



# **Diseño de un protector solar tipo hidrogel a base de extracto de *Inonotus obliquus*.**

**Jessica Tatiana Clavijo Mora**

**Karen Nathalia Suárez Mora**

**Universidad El Bosque**

**Facultad de Ciencias - Programa de Química Farmacéutica**

**Bogotá DC. – Octubre, 2022**

**Diseño de un protector solar tipo hidrogel a base de extracto  
de *Inonotus obliquus*.**

**Jessica Tatiana Clavijo Mora  
Karen Nathalia Suárez Mora**

**Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de:**

**Químico Farmacéutico**

**Modalidad de trabajo de grado:**

**Investigación**

**Director: Ronald Andrés Jiménez Cruz**

**Semillero ABC del Grupo INQA**

**Línea de investigación Bioprospección & Biotecnología farmacéutica**

**Universidad El Bosque**

**Facultad de Ciencias - Programa de Química Farmacéutica**

**Bogotá DC. – Octubre, 2022**

## Hoja de identificación

<b>Título:</b>	Diseño de un protector solar tipo hidrogel a base de extracto de <i>Inonotus obliquus</i> .
<b>Grupo de investigación:</b>	Grupo de Investigaciones en Química Aplicada (INQA).
<b>Línea de Investigación:</b>	Bioprospección & Biotecnología farmacéutica.
<b>Institución (es) Participante (s):</b>	Universidad El Bosque
<b>Tipo de Investigación:</b>	Experimental
<b>Estudiantes:</b>	Jessica Tatiana Clavijo Mora Karen Nathalia Suárez Mora
<b>Director:</b>	Ronald Andrés Jiménez Cruz
<b>Codirector:</b>	Diana Milena Millán Cortés

## **Dedicatoria**

Queremos dedicar este gran logro a Dios por habernos permitido llegar a esta etapa de nuestras vidas, a nuestros padres y demás familiares por ser nuestro motor, por creer en nosotras y darnos su fortaleza e inspiración, además de guiarnos y brindarnos su soporte y apoyo incondicional a lo largo de nuestros estudios; y a todas las personas que nos han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

## **Agradecimientos**

Queremos agradecer a todo el personal académico y administrativo del programa de química farmacéutica de la Universidad El Bosque, por habernos compartido sus conocimientos y acompañamiento a lo largo de la preparación de nuestra profesión, de manera especial a nuestro tutor Ronald Andrés Jiménez Cruz y cotutora Diana Milena Millán Cortés, por estar siempre atentos a nuestras dudas, por su disposición, quienes con su conocimiento, enseñanza, y colaboración permitieron el desarrollo de este trabajo. También queremos agradecer a la Universidad por brindarnos los espacios y herramientas necesarias para abordar el proyecto; y finalmente a nuestros jurados Fabio Andrés Camargo Trujillo y María Angélica Velandia París, quienes con su amplia experiencia y sabiduría nos orientaron al correcto desarrollo y culminación con éxito del presente trabajo.

# Tabla de contenido

Listado de tablas.....	I
Listado de figuras .....	II
Lista de Símbolos y abreviaturas .....	III
Resumen .....	IV
Palabras Clave.....	V
Abstract .....	VI
Keywords .....	VII
1. Introducción .....	1
2. Marco teórico .....	2
2.1 Hongos.....	2
2.2 Hongo <i>Inonotus obliquus</i> .....	2
2.3 Compuestos polifenólicos.....	3
2.4 Métodos de extracción de compuestos polifenólicos .....	5
2.5 Industria cosmética .....	5
2.6 Protector solar .....	6
2.7 Rayos UV .....	6
2.8 Fotoprotección.....	7
2.9 Hidrogeles .....	7
2.10 Colágeno tipo I .....	8
3. Planteamiento del problema .....	9
4. Pregunta de investigación.....	10
5. Objetivos.....	11
5.1. Objetivo general del Anteproyecto .....	11
5.2 Objetivos específicos .....	11
6. Metodología .....	12
6.1 Materia prima.....	12
6.2. Metodología para dar cumplimiento al objetivo específico 1: “Obtener un extracto acuoso de <i>Inonotus obliquus</i> empleando diferentes condiciones de extracción y ultrasonido.” .....	12
6.2.1 Extracción acuosa de hongo <i>Inonotus obliquus</i> .....	12
6.2.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos .....	13
6.3. Metodología para dar cumplimiento al objetivo específico 2: “Vehiculizar un extracto acuoso de <i>Inonotus obliquus</i> en hidrogeles a base de Colágeno tipo 1.” .....	13

6.3.1. Elaboración de hidrogeles a base de Colágeno tipo I .....	13
6.3.2. Ensayo de esparcibilidad.....	14
6.3.3. Vehiculización de extractos acuosos .....	14
6.4. Metodología para dar cumplimiento al objetivo específico 3: “Determinar las propiedades reológicas y de protección solar de hidrogeles a base de colágeno tipo 1, cargados con un extracto acuoso de <i>Inonotus obliquus</i> .”.....	14
6.4.1. Reología.....	14
6.4.2. Ensayo de fotoprotección .....	14
7. Resultados y análisis de resultados .....	16
7.1 Obtención del extracto de hongo <i>Inonotus obliquus</i> .....	16
7.1.1 Determinación tamaño de partícula de muestra comercial hongo <i>Inonotus obliquus</i> ....	16
7.1.2 Extracción acuosa del hongo <i>Inonotus obliquus</i> mediante ultrasonido .....	17
7.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos presentes en hongo <i>Inonotus obliquus</i> por espectrofotometría UV/Vis. ....	19
7.2.1 Selección de condiciones de extracción para vehiculización en hidrogeles a base de colágeno tipo I.....	20
7.3 Elaboración de hidrogeles a base de Colágeno tipo I. ....	23
7.3.1 Selección de mejor prototipo de hidrogel para vehiculización de extracto acuoso del hongo mediante ensayo de esparcibilidad.....	24
7.4 Estudio de propiedades reológicas de hidrogeles (Hidrogeles sin cargar y con el extracto)	26
7.5 Determinación del factor de protección solar del hidrogel polimérico cargado con el extracto acuoso de <i>Inonotus obliquus</i> .....	31
8. Conclusiones .....	33
9. Recomendaciones .....	34
10. Referencias bibliográficas .....	36

## Listado de tablas

		<b>Pág.</b>
Tabla 1	Distribución de tamaño de partícula	17
Tabla 2	Concentraciones de extracción con amplitud al 20 %	20
Tabla 3	Concentraciones de extracción con amplitud al 40 %	21
Tabla 4	Concentraciones de extracción con amplitud al 60 %	21
Tabla 5	Ensayo de esparcibilidad de hidrogeles	25
Tabla 6	Viscosidad y tasa de corte de prototipos sin cargar con el extracto.	27

## Listado de figuras

		<b>Pág.</b>
Figura 1	Hongo <i>Inonotus obliquus</i> .	3
Figura 2	Compuesto polifenólico presente en el hongo <i>Inonotus obliquus</i> .	4
Figura 3	Gráfica de % de cernido vs luz de tamiz.	17
Figura 4	Curva de cuantificación de polifenoles.	20
Figura 5	Porcentaje y desviación estándar de extractos acuosos a diferentes condiciones.	22
Figura 6	Viscosidad vs tasa de corte del prototipo 4 a concentración 2.0 %p/p sin cargar.	28
Figura 7	Módulo de almacenamiento G' y de pérdida G'' del prototipo 4 a concentración 2.0 %p/p sin cargar.	28
Figura 8	Viscosidad vs tasa de corte del prototipo 4 a concentración 2.0 %p/p cargado con extracto.	30
Figura 9	Módulo de almacenamiento G' y de pérdida G'' del prototipo 4 a concentración 2.0 %p/p cargado con extracto.	30
Figura 10	Factor de protección solar y desviación estándar de hidrogel cargado y sin cargar.	32

# Lista de Símbolos y abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

CO<sub>2</sub>: Dióxido de carbono.

CHDG: Digluconato de clorhexidina.

CQA: Atributo crítico de calidad.

DMEM: Medio Eagle modificado de Dulbecco.

G': Módulo de almacenamiento.

G'': Módulo de pérdida.

GAP: Capacidad de fijar el espesor de la muestra.

GIBAT: Grupo de Investigación Básica y Traslacional.

GSH: Glutation reducido.

H<sub>2</sub>O: Agua.

Hz: Hertz.

MTT:(Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) - Ensayo colorimétrico para evaluar la actividad metabólica celular.

p53: Proteína supresora de tumores.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

RPM: Revoluciones por minuto.

