arrugas.

En investigaciones anteriores realizadas en plantas del género *Ficus* se determinó que la corteza de la planta *Ficus amplissima* Smith contiene fenoles, taninos y flavonoides en el extracto de acetona, mostrando también actividad antioxidante. (Rajan 2012). En otra investigación se encontró también que el fruto de higo (*Ficus carica*) tiene propiedad antioxidante elevada. (Solomon A, 2006).

En un estudio realizado en la Universidad Politécnica Salesiana por Aldana y Guayasamín (2014), se determinó por medio de los ensayos de DPPH (Método 2,2-difenil-picrilhidracilo) y ABTS (método ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico) que los extractos alcohólicos utilizados presentaron mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso de *F. citrifolia*, obteniendo valores IC₅₀ muy cercanos a aquellos obtenidos con el extracto alcohólico al 50% de té verde que es la planta referencial dado su elevado poder antioxidante. (Aldana-Guayasamín, 2014).

El análisis fitoquímico de los extractos de *Ficus obtusifolia Kunth* reveló la presencia de taninos, flavonoides, glucósidos, cardiotónicos, saponinas, sapogeninas, lactonas, cumarinas, esteroides e isoprenoides. (Quesada, 2009). Esto está de acuerdo al artículo de Sandabe (2005), quien reporta que los ficus tienen compuestos característicos como taninos, azúcares reductores, saponinas y agliconas. (Sandabe, 2005)

En la especie *Ficus carica*, se extrajo antocianinas y cianidinas, además se determinó también la actividad biológica de las antocianinas mediante la capacidad antioxidante de los frutos encontrándose en el higo una IC50 ($\mu\text{g/mL}$) de 8,50. (Márquez, 2011)

Se encuentran proteasas en tallos de higuerón (*Ficus apollinaris*), y de alcaloides 16,4% para el higuerón. (Castillo, 2012)

Ficus citrifolia no ha sido mayormente estudiada, Aldana - Guayasamín ha estudiado la planta encontrando una actividad antioxidante, más no ha identificado el tipo de principios activos contenidos en *Ficus citrifolia*. Conociendo que las hojas de *Ficus citrifolia* tienen actividad antioxidante se intenta determinar la eficacia cosmética de una emulsión con el extracto seco de hojas de *Ficus citrifolia* mediante pruebas “in vivo” en un grupo de mujeres voluntarias seleccionadas bajo ciertos criterios de inclusión utilizando el equipo CutometerMPA580.

La investigación de las propiedades antioxidantes de las plantas lleva décadas marcando un crecimiento sostenido. (Pastene, 2010). Los productos llamados “antioxidantes” han entrado con fuerza en el mercado cosmético.

Un número importante de productos obtenidos a partir de las plantas como aceites esenciales, alcaloides y polifenoles poseen efectos antioxidantes los cuales son evidenciados mediante ensayos in vitro e in vivo.

Considerando la gran biodiversidad de la región tropical, se busca encontrar nuevas alternativas en principios químicos naturales, entre ellos principios activos de especies vegetales nativas con beneficios comprobados para la piel en la formulación de productos cosméticos.

Además, se busca aprovechar la biodiversidad de nuestro país y darle valor agregado a las especies vegetales nativas, buscando nuevos usos e incentivando su producción a futuro en cosmética.

Nuestra pregunta de investigación es la siguiente:

¿El extracto seco de las hojas de “*Ficus citrifolia*” o “mata palo” puede ser considerado como materia prima en la elaboración de productos cosméticos por su eficacia cosmética demostrada mediante estudios “in vivo”?

1.2 JUSTIFICACIÓN

Las industrias farmacéutica y cosmética han desplegado grandes esfuerzos en la investigación científica de compuestos vegetales con actividad antioxidante. Según varios autores, entre ellos Gordon M.H. (2001) en sus publicaciones científicas, asocia los compuestos vegetales de naturaleza fenólica con la capacidad antioxidante.

Burlando (2010) complementa la asociación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante con el de ser agentes con propiedades dermatológicas que ayudan a reducir las señales de envejecimiento cutáneo, mejorando las condiciones de elasticidad y firmeza de la piel.

Los compuestos antioxidantes administrados en forma tópica son efectivos en el tratamiento del rejuvenecimiento de la piel porque neutralizan los efectos dañinos de los radicales libres antes de que éstos puedan adherirse a las membranas celulares y destruir las células. Los radicales libres contribuyen con el endurecimiento de las células de colágeno y elastina.

Los antioxidantes pueden ayudar a evitar las arrugas, promover una acción curativa de la piel, reducir los efectos perjudiciales de las influencias ambientales, daños por el sol, entre otros. (Garreta, 1990).

El presente trabajo intenta dar un uso cosmético al extracto seco de hojas de *Ficus citrifolia* partiendo del estudio realizado por la Universidad Politécnica Salesiana sobre la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso de las hojas de *Ficus citrifolia* por Aldana y Guayasamín. (2014). En el estudio se determinó que los extractos evaluados de *Ficus citrifolia* presentaron actividad antioxidante y presencia de polifenoles entre ellos los flavonoides. Así, los extractos de *Ficus citrifolia* en equivalentes de mg. fueron de 22,728 GAE/ml para el extracto alcohólico al 80%; y lo que resulta interesante del estudio mencionado es la presencia de un alto contenido de flavonoides comparados con los extractos del té verde, planta conocida por su alta capacidad antioxidante.

Con ésta base y conociendo la actividad antioxidante de las hojas de *Ficus citrifolia*, nuestro trabajo busca probar la eficacia cosmética “in vivo” de una emulsión formulada a partir del extracto seco de las hojas de *Ficus citrifolia* y su posible aplicación en formulaciones cosméticas para determinar la mejora de las cualidades cutáneas como: elasticidad, firmeza, luminosidad entre otras.

Los ensayos de eficacia “in vivo” son muy utilizados en formulaciones cosméticas con propiedades antioxidantes, por medio del empleo del equipo llamado “Cutometer MPA580”. Previo a los ensayos “in vivo” se requiere establecer los criterios de inclusión y exclusión para

la selección de las personas voluntarias, la frecuencia de aplicación de la formulación, el tiempo de evaluación y sistema de tabulación de resultados.

1.3 HIPÓTESIS

El extracto seco de hojas de "*Ficus citrifolia*" puede ser considerado como materia prima para la elaboración de productos cosméticos debido a la eficacia demostrada en los estudios "in vivo".

Ho: El extracto seco de hojas de "*Ficus citrifolia*" no puede ser considerado como materia prima para la elaboración de productos cosméticos debido a la poca efectividad cosmética de los estudios "in vivo".

1.4 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia cosmética "in vivo" de una emulsión formulada a partir del extracto seco de hojas de "*Ficus citrifolia*".

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener el extracto seco a partir del extracto alcohólico al 80% de las hojas de *Ficus citrifolia*.
2. Formular una emulsión con diferentes porcentajes de concentración (0,5, 1 y 2%) del extracto seco.

3. Realizar el estudio de eficacia cosmética en pruebas “in vivo” para evaluar la elasticidad y firmeza de la piel con el Cutometer MPA580.

CAPÍTULO II

EL MARCO TEÓRICO

2.1 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DE “*Ficus citrifolia*”

Los árboles de *Ficus citrifolia*, conocidos también como jagüey blanco o mata palo, tienen un follaje atractivo y una forma torcida y muy ramosa, presenta raíces adventicias que se enrollan alrededor de sus troncos. (Fig. 1)



Fig. 1 Árbol de *Ficus citrifolia*

Fuente: Miller, 1994

Ficus citrifolia produce una estructura llamada siconio, con muchas flores femeninas y masculinas minúsculas en sus paredes internas. Cada flor femenina produce una semilla. Los siconios o frutos aparecen solos o apareados en tallos cortos en los nudos de las hojas. Los frutos aparecen durante todo el año en gran cantidad.

Cada fruto contiene cientos de minúsculas semillas blanco amarillentas, las semillas germinan y las plántulas se desarrollan en horquillas y huecos en árboles y en las salientes rocosas.

Conocidas como hemiepífitas, las plantas utilizan al árbol huésped como soporte, obteniendo sus nutrientes de la lluvia y de la lixiviación de la copa y del tallo del huésped. Estas plántulas crecen lentamente mientras una delgada raíz adventicia se extiende hasta el suelo. Durante una etapa de "enredadera" que comienza después de que la raíz adventicia hace contacto con el suelo, la raíz adventicia se convierte en un tronco y el "Mata palo" comienza a crecer con mayor rapidez. La ocurrencia de las plantas es relativamente rara, pero se ve balanceada por una supervivencia relativamente alta después de que las plántulas avanzan a la etapa de enredadera.

El "Mata palo" es un árbol de tamaño mediano. Una de las características más resaltantes del jagüey blanco es la gran profusión de raíces adventicias. Estas raíces se forman en el tronco y en la parte inferior de la copa y descienden a lo largo del tronco envolviéndolo. A veces, las raíces adventicias cuelgan de la copa en capas densas.

A pesar de que la especie no tiene por lo usual contrafuertes significativos, las raíces laterales a menudo crecen sobre la superficie de los terrenos duros y rocosos a cierta distancia de los troncos de los árboles.

El jagüey blanco es intolerante a la sombra, necesitando de un ambiente soleado en medio de la copa de otros árboles y en salientes rocosas, acantilados y paredes de ladrillo o piedra para germinar y establecerse. Las raíces de los árboles de jagüey blanco epifíticos se engruesan y se unen para formar un tronco y junto con muchas raíces adventicias nuevas, pueden a veces estrangular al árbol huésped. Con mayor frecuencia, los árboles de jagüey blanco reemplazan gradualmente a los huéspedes a medida que éstos envejecen a través de la competencia y el sombreado.

El género *Ficus* tiene de 750 a 800 especies distribuidas a través de los Trópicos. El jagüey blanco es una especie variable (polimórfica) con una taxonomía incierta que se encuentra esparcido a través de un área extensa. Existe una gran cantidad de trabajo investigativo a efectuar tanto sobre el género como la especie. (Miller, 1994)

2.2 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Los límites y distribución natural de *Ficus citricolita* son problemáticos de establecer debido a la pobre definición de la especie. El genotipo que tipifica a *Ficus citricolita* crece desde el sur de la Florida y las Bahamas, a través de las Antillas Mayores y Menores. Varias poblaciones de *Ficus* spp. se encuentran en América Central y América del Sur en países como Costa Rica, Puerto Rico, México, Colombia, Ecuador, Venezuela, Perú, Bolivia, Paraguay y parte de Brasil. (Miller, 1994)

Ficus citrifolia crece en los bosques subtropicales secos con una precipitación de alrededor de 750 a 1000 mm por año. La especie es muy abundante en el bosque subtropical húmedo que recibe una precipitación anual de 1000 a 2000 mm por año. *Ficus citrifolia* se encuentra en la Región Amazónica Ecuatoriana en medio de una exuberante vegetación. Así mismo en la Región noroccidente de la Provincia de Pichincha en Ecuador podemos encontrar *Ficus citrifolia*, en los bosques tropicales de Nono, Nanegalito, Gualea y Pacto, que se caracterizan por una gran variedad de flora y fauna. (Meli, 2003)

2.3 USOS MEDICINALES

Estudios últimos han demostrado que los extractos de muchas especies del género *Ficus* y en especial *Ficus citrifolia* tiene propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y analgésicas. Pueblos indígenas utilizaban la corteza para tratar heridas. Sin embargo es bien conocido que la

savia lechosa producida por las plantas del género ficus puede causar una erupción cutánea o irritación. (Andreu, 2013)

A. Dugand-Caldas (1944) destaca en sus estudios especialmente en el género *Ficus glabrata* H.B.K. llamada como higuerón, por sus propiedades antihelmínticas para expeler los gusanos intestinales.

Hasta ahora parece que las especies *Ficus* consideradas “buenas” para uso medicinal pertenecen al subgénero “*Pharmacosyce*” en tanto que las *Urostigma* son generalmente poco estudiadas. Entre éstas últimas las hay que, según el vulgo tienen el látex demasiado “pegajoso” y otras como *F. pallida* Vahl, *F. Dendrociada* H.B.K., y en general todos los *Ficus* “estranguladores” llamados comúnmente “matapalos”, según Dugand el vulgo los conoce como tóxicos.

Rotman (1987) menciona que la “leche de higuerón” tiene aplicación según la farmacopea popular en el tratamiento de verrugas en manos y pies. La gente aprovecha los higos de las plantas del género *Ficus carica* en un jarabe por sus propiedades de laxante.

2.4 RADICALES LIBRES Y MECANISMOS DE PROTECCIÓN

Desde el punto de vista químico, los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo que les da una configuración espacial generando gran inestabilidad, son muy reactivos, tienen una vida media corta. Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas ubicuitarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel

microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo) al interactuar con las principales biomoléculas del organismo.

No obstante lo expresado anteriormente, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de participar en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno, y la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis.

Existe un término que incluye a los radicales libres y a otras especies no radicalices, pero que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de los agentes pro oxidantes y son las especies reactivas del oxígeno (EROS). (Gutiérrez, 2002)

Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son intrínsecamente deletéreos; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus.

Estas acciones se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo, proceso que debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante. Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones, los que son captados por los radicales libres. El problema para la salud se produce cuando nuestro organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, producidos mayormente por contaminantes externos, que provienen principalmente de la contaminación atmosférica y el humo de cigarrillos, los que producen distintos tipos de radicales libres en

nuestro organismo. El consumo de aceites vegetales hidrogenados tales como la margarina y el consumo de ácidos grasos trans como los de las grasas de la carne y de la leche también contribuyen al aumento de los radicales libres (Avello y Suwalsky, 2006).

El oxígeno es una molécula básicamente oxidante, hasta el punto que en las células que lo utilizan para su metabolismo es el principal responsable de la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO). Sin embargo, no todas las especies oxidantes tienen un origen endógeno; la existencia de factores exógenos, como la radiación solar, toxinas fúngicas, pesticidas o xenobióticos, pueden incrementar su nivel. En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del oxígeno (O_2) con la formación de agua sin formación de intermediarios tóxicos, mientras que un pequeño porcentaje (en torno al 5%) forman tres intermediarios altamente tóxicos, dos de los cuales son literalmente radicales libres (el anión superóxido y el hidroxilo). En situaciones en las que exista una mayor actividad metabólica (etapas del crecimiento, desarrollos activos o procesos inflamatorios) ocurre una mayor demanda tisular de O_2 y parte de él se metaboliza, generándose un alto número de sustancias oxidantes.

La segunda gran fuente de especies reactivas de oxígeno también es endógena y está constituida por el metabolismo de las células defensivas tales como los polimorfos nucleares, los monocitos sensibilizados, los macrófagos y los eosinófilos. Para que éstas puedan cumplir su misión, están dotadas de diversas proteínas así como de vías metabólicas que generan varias especies químicamente agresivas como peróxido de hidrógeno, radicales superóxido e hidroxilo, cuyo fin último es lesionar y destruir elementos extraños. En condiciones normales estas especies reactivas son producidas y utilizadas en compartimentos celulares como los lisosomas que, aunque en el interior de los fagocitos, no tienen por qué dañar a las células siempre y cuando los mecanismos antioxidantes de éstas funcionen adecuadamente.

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar interactúan más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente -membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular . Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen. (Gutiérrez, 2002)

2.5 ESTUDIOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL GÉNERO FICUS

En investigaciones anteriores realizadas en plantas del género *Ficus* se determinó que la corteza de la planta *Ficus amplissima Smith* contiene fenoles, taninos y flavonoides en el extracto de acetona, mostrando también actividad antioxidante. (Rajan 2012). En otra investigación se encontró también que el fruto de higo (*Ficus carica*) tiene propiedad antioxidante elevada. (Solomon A, 2006).

En el estudio realizado recientemente por los autores Aldana C. – Guayasamín L.(2014), se determinó por medio de los ensayos de DPPH (Método 2,2-difenil-picrilhidracilo) y ABTS (método ácido 2,2'-azinobis-(3etibenzotiazolín-6-sulfónico) que los extractos alcohólicos utilizados presentaron mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso de *F. citrifolia*, obteniendo valores IC₅₀ muy cercanos a aquellos obtenidos con el extracto alcohólico al 50% de té verde que es la planta referencial dado su elevado poder antioxidante. También se cuantificó los fenoles y flavonoides totales. (Aldana-Guayasamín 2014).

2.6 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS Y FLAVONOIDES

Químicamente los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello, la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es la forma de glicósidos, siendo solubles en agua y en solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: D-glucosa, D-galactosa, D-arabinosa, L-ramnosa, D-xilosa y ácidos D-glucorónico y D-galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos, y a otros compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica, describiéndose a continuación aquellas con mayor interés:

a) Fenoles, ácidos fenólicos y fenil acéticos:

Dentro de este grupo se encuentran el fenol, cresol, timol y resorcinol distribuidos en todas las especies vegetales. Igualmente los ácidos fenólicos tales como el gálico, vainílico, p-hidroxibenzoico, y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos.

b) Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles:

Los ácidos cinámicos (caféico, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general están presentes en forma de derivados.

Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido, mientras que los cromonoles son menos conocidos, y se forman a partir de las antocianidinas ante incrementos del pH del medio.

c) Lignanos y neolignanos:

Son metabolitos de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de p-hidroxifenilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno. Son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y 10 alilbenceno. El término lignano se aplica cuando el compuesto está formado a partir de aniones entre el ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano.

d) Taninos:

Son compuestos fenólicos que contienen un gran número de grupos hidroxilo, entre otros grupos funcionales, siendo por tanto capaces de unirse a proteínas y a otras moléculas.

e) Flavonoides:

Constituyen el grupo más importante dentro de esta clasificación dividiéndose en varias subclases con más de 5,000 compuestos, siendo los polifenoles mas distribuidos en las plantas. Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común difenilpiranos; dos anillos bencenos unidos a través de un anillo pironao piran heterocíclico. **(fig.2)**. Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, chalconas, dihidrochalconas, antocianidinas, leucoantocianidinas, proantocianidinas o taninos condensados. (Mendoza, 2011)

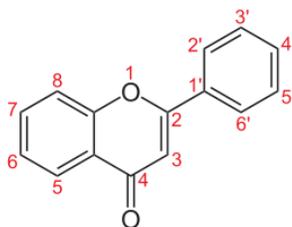


Figura 2. Estructura base de los flavonoides

Fuente: Mendoza, 2011

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes como sustancias químicas, contaminación ambiental, radiación ultravioleta. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse de la alimentación.

Los flavonoides se encuentran en frutas y vegetales, contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilofenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que le confiere una gran capacidad antioxidante. Por lo tanto desempeñan un papel esencial frente a fenómenos de daño oxidativo.

2.7 LOS ANTIOXIDANTES VEGETALES

En los últimos años, se ha prestado gran atención a las propiedades antioxidantes de frutos y vegetales, considerando que poseen efectos beneficiosos para la salud.

Los compuestos antioxidantes son esencialmente importantes para los seres vivos porque tienen la capacidad de proteger a las células contra el daño oxidativo de los radicales libres, cumpliendo

un rol preventivo en el desarrollo del envejecimiento y ciertas enfermedades. Por otra parte, los antioxidantes de origen natural actúan como factores de preservación en los alimentos.

La capacidad antioxidante de frutas y verduras se debe principalmente a la presencia de ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides, antocianinas, flavonoles, flavonoides, entre otros, cuyos contenidos son dependientes de las condiciones agronómicas y ambientales de los cultivos. Durante el tratamiento térmico de los vegetales se producen cambios en los contenidos de estos compuestos, lo que afectaría su capacidad antioxidante natural.

2.8 BENEFICIOS DE LOS ANTIOXIDANTES EN LA PIEL

La piel es uno de los órganos más grandes de la anatomía humana, llega a medir y pesar entre 170-200 cm² y 15-17 kg, respectivamente. Tiene como función principal proteger los órganos internos del cuerpo contra los efectos nocivos provocados por agentes oxidantes exógenos. (Nichols, Katiyar.2010). Cada capa que la componen (epidermis, dermis e hipodermis) tiene funciones específicas que regulan los efectos adversos causados por los radicales libres. A estos efectos se le conoce como envejecimiento cutáneo, definido como “acumulación de moléculas dañinas a través del tiempo” (Giacomoni, 2008) y que está estrechamente relacionada con las condiciones de vida del individuo.

Durante el proceso de envejecimiento cutáneo se produce un deterioro de funciones biológicas propias de la piel, lo que se traduce en una menor capacidad de adaptación al daño ambiental, generación de radicales libres y la exposición continua a radiaciones solares. Debido a los factores mencionados, la piel se torna más fina, pálida, redundante y aparecen arrugas. (Santos 2013).

Durante los últimos años se han desplegado un gran número de investigaciones de formulaciones cosméticas antioxidantes que logran reducir los procesos oxidativos que se desarrollan en la piel.

Las reacciones químicas de los radicales libres se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo y son necesarias para nuestra salud, pero el proceso debe ser controlado por una adecuada protección antioxidante. Entre los antioxidantes usados en las formulaciones “antiage” o antiarrugas están principalmente los compuestos vegetales ricos en flavonoides, entre éstos, los polifenoles y antocianinas. (MosqueraT. y otros, 2012).

2.9 COSMÉTICOS ANTIOXIDANTES

Los cosméticos se definen como: 1) artículos destinados a ser frotados, vertidos, rociados o aplicados, que se utilizan en cualquier parte del cuerpo humano con la finalidad de limpiar, embellecer, promover la atracción o alterar la apariencia y 2) compuestos destinados para su uso como un componente en la formulación de tales artículos (Zhang y Falla, 2009). Con ellos se busca contrarrestar o prevenir los efectos adversos sufridos en la piel debido a la exposición prolongada a los rayos solares y a la exposición de radicales libres productos del metabolismo celular, lo que desencadena diversas patologías que van desde superficiales hasta las más complejas (Bissett. 2009).

Muchos estudios han comprobado que el envejecimiento de la piel no es sólo resultado de la edad sino también a la exposición a distintos elementos del ambiente como luz UV, humo, contaminación que causan la formación de oxi-radicales que atacan las capas de colágeno de la piel, debilitándola y causando la aparición de arrugas.

La industria cosmética ha desplegado gran cantidad de recursos en investigaciones para la búsqueda de principios activos antioxidantes naturales que actúen en la protección de la piel contra los daños causados por los radicales libres inducidos por radiación UV y en la estimulación de la producción del colágeno, proteína esencial para mejorar el tono y elasticidad de la piel.

A partir de la bibliografía consultada se destaca la utilización de muchos ingredientes activos antioxidantes como los que se detalla a continuación:

Formulaciones que contengan ácido L-ascórbico (10-12%); única forma de vitamina C biocompatible con la piel para uso cosmético. (Darr D. 1996)

Formulaciones con vitamina E, éste es un poderoso antioxidante natural ya que reacciona con los radicales libres que se generan en la fase lipídica protegiendo a los lípidos de las membranas también desempeña una función fisicoquímica en el ordenamiento de las membranas lipídicas, estabilizando las membranas. Otras formulaciones a base de vitamina A, también actúa en la fase lipídica atrapando los radicales libres y protegiéndolo de la oxidación a las sustancias liposolubles.

Sistemas que contrarrestan el proceso de envejecimiento de la piel está el empleo de sistemas antioxidantes endógenos: superóxidodismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx), junto con formulaciones cosméticas con el empleo de antioxidantes exógenos: vitamina E (α -tocoferol), precursores de la vitamina A (β -carotenos), vitamina C (ácido ascórbico), coenzima Q10 (ubiquinona) y glutatión reducido (GSH), entre muchos otros. (Matés, 2000)

2.10 EVALUACIÓN DE LA EFICACIA COSMÉTICA

Los estudios de eficacia cosmética son de gran importancia al momento de evaluar el grado de acción de determinado principio activo en un cosmético al ser aplicado en la piel. En los últimos tiempos se han incrementado el empleo de test clínicos e instrumentales que valoran la eficacia de los cosméticos, cuyos resultados son determinantes en las cualidades atribuidas al producto. Para la evaluación de los parámetros biológicos en la eficacia cosmética de determinados principios activos se emplean dispositivos conocidos como MENI (Métodos de Exploración No Invasivos), empleados en centros de investigación de alto nivel científico en Europa regidos por normas internacionales designadas por la EEMCO (EEMCO, 1999).

Los métodos biofísicos de exploración no invasivos o también llamados métodos de bioingeniería han sido ampliamente desarrollados en las últimas décadas para caracterizar la estructura de la piel y sus propiedades fisiológicas. Entre las propiedades cutáneas que pueden ser testeadas con éstos métodos no invasivos a la piel son: la topografía de la piel, la pérdida transepidérmica del agua, la hidratación, la elasticidad de la piel, la función de barrera, renovación celular, el grosor de la piel, entre otros. (Rogiers V, 1999)

Entre los equipos de bioingeniería cutánea no invasivos empleados en los centros de investigación tenemos: el Corneometer CM825, Tewameter TM 300, Cutometer CM 580 y el Visioscan VC98.

Los estudios de eficacia cosmética, son estudios “*in vivo*” con análisis clínico e instrumental, dirigido a investigar la evolución de determinada característica de la piel en determinado período de tiempo cuyos resultados conducen de orientación preliminar para predecir los efectos de determinada sustancia en la piel humana.

Uno de los factores que para nuestro estudio es de especial interés es el comportamiento viscoelástico de la piel humana “*in vivo*”. El comportamiento viscoelástico es un indicador de

una buena condición cutánea con referencia a su organización funcional. Y a la vez de eficacia cosmética para determinado principio activo al momento de evaluar su acción según la formulación en la piel humana luego de la aplicación de productos cosméticos.

La piel es un órgano complejo que presenta propiedades conocidas como la “viscoelasticidad”, por tener propiedades elásticas y viscosas. Desde el punto de vista fisiológico, las características biomecánicas de la piel *in vivo* son indicadores morfofuncionales muy importantes.

Son conocidos algunos de los factores que las afectan como edad, género, raza, lugar anatómico, así como diversos factores que comprometen su mantenimiento, como es el caso de la radiación UV responsable del llamado envejecimiento precoz fotoinducido.

Desde el punto de vista fisiológico el comportamiento viscoelástico de la piel es principalmente atribuido a las fibras de colágeno y elastina presentes en la dermis; el colágeno dérmico es frecuentemente identificado como el determinante principal de la viscoelasticidad global de la piel; sin embargo, los tejidos conjuntivos de soporte y las capas más superficiales de la piel también contribuyen a las propiedades reológicas conocidas.

Se debe observar que gran parte de las formulaciones dermatológicas utilizadas para el restablecimiento de la fisiología cutánea normal, incluyen como beneficio la mejoría del comportamiento viscoelástico de la piel, a pesar de ser aplicadas en la epidermis superficial.

Uno de los métodos más utilizados para la cuantificación de estas variables *in vivo*, de naturaleza no invasiva es el llamado “*método de succión*” que se basa en la aplicación de una presión negativa, ejercida en un plano perpendicular a la superficie de la piel y estas mediciones se realizan con el “Cutometer”.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La recolección de las hojas de la planta “mata palo” – “*Ficus citrifolia*” se realizó en la zona de Tulipe, Provincia de Pichincha, Cantón Quito, Parroquia Guala con una altitud de 1.887 metros sobre el nivel del mar y una latitud de 0.083333. Se realizó el reconocimiento taxonómico de la planta con la ayuda de un experto de la zona y posteriormente se realizó la identificación botánica en el herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. (Anexo1)

Las hojas recolectadas fueron limpiadas y posteriormente secadas en una estufa (Cámara con control de humedad, marca Blinder, modelo KBF240, serie No. 11-04331 a 40°C, temperatura que no afecta al principio activo y luego molidas finamente. (Fig 3-4)



Fig. 3 Hojas de *Ficus citrifolia*

Fuente: Guarderas, Robalino, 2015



Fig. 4 Hojas de *Ficus citrifolia* molidas

Fuente: Guarderas, Robalino, 2015

3.2 ELABORACIÓN DE LOS EXTRACTOS SECOS

Se realizó 4 percolaciones para lo cual se colocó en cada percolador 250 g de muestra (Balanza analítica marca Denver Instrument Company, modelo: TR-204-serie T135456) con 1000 ml de etanol al 80%. Primero se colocó 5 ml de etanol para que la muestra se humedezca por 30 minutos, después se hizo un primer lavado de la muestra con etanol, después se volvió a colocar el solvente y se dejó percolando por 48 horas en ausencia de luz. (Fig. 5)



Fig. 5 Percolaciones

Fuente: Guarderas, Robalino, 2015

Se recolectaron los percolados de cada muestra de hojas y se evaporaron en el rotavapor hasta 50 ml (Fig. 6), a posterior se preservó en refrigeración y en ausencia de luz.



Fig.6 Evaporación en el rotavapor

Fuente: Guarderas, Robalino, 2015

Los extractos fluidos se los colocaron en recipientes de superficie plana dentro de estufas a 40°C, temperatura a la cual no descompone los principios activos de la muestra, el secado se realizó por 48 horas para obtener por raspado el extracto seco de *Ficus citrifolia*.(Fig. 7)



Fig. 7 Extracto seco

Fuente: Guarderas, Robalino, 2015

Una vez obtenidos los extractos secos se deben obtener el porcentaje de rendimiento de cada muestra y el rendimiento medio para sacar la desviación estándar. La fórmula empleada para obtener el porcentaje fue la siguiente:

$$\% \text{ Peso de extracto seco} = \frac{\text{Peso muestra seca (g)}}{250} \times 100$$

3.3 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN EL EXTRACTO

Cuantificación de fenoles totales

La determinación de fenoles totales no está directamente relacionada con la medición de actividad antioxidante, pero puede ser útil para tales estudios, en especial si se combinan con métodos para medir actividad antioxidante (Roginsky V., 2005)

Dentro de las técnicas analíticas para la cuantificación y/o identificación de compuestos fenólicos se encuentran las técnicas cromatográficas como son la cromatografía de capa fina (TCL), la cromatografía de gases (CG) y la de líquidos de alta resolución (HPLC) (Escarpa A., González, M. 2001), y también se encuentran las técnicas espectrofotométricas (Martínez-Valverde I., 2000)

Determinación de fenoles totales (Método de Folin-Ciocalteu)

Equipos

- Equipo de reflujo
- Espectrofotómetro (marca Shimadzu, modelo: UVmini 1240)
- Celdas de vidrio

Reactivos

- Tungstato de sodio deshidratado
- Ácido fosfomolibdico
- Carbonato de sodio deshidratado
- Ácido gálico

Materiales e insumos

- Matraz de Erlenmeyer

- Zaranda
- Embudo
- Papel filtro
- Pipeta de 5 ml
- Matraz aforado a 50ml
- Frascos de 5ml
- Micro pipetas de 100 μ L.