SPF: Factor de protección social.

UAE: Extracción asistida por ultrasonido.

UV/VIS: Espectrofotometría ultravioleta-visible.

UV: Luz ultravioleta.

# Resumen

La presente investigación se enfocó en el diseño de un protector solar a partir de la vehiculización de un extracto acuoso de *Inonotus obliquus* en hidrogeles a base de colágeno tipo I, teniendo en cuenta que este hongo es una fuente abundante de melanina y polifenoles, los cuales pueden actuar como filtro solar debido a su capacidad para absorber todo el espectro UV-B y una parte del espectro UV-A, así mismo posee elevadas propiedades antioxidantes atribuidas a los betaglucanos que contiene, protegiendo la piel del daño oxidativo logrando prevenir el envejecimiento prematuro y pérdida de elasticidad, entre otras propiedades. Por otra parte, con base al objetivo propuesto se buscó implementar una forma farmacéutica que no contenga fase oleosa, de modo que se optó por el empleo de hidrogeles a base de colágeno tipo I, al ser formulaciones hidrofílicas monofásicas con agentes gelificantes poliméricos, cuyas ventajas son su biocompatibilidad, baja toxicidad, alto contenido de agua, homogeneidad de distribución, entre otros. Por lo cual, para lograr el enfoque de la presente investigación, se obtuvieron los extractos acuosos de *Inonotus obliquus* empleando diferentes condiciones de extracción (tiempo y amplitud) mediante ultrasonido, de tal manera que estos se caracterizaron cuantificando la cantidad de compuestos polifenólicos, mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu. Una vez obtenidos los extractos se elaboraron 6 prototipos de hidrogeles de colágeno tipo I a distintas concentraciones, disueltos en una solución buffer de acetatos de pH 5.2, acto seguido se realizaron pruebas de esparcibilidad y reología, tanto para los prototipos de hidrogeles a diferentes concentraciones sin cargar como para el hidrogel cargado con el extracto acuoso del hongo *Inonotus obliquus*, para finalmente determinar a este último las propiedades de fotoprotección. Una vez analizados los resultados obtenidos, se establece que el prototipo 4 elaborado a una concentración de 2.0 %p/p tiene capacidad de esparcimiento semi-rígida lo cual indica que el hidrogel se extiende fácilmente aplicando una ligera cantidad de cizallamiento cuando se aplica en la piel, siendo este el prototipo ideal para la vehiculización del extracto acuoso, obtenido a condiciones de extracción correspondientes a una amplitud al 60% por un tiempo de 15 minutos, dada las concentraciones más altas de polifenoles, así mismo se obtuvo un FPS para el hidrogel cargado con el extracto de  $9.33 \pm 0.07$ . Por lo cual, los resultados permitieron concluir que el extracto acuoso vehiculado en el hidrogel a base de colágeno tipo I puede ser empleado como filtro solar en las formulaciones cosméticas, además de contar con una capacidad de esparcimiento semi-rígida y un comportamiento no newtoniano pseudoplástico lo cual es favorable para la formulación de un protector solar.

## Palabras Clave

Protector solar, *Inonotus obliquus*, Hidrogeles, Colágeno tipo I, Polifenoles.

## Abstract

This research focused on the design of a sunscreen based on the vehiculization of an aqueous extract of *Inonotus obliquus* in hydrogels based on type I collagen, taking into account that this fungus is an abundant source of melanin and polyphenols, which can act as a sunscreen due to its ability to absorb the entire UV-B spectrum and part of the UV-A spectrum, it also has high antioxidant properties attributed to the beta-glucans it contains, protecting the skin from oxidative damage and preventing premature aging and loss of elasticity, among other properties. On the other hand, based on the proposed objective, we sought to implement a pharmaceutical form that does not contain an oily phase, so we opted for the use of type I collagen-based hydrogels, as they are monophasic hydrophilic formulations with polymeric gelling agents, whose advantages are their biocompatibility, low toxicity, high water content, homogeneity of distribution, among others. Therefore, to achieve the focus of this research, aqueous extracts of *Inonotus obliquus* were obtained using different extraction conditions (time and amplitude) by ultrasound, so that they were characterized by quantifying the amount of polyphenolic compounds, using the Folin-Ciocalteu assay. Once the extracts were obtained, 6 prototypes of type I collagen hydrogels were prepared at different concentrations, dissolved in an acetate buffer solution of pH 5.2, followed by spreadability and rheology tests, both for the hydrogel prototypes at different concentrations without loading and for the hydrogel loaded with the aqueous extract of the *Inonotus obliquus* fungus, to finally determine the photoprotection properties of the latter. Once the results obtained were analyzed, it was established that the prototype 4 elaborated at a concentration of 2.0 % w/w has a semi-rigid spreading capacity which indicates that the hydrogel spreads easily applying a slight amount of shear when applied on the skin, being this the ideal prototype for the vehiculization of the aqueous extract, obtained at extraction conditions corresponding to an amplitude of 60% for a time of 15 minutes, given the higher concentrations of polyphenols, likewise a SPF was obtained for the hydrogel loaded with the extract of  $9.33 \pm 0.07$ . Therefore, the results allowed us to conclude that the aqueous extract conveyed in the hydrogel based on type I collagen can be used as a sunscreen in cosmetic formulations, in addition to having a semi-rigid spreading capacity and a non-Newtonian pseudoplastic behavior, which is favorable for the formulation of a sunscreen.

## Keywords

Sunscreen, *Inonotus obliquus*, Hydrogels, Type I collagen, Polyphenols

# 1. Introducción

Uno de los tipos de materias primas naturales que se ha utilizado durante mucho tiempo en la medicina popular para el tratamiento de muchas enfermedades son los crecimientos en el abedul, causados por el hongo *Inonotus obliquus*, comúnmente conocido como Chaga (Razumov, E et al., 2019). Actualmente, esta especie de hongo solo ha sido descrita en el hemisferio norte, se encuentra particularmente en Canadá, en el norte de los Estados Unidos de América, China y Europa, los extractos del hongo se han utilizado principalmente por sus efectos favorables sobre el metabolismo de los lípidos y la función cardíaca, así como por sus actividades antibacteriana, antiinflamatoria, antioxidante y antitumoral, el análisis químico de Chaga en la literatura científica ha identificado varios compuestos químicos que lo componen que podrían ser responsables de la mayoría de los efectos terapéuticos mencionados anteriormente como polisacáridos, triterpenos y polifenoles, (Géry, A., et al., 2018), este último compuesto cuenta con la capacidad de absorber rayos ultravioleta y de eliminar radicales libres lo cual conduce a un amplio desarrollo y aplicación en protectores solares, por otro lado sus características estructurales y funcionales permiten una mayor integración con otras moléculas hacia el diseño y la preparación de ingredientes activos para emplearse en protectores solares (Wang et al., 2022). En cuanto al campo dermatocósmético, ha demostrado tener efectos antienvjecimiento y antimelanogénicos de interés para el tratamiento de la hiperpigmentación, sin embargo, se conoce y se publica muy poco sobre las propiedades biológicas del hongo sobre la piel (Softa, Percoco, Lati, & Bony, 2019), teniendo en cuenta que esta es una barrera biológica indispensable, que proporciona una línea de defensa eficaz contra los continuos ataques del entorno externo, como la contaminación del aire, los microorganismos patógenos y las radiaciones ultravioleta (UV). Para este caso el uso de compuestos bioactivos procedentes de productos naturales para el tratamiento y la prevención del fotoenvejecimiento inducido por la radiación UV se ha convertido en una tendencia en la industria cosmética (Suhaida et al., 2021). Cabe mencionar que se han realizado estudios para obtener compuestos fenólicos del hongo por fermentación, la exposición simultánea de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y arbutina dio lugar a un nuevo aumento de la producción de fenoles intracelulares, la producción de compuestos fenólicos por fermentación de Chaga se ve reforzada por la introducción de un oxidante, lo que permite utilizar este hongo como fuente fiable de compuestos fenólicos de importancia farmacéutica. Por lo cual, el trabajo propuesto tuvo como fin el diseño de un protector solar tipo hidrogel a base de extracto de *Inonotus obliquus* como primera fase de investigación.