Procedimiento

Preparación del reactivo de Folin-Ciocalteu:

Se disolvió 10g de tungstato de sodio deshidratado, 0,2g de ácido fosfomolibdico y 5ml de ácido fosfórico al 85% en 75ml de agua destilada, se reflujo la solución por dos horas y después se completó a 100ml con agua.

Curva de Calibración:

1. Realizamos 10ml de soluciones ácido gálico (0,1mg, 0,2mg, 0,5mg, 1mg y 2mg por ml de etanol al 96%)
2. Se toman seis frascos de 5ml y colocar 0,05ml de las soluciones en cada uno así:

Tabla1. Curva de calibración para fenoles totales

# Frasco	Muestra	Agua destilada	Reactivo de Folin-Ciocalteu
Blanco	-----	4ml	0,25 ml
Estándar	0,05ml	3,95ml	0,25ml
Extracto de <i>F. citrifolia</i>	0,5	3,5	0,25

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

Se esperan dos minutos y se agrega 0,75ml de Na_2CO_3 al 20% y se deja reposar en oscuridad y a temperatura ambiente durante dos horas y luego se lleva al espectrofotómetro y se mide la absorbancia a 765nm.

Una vez generada se realizó el mismo procedimiento de la tabla pero con la muestra. Ésta última se disolvió en etanol al 96% con una relación 1/10. El cálculo de los fenoles totales se realizó mediante la ecuación generada por regresión lineal de la curva de calibración.

3.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DE “*Ficus citrifolia*”

Método DPPH

Equipos:

- Balanza analítica
- Espectrofotómetro (marca:Shimadzu, modelo: UV mini1240),

Reactivos:

- Radical DPPH, etanol 96°

Materiales e insumos:

- 2 balones aforados de 10ml
- 1 balón aforado de 100ml
- 21 frascos ámbar de 5ml
- 2 frascos ámbar de 10ml
- 1 frasco ámbar de 250ml
- Zaranda
- Extracto fluido de la planta de interés
- Micropipetas de 1-3000 μL . con varias puntas

- Papel aluminio
- Celdas de vidrio

Procedimiento

Preparación del reactivo DPPH

-Se prepara una solución 0,5mM de DPPH en etanol al 96% (Se pesa 49 mg de DPPH y se afora a 250ml con alcohol en la oscuridad), se coloca en un frasco ámbar y se mantiene en refrigeración hasta el momento del ensayo.

-Se toma 1ml del extracto fluido del material vegetal de interés y se afora a 10ml con etanol al 96%. Se hace lo mismo con la vitamina C, como referente, pero tomando 0,100ml de vitamina C y aforar a 10ml.

- Se preparó una solución 1000 ppm de ácido ascórbico.
- Encendimos el espectrofotómetro y programamos la longitud de onda a 517 nm.
- Enceramos el espectrofotómetro con etanol al 96%
- Tomamos los frascos ámbar y preparamos las muestras de vitamina C y extractos de *Ficus citrifolia*.

Tabla2.Método de diluciones DPPH

Lecturas del antirradical DPPH - Muestra

Frascos	Muestra	DPPH	Etanol 96%
Blanco	----	2,9ml	100
#1	1 µL	2,9ml	99 µL
#2	2 µL	2,9ml	98 µL

#3	5 µL	2,9ml	95 µL
#4	10 µL	2,9ml	90 µL
#5	20 µL	2,9ml	80 µL
#6	50 µL	2,9ml	50 µL
#7	80 µL	2,9ml	20 µL

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

-Se colocaron los frascos dentro de un vaso de precipitación y se lo dejó agitar a 200rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente.

- Se midió la absorbancia de los frascos comenzando por el blanco y luego los otros en forma ascendente. (Fig. 8)

El porcentaje de inhibición se calculó mediante la fórmula:

Ecuación: Porcentaje de inhibición del radical DPPH

$$\% \text{ Inhibición} = 1 - \frac{AA}{AB} \times 100$$

(Fuente: Scartezzini, 2006)

Dónde:

AA Representa la absorbancia de DPPH con el extracto y el AB representa la absorbancia de DPPH sin el extracto.

Se construyó un gráfico de % de inhibición vs. la concentración. La actividad antioxidante se expresa como una concentración IC₅₀ en µg/mL, que se requiere para el 50% de inhibición del radical DPPH.



Figura 8. Lecturas en el espectrofotómetro

Fuente: Guarderas, Robalino, 2015

3.5 FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN

Los extractos alcohólicos de *Ficus citrifolia* se dejaron evaporar en estufa a 40°C por 48 horas (temperatura en la cual no se descompone la muestra) se procedió a retirar el residuo seco, con lo que se obtuvo un polvo fino (extracto seco), con el que se formuló las cremas.

La fórmula cosmética seleccionada pertenece a las emulsiones, una emulsión es una mezcla de dos líquidos inmiscibles de manera más o menos homogénea, los cuales unidos por un emulsificante, emulsionante o emulgente. Un líquido (fase dispersa) es dispersado en otro (la fase continua o fase dispersante) (Martini, 2005).

En la formulación de la emulsión se utilizó Crodabase CR2; la información del proveedor indica que Crodabase CR2 contiene: Cetearyl Alcohol, Cetearth 20, Aceite mineral, alcohol lanolínico y Petrolato. (ANEXO 4: Ficha técnica de Crodabase CR2)

La “**Crodabase CR2**” es una base concentrada desarrollada a través de cuidadosos estudios para que de forma sencilla por una adición de agua se obtenga cremas y lociones de la más alta calidad y con una apariencia especial. La Crodabase CR2 es una materia prima compuesta de emulsionantes no iónicos, alcoholes grasos y emolientes beneficiando así a la preparación de

formulaciones simples, atractivas, aumentando la eficiencia y reduce las concentraciones para una fórmula estable.

Entre las propiedades de la Crodabase CR2 están:

- Tiene la capacidad de formar emulsiones altamente estables tipo O/A para preparar cremas o lociones.
- La característica y naturaleza diversificada de sus componentes resultan en productos con propiedades cosméticas humectantes, emolientes e hidratantes.
- Es de fácil manipulación, preparación y reduce el tiempo de proceso.
- Es una emulsión que puede ser formulada con otros productos para incrementar sus propiedades cosméticas.

3.5.1. Proceso de preparación o manufactura

- a. Fundición de la Crodabase a 80°C
- b. Introducción lenta y con agitación del agua destilada a la fase oleosa a la misma temperatura. Se utilizó el agitador mecánico “Turboemulsor”.
- c. Integración del preservante “Phenova” al 0,8%. La norma INEN 2867(ISO2013) especifica que éste preservante va en concentración de 0,8% a 1%.
- d. Enfriamiento se realiza con agitación mecánica lenta.
- e. Se dejó reposar y se envasó en recipientes blancos y de cierre hermético.

Muestras

Se elaboraron dos formulaciones, colocando en cada una porcentajes de 0.5 y 1% de principio activo. Se formula además una crema con la misma base sin activo considerado como testigo o blanco. La concentración al 2% no se emulsionó. (**Fig. 9**)

Tabla 3. Identificación de las formulaciones

Código	Concentración Activo “<i>Ficus citrifolia</i>”
Cod001	0,5
Cod002	1
Cod003	0

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

La composición de la emulsión:

Crodabase CR2 (18-25%)

Phenova (0,8-1%)

Agua (81-74%)

Tabla 4. Composición de la emulsión en las tres concentraciones

Composición	Crema Placebo	Crema 0,5% P.A. <i>F. citrifolia</i>	Crema 1% P.A. <i>F. citrifolia</i>
Crodabase CR2	120 g	120 g	120 g
Phenova	4.8 g	4.8 g	4.8 g
Principio Activo	0	3 g	6 g
Agua destilada	475.2 g	472.2 g	469.2 g

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

En donde P.A.= principio activo extracto seco *F. citrifolia*



Fig 9 Preparación de la emulsión diferentes concentraciones de principio activo

Fuente: Guarderas, Robalino, 2015

3.5.2. Selección de voluntarias

Se seleccionaron 18 mujeres para realizar los estudios de eficacia cosmética “in vivo”.

Las edades estaban comprendidas entre 20 a 50 años. Todas las participantes fueron informadas del objetivo del estudio y dieron su consentimiento por escrito previo a comenzar el testeo. Cada panelista leyó, entendió y firmó el formulario de aceptación y recibió el protocolo de aplicación de la crema. (Anexo N°2-3)

Las voluntarias debían colocarse la crema sobre la piel limpia y sin aplicarse otro tipo de producto cosmético en la zona. La aplicación fue únicamente en las noches con suaves masajes hasta total absorción y evitar la exposición al sol.

Áreas de aplicación de la crema

La zona de aplicación de la crema se aplicó de la siguiente manera:

Tabla 5. Áreas de aplicación de la emulsión

Código	Concentración % P.A. (principio activo)	Área de aplicación
Cod. 001	0,5	Hombro derecho
Cod. 002	1	Hombro izquierdo
Cod. 003	0	Área interna antebrazo

Elaborado por Esperanza Robalino y Ma Susana Guarderas

Entre los aspectos que se consideraron en el presente estudio fueron: rango de edad, sexo, tipo de piel, voluntarias que no tengan tratamientos con medicamentos y se excluyó voluntarias que se exponen al sol en sus actividades y presencia de dermatitis.

Se formaron dos grupos de voluntarias, el primer grupo está comprendido de mujeres de 20 a 35 años de edad y el segundo grupo lo conforman mujeres de 35 años de edad a 50 años de edad.

Antes de iniciar con la aplicación de la crema se realizó un test visual del tipo de piel de cada voluntaria en base a cuatro aspectos como son la presencia de brillo, comedones, resequedad, poros abiertos y la autodefinition del tipo de piel de cada panelista. Así se clasificaron tres grupos de tres voluntarias para piel seca, normal y piel grasa en cada rango de edad.

De ésta forma se consideraron tres aspectos en la investigación:

- a. Edad.- Primer grupo (20-35 años de edad) y segundo grupo (de 35 a 50 años edad)
- b. Tipo de piel.- Piel normal, seca y grasa
- c. Concentración del principio activo.- Placebo, al 0,5%P.A. y al 1 %P.A. (P.A.= principio activo)

Tabla 6. Distribución de datos y variables en la colección de datos

Tiempo	EDAD	Tipo de piel	Individuo	Zona	R0	R1	R2
CERO	A	G	A	PLACEBO	0,291	0,038	0,8694
CERO	A	G	A	PLACEBO	0,334	0,037	0,8892
CERO	A	G	A	PLACEBO	0,26	0,029	0,8885
CERO	A	G	A	PLACEBO	0,341	0,045	0,868
CERO	A	G	A	ALTA	0,232	0,031	0,8664

Elaborado por Esperanza Robalino y Ma Susana Guarderas

R0: mide la firmeza de la piel

R1: indicador de la firmeza de la piel (punto máximo en la curva)

R2: mide la elasticidad de la piel

3.5.3. Criterios de inclusión

Entre los parámetros iniciales a tener en cuenta para escoger las panelistas fue el rango de edad (20 a 50 años), el tipo de piel y los criterios de inclusión y exclusión específicos para este estudio.

En la práctica habitual para valorar un producto cosmético sobre pieles sensibles destinado al público en general, se siguen los siguientes parámetros: (Carbajo, 2010)

A) Criterios de inclusión

- Estado de salud: ausencia de enfermedad aguda durante el estudio.
- Ausencia de cualquier enfermedad visible en la piel que pueda ser confundida con una reacción cutánea causada por el producto estudiado.
- Firma y entendimiento de la aceptación de la "Carta de consentimiento".
- Capacidad y confiabilidad para seguir las instrucciones impartidas

B) Criterios de exclusión

- Voluntarios que no cumplen los criterios anteriores.
- Se excluyen voluntarios con dermatitis de contacto, psoriasis, eccema u otro tipo de erupción en cualquier sitio de la piel.
- Embarazadas y madres lactantes.
- Panelistas con auto-reconocimiento de piel sensible.
- Si presenta diabetes y está tomando insulina.
- Si presenta asma severo o algún tipo de alergia respiratoria que requiere de una terapia frecuente o administración de medicamentos.

A posterior se escogió al azar un grupo de 6 voluntarias a quienes se les realizó pruebas de irritabilidad, considerando que un 30% del universo del valor total es significativo para la prueba de irritabilidad, por tanto se escogió es 33% que equivale a 6 personas de un universo de 18 voluntarias.

Luego se procedió a la determinación de la viscoelasticidad de la piel utilizando el Cutometer MPA 580, en el antebrazo derecho y en el hombro derecho e izquierdo.

3.5.4 Pruebas de Irritabilidad

La reglamentación europea (76/768/EEC) y su sexta enmienda (93/35/EEC) obliga a cualquier producto cosmético que se ponga en el mercado dentro de la Unión Europea no debe causar daño a la salud humana. Consecuentemente, deben validarse los métodos para reemplazar el testado de los productos sobre los animales para así ofrecer a los consumidores un nivel equivalente de protección.

La mayoría de materias primas empleadas en los productos cosméticos son absolutamente inocuas en base al uso reiterado por los consumidores durante muchas décadas. Para estudios de eficacia cosmética “in vivo” se recomienda realizar pruebas de irritabilidad como las siguientes:

Reacciones inmediatas:

Los resultados positivos de estas pruebas consisten en la aparición inmediata, entre 20 minutos y 1 hora de reacciones urticariosas y/o vesiculosus donde se aplicó la prueba. Se deposita la sustancia a analizar con un suave masaje sobre la parte anterior / superior del antebrazo y se valora la respuesta en 20 minutos.

Reacciones retardadas:

Patch test: Los parches se colocan en la espalda y/o en la parte interna / superior del antebrazo de los voluntarios con las sustancias en una cámara oclusiva. Los parches se retiran a las 48 horas y se valoran una hora después.

La no aparición de lesiones inflamatorias cutáneas determina la compatibilidad cutánea.

Entre los síntomas que se pueden presentar si hay reacción cutánea son tirantez, quemazón, picor y escozor después de la aplicación de una pequeña cantidad de la crema.

Para la presente investigación se seleccionó al azar un grupo de 6 voluntarias a quienes se les realizó pruebas de irritabilidad por reacciones inmediatas para determinar si nuestra emulsión generaba algún tipo de reacción en la piel.

3.6 EVALUACIÓN DE EFICACIA COSMÉTICA POR ESTUDIOS “In Vivo”

Los ensayos de eficacia “in vivo” se los realiza mediante aplicaciones tópicas diarias de la formulación en personas voluntarias para evaluar al final de un periodo de uso las características cutáneas resultantes mediante el empleo de equipos de análisis dermatológico.

En el presente trabajo se evaluará la elasticidad y firmeza con el equipo Cutometer MPA580 (**Fig. 10**) al inicio del estudio y después de 21 días de aplicación diaria. Las voluntarias deberán usar el producto de estudio únicamente en el período de análisis y evitar la exposición al sol de la zona evaluada la actividad antioxidante tiene relación directa con las cualidades de la piel como elasticidad y firmeza es decir con productos anti-age para mejorar las cualidades de la piel.



Fig 10. Cutometer MPA 580

Fuente: Guarderas, Robalino 2015

Los métodos “In vivo” no invasivos se realizan de acuerdo a la recomendación y guías que establece el “The European Expert Group of Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Topical Applied Products” EEMCO, organismo internacional que contribuye con la padronización de métodos y tecnologías para una normalización de resultados. EEMCO tiene competencias en el campo de la evaluación instrumental de productos cosméticos. (Chapilliquén Llerena, 2006)

Los productos cosméticos cuando han demostrado tener ingredientes seguros, son aplicados sobre pacientes con buena salud y sin patologías.

Una de las variables de determinación de eficacia cosmética es la propiedad de elasticidad de la piel en la que se evalúa las propiedades elásticas y visco elásticas que posee utilizando un Cutometer, considerando también, las influencias ambientales como temperatura y humedad.

El comportamiento visco elástico de la piel in vivo es un importante indicador de la condición cutánea con referencia a su organización funcional.

Desde el punto de vista fisiológico, las características biomecánicas de la piel in vivo son indicadores morfofuncionales muy importantes. (Chapilliquén Llerena, 2006)

El principio de medición del Cutometer se basa en el método de succión. El aparato crea presión negativa y la piel es arrastrada hasta la apertura de la sonda. En el interior de la sonda se mide la profundidad de penetración mediante un sistema de medición óptica sin contacto. Este consiste en una fuente de luz, así como en dos prismas situados uno junto al otro, que proyectan la luz desde el emisor hasta el receptor. La intensidad de la luz varía debido a la profundidad de penetración en la piel. La resistencia de la piel a la absorción por la presión negativa (firmeza) se muestra en forma de curvas al final de cada medición. En el análisis se evalúa el aumento o disminución de los parámetros con respecto al control basal. El dispositivo de medición del Cutometer contiene una sonda cuyo diseño permite realizar mediciones en zonas de la piel que normalmente resultarían de difícil acceso. La sonda contiene un resorte elástico que garantiza una presión constante de la sonda sobre la piel. Así mismo la sonda puede fijarse a la zona de la piel objeto de la medición, mediante adhesivos. (Chapilliquén Llerena, 2006).

3.7 EVALUACIÓN DE LA VISCOELASTICIDAD CON EL CUTOMETER 580 ®

En la evaluación instrumental se empleó el CUTOMETER MPA580, un equipo que puede visualizar las modificaciones en la elasticidad y firmeza de la piel. Las evaluaciones fueron realizadas al inicio y al final del estudio.

Se entiende por firmeza de la piel a la estabilidad en el mantenimiento de sus características que le permiten mantener su resistencia y estructura. Y por elasticidad a un parámetro de viscoelásticidad que varía en gran medida a lo largo del proceso de envejecimiento o por el efecto de diferentes dolencias cutáneas. (Courage, Khazaka, 2000)

Durante muchos años las mediciones de elasticidad con el Cutometer 580 ® han sido reconocidas como estándar en dermatología y cosmetología y se han utilizado para apoyar los últimos descubrimientos en ambos campos. Debido a su precisión y facilidad de uso en comparación con otros métodos de medición de la elasticidad, el Cutometer 580® se menciona en la mayoría de los estudios sobre este tema en todo el mundo. (Courage, Khazaka, 2000)

En la **figura 11**, se observa la medición de la viscoelasticidad en las pacientes durante el estudio realizado.



Fig. 11 Medición de la viscoelasticidad en las pacientes

Fuente: Guarderas, Robalino 2015

Este sistema óptico de medición consta de una fuente de luz y un receptor de luz, así como dos prismas uno frente al otro, que proyectan la luz desde el transmisor al receptor. La intensidad de la luz varía debido a la profundidad de penetración de la piel. La resistencia de la piel a la presión negativa (firmeza) y su capacidad de volver a su posición original (elasticidad) se muestran como (profundidad de penetración en mm/hora) curvas en tiempo real durante la medición. Este principio de medición permite obtener información sobre las propiedades elásticas y mecánicas de la superficie de la piel y permite cuantificar objetivamente el envejecimiento de la piel. (Courage, Khazaka. 2000)

Entre las ventajas del uso del Cutometer 580 ® podemos mencionar las siguientes:

- La medición se monitorea en forma de curvas en vivo en la pantalla.
- El tamaño pequeño, conveniente de la sonda permite la medición exitosa de áreas de la piel que son difíciles de alcanzar.
- La sonda contiene un resorte elástico que proporciona una presión constante de la sonda en la piel.
- Es un método reconocido para evaluar la elasticidad de la piel y su edad biológica a nivel mundial.

La medición de la elasticidad con el equipo Cutometer 580 ® es básica en diversas aplicaciones en el campo de la dermatología y la cosmética.

- Es indispensable para la formulación, pruebas de eficacia y apoyo reclamo para todo tipo de productos cosméticos (especialmente los productos de anti-envejecimiento, firmeza, mejora o productos anticelulíticos).
- Importante en la investigación dermatológica, el diagnóstico clínico y el seguimiento de diferentes enfermedades de la piel (por ejemplo la esclerodermia, etc.)
- Se utiliza para el seguimiento de las terapias y procesos de curación de heridas y en cirugía de quemaduras en medicina.

La caracterización de la firmeza y la elasticidad de la piel se realizaron a través de los parámetros:

- **R0**: representa el comportamiento pasivo de la piel a la fuerza o **firmeza**.
- **R2**: mide la elasticidad bruta: resistencia frente a la capacidad de volver.
- **R5**: mide la elasticidad neta: parte elástica medida durante el tiempo de succión en comparación con la parte elástica durante el tiempo de relajación.

Parámetros Q:

Recientemente se ha añadido un conjunto de parámetros desarrollados por el científico DiQu (Senior Research Scientist, I+D Cuidado de la piel, Amway Corporation, Ada, Michigan, EE.UU) mostrando correlaciones interesantes entre la edad de la piel y la recuperación elástica y viscosa de las curvas:

- Q2: recuperación viscoelástica (elasticidad general)
- Q3: recuperación elástica

CAPÍTULO IV

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE EXTRACTO SECO

Las diferentes pruebas o ensayos fueron hechas por triplicado y para expresar los resultados se usaron los promedios.

En la siguiente tabla está el resumen de los porcentajes de extracto seco obtenido por percolación a partir de 250g de hojas de *Ficus citrifolia*

Tabla7 Porcentaje de rendimiento de extracto seco *F. citrifolia*

Cantidad de muestra	Polvo seco (g)	Porcentaje %
250 g	13,3812 g	5,35
250 g	17,0668 g	6,82
250 g	20,0542 g	8,02
250 g	20,4900 g	8,20

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

La media de porcentaje de extracto seco de hojas de *Ficus citrifolia* es de 7.09 % \pm 1.29

Se obtuvo el 7.09 % \pm 1.29 de extracto seco de cada 250g de muestra vegetal.

4.2 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES

En la siguiente tabla, **Tabla N° 8** se observa la concentración de fenoles (mg/mL) y su absorbancia.

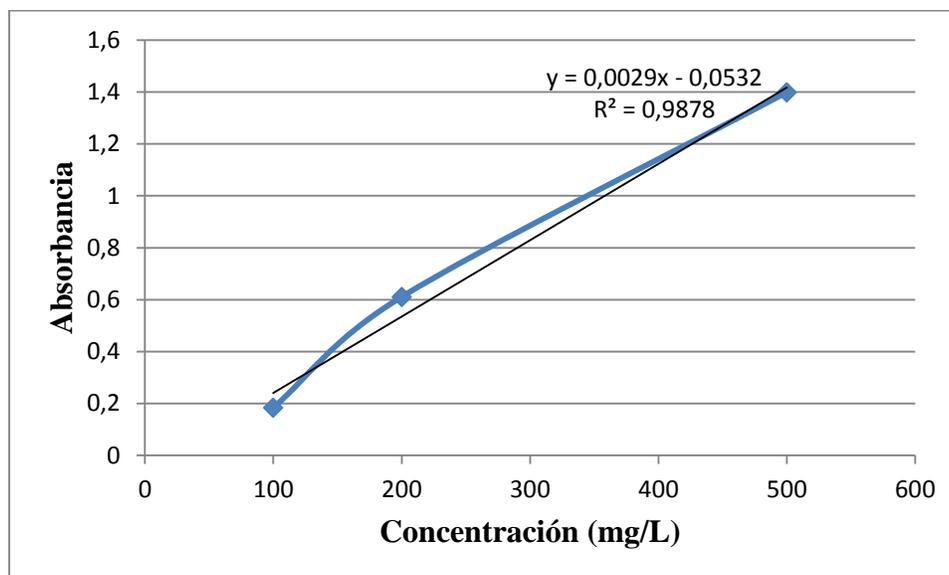
Tabla 8. CURVA DE CALIBRACIÓN Concentración Fenoles vs Absorbancia

CURVA DE CALIBRACIÓN CONCENTRACIÓN FENOLES VS ABSORBANCIA	
concentración fenoles mg/L	Absorbancia
0	0
100	0,1842
200	0,6108
500	1,3988

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

La muestra tuvo una absorbancia de 0.7363.

Gráfico 1. CURVA DE CALIBRACIÓN CONCENTRACIÓN FENOLES VS ABSORBANCIA



Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

$\bar{X} = 1,3612\text{mg}$

Se partió de 1g de extracto seco en 10ml en 0,025mL hay 0,0025g lo que es igual a 2,5mg.

Entonces: % de fenoles totales en el extracto seco = $\frac{1,3612\text{mg}}{2,5\text{mg}} \times 100$

2,5mg

% Fenoles totales Extracto seco = 5,44%

En base a éste estudio el porcentaje de fenoles totales para el extracto seco de hojas de *Ficus citrifolia* es de 5.44%, con lo que se consideraría un valor significativo de principios activos que algunos tendrán actividad antioxidante..

4.3 Determinación de la Actividad Antioxidante

4.3.1 Método DPPH– Vitamina C

Para éste ensayo se calculó el valor del IC_{50} que corresponde a la concentración necesaria para disminuir en un 50% la absorbancia inicial del DPPH; mientras más bajos sean los valores del IC_{50} mayor es la actividad antioxidante. En ésta prueba se tiene una concentración constante de DPPH para lograr que haya un límite en la decoloración al igual que la absorbancia, a pesar de que se aumente la concentración de la muestra.

Se trabajó con la vitamina C o ácido ascórbico al considerarse como planta referencial dado su elevado poder antioxidante. (Illera Martín, 2000)

Tabla 9. Actividad antioxidante DPPH Vitamina C concentración mg/mL vs Absorción

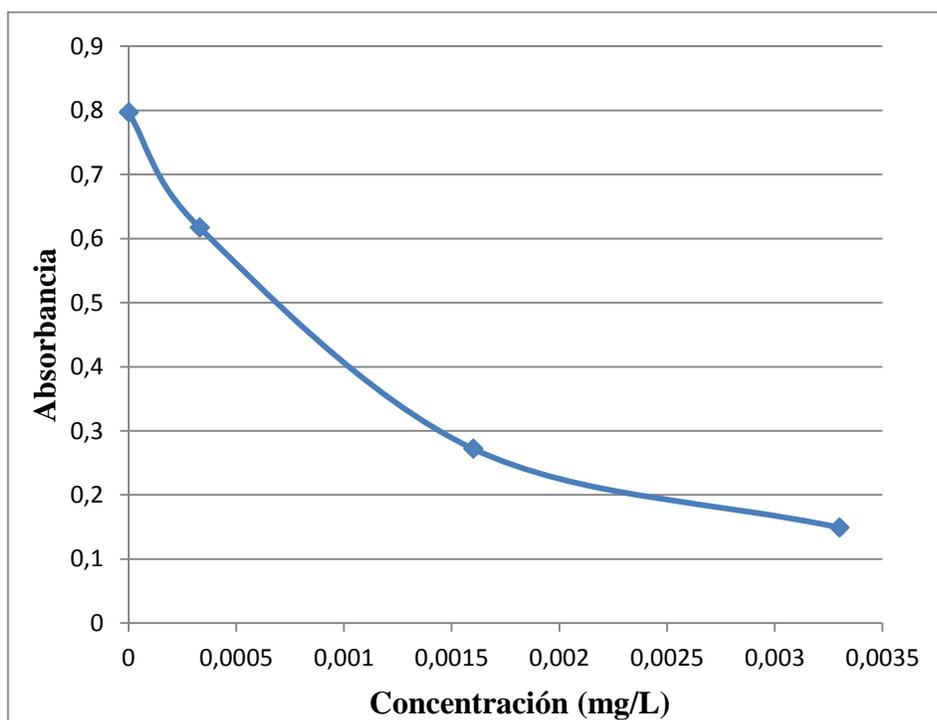
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Vitamina C (DPPH)				
Concentración mg/mL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs media
0,00				0,797
0,00033	0,607	0,605	0,609	0,607
0,0033	0,151	0,149	0,147	0,149
0,0016	0,272	0,149	0,274	0,272
0,064	0,062	0,064	0,066	0,064

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

El radical libre del DPPH puede ser oxidado, pero en frente a un antioxidante éste se reduce, cambiando de coloración de violeta a amarillo.