## 2. Marco teórico

### 2.1 Hongos

El reino de los hongos incluye una variedad de organismos vivos pertenecientes al dominio Eukarya, estos se encuentran constituidos por un núcleo verdadero y muchos orgánulos complejos unidos a la membrana (mitocondria, retículo endoplasmático y aparato de Golgi), así mismo, algunos tipos de hongos cuentan con estructuras comparables a los plásmidos (bucles de ADN), su pared celular, la cual controla la permeabilidad celular y protege de los cambios osmóticos, se encuentra constituida de glucanos (50 a 60%), quitina (10 a 20%) y glicoproteínas (20 a 30%) que confieren propiedades de fuerza estructural a las paredes celulares de los hongos (Pontón, 2008). Cabe mencionar que emplean compuestos orgánicos complejos como fuentes de energía y carbono, la mayoría de estos organismos fúngicos se multiplican de manera asexual y juegan un papel fundamental en los ecosistemas como descomponedores de materiales orgánicos en moléculas simples (Campus, 2017).

### 2.2 Hongo *Inonotus obliquus*

En cuanto al hongo *Inonotus obliquus* también conocido como Chaga, perteneciente a la familia Hymenochetaceae, es un hongo parásito de plantas de color negro-marrón, en la figura 1 se muestra el aspecto del hongo, el cual se caracteriza por crecer de manera irregular y contar con la apariencia de carbón quemado, crece en varias especies de árboles como el aliso, el haya o el arce y especialmente en los abedules, el uso medicinal/nutracéutico de chaga se ha registrado en diferentes culturas antiguas, incluidas Ainu y Khanty en el noreste de Asia, y varias Primeras naciones como Chipewyan, Cree y Gitxsan en América del Norte (*View of Qualitative analysis of secondary metabolites of chaga mushroom (Inonotus Obliquus): phenolics, fatty acids, and terpenoids*, 2022), se utiliza en la medicina tradicional para tratar diferentes indicaciones terapéuticas y diversos problemas de salud, dado que cuenta con propiedades antiparasitarias, antituberculosas, antiinflamatorias, antioxidantes, antiinflamatorias, además de ser empleado como nutracéutico en diferentes culturas durante siglos gracias a propiedades conferidas por los compuestos presentes, conocidos como metabolitos secundarios (Géry, A., et al., 2018). Estos son un grupo heterogéneo de compuestos químicos que se sintetizan a partir de productos del metabolismo primario, actúan como mediadores químicos e intervienen en diversas funciones de las plantas o de los organismos con los que interactúan. Los metabolitos o las mezclas de ellos desempeñan más de una función biológica, dependiendo de su naturaleza química; existe una

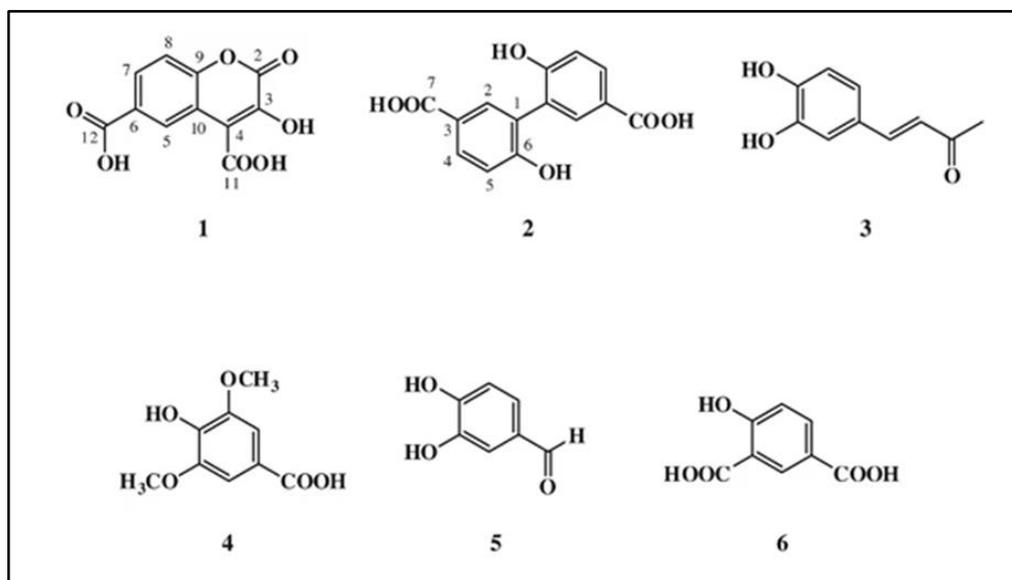
gran variedad de ellos (Thirumurugan et al., 2018), hay cinco tipos principales de metabolitos secundarios, tales como terpenoides y esteroides, sustancias derivadas de ácidos grasos y policétidos, alcaloides, polipéptidos no ribosómicos y cofactores enzimáticos (López, 2001). Por lo cual, en este caso el hongo *Inonotus obliquus* cuenta con sustancias bioactivas como triterpenos, polifenoles y polisacáridos presentes en los extractos del hongo considerados como los responsables de la mayoría de los efectos terapéuticos mencionados anteriormente (Szychowski, Skóra, Pomianek, & Gmiński, 2021).



**Figura 1.** Aspecto físico del hongo *Inonotus obliquus*, también conocido como Chaga (Chaga, 2019).

### 2.3 Compuestos polifenólicos

Constituyen uno de los grupos de sustancias más numerosos y ampliamente distribuidos del reino vegetal, productos del metabolismo secundario de las plantas. Surgen biogénicamente a partir de dos vías de síntesis principales: la vía del shikimato y la vía del acetato, se trata de un grupo extremadamente amplio y complejo de sustancias vegetales, pueden ir desde moléculas simples como los ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados como los taninos, en cuanto a su estructura (ver figura 2) los compuestos polifenólicos presentan en su estructura química uno o más anillos de benceno y uno o más grupos hidroxilados con algún elemento común, como los grupos funcionales de ésteres, ésteres de metilo, glicósidos, etc. Se trata de moléculas muy reactivas que normalmente se encuentran combinadas con azúcares, como la glucosa, galactosa, arabinosa, xilosa o los ácidos glucorónicos y galacturónicos (Martínez et al., s.f). Cabe mencionar que se pueden clasificar en diferentes clases, según el número de anillos fenólicos en su estructura, los elementos estructurales que unen estos anillos entre sí y los sustituyentes unidos a los anillos, pueden describirse como compuestos que contienen un resto fenol (un anillo de benceno que está sustituido con un grupo hidroxilo) por lo tanto, su nombre sistemático es hidroxibenceno (Quiñones et al., 2012).



**Figura 2.** Estructura química de compuestos polifenólicos presente en el hongo *Inonotus obliquus* siendo 1 y 2 con compuestos conocidos 4-(3,4-dihidroxifenil)but-3-en-2-ona ( 3 ), 4-hidroxi ácido -3,5-dimetoxibenzoico ( 4 ), 3,4-dihidroxibenzaldehído ( 5 ), ácido 4-hidroxi-benceno-1,3-dioico ( 6 ) y ácido 3,4-dihidroxibenzoico (Hwang et al., 2016).

Las propiedades químicas y físicas de este tipo de metabolitos le confieren al hongo Chaga ciertas actividades biológicas farmacológicas, por lo que son de gran interés en la industria farmacéutica y cosmética. Entre sus propiedades, se destacan beneficios para reducir los niveles de colesterol, retrasar el crecimiento del cáncer, apoyar la función inmunológica y reducir la presión arterial. Por otra parte, se destaca la actividad antioxidante, fotoprotectora, efectos antiinflamatorios, antiespasmódicos, diuréticos, coleréticos, entre otras (Hongo chaga de abedul. Descripción, propiedades curativas y uso del abedul chaga Jardín de abedules con chaga, s.f). Así mismo, la investigación sugiere que los antioxidantes naturales, no tóxicos, como los que se encuentran en el Chaga, sugieren que los ácidos fenólicos presentes en el hongo pueden proporcionar protección UV, dado que hace un gran trabajo al sombrear y proteger la piel contra los rayos solares y los peligrosos rayos UV, siendo clave para reducir el daño intenso en la piel causado por la exposición prolongada al sol, además de ayudar a reducir el daño oxidativo a los tejidos al prevenir la formación de ROS, logrando eliminarlos y promover su descomposición (Roberts, 2021).

## **2.4 Métodos de extracción de compuestos polifenólicos**

En cuanto a los métodos de extracción de estos metabolitos, se sabe que la técnica de extracción asistida por ultrasonido ha cobrado especial interés como una herramienta de cálculo y optimización para diferentes procesos de extracción comerciales y de investigación. Sin embargo, hoy en día las técnicas convencionales de extracción tienen inconvenientes en la eficiencia de la extracción, por efecto de factores como: solvente, temperatura, tiempo de extracción, tamaño de partícula, entre otros, por lo cual han sido consideradas tecnologías de extracción como: fluidos a alta presión (uso de fluidos supercríticos y líquidos a alta presión), tecnología de ultrasonido, tratamientos enzimáticos, tecnología de microondas y de pulso eléctrico, las cuales permiten la obtención de compuestos en mayor cantidad y con mejor calidad (Flores et al., 2016). Para el caso del empleo de ultrasonido, esta es considerada como una técnica de extracción rápida y eficiente que utiliza ultrasonidos para generar un rápido movimiento del solvente, lo que permite una mayor tasa de transferencia de masa, dando lugar a la aceleración de la extracción, presenta ventajas frente a las técnicas de extracción convencionales, entre ellas el uso de volúmenes bajos de solvente, tiempos cortos, pocos requisitos instrumentales, y bajos impactos económicos y ambientales (Syahir et al., 2020).

## **2.5 Industria cosmética**

Con base a lo anterior, se establece que estos hongos resultan ser bastante llamativos en otro tipo de áreas como en la industria cosmética debido a su poca investigación e incorporación en este tipo de campo, por lo cual resulta relevante profundizar las diversas características fotoprotectoras e hidratantes que ofrecen e incluso la búsqueda e implementación de nuevos ingredientes activos o aditivos para mejorar la calidad de dichos productos a partir de la fuente abundante y multifuncional que ofrecen este tipo de setas, considerando también que durante las últimas décadas, las personas han mostrado un mayor interés en el uso de cosméticos de origen natural, reemplazando en parte los productos químicos ampliamente utilizados en esta industria, esto debido a que la cosmética natural suele considerarse más segura, biocompatible y con menos efectos secundarios (Hongos en la Cosmética - Macroestetica, 2020).

Por otra parte, teniendo en cuenta que la mayoría de los productos cosméticos están destinados a aplicarse sobre la piel, resultan relevantes las características de textura en la aplicación y sensación posterior, por tanto, se consideran diferentes tipos de productos como los cosméticos sólidos los cuales durante su aplicación deben mantener su estructura rígida sin descamarse, romperse o desmoronarse; por otro lado, están los cosméticos en forma de partículas denominados polvos los cuales deben fluir de manera constante y controlada sin apelmazar y por

último los cosméticos semisólidos viscosos, los cuales, aunque se espera un cierto grado de firmeza en su aplicación, estos deben también ser fáciles de esparcir y fluir fácilmente, un ejemplo de este caso sería el protector solar (Mecmesin, 2015).

## **2.6 Protector solar**

Este se define como una sustancia que protege la piel de los efectos nocivos de la radiación UV solar al absorber, reflejar, dispersar o desviar los fotones UV, evitando su absorción por los componentes de la piel (Parrado, Gilaberte, Philips, Juarranz, & Gonzalez, 2021). Este producto normalmente viene en presentación de cremas o geles que se aplican tópicamente para proteger las células cutáneas inducidas por la radiación. Cabe mencionar también, que este tipo de productos se han dividido tradicionalmente en absorbentes químicos constituidos generalmente por compuestos aromáticos conjugados con un grupo carbonilo, logrando absorber los rayos UV de alta intensidad convirtiéndolos en calor que luego es liberado por la piel, y también están los bloqueadores físicos los cuales son menos irritantes y protegen la piel al reflejar y dispersar los rayos UV de la superficie de la piel. (Mori & Wang, 2021). Por otra parte, se sabe que la eficacia del protector solar está indicada por un factor de protección solar (SPF) lo que indica cuánta energía solar es requerida para producir quemaduras solares en la piel protegida, a medida que este valor aumenta es mayor la protección contra las quemaduras solares (FDA, 2017).

## **2.7 Rayos UV**

Estos son abundantes en el medio ambiente en donde esta energía se subdivide en componentes UV-A, -B y -C según las propiedades electro físicas que presente, estos rayos penetran profundamente en la epidermis hasta llegar a la dermis y generan especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden dañar el ADN a través de reacciones de fotosensibilización indirecta, también aumentan la expresión de p53 el cual es un gen supresor de tumores y así mismo promueven la carcinogenicidad de los rayos UVB y el estrés oxidativo (Rai, R., Shanmuga, S. C., & Srinivas, C, 2012). Teniendo en cuenta lo anterior es evidente que los rayos UV generan una variedad de enfermedades en la piel que incluyen inflamación, envejecimiento degenerativo y cáncer debido a que los seres humanos están expuestos a la radiación ultravioleta principalmente a través de la exposición ocupacional a la luz solar (D'Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., & Scott, T, 2013).

## **2.8 Fotoprotección**

Está indicada para la reducción del daño cutáneo inducido por la radiación ultravioleta (UV) y los cánceres que se pueden llegar a presentar en la piel, por lo cual estos productos absorben o reflejan la radiación UV como factores secundarios lo que hace referencia a antioxidantes, osmolitos y enzimas reparadoras del ADN que pueden interrumpir la cascada fotoquímica desencadenada por la penetración de los rayos UV, limitando así el daño cutáneo (Rai, R., Shanmuga, S. C., & Srinivas, C, 2012). Sin embargo, se sabe que este tipo de industria actualmente incorpora compuestos químicos tóxicos y contaminantes dentro de sus fórmulas para el desarrollo de protectores solares como por ejemplo en este caso la oxibenzona, octinoxato, benzofenona-3, entre otros, los cuales acaban en los arrecifes y océanos de todo el mundo generando problemas ambientales como lo es el blanqueamiento de los corales. Cabe mencionar que también pueden llegar a provocar problemas dermatológicos como irritaciones en la piel, acné, e incluso llegar a bioacumularse en el organismo siendo muy difíciles de eliminar o bien llegar a comportarse como disruptores endocrinos (Cordero, 2018). Así mismo, considerando que muchos de los protectores solares emplean en sus formulaciones fases oleosas las cuales son termodinámicamente inestables y grasosas para la piel (lo que produce problemas relacionados con el acné), se requiere el desarrollo de protectores solares que emplean activos de origen natural, seguros ambientalmente y en vehículos (como en este caso los hidrogeles) que no alteren atributos de la piel como son su contenido graso e hidratación (Mitura et al., 2020).

## **2.9 Hidrogeles**

Actualmente los hidrogeles son uno de los grupos de materiales médicos más interesantes para cosmetología y dermatología, debido a que presenta varias ventajas como su capacidad para almacenar y proteger sustancias biológicamente activas contra los efectos adversos del entorno externo, fácil aplicación en el tratamiento de enfermedades de la piel y minimización significativa de efectos secundarios (Zagórska-Dziok, M., & Sobczak, M, 2020). Los materiales de hidrogel se conforman por redes poliméricas, hidrófilas y tridimensionales con propiedades como alto contenido de agua, suavidad, flexibilidad y buena adhesión del hidrogel a la piel (Lu et al., 2021). Para el desarrollo de los hidrogeles se emplean polímeros hidrofílicos como el colágeno tipo I, el cual es una proteína fibrilar que conforma los tejidos conjuntivos y conectivos del cuerpo humano, esencialmente la piel, las articulaciones y los huesos (Sánchez, Ávila Rodríguez, & Rodríguez Barroso, 2017).

## 2.10 Colágeno tipo I

El colágeno tipo I se considera como el más abundante, fuerte, elástico y con una relación directamente proporcional con el envejecimiento cutáneo, reemplazando las células muertas de la piel, además se ha identificado que tiene alta biocompatibilidad con el cuerpo humano al ser reabsorbible, lo que significa que se puede descomponer, convertir y absorber nuevamente en el cuerpo, por lo tanto el desarrollo de hidrogeles este biomaterial promete ser un candidato ideal como matriz de protección solar, bloqueando los rayos UV para reducir el daño de la piel humana de manera efectiva. Sin embargo, también son considerados otros polímeros hidrofílicos como la gelatina, compuesta de glicina, prolina, y 4-hidroxiprolina, este un polímero natural que está hecho de la degradación hidrolítica de la proteína del colágeno y su estructura distintiva de aminoácidos le confiere varios beneficios para la salud; este biopolímero tiene propiedades físicas que permiten el desarrollo de hidrogeles como fuerza de gel, afinidad, temperaturas de gelificación y fusión, alta dispensabilidad, características de baja viscosidad, estabilidad de dispersión y retención de agua (Alipal et al., 2021). Por otro lado, se encuentra el quitosano el cual está compuesto de d-glucosamina unida en  $\beta$ - (1-4) y *N*- acetil- d -glucosamina distribuidos aleatoriamente dentro del polímero, su naturaleza catiónica es bastante especial, ya que la mayoría de los polisacáridos suelen ser neutros o cargados negativamente en un entorno ácido, de tal manera que esta propiedad le permite formar complejos electrostáticos o estructuras multicapa con otros polímeros sintéticos o naturales cargados negativamente. Además, cabe destacar que es de gran interés debido a que es biocompatibilidad, no tóxico, tiene baja alergenicidad, es biodegradable y se han encontrado propiedades antioxidantes (Aranaz, I., Alcántara, A. et al., 2021), lo cual es de gran interés para el proyecto a desarrollar.