Gráfico N°2 Curva de la Actividad Antioxidante concentración vs Absorbancia Vitamina C

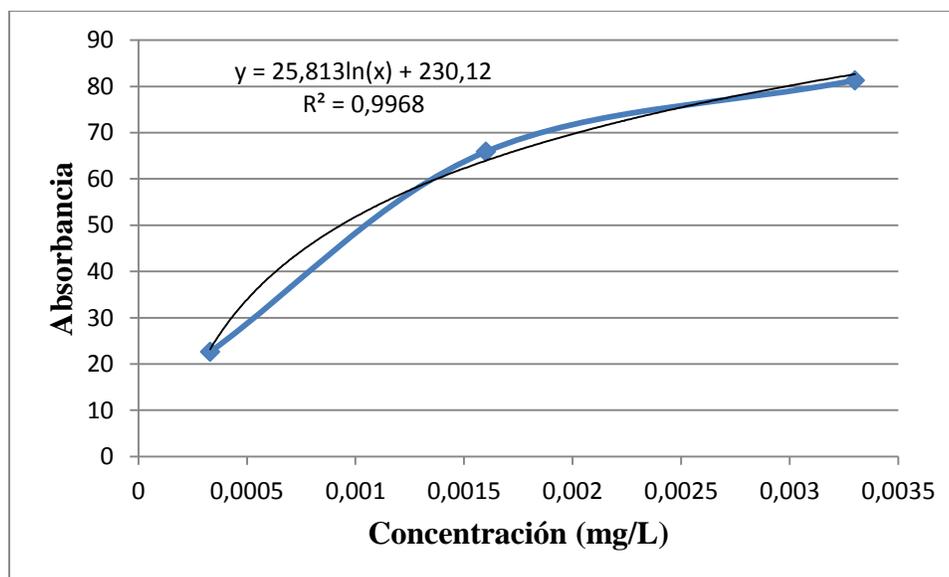


Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

Tabla 10: Curva de calibración concentración vitamina C vs % inhibición

Curva de calibración concentración vitamina C vs % inhibición	
concentración mg/mL	% inhibición
0	0
0,00033	22,5846926
0,0016	65,8720201
0,0033	81,3048934

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

Gráfico 3. CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA VITAMINA C Absorbancia vs %
Concentración

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

En donde:

$$\ln X = \frac{180,12}{25,813}$$

$$\ln \text{inv} = 6,97$$

$$X = 0,00094 \text{ mg/mL} \quad \text{IC}_{50} \text{Vitamina C} = 0,00094 \text{ mg/mL}$$

Este valor inhibe el 50% de la oxidación del DPPH.

4.3.2 Método DPPH.- Extracto seco de *Ficus citrifolia*

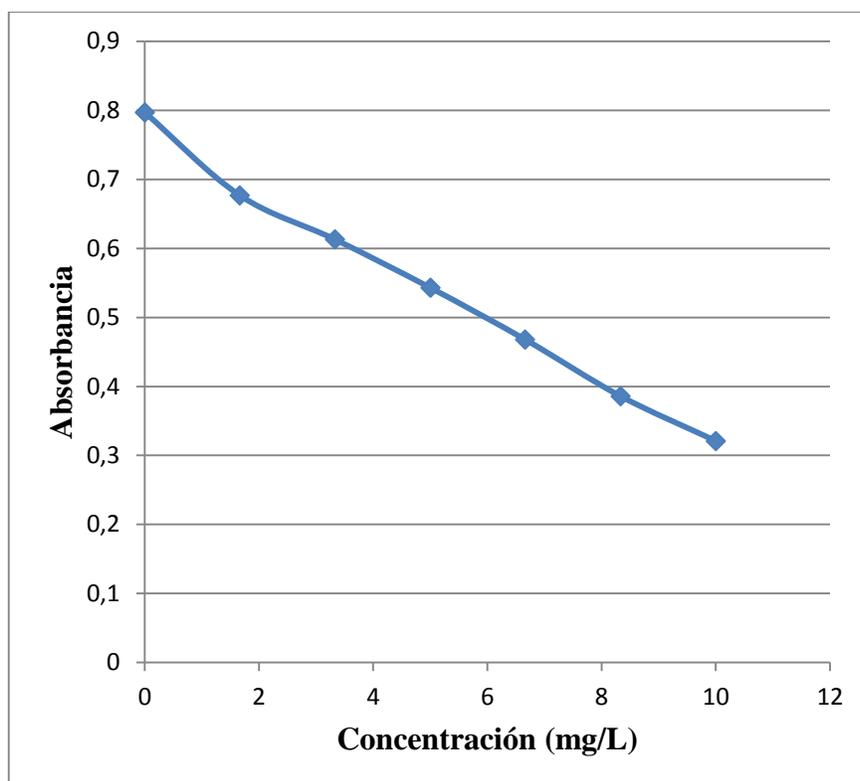
En la **tabla 11** se observa la actividad antioxidante del extracto de *Ficus citrifolia* en función de la absorción, mientras más aumenta la concentración del extracto vegetal la absorbancia es menor.

Tabla 11. Actividad antioxidante Extracto seco *Ficus citrifolia* concentración mg/mL vs Absorción

concentración mg/mL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs media
1,66	0,675	0,677	0,679	0,677
3,33	0,615	0,613	0,611	0,613
5	0,543	0,541	0,545	0,543
6,66	0,466	0,47	0,468	0,468
8,33	0,388	0,384	0,386	0,386
10	0,321	0,323	0,319	0,321

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

Gráfica 4. CURVA DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EXTRACTO *Ficus citrifolia* concentración vs absorbancia



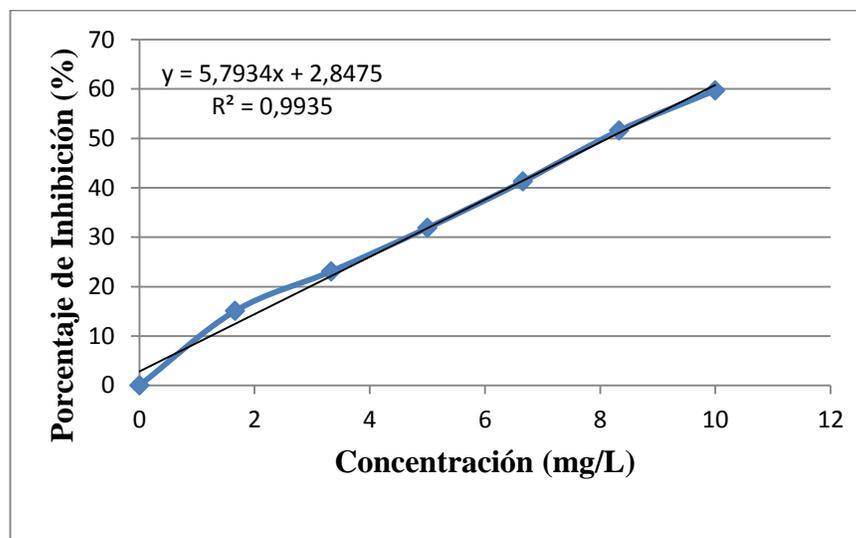
Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

Tabla 12. Concentración Extracto mg/mL vs % de inhibición

Concentración Extracto (mg/mL)	% de inhibición
0	0
1,66	15,05646173
3,33	23,08657465
5	31,86951066
6,66	41,27979925
8,33	51,56838143
10	59,72396487

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

Gráfico 5. Curva de concentración del Extracto *F. citrifolia* vs porcentaje de Inhibición



Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

$$Y = mx + b$$

$$50 = 5.7934x + 2.8475$$

$$-47.1525 = x$$

$$5.7934$$

$$X = 8.139003$$

El IC_{50} obtenido para el extracto de *F. citrifolia* es de 8,139003 mg/mL, que inhibe el 50% de la oxidación del DPPH.

4.3.3 Comparación del IC_{50} Vitamina C con el IC_{50} del extracto seco de *Ficus citrifolia*

Para éste ensayo se utilizó el valor del IC_{50} que corresponde a la concentración necesaria para disminuir en un 50% la absorbancia inicial del DPPH; mientras más bajos sean los valores del IC_{50} mayor es la actividad antioxidante. En ésta prueba se tiene una concentración constante de DPPH para lograr que haya un límite en la decoloración al igual que la absorbancia, a pesar de que se aumente la concentración de la muestra.

En el **gráfico 6** se observa la comparación de los valores de IC_{50} de la vitamina C y el del extracto vegetal

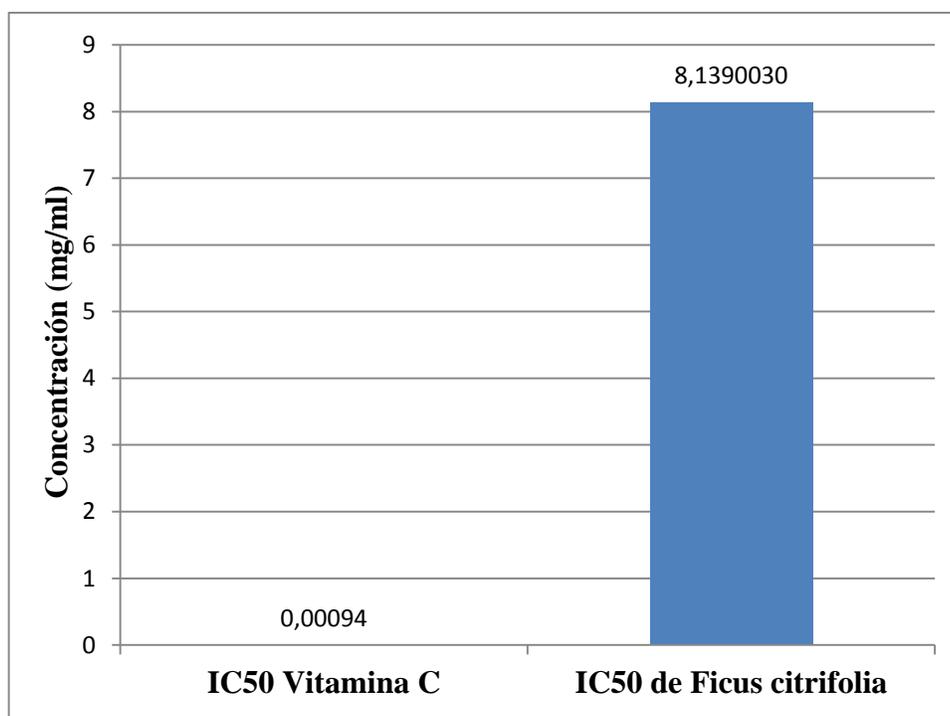


Gráfico 6. Comparación IC_{50}

Elaborado por: Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas

IC_{50} Vitamina C= 0,00094

IC_{50} Extracto seco *F. citrifolia*= 8,139003

El valor del IC_{50} obtenido para la vitamina C es 8.65 veces menor al valor obtenido para el extracto seco de *Ficus citrifolia*.

Se observa un valor menor de IC_{50} de la vitamina C en comparación con el IC_{50} de *Ficus citrifolia*, por ser la vitamina C una molécula pura. Sin embargo podemos ver que la planta de *Ficus citrifolia* presenta actividad antioxidante.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS CON EL CUTOMETER 580 ®

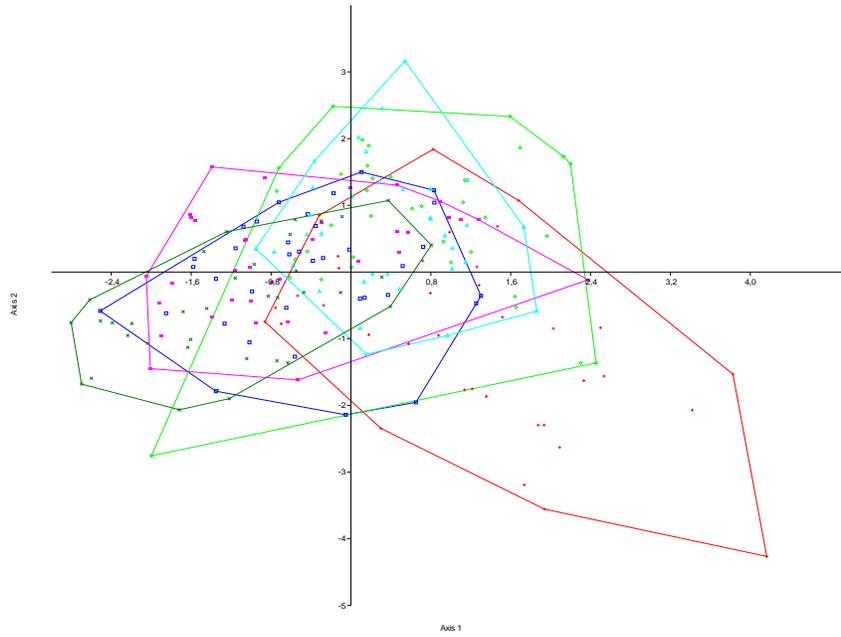
Para el análisis estadístico de los resultados se escogieron los gráficos en donde se demuestran los cambios más significativos.

Por haber más de una variable dependiente se hacen análisis estadísticos multivariados

En estadística el análisis multivariante de la varianza o MANOVA (por su nombre en inglés multivariate analysis of variance) es un análisis de la varianza para cubrir los casos donde hay más de una variable dependiente que no pueden ser combinados de manera simple. En nuestro estudio se trabajaron con tres variables (edad, tipo de piel, concentración del principio)

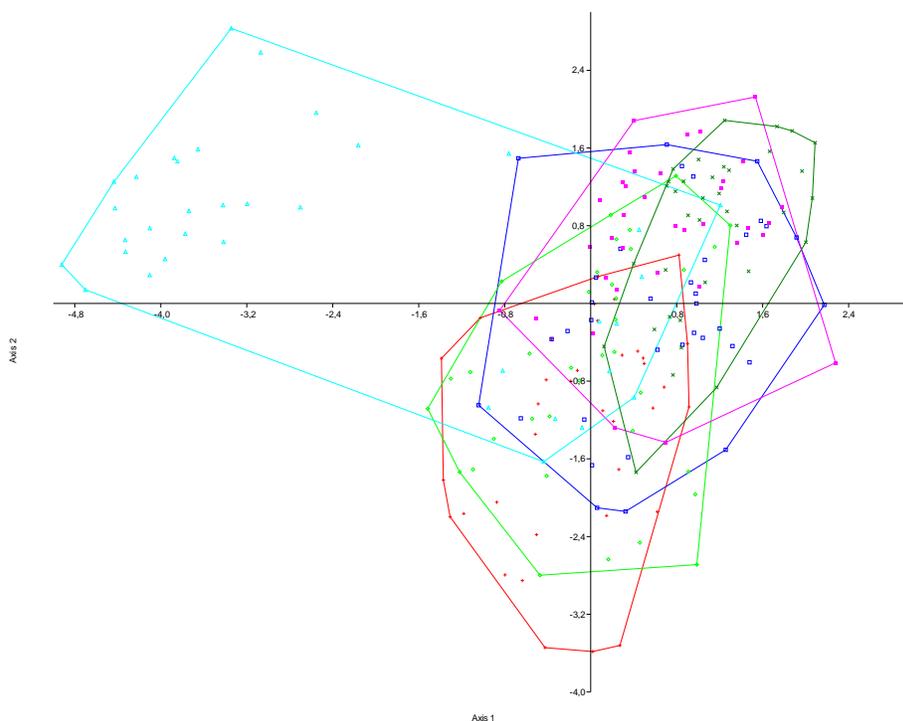
El **gráfico 7** se encuentran las mediciones iniciales a las voluntarias a un inicio de la investigación (tiempo= 0) y en el **gráfico 8** se observan los resultados al final del periodo de estudio.

Gráfico 7. Distribución de mediciones Cutometer al inicio del estudio. MANOVA



Fuente: Past Software Statistics 2013

Gráfico 8. Distribución de mediciones Cutometer al final del estudio. MANOVA



Fuente: Past Software Statistics 2013

Al comparar los gráficos 7 y 8 se observa claramente un desplazamiento en el plano con una tendencia hacia los cuadrantes positivos, lo que evidencia un cambio significativo de la elasticidad y firmeza en la piel de las voluntarias. Este resultado nos lleva a complementar con otros ensayos estadísticos a continuación.