### 3. Planteamiento del problema

El hongo *Inonotus obliquus* a lo largo de los años ha contado con un enfoque principalmente de carácter terapéutico, teniendo en cuenta que ha sido empleado en la medicina tradicional para tratar diferentes problemas de salud debido a que posee propiedades antiparasitarias, antiinflamatorias, anticancerígenas, entre otros. Sin embargo, resulta ser bastante llamativo en otro tipo de áreas, dado que muy pocos de estos organismos son empleados comercialmente en la industria cosmética para el cuidado de la piel, por lo cual resulta relevante profundizar las diversas características fotoprotectoras que ofrece (Gauri, Gupta, Tuohy, & Rajeeva, 2016), teniendo en cuenta que el presente hongo se encuentra compuesto por metabolitos activos como melanina y polifenoles, los cuales pueden actuar como filtro solar debido a su capacidad para absorber el espectro UV-B y UV-A antes de que dañen las células de la piel (Softa, Percoco, Lati, & Bony, 2019). Así mismo, este hongo cuenta también con betaglucanos, fenoles y flavonoides que combaten el estrés oxidativo que pueden dañar los tejidos de la piel logrando prevenir el envejecimiento prematuro y pérdida de elasticidad (Creek, 2019). Por otra parte, cabe señalar también, en vista de que este tipo de industria incorpora variados compuestos químicos dentro de sus fórmulas, en lo que refiere al desarrollo de protectores solares, se encuentra presente la oxibenzona, octinoxato, ciclopentasiloxano, benzofenona-3, entre otros compuestos (ampliamente utilizados en la industria), que acaban en los arrecifes y océanos de todo el mundo generando contaminación y blanqueamiento de los corales, además de provocar problemas dermatológicos como irritaciones en la piel, acné, e incluso llegar a bioacumularse en el organismo siendo muy difíciles de eliminar o bien llegar a comportarse como disruptores endocrinos (Cordero, 2018). Por lo cual, la presente investigación se enfocará en el diseño de un protector solar a partir de la vehiculización de un extracto acuoso de *Inonotus obliquus* en hidrogeles a base de colágeno tipo I, teniendo en cuenta que este es un polímero hidrofílico, cuyas ventajas son su bioadhesividad, biocompatibilidad, baja toxicidad, alto contenido de agua lo que proporciona elasticidad, suavidad, frescura, homogeneidad de distribución, entre otras propiedades de hidratación y protección de la piel frente a los agentes externos como el sol o la contaminación del ambiente (Mitura et al., 2020). Finalmente, se considera que este tipo de investigación puede ampliar el panorama del desarrollo de nuevos productos cosméticos teniendo en cuenta el amplio espectro de utilidad de este tipo de microorganismos como posibles fuentes sostenibles de ingredientes funcionales (principios activos) o aditivos para mejorar la calidad de muchos productos presentes en el mercado.

## 4. Pregunta de investigación

¿Los hidrogeles elaborados con colágeno tipo I que contienen extractos acuosos de *Inonotus obliquus* presentan propiedades fotoprotectoras?

## 5. Objetivos

### 5.1. Objetivo general del Anteproyecto

Obtener un protector solar a partir de la vehiculización de un extracto acuoso de *Inonotus obliquus* en hidrogeles a base de colágeno tipo 1.

### 5.2 Objetivos específicos

- Obtener un extracto acuoso de *Inonotus obliquus* empleando diferentes condiciones de extracción y ultrasonido.
- Vehicular un extracto acuoso de *Inonotus obliquus* en hidrogeles a base de Colágeno tipo 1.
- Determinar las propiedades reológicas y de protección solar en hidrogeles a base de colágeno tipo 1, cargados con un extracto acuoso de *Inonotus obliquus*.

## 6. Metodología

### 6.1 Materia prima

Se adquirió por página de mercado libre paquete de hongo en polvo Chaga orgánico en presentación de 40z -113g. Por otra parte, el colágeno tipo I (procedente de fuente bovina) fue facilitado por el Grupo de Trabajo en ingeniería de tejidos de la universidad Nacional de Colombia, para este caso, brevemente, se lavó la fascia bovina, se desinfectó con etanol al 70% desinfectada con etanol al 70%, desaceitada con éter etílico y cortada en segmentos de 0,5 cm. Los segmentos limpios de fascia se sumergieron en ácido acético 0.5 N, homogeneizados (Magic Clean Mg-3600), precipitados con 1.0 N NaOH, y se hidrataron con ácido acético 0.05 N hasta alcanzar la concentración deseada (4% p/p).

### 6.2. Metodología para dar cumplimiento al objetivo específico 1: “Obtener un extracto acuoso de *Inonotus obliquus* empleando diferentes condiciones de extracción y ultrasonido.”

#### 6.2.1 Extracción acuosa de hongo *Inonotus obliquus*

Para la obtención del extracto del hongo, en primera medida se hizo tamizado en seco de la muestra de hongo en polvo en el tamiz vibratorio circular FILTRA IRIS FTL-0300, a fin de establecer la distribución del tamaño de partícula mediante el pesaje de cada una de las mallas vacías y con la cantidad de muestra que retenía cada tambor en balanza Ohaus Ranger 300. Posterior a ello, se realizó la extracción acuosa del hongo *Inonotus obliquus* en proporción 10:1 de agua: polvo para someterlas a tratamiento de ultrasonido en equipo QSONICA Q500 SONICATOR - 500 WATT, por 5, 10, y 15 min a amplitudes de 20, 40 y 60 % respectivamente. Una vez obtenidas las muestras homogeneizadas a dichas condiciones, se llevaron a centrifugación por 5 min a 3000 RPM en Centrífuga Hettich zentrifugen Rotofix 32 A, finalmente para obtener el extracto, se filtró por gravedad cada una de las muestras y se almacenó el sobrenadante para posteriores estudios de cuantificación de flavonoides y polifenoles. Asimismo, cabe mencionar que para cada una de las condiciones de estudio anteriormente nombradas se realizaron pruebas por triplicado, por lo cual se obtuvieron 9 muestras de extracto acuoso del hongo *Inonotus obliquus*.

## **6.2.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos**

Se preparó una solución estándar 1000 mg/L a partir de ácido gálico disuelto en 10 mL de H<sub>2</sub>O, posterior a ello se preparó un blanco y 10 disoluciones de 0 a 100 ppm, tomando alícuotas de 100 µL a 1000 µL respectivamente y aforando con agua destilada en balones de 10 mL. Posteriormente, se tomaron 100 µL de cada disolución y se sembraron en una microplaca de 96 pozos, donde seguido de las soluciones se agregaron 50 µL de carbonato de sodio y 50 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, llevando a cabo este proceso por triplicado. Para conocer las concentraciones de los extractos obtenidos anteriormente, se hicieron dos disoluciones de 9:1 agua: extracto en balones de 10 mL para disminuir su concentración, acto seguido, se sembraron 100 µL de las disoluciones de los extractos, después se agregó 50 µL de carbonato de sodio y finalmente 50µL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Posterior a ello, se llevaron las muestras para lectura de absorbancia a 725 nm en espectrofotómetro UV/Visible Shimadzu. Una vez analizada esta información, el extracto obtenido a mejores condiciones se pesó y posterior a ello, se liofilizó por 48 horas en equipo BUCHI Lyovapor™ L-200, a una temperatura de -56.8 °C y un condensador de hielo a presión de 0.096 mbar. Acto seguido, se pesó la muestra liofilizada obtenida en balanza semi-analítica OHAUS PIONEER SEMI-ANALITICA PX323/E, y se sometió a un proceso de disminución del tamaño de partícula en un cortador de cuchillas, y finalmente se determinó su tamaño en el tamiz vibratorio.

## **6.3. Metodología para dar cumplimiento al objetivo específico 2: “Vehicular un extracto acuoso de *Inonotus obliquus* en hidrogeles a base de Colágeno tipo 1.”**

### **6.3.1. Elaboración de hidrogeles a base de Colágeno tipo I**

Principalmente se elaboraron los hidrogeles a base de colágeno I de fuente bovina, luego estos fueron disueltos en una solución buffer de acetatos para lograr un pH de 5.2, teniendo en cuenta el rango de pH óptimo para la piel (4.7-5.75). Para ello, se prepararon muestras de hidrogel a distintas concentraciones (0.5-3.0%p/p), por lo cual se pesaron las respectivas cantidades de colágeno, a las cuales se les añadió la cantidad correspondiente de solución buffer para preparar 3g de muestra de hidrogel. Acto seguido, se llevaron a homogeneización mediante el empleo del equipo ultra-turrax MICCRA D-1 010081, para posterior medición de pH de estas mediante el empleo del equipo pHmetro OHAUS starter 5000, de igual manera para este caso, cada procedimiento se realizó por triplicado, obteniendo 18 muestras de estudio, que fueron almacenadas y requeridas para posteriores estudios.

### **6.3.2. Ensayo de esparcibilidad**

Por otro lado, en vista de que resultaba necesario determinar las características óptimas del hidrogel, se realizaron pruebas de esparcibilidad a cada muestra, a través de la medición del diámetro formado una vez se depositan 0.5 g de cada muestra en medio de dos placas de vidrio (ejerciendo presión en la placa superior por 5 min con la base del soporte universal) sobre una hoja de papel milimetrado para posterior medición y toma de datos obtenidos. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada una de las condiciones de estudio.

### **6.3.3. Vehiculización de extractos acuosos**

Se incorporó el extracto de *Inonotus obliquus* obtenido a mejores condiciones de extracción en el hidrogel siguiendo el mismo procedimiento para la elaboración de hidrogeles, ya mencionado, pero en este caso al tener el extracto acuoso en polvo, se prepara la solución buffer de acetatos y se agrega el polvo del extracto de hongo liofilizado en proporción 10:01 agua: extracto, llevando a cabo este procedimiento por triplicado.

## **6.4. Metodología para dar cumplimiento al objetivo específico 3: “Determinar las propiedades reológicas y de protección solar de hidrogeles a base de colágeno tipo 1, cargados con un extracto acuoso de *Inonotus obliquus*.”**

### **6.4.1. Reología**

Inicialmente se determinaron las propiedades reológicas de cada prototipo de los hidrogeles poliméricos sin cargar, mediante el empleo del reómetro MCR 92 de la empresa Anton Paar, con un sistema de placas paralelas en el que se dispusieron las muestras de los hidrogeles con un GAP de 1.000 mm, posteriormente se realizó un barrido de deformación en un rango de 0-100% con una frecuencia fija de 1 Hz para barrido de deformación, y se tomaron 25 puntos por barrido. Con estos datos se calculó  $G'$  y  $G''$  (módulo de almacenamiento y módulo de pérdida). De igual manera, se midieron estos mismos parámetros en el hidrogel cargado con el extracto acuoso del hongo.

### **6.4.2. Ensayo de fotoprotección**

El factor de protección solar se evaluó por espectrofotometría UV/VIS utilizando el protocolo estandarizado por el semillero de investigación ABC (Zambrano Cabrera, 2022). Para ello, se prepararon dispersiones de 0.2  $\mu\text{g/mL}$  en agua destilada de los dos hidrogeles (cargados y el

control). A cada una de estas dispersiones se les midió la absorbancia en el rango de 290-320 nm en intervalos de 5 nm. El FPS se determinó utilizando la ecuación de Mansur:

$$FPS \text{ Espectrofotométrico} = FC \times \sum_{290}^{320} (EE(\lambda) \times I(\lambda) \times A(\lambda))$$

Donde FC = factor de la corrección (igual a 10); EE = efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda I = intensidad del sol en la longitud de onda; A = absorbancia de la solución en la longitud de onda. Cabe mencionar que este ensayo se realizó por triplicado.

## 7. Resultados y análisis de resultados

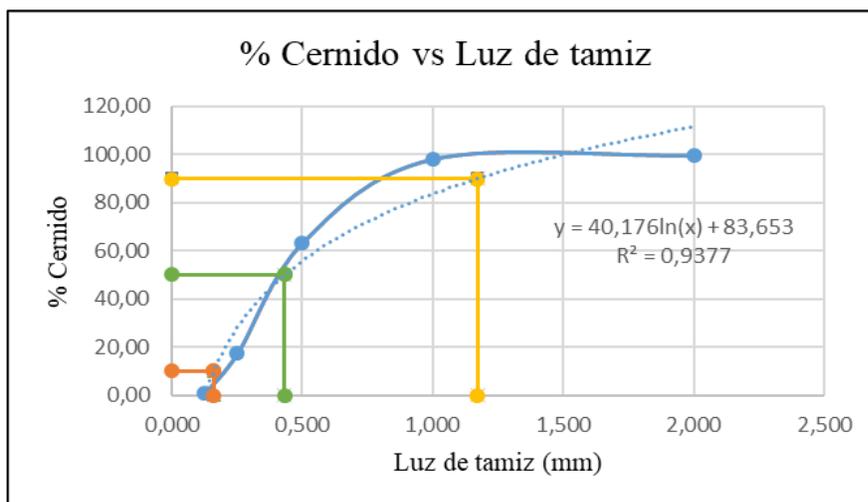
### 7.1 Obtención del extracto de hongo *Inonotus obliquus*.

#### 7.1.1 Determinación tamaño de partícula de muestra comercial hongo *Inonotus obliquus*

Una vez adquirida la materia prima (hongo *Inonotus obliquus*, presentación polvo orgánico de 40z -113g), se determinó el tamaño de partícula de esta presentación comercial adquirida mediante el empleo del tamiz vibratorio circular FILTRA IRIS FTL-0300, esta prueba se realiza a fin de lograr determinar el porcentaje de cada tamaño de grano contenido en la muestra constituida por partículas de diámetros variables, de modo que los resultados de la prueba se puede usar para producir la curva de distribución del tamaño de grano, y lograr predecir su comportamiento (Hossain et al., 2021). Por otra parte, resulta importante el estudio de la distribución del tamaño de las partículas para comprender las propiedades físicas y químicas del material de estudio, siendo este un atributo crítico de calidad (CQA), dado que el tamaño de las partículas afecta la fuerza o la reactividad de los sólidos, ya que puede alterar la estabilidad del mismo, así como la apariencia (Tung & Chow, 2007).

El ensayo consistió en separar una muestra de agregado seco de masa conocida, a través de una serie de tamices de aberturas progresivamente menores. A partir de los datos obtenidos se elaboró un gráfico de % Cernido vs luz de tamiz (ver figura 3), empleando una intersección y a partir de la ecuación determinar los valores correspondientes D10, D50 y D90, donde el D10 se refiere a que el 10% de la muestra está compuesta de partículas con un tamaño menor correspondiente a un valor de 0.160 mm, el D50 es el tamaño de partícula correspondiente al 50% que pasa y representa el tamaño medio del polvo, es decir de 0.433 mm y el D90 representa el tamaño de partícula donde el 90% de la muestra está compuesta por partículas de un tamaño menor a 1.171 mm (ver tabla 1). Teniendo en cuenta que este último valor resulta ser el tamaño de partícula representativo de la muestra comercial puede presentar ventajas en el proceso de extracción acuosa de polifenoles presentes en el hongo, evitando que estas se apelmacen lo que puede llegar a dificultar el proceso de extracción (Sánchez et al, 2009). Sin embargo, resulta favorable trabajar con las partículas de menor tamaño, debido a que proporcionan una mayor estabilidad e idoneidad para transportar ingredientes activos y aumentar la vida útil del producto

(Ranade, 1987).



**Figura 3.** Gráfica de porcentaje de cernido vs luz de tamiz y ecuación de la recta para ensayo correspondiente a la determinación del tamaño de partícula de muestra comercial de hongo *Inonotus obliquus*.