4.4.1 Análisis de los parámetros que obtuvieron mayores cambios significativos por métodos estadísticos MANOVA, ANOVA, TUKEY.

Según los resultados estadísticos del conjunto de datos ingresados para las variables de tiempo, concentración de principio activo, tipo de piel y edad se obtuvieron cambios significativos en los parámetros de Q3, Q2, R5, R0.

A continuación un ejemplo de cómo se interpretaron los datos para el sistema estadístico ANOVA, en el parámetro Q3 (**tabla 13**)

Tabla 13: Datos obtenidos parámetro Q3

FACTOR	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Tiempo	1	0,11497703	0,11497703	78,5954418	2,63E-17	***
EDAD	1	0,00904478	0,00904478	6,18278387	0,01331113	*
Zona	2	0,01945574	0,00972787	6,64972902	0,00144376	**
Tipo.de.piel	2	0,00433422	0,00216711	1,48138363	0,2285799	
Tiempo:EDAD	1	0,00778856	0,00778856	5,32406407	0,0215479	*
Tiempo:Zona	2	0,0013835	0,00069175	0,47286239	0,62356726	
EDAD:Zona	2	0,00241188	0,00120594	0,82435184	0,43927021	
Tiempo:Tipo.de.piel	2	1,28E-05	6,41E-06	0,00438482	0,99562483	
EDAD:Tipo.de.piel	2	0,02123684	0,01061842	7,25848745	0,00080184	***
Zona:Tipo.de.piel	4	0,01538215	0,00384554	2,62871381	0,0341483	*
Tiempo:EDAD:Zona	2	0,00656192	0,00328096	2,242782	0,10750962	
Tiempo:EDAD:Tipo.de.piel	2	0,0390082	0,0195041	13,3325182	2,49E-06	***
Tiempo:Zona:Tipo.de.piel	4	0,00385836	0,00096459	0,65937059	0,62057148	
EDAD:Zona:Tipo.de.piel	4	0,00893345	0,00223336	1,52667163	0,19359174	
Tiempo:EDAD:Zona:Tipo.de.piel	4	0,01190691	0,00297673	2,03481704	0,08879668	.
Residuals	396	0,57930716	0,0014629	NA	NA	

Fuente: Past Software Statistics 2013

INTERPRETACIÓN

La significación estadística se da con diferencias del 5%, por tanto, para todo el análisis, sea ANOVA, MANOVA O TUKEY el límite de confianza es del 95%, lo que es lo mismo que decir $P \leq 0,05$ (filas resaltadas en amarillo); los asteriscos se interpretan de esta manera:

*** extremadamente significativo

** altamente significativo

* significativo

- Solo es significativo si la hipótesis alternativa describe diferencias como mayor que o menor que entre tratamientos.

En términos prácticos cualquier $p < 0,05$ indica diferencias significativas. Cualquier valor mayor a 0.05 no es significativo por tanto no hay cambio entre la variable medida en función del factor que se analiza

Para la fila 2 (Factor=Tiempo) el valor de $p = 2.63E-17$ o sea que es extremadamente significativa la diferencia de Q3 entre el tiempo (21 días) y el tiempo (Cero)

Para la fila 3 (Factor=EDAD) $p=0.0133$ es altamente significativa la diferencia de Q3 entre los dos grupos de EDAD.

Para la fila 4 (Factor=Concentración) $p=0.0014$ es altamente significativa la diferencia de Q3 entre los tres grupos de Concentración (Placebo, alta, baja) o sea sí hay una diferencia para Q3 por efecto de la concentración

Para la fila 5 (Factor=TIPO de piel) $p=0.22$ NO HAY DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TIPOS DE PIEL: GRASA, SECA O NORMAL

Desde la Fila 6 hasta la 16 se aprecian las interacciones entre dos o más factores, por ejemplo: la fila 10 nos indica una fuerte interacción de la EDAD con el tipo de piel, para el parámetro Q3, esto es obvio y de hecho corrobora lo que pasa naturalmente.

La fila 11 indica la interacción entre Tipo de piel y la concentración, indica que para Q3 si hay efecto de la concentración sobre el tipo de piel

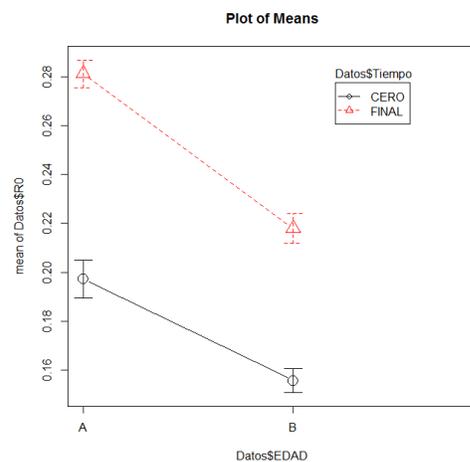
La fila 13 indica la interacción de tres factores: Tipo de piel, Edad y Tiempo, también significativa, quiere decir que hubo un cambio significativo entre el tiempo 0 y tiempo 21 días relacionado al tipo de piel y la edad.

La fila 16 Indica la interacción de tres factores y el $p=0.088$ o sea mayor que 0.05, pero menor a 0.1, significa que no hay diferencia entre los tratamientos, pero la simbología (.) utilizada sirve para indicar diferencias significativas si la hipótesis alternativa dice que un tratamiento es mayor que, o menor que, otro, no solamente si los tratamientos son diferentes

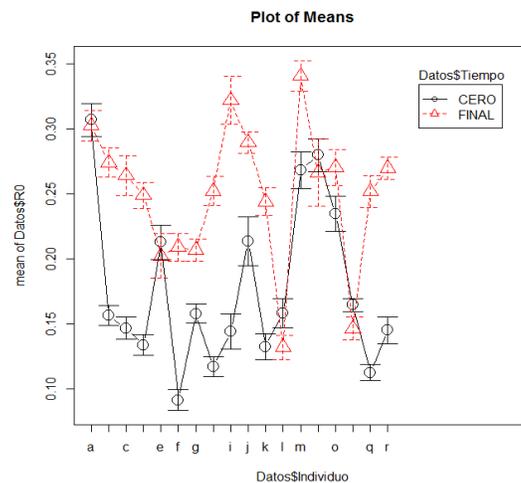
R0: FIRMEZA Grupo A: voluntarias en rango de edad (20 a 35 años)

Grupo B: voluntarias en rango de edad (35 a 50 años)

Gráfica 9. Firmeza vs Edad



Gráfica 10. Firmeza por individuo

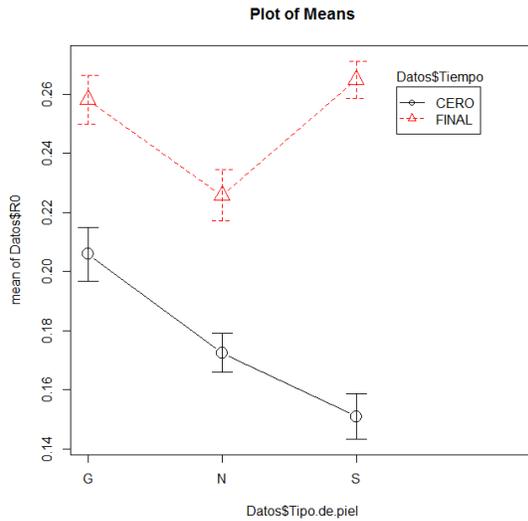


Fuente: Past Software Statistics 2013

Fuente: Past Software Statistics 2013

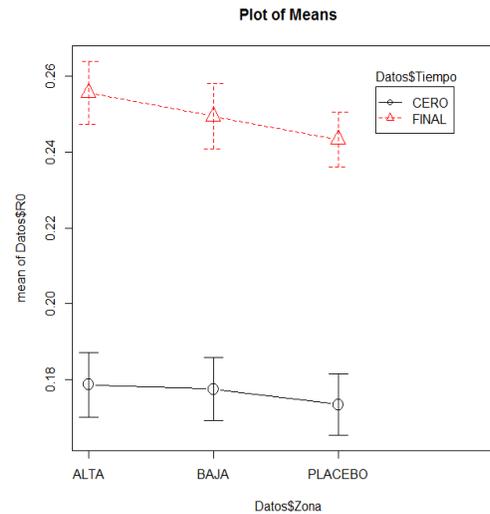
La **gráfica 9** indica que hay un aumento significativo de la firmeza de la piel después del tratamiento de la crema en los dos rangos de edades.

Gráfica 11. Firmeza vs Tipo de piel



Fuente: Past Software Statistics 2013

Gráfica 12. Firmeza vs concentración P.A.

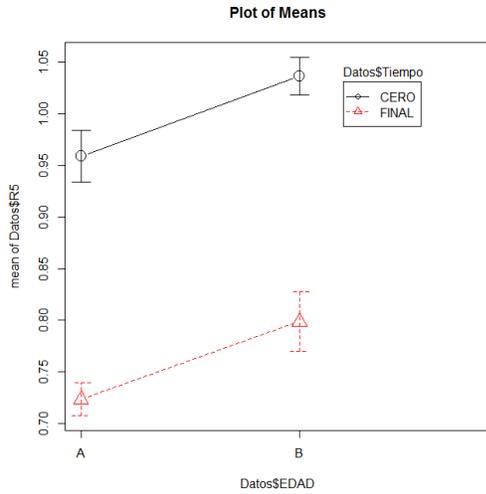


Fuente: Past Software Statistics 2013

En la **gráfica 11**. Se observa mejoría en la firmeza de la piel seca al final del tratamiento de la crema y en todas las concentraciones hay mejor firmeza en la piel, sin embargo, la concentración alta presenta mejores resultados. (**gráfica 12**)

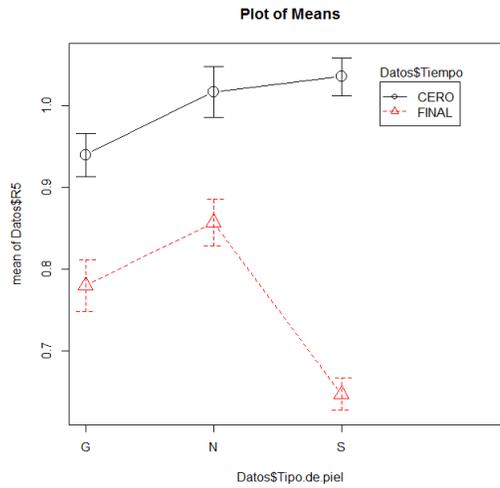
R5 MIDE LA ELASTICIDAD DE LA PIEL

Gráfica 13. Elasticidad vs Edad



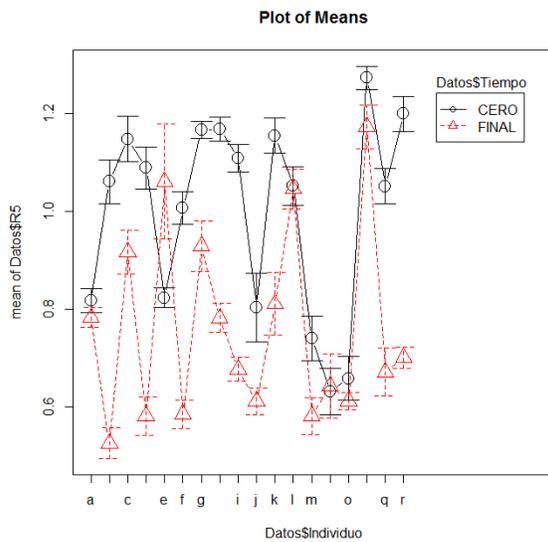
Fuente: Past Software Statistics 2013

Gráfica 14. Elasticidad vs.tipo de piel



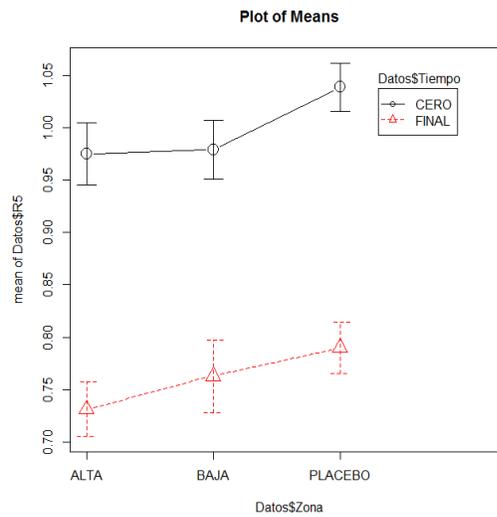
Fuente: Past Software Statistics 2013

Gráfica 15. Elasticidad por individuo



Fuente: Past Software Statistics 2013

Gráfica 16. Elasticidad por concentración



Fuente: Past Software Statistics 2013

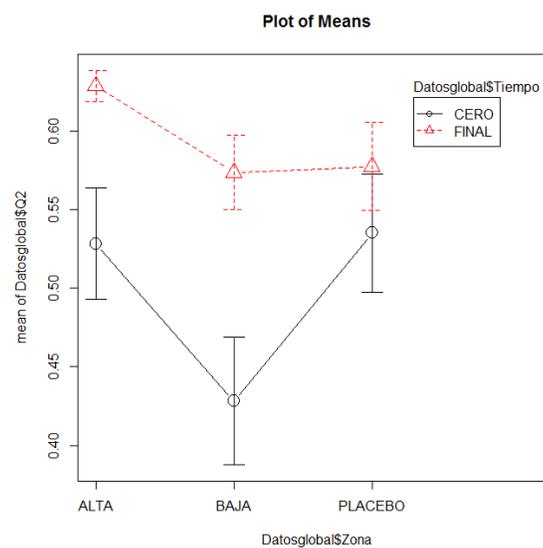
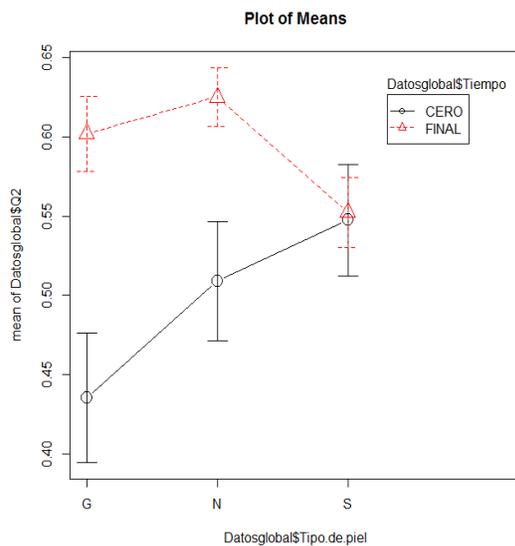
Según las gráficas la elasticidad mejora la elasticidad después del tratamiento de la crema en los dos grupos de edad, especialmente en pieles maduras y en las pieles secas.

PARÁMETRO: Q2 RECUPERACIÓN VISCOELÁSTICA (R.V.)

Gráfica Q2 en relación al tiempo

Gráfica 17. Recuperación viscoelástica vs tipo de piel

Gráfica 18. R.V. vs concentración



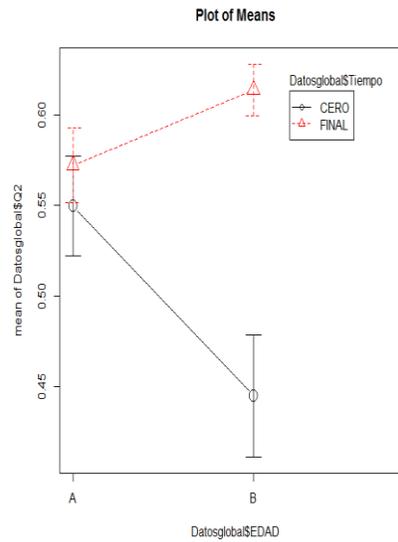
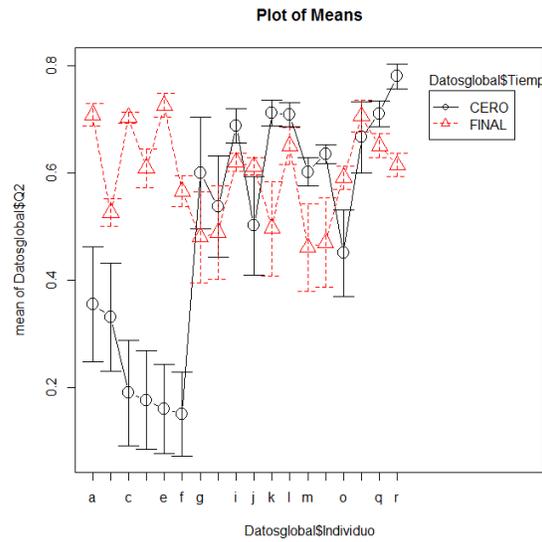
Fuente: Past Software Statistics 2013

Fuente: Past Software Statistics 2013

En el **gráfico 17**. En éste parámetro, la recuperación viscoelástica no tiene mayor incidencia en la piel seca, pero sí se observa mejoría en la piel grasa y normal. En el **gráfico 18**.se observa una mejora en la viscoelasticidad de la piel principalmente en la concentración alta

Gráfica 19. Recuperación viscoelástica por individuo

Gráfica 20. R.V. vs EDAD

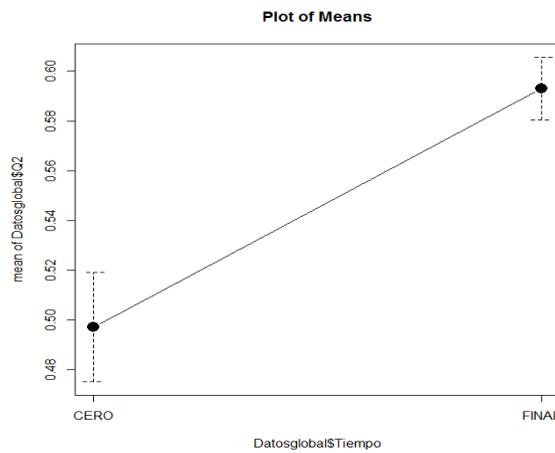


Fuente: Past Software Statistics 2013

Fuente: Past Software Statistics 2013

La recuperación viscoelástica es mayor en el grupo B, esto es en el grupo de mujeres en el rango de edad de 35 a 50 años de edad

Gráfica 21. La recuperación viscoelástica vs tiempo

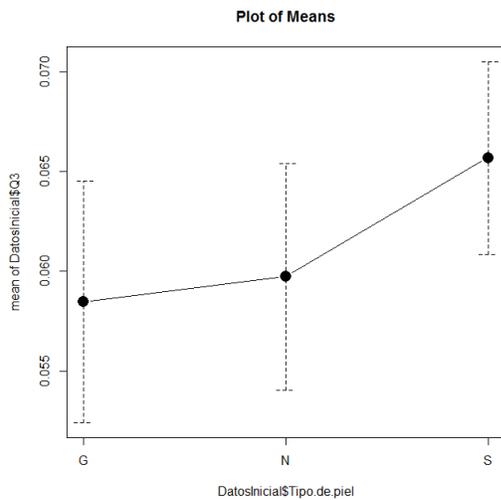


Fuente: Past Software Statistics 2013

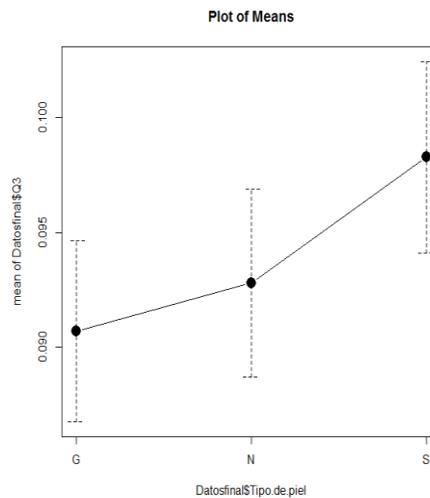
La **gráfica 21** nos evidencia que hay un cambio significativo en la recuperación viscoelástica en la piel de las voluntarias al final del tiempo de estudio.

Q3: RECUPERACIÓN ELÁSTICA (R.E.)

Gráfica 22R. E. Inicial vs tipo de piel



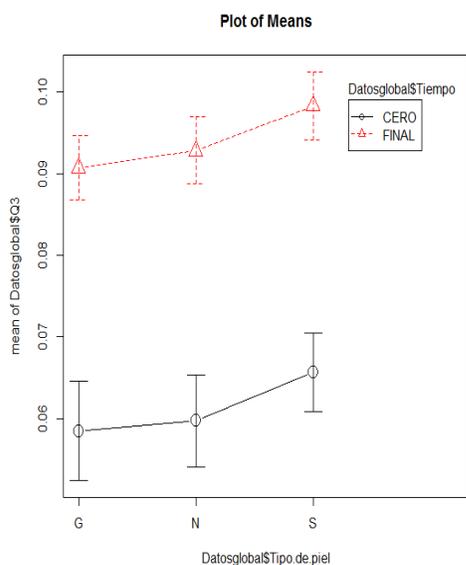
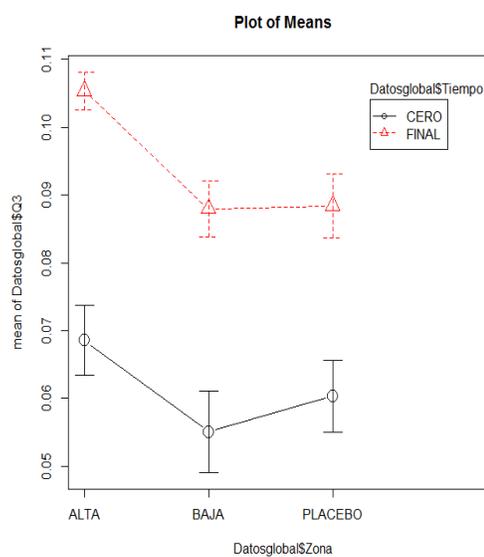
Gráfica 23.R.E Final. vs Tipo de piel



Fuente: Past Software Statistics 2013

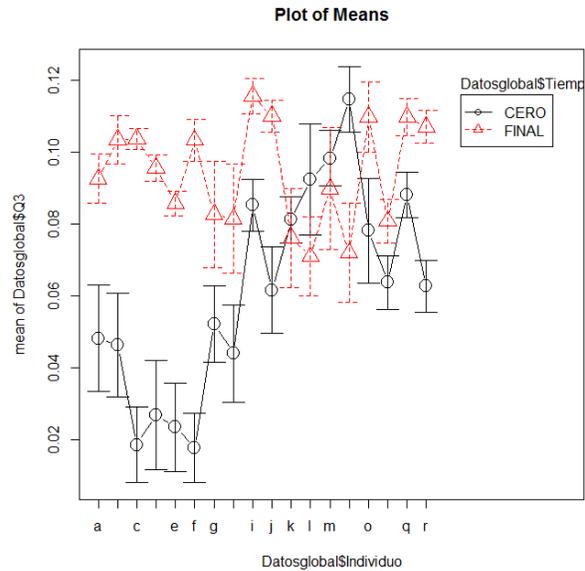
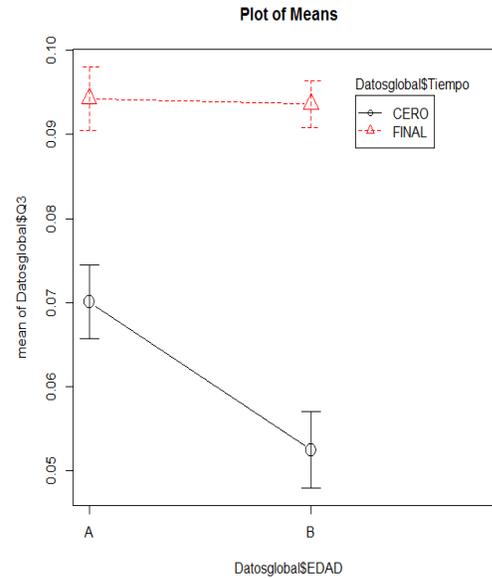
Fuente: Past Software Statistics 2013

Según como se observan en las **gráficas 22** y **gráfica 23**, para el factor Q3, el tipo de piel no es preponderante en la recuperación elástica.

Gráfica 24 R. E. Inicial vs tipo de piel**Gráfica 25.** R.E Final vs Tipo de piel**Fuente:** Past Software Statistics 2013**Fuente:** Past Software Statistics 2013

En la **gráfica 24** se observa en todos los tipos de piel un incremento significativo de la recuperación elástica después del tratamiento de la emulsión con *F. citrifolia*.

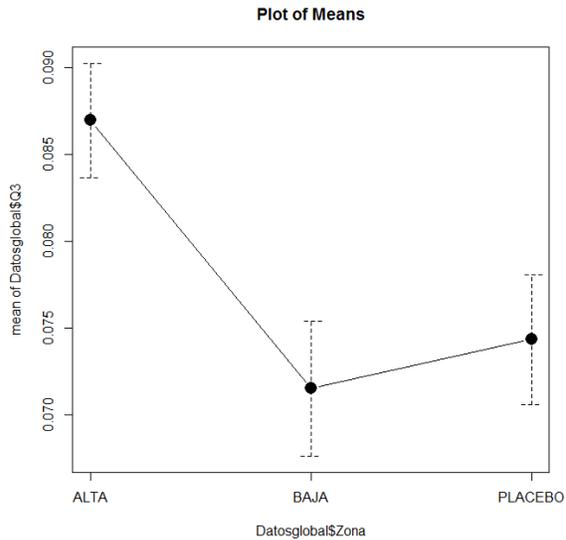
La concentración alta presenta mejor resultado en la recuperación elástica, a pesar de que la concentración menor también se evidencia una mejora.

Gráfica 25 Resultados individuales Q3**Gráfica 26** Recuperación elástica vs Edad**Fuente:** Past Software Statistics 2013**Fuente:** Past Software Statistics 2013

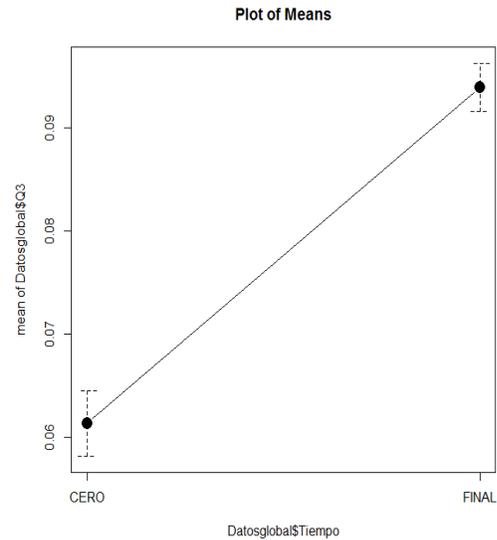
La recuperación elástica de la piel mejora en ambos rangos de edad luego del tiempo de aplicación de la crema con *F. citrifolia*. (**gráfica 26**)

Q3 GLOBAL RECUPERACIÓN ELÁSTICA (R.E.) – DATOS GLOBALES

Gráfica 27. Recuperación elástica vs concentración



Gráfica 28. R.E. vs TIEMPO

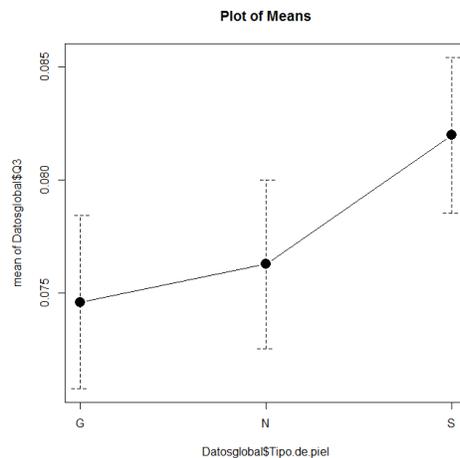


Fuente: Past Software Statistics 2013

Fuente: Past Software Statistics 2013

La recuperación elástica de la piel de las voluntarias es ampliamente mejorada con la emulsión de *F. citrifolia* de concentración alta. (**gráfica 27**). Al final del tratamiento se observa mejoría en la recuperación elástica en la piel de las voluntarias, especialmente en las pieles secas. (**Gráfica 28-29**)

Gráfico 29: Recuperación elástica vs tipo de piel



Fuente: Past Software Statistics 2013

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las hojas de *Ficus citrifolia* tienen 54.44 % de fenoles totales en el extracto seco.

El IC₅₀ obtenido para el extracto de *F. citrifolia* es de 8,139003 mg/mL, que inhibe el 50% de la oxidación del DPPH.

Luego de 21 días de tratamiento con la crema que contiene el extracto seco de ficus *citrifolia* se registró un aumento significativo en los parámetros Q3 (Recuperación elástica), Q2 (Viscoelasticidad), R5 (Elasticidad), R0 (Firmeza), lo que mejoró visiblemente la piel de las voluntarias.

Luego de realizado el estudio se concluye que el extracto seco de las hojas de *Ficus citrifolia* si puede ser considerada como materia prima en la elaboración de cosméticos debido al contenido de fenoles totales presentes en la muestra (54.44%), con lo cual se sabe que *Ficus citrifolia* si tiene actividad antioxidante.