**Tabla 1.** Datos sobre la determinación del tamaño de partícula muestra comercial de hongo *Inonotus obliquus*.

Distribución de tamaño de partícula	
Distribución	Tamaño (mm)
D10	0.169
D50	0.433
D90	1.171

### 7.1.2 Extracción acuosa del hongo *Inonotus obliquus* mediante ultrasonido

En cuanto al procedimiento de extracción, para obtener el extracto del hongo que contiene los polifenoles, se optó por realizar una extracción asistida por ultrasonido, teniendo en cuenta que es uno de los métodos convencionales más empleados para este fin, dado que permite ofrecer

altos rendimientos de extracción, además de ser considerada como una tecnología de fácil manejo, segura, reproducible y sustentable, al requerir una inversión moderada de energía y solvente (Medina, 2017). En este caso, EAU representa una ventaja frente a otros métodos de extracción teniendo en cuenta que ha sido comparado científicamente con técnicas alternativas como por ejemplo soxhlet, extracción de fluidos supercríticos o maceración y los resultados demuestran una ventaja significativa de la ultrasonificación con respecto a la velocidad y alta eficiencia en el rendimiento de la extracción, al aumentar la recuperación de polifenoles (Ultrasonication outcompetes other extraction methods by speed, 2022); lo anterior se atribuye al hecho de que el uso de ultrasonido favorece la ruptura de la pared celular, con el consiguiente aumento de la penetración del solvente por disrupción de las células a través de la cavitación (fenómeno donde las ondas de sonido que pasan a través de un medio (solvente) generan procesos de compresión y de expansión) (Oroian et al., 2020). Por otro lado, estudios han realizado una comparación con la extracción por reflujo tradicional, donde el método de extracción asistido por ultrasonido, no solo puede acortar el tiempo de extracción, sino que también evita la degradación de los componentes causada por la alta temperatura, que es un método de extracción extremadamente efectivo (Corona, E et al., 2016). En este caso, resulta importante tener en cuenta variables que están directamente relacionadas con la eficiencia de extracción, tales como las propiedades físicas del solvente empleado, temperatura, frecuencia, potencia del ultrasonido, presión hidrostática, tensión superficial y la potencia de irradiación. Por otra parte, cabe resaltar también, que el tamaño de partículas y el tipo de solvente son factores también muy importantes que influyen y se deben tener presente para tener una extracción eficiente y de calidad por medio de esta tecnología (Tobón, 2015).

Tradicionalmente, la extracción de compuestos fenólicos se ha realizado por diferentes técnicas que involucran diversos solventes orgánicos de naturaleza polar como: metanol, etanol, acetato de etilo, o mezclas de ellos. Sin embargo, existen varias desventajas en el uso de estos solventes, además de un posible efecto peligroso para la salud humana, los residuos de los solventes también pueden permanecer en los productos finales. Esto requiere pasos de purificación adicionales que consumen mucho tiempo e influyen en el costo total del proceso. Adicionalmente, mediante el uso de solventes orgánicos puros, los ácidos fenólicos muy polares (ácidos benzoicos, cinámico) no se pueden extraer por completo, lo que limita de igual manera el uso de estos extractos como aditivos naturales, en este sentido, es importante el uso de solventes generalmente reconocidos como seguros (GRAS) (agua, o sus mezclas) (Brglez Mojzer et al., 2016).

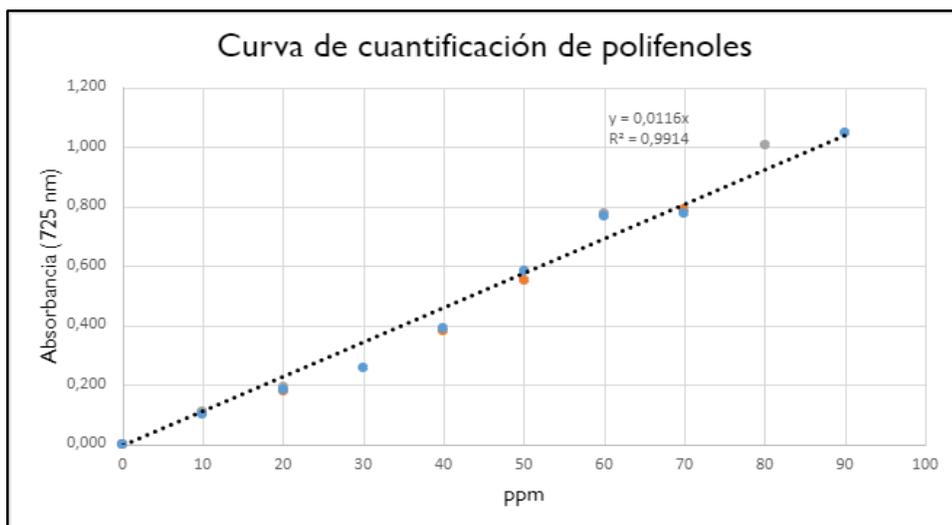
Con base en ello, al buscar extraer gradualmente la mayoría de los compuestos polifenólicos presentes en el hongo, se sabe que este proceso dependerá de los pesos moleculares de estos metabolitos y también por efecto del solvente empleado que en este caso fue agua. Por lo cual estos metabolitos presentes en el hongo (los cuales actúan como especies captadoras de radicales libres evitando la peroxidación de lípidos producto de la radiación UV), al ser de bajo peso molecular, serán más solubles en un sistema acuoso, dado que este tipo de compuestos se extraen generalmente con solventes orgánicos o la mezcla de algunos de ellos, obteniéndose en el extracto una mezcla de diferentes compuestos polifenólicos (Khan et al, 2010). De igual manera, este ensayo proporciona una buena estimación de los polifenoles en los extractos derivados de plantas y es ampliamente utilizado, de tal manera que el aumento de la polaridad del solvente da lugar a mayores rendimientos de extracción de estos metabolitos (Tobón, 2015).

## **7.2 Cuantificación de compuestos polifenólicos presentes en hongo *Inonotus obliquus* por espectrofotometría UV/Vis.**

Referente a la cuantificación de compuestos polifenólicos por espectrofotometría UV/VIS, se empleó el ensayo de Folin-Ciocalteu (este se basa en un mecanismo de reacción redox), en este caso los compuestos fenólicos reaccionan con este reactivo, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 725 nm (este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra), absorbancia proporcional al porcentaje de compuestos fenólicos presentes en la muestra, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico (utilizado como el compuesto fenólico de referencia), cabe mencionar que este es un compuesto trifenólico natural de bajo peso molecular, característico por contar con una fuerte capacidad de absorción y actividad antioxidante en muchos estudios, proporcionando una protección eficaz contra la oxidación (Badhani et al., s.f.). Este ensayo colorimétrico es de los más empleados por su simplicidad y bajo precio, proporciona una buena estimación de los polifenoles en los extractos derivados de plantas y es ampliamente utilizado como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales (Martínez et al., s.f.).

A partir de los valores de absorbancia obtenidos de cada concentración de ácido gálico se construyó la correspondiente recta de calibrado, de modo que a partir de la lectura de la absorbancia de los compuestos a 725 nm, se tuvo una curva con buena regresión lineal, asociado

con un  $r^2 > 0.99$  (ver figura 4), es decir que los datos obtenidos tuvieron una correlación adecuada entre las variables concentración y área de pico. Por lo cual se puede inferir que la curva de calibración cumple con un modelo lineal, teniendo en cuenta que presenta una buena confiabilidad en la predicción de la concentración polifenólica presente en los extractos de hongo *Inonotus obliquus*.



**Figura 4.** Curva de calibración para la cuantificación de polifenoles presentes en hongo *Inonotus obliquus*.

### 7.2.1 Selección de condiciones de extracción para vehiculización en hidrogeles a base de colágeno tipo I.

Una vez elaborada la curva de calibración, se procedió a determinar las mejores condiciones de extracción en relación con las concentraciones obtenidas para cada una de las condiciones evaluadas mediante tratamiento de ultrasonido por 5, 10, y 15 min a amplitudes de 20, 40 y 60 % respectivamente (ver tabla 2, 3, 4 y figura 5).

**Tabla 2.** Datos de concentración, promedio, desviación estándar y % de coeficiente de variación de extracto acuoso obtenido con amplitud al 20%.

Concentraciones de extracción con amplitud al 20 %	
No. Muestra	Concentraciones (ppm)
1	1532.76

2	1420.69
3	1304.31
<b>Promedio</b>	1419.25
<b>Desviación estándar</b>	114.23
<b>%CV</b>	8.05

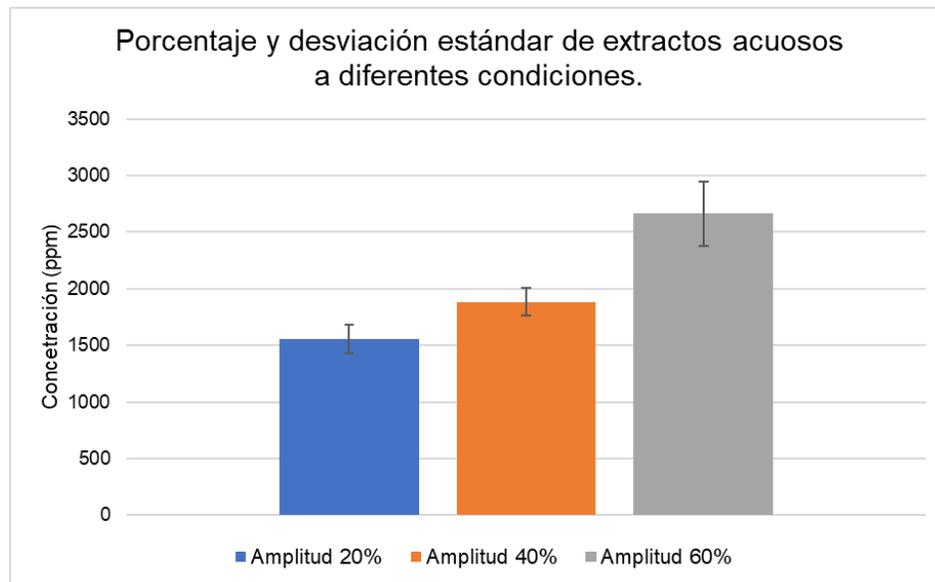
**Tabla 3.** Datos de concentración, promedio, desviación estándar y % de coeficiente de variación de extracto acuoso obtenido con amplitud al 40%.

<b>Concentraciones de extracción con amplitud al 40 %</b>	
<b>No. Muestra</b>	<b>Concentraciones (ppm)</b>
1	1841.38
2	1695.69
3	1628.45
<b>Promedio</b>	1721.84
<b>Desviación estándar</b>	108.85
<b>%CV</b>	6.32

**Tabla 4.** Datos de concentración, promedio, desviación estándar y % de coeficiente de variación de extracto acuoso obtenido con amplitud al 60%.

<b>Concentraciones de extracción con amplitud al 60 %</b>	
<b>No. Muestra</b>	<b>Concentraciones (ppm)</b>
1	2184.48
2	2704.31
3	2409.48

<b>Promedio</b>	2432.76
<b>Desviación estándar</b>	260.69
<b>%CV</b>	10.72



**Figura 5.** Gráfica con promedios y desviaciones estándar de extractos acuosos a diferentes condiciones de extracción.

Por lo cual, una vez analizados estos valores, se logró inferir que el extracto con las mejores condiciones para ser vehiculizado en los hidrogeles de colágeno tipo I es el que se obtuvo a condiciones de amplitud al 60% por un tiempo de 15 minutos, dado que este mostró las concentraciones más altas de polifenoles totales entre las muestras analizadas, esto teniendo en cuenta que los polifenoles desempeñarán un papel importante en la fotoprotección (al contrarrestar los efectos lesivos derivados de las especies reactivas de oxígeno generados por las radiaciones). Teniendo en cuenta que la potencia ultrasónica aplicada se consideró un factor clave que afectan a la eficiencia de extracción de estos compuestos, de tal manera que una potencia ultrasónica superior genera cavitación mayor, generando que las cavidades se formen y estallen con más energía, lo que promueve una penetración significativa del solvente en la

matriz del hongo, aumentando la tasa de transferencia de masa por incremento de los coeficientes de transferencia de materia en la interface sólido-líquido. Además de evitar la sedimentación y apelmazamiento de las partículas sólidas, y en efecto aumentar la eficiencia de la extracción (Suhaimi et al., 2019).

### **7.3 Elaboración de hidrogeles a base de Colágeno tipo I.**

Los hidrogeles son uno de los grupos más interesantes de materiales médicos para cosmetología y dermatología, son de fácil aplicación y cuenta con pocos efectos secundarios, poseen propiedades hidratantes, refrescantes, buena adherencia del producto en la piel, rápida absorción y mayor efecto penetrante frente a otras formas farmacéuticas como lo son las emulsiones (Calvo et al., 2015). Cabe mencionar que hay muchas posibilidades de manipular tanto el tamaño de poro como las propiedades superficiales de los hidrogeles para garantizar una cinética adecuada, así como para obtener un hidrogel con las propiedades mecánicas deseadas para su aplicación, además de que estos materiales poseen la capacidad de almacenar y proteger sustancias biológicamente activas contra los efectos adversos del entorno externo (Zagórska-Dziok, M., & Sobczak, M, 2020).

Por otra parte, el polímero colágeno tipo I, es fácilmente accesible, en particular, en la industria farmacéutica, tiene un alto potencial de uso debido a sus características naturales, como alta afinidad celular, biodegradabilidad, no toxicidad, similitud de sus propiedades físicas con los tejidos naturales, numerosos sitios para modificación con grupos reactivos, biofuncionalidad y antigenicidad débil. Es ampliamente utilizado en la industria cosmética como producto antienvjecimiento, y para la reparación de la piel, teniendo en cuenta que este es un antioxidante natural, puede usarse para mantener el nivel de hidratación en la piel y su elasticidad, además de lograr sustituir las fibras de colágeno dañadas por efecto de la luz (Naomi et al., 2021). Cabe mencionar que muchos de los protectores solares presentan una forma farmacéutica en crema, incluyendo en su formulación una fase oleosa lo cual es termodinámicamente inestable y graso para la piel, genera problemas relacionados con acné y no es adecuado para cualquier tipo de piel, por lo tanto se optó por una forma farmacéutica en hidrogel, lo cual no altera atributos de la piel como son su contenido graso e hidratación.

Con respecto a la elaboración de hidrogeles a base de colágeno tipo I, se elaboraron 3g para cada uno de los prototipos de estudio a diferentes concentraciones (0.5-3.0%p/p), a estos se les midió su valor promedio de pH (valores que se encuentran entre 5.14-5.19), los cuales se encuentran dentro del rango de pH de la piel (4.7-5.75), esto gracias a la solución tampón de acetatos preparada a un pH de 5.2. Teniendo en cuenta que el tamaño y la distribución de los hidrogeles se ven afectados por la concentración de polímero y el método de homogeneización, en este caso, se optó por elaborar diferentes prototipos de este hidrogel con la finalidad de buscar el vehículo con mejores atributos de viscosidad y esparcibilidad para incorporación del extracto acuoso del hongo *Inonotus obliquus*. En cuanto al proceso de homogeneización para la elaboración de los hidrogeles, se optó por el empleo del equipo ULTRA-TURRAX® UTC, una máquina de dispersión de alto rendimiento para volúmenes de 1 a 2.000 ml (H<sub>2</sub>O) con indicador digital de velocidad, utilizada para la producción de una variedad de emulsiones y suspensiones en operaciones por lotes. Este cuenta con tubos de ensayo cerrados para dispersar, homogeneizar, mezclar y triturar la mezcla de estudio, usando el principio rotor-estator. Así mismo, el UTC suele ser el más adecuado para aplicaciones que no se pueden lograr usando métodos de agitación convencionales (*ULTRA-TURRAX UTC*, s.f.), al comparar este método de homogeneización con el empleo de ultrasonido, se tiende a obtener formas farmacéuticas altamente líquidas y fácilmente lavables, caso opuesto al que ocurre con el empleo del agitador magnético en que se pueden llegar a formar una consistencia más rígida, además de ser ampliamente empleado para producir emulsiones, ya que generan un flujo axial dentro del tanque, debido a que poseen una gran energía específica y son utilizados en dispersiones en donde la viscosidad es baja (Raquel Antón, 2004).

Con respecto al ensayo de expansibilidad, su determinación resulta ser esencial, ya que está relacionada con la facilidad de aplicación tópica del producto, teniendo en cuenta que un buen hidrogel se extenderá fácilmente de manera uniforme dadas sus características de untabilidad, un buen criterio para que el gel cumpla con las cualidades recomendadas por los organismos reguladores es la capacidad de propagación, que sería la extensión de la zona en la que el hidrogel se esparce al momento de su uso (Heibe et al., 2020).

### **7.3.1 Selección de mejor prototipo de hidrogel para vehiculización de extracto acuoso del hongo mediante ensayo de esparcibilidad**

Una vez realizado el ensayo de esparcibilidad para cada uno de los hidrogeles elaborados, se llevó a cabo la correspondiente toma de datos, los cuales se tuvieron en cuenta para determinar la capacidad de esparcimiento característica de cada prototipo evaluado. Cabe resaltar que los resultados para este ensayo corresponden a la relación entre