Se recomienda continuar con estudios de eficacia cosmética en las hojas de *Ficus citrifolia* dado su valor como antioxidante y utilizarla en productos cosméticos para dar un uso a las plantas de nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

- Aldana C., Guayasamín L., Evaluación de la Actividad Antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de *Ficus citrifolia* y Caracterización Química de los Polifenoles- UPS. 2014.
- Andreu Michael G, Friedman M., McKenzie M., Quintana H., Northrop R., *Ficus citrifolia*, ShortleafFig”. Institute of Food and Agricultural Sciences, IFAS. Florida. US. 2013
- Avello M., Suwalsky M., Radicales libres, antioxidantes naturales y Mecanismos de Protección. Atenea 494, ISSN07161940, p.161-172
- Bissett, D.L. 2009. Common cosmeceuticals. Clinics in dermatology. 27: 435-445.
- Burlando, B., Verotta L., Cornara Laura, B.E, (2010). Herbal Principles in Cosmetics. Properties and Mechanisms of Action. CRC Press, FL.USA., 16-20.
- Carbajo J y Fernández J. Valoración de la hidratación cutánea por métodos de exploración no invasivos. Laboratorio de Dermatología Experimental. Hospital Universitario de Puerto Real. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz. Piel. 1997; 12 (6): 323-329.
- Castillo, P., Félix, R., Sinche, M., & Muñoz, R., (2012). Aislamiento, purificación y caracterización parciales de las proteasas obtenidas de hierba mora, (*Solanumnigrum*) e higuierón (*Ficus apollinaris*). Revista Politécnica, 31.
- Chapilliquén Llerena, M., &Alvis Huamán, R. A. (2006). Aplicación de métodos de bioingeniería cutánea en la evaluación de la eficacia de una formulación dermocosmética elaborada a base del aceite de *Amaranthuscaudatus* L." Kiwicha".
- Courage&Khazaka Electronic GmbH, Service Instruction for Corneometer CM 825. Cologne, Germany. 2000.
- Dugand, A. (1946). Nuevas nociones sobre el Género *Ficus* en Colombia. 113-120

- EEMCO Group and Piérard G. EEMCO guidance to the in vivo Assessment of tensile functional properties of the skin: Part 1, *Skin Pharmacol Appl Skin Physio.* 1999; 12: 352-362.
- Escarpa, A., González, M. (2001). Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 427 (1). 119-127.
- Garreta, J. M. I., & Vega, F. A. (1990). Antioxidantes en alimentos, medicamentos y cosméticos, I. Consideraciones generales. *Industria farmacéutica: Equipos, procesos y tecnología*, (2), 55-60.
- Giacomoni, P.U. 2008. Advancement in skin aging; the future cosmeceuticals. *Clinics in Dermatology.* 26: 364-366.
- Gordon M.H. (2001). El desarrollo del enraiciamiento oxidativo en los alimentos. En J.Y. Pokorny , *Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones Prácticas.* (págs. 7-21) Zaragoza Acribia.
- Gutiérrez, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*, 31(2), 126-133.
- Illera Martín Marianos y otros, *Vitaminas y minerales*, Editorial Complutense, pág. 70, 2000
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., & Culebras, J. M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17(n06).
- Martínez Valverde, I., Periago, M. J., Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch. Latinoam. Nutr*, 50 (1), 5-18.
- Martini, M. (2005). *Introducción a la dermofarmacia y a la cosmetología* Zaragoza; ACRIBIA S.A.
- Márquez Mendoza G.D.C. (2011). Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de *Prunus domestica* L., *Ficus carica* L., y *Vitis vinífera* L. cv. “red globe” cultivados en Perú.
- Matés J.M., (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology.* 153: 83-104.
- Meli, P. (2003). Restauración ecológica de bosques tropicales. Veinte años de investigación académica. *Interciencia*, 28(10), 581-589.

- Mendoza. Marquez, G. D. C. (2011). Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de *Prunus domestica* L., *Ficus carica* L. y *Vitisvinifera* L. cv" red globe" cultivados en Perú).
- Miller P., Blanco J.,Francis J. K. (1994). *Ficus Citrifolia*. USDA, ForestService, Southern Forest Experimental Station.
- Mosquera, T., T. Mosquera, P. Noriega, W. Tapia, S. Pérez. 2012. Evaluación de la eficacia cosmética de cremas elaboradas con aceites extraídos de especies vegetales amazónicas: *Mauritia flexuosa* (Morete), *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi) y *Oenocarpus bataua* (Ungurahua). La Granja. Vol. 15(2): 14-22. ISSN: 1390-3799).
- Nichols, J.A. y Katiyar, S.K. 2010. Skin photoprotection by natural polyphenols: antiinflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. Archives Dermatological Research. 302: 71-83.
- Past, (2013). Paleontological Statistics software package for education and data analysis. Paleontología Electrónica. Hammer. Harper.
- Pastene, ER. (2009). Estado actual de la búsqueda de las plantas con actividad antioxidante. Universidad Autónoma del Estado de México. Redalyc.org.
- PNTE INEN 2867. ISO 2013, INEN 2014. ICS:71.100.70
- Quesada Romero, L.F., Castaño Osorio, J.C. ,& Bilbao, M. (2009). Antiparasitic effect of ethanolic and ethered extracts of *Ficus obtusifolia* Kunth (Moraceae), against nematode class parasites (*Toxocaracati* and *Toxocaracanis*). Infectio, 13 (4), 259-267.
- R Core Team. (2014). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statical Computing. Austria. URL <http://www.Rproject.org/>
- Rajan, M.K. (2012). Antioxidant, antiinflammatory activity and phytochemical constituents of Ficus (*Ficus amplissima* Smith) bark. FoodScience and Biotechnology, 21 (1), 59-67.
- Rogiers V., Balls M, Basketter D., Berardesca E., Edwards C., Eisner P., et al. The potential use of non-invasive Methods in the Safety Assessment of Cosmetic Products. ECVAM/EEMCO. Workshop 36. ATLA 27. 1999: 515-537.
- Roginsky V., L.E. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chem., 92, 235-254.

- Rotman, A. (1987). Moraceae. En T.N.M., Moráceas. (6 (3^a) ed., págs. 22-31). Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agropecu.
- Sandabe U.K., Onyeyili P.A., Chibuzo G.A., Phytochemical screening and effect of aqueous, extract of *Ficussycomorus L.* (Moraceae) stembark on muscular activity in laboratory animals. J. Tthnopharma col. 2005; 104:283-5
- Santos, D.J.S. (2013). Efecto de Biopeptidos antioxidantes derivados de la albúmina de un grano de amaranto en el estrés oxidativo ex vivo para la piel humana.
- Scartezzini, P.A. (2006). Vitamina C content and antioxidant activity of the fruit and of the Ayurvedic preparation of *Emblica officinalis Gaertn.* Journal of Ethnopharmacology, 104 (1-2), 113-118.
- Solomon A, G.S. (2006). Antioxidant Activities and Anthocyanin Content of Fresh Fruits of Common Fig (*Ficus carica L.*) J. Agric Food Chem, 54 (23), 7717-7723.
- Zhang, L. y Falla, T.J. 2009. Cosmeceuticals and peptides. Clinics Dermatology. 27:485-494.

ANEXOS

	Página
Anexo 1 Certificado de Identificación Planta <i>Ficus citrifolia</i> – Herbario QCA	79
Anexo 2 Protocolo de Aplicación de la crema – Instrucciones de uso	80
Anexo 3: Acta de compromiso y responsabilidad. Encuesta estado de salud voluntarias	81
Anexo 4: Ficha técnica de Crodabase	86

ANEXO 1

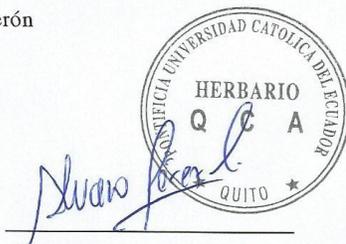
Quito, 14 de Octubre de 2014

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponden a:

Ficus citrifolia Mill.

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Rosanae Takht.
- Orden: Rosales Bercht. & J. Presl
- Familia: Moraceae Gaudich.
- Género: *Ficus* L.
- Especie: *citrifolia* Mill.
- Nombre común: higuérón



Álvaro J. Pérez

Curador de Angiospermas Herbario QCA

PROTOCOLO DE APLICACIÓN – INSTRUCCIONES DE USO

- La crema debe aplicarse sobre la piel limpia y no usar otro tipo de producto cosmético en la zona.
- La zona de aplicación de la crema debe realizarse de la siguiente manera:

Cara anterior del antebrazo izquierdo: Cod003***Hombro izquierdo: Cod001***
Hombro derecho: Cod002

- La crema debe ser aplicada únicamente en las noches antes de acostarse. De ser el caso, después del baño.
- La aplicación de la crema debe ser con suaves masajes hasta que se absorba por completo.
- Esperar hasta que la emulsión sea absorbida totalmente por la piel antes de ir a la cama.
- Evitar la exposición intensa al sol por períodos prolongados, sobre todo después de la aplicación de la crema.

ACTA DE COMPROMISO Y RESPONSABILIDAD

CONSENTIMIENTO / PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

TÍTULO DEL PROYECTO

Eficacia cosmética “in vivo” de una emulsión formulada a partir del extracto seco de hojas de “*Ficus citrifolia*”.

EQUIPO DE INVESTIGADORES

Nosotros, Esperanza Robalino y Ma. Susana Guarderas, investigadoras de la Maestría de Ciencias y Tecnologías Químico Cosméticas, asesoradas por el Dr. Paco Noriega, PhD, solicitamos a Usted su colaboración para la realización de éste trabajo de investigación. Le pedimos entender todos los pasos en detalle y si está de acuerdo, firmar el consentimiento informado.

INTRODUCCIÓN

En el presente estudio pretendemos establecer la capacidad cosmética de una emulsión obtenida del extracto seco de hojas de *Ficus citrifolia* una vez que se ha comprobado en investigaciones previas de su actividad antioxidante lo que puede tener efectos beneficiosos para la piel. Para iniciar con los análisis del estudio se realizaron las pruebas de irritabilidad para descartar algún tipo de alergia o reacción a la piel en un grupo de voluntarias.

OBJETIVOS

- Evaluar la capacidad cosmética de la crema en tres concentraciones diferentes en la piel de un grupo de voluntarias entre 20 a 50 años.
- Realizar las mediciones de las propiedades cutáneas (firmeza y viscoelasticidad) con el equipo Cutometer 580.

PARTICIPACIÓN

Su participación es completamente voluntaria y puede retirarse en el momento que usted lo decida. Su participación en el estudio se inicia con una encuesta, la cual será evaluada y se verificará que cumpla los criterios de inclusión para participar en el estudio.

RIESGOS / INCOMODIDADES

El voluntario deberá informar cualquier molestia o incomodidad que pueda surgir durante la evaluación del producto.

Si usted cambia alguno de sus hábitos, le pedimos que nos mantenga informados, de manera que podamos interpretar mejor los resultados.

No haga uso de productos cosméticos en áreas cercanas a los sitios de estudio. Si Usted usa alguno de éstos productos o si toma medicación sistémica, por favor, háganoslo saber.

Todas las materias primas utilizada en el producto están aprobadas para uso tópico y no son tóxicas. Sin embargo, de igual manera que con otros productos, pueden causar inesperadas reacciones como “enrojecimiento”, “hinchazón”, “picor” y “escozor” en los sitios de aplicación del producto; en caso de intenso escozor u otros signos fuertes de irritación, por favor, infórmenos inmediatamente.

HE LEÍDO Y COMPRENDIDO EL PRESENTE DOCUMENTO. HE QUEDADO SATISFECHA Y MIS PREGUNTAS HAN SIDO RESPONDIDAS. YO, VOLUNTARIAMENTE Y SIN PRESIÓN ALGUNA, ACEPTO MI PARTICIPACIÓN EN EL PRESENTE ESTUDIO.

Quito,dedel 2014

.....

.....

Esperanza Robalino

Firma del Participante

Firma de Investigadores Responsables

Apellidos y Nombres Participante

Ma Susana Guarderas

ENCUESTA ESTADO DE SALUD VOLUNTARIAS

Objetivo:

El objetivo del presente estudio es evaluar la efectividad cosmética de una emulsión formulada a base del extracto seco de hojas de "*Ficus citrifolia*". Este estudio se los realiza en un "sistema de in vivo" con análisis instrumental, dirigido a investigar dos de las características cutáneas firmeza y viscoelasticidad. El equipo a utilizar es el Cutometer 580.

Por favor, conteste brevemente el siguiente cuestionario:

Si No

1. Al momento, Ud. ingiere alguna medicación o posee alguna condición médica que pueda afectar los resultados del presente estudio?
2. Ud. se ha sometido a algún trasplante de órgano que requiera el uso de medicamentos inmunodepresores (a excepción de trasplante de córnea)
3. Presenta Ud. alguna enfermedad crónica como diabetes, asma o alergia Respiratoria
4. Le han practicado alguna vez mastectomía bilateral
5. Presenta Ud. alguna afectación dermatológica, tal como psoriasis, eczema, dermatitis atópica o foliculitis.
6. Posee algún antecedente histórico de reacciones adversas cutáneas a la aplicación de productos cosméticos.
7. Está Ud. proyectando un embarazo o está cursando un embarazo o está amamantando
8. Considera Ud. tener "piel sensible"
9. Tiene planes de exposición intensa a la luz solar o a sesiones de bronceado durante el período de estudio

ANEXO 4

Crodabase CR2

Nome INCI: Cetearyl Alcohol & Cetareth 20 & Mineral Oil & Lanolin Alcohol & Petrolatum
CAS: 8005-44-5; 67762-27-0 & 9004-95-9 & 8012-95-1; 8042-47-5 & 8027-33-6 & 8009-03-8

A **Crodabase CR2** é uma base concentrada desenvolvida através de cuidadosos estudos para que, a uma simples adição de água quente (vide Modo de Usar), se obtenha cremes e loções de mais alta qualidade e com uma aparência especial. Trata-se de uma matéria-prima composta de emulsionantes não iônicos, álcoois graxos e emolientes beneficiando então a preparação de formulações simples e atraentes, aumentando a eficiência e reduzindo as concentrações necessárias para uma formulação estável.

Propriedades:

A **Crodabase CR2** possui a capacidade de formar emulsões altamente estáveis do tipo O/A, para o preparo de cremes e loções cremosas.

A característica e a natureza diversificada de seus componentes resultam em produtos com propriedades umectantes, emolientes e hidratantes.

A **Crodabase CR2** apresenta facilidade de manipulação, preparação e considerável economia de tempo, devido à supressão de diversas etapas decorrentes da adição individual dos componentes de uma formulação.

Quando se requer que o creme ou loção tenha a função de espalhamento rápido sobre a pele em áreas relativamente extensas, formando uma película fina e protetora, a base concentrada CR2 torna-se ideal para tais formulações.

Apesar da **Crodabase CR2** já possuir propriedades umectantes, emolientes e hidratantes, ela pode ser aditivada com inúmeros produtos, caso seja necessário realçar alguma de suas propriedades. Deve-se lembrar que apesar de ser uma matéria-prima completa, ela estaria suportando até 20% do seu peso em termos de componentes oleosos.

É também necessário ressaltar que a **Crodabase CR2** elimina vários itens de estoque, representando também economia de espaço e vantagens logísticas.

Aplicações:

A **Crodabase CR2** é de grande valia nas preparações de cremes e loções nutritivas, ricos em proteínas (Linha Crotein), e a base de colágeno e elastina (Crolastin e Crolastin LC).

Compatível com a maioria dos compostos utilizados em produtos cosméticos e farmacêuticos, incluindo diversos sais e extratos vegetais.

CRODA

Croda do Brasil Ltda Rua Croda 580 Distrito Industrial Caixa Postal 1098 CEP 13001-970 Campinas SP Brasil
Tel +55 (0) 19 3765-3500 Fax +55 (0) 19 3765-3536-www.croda.com.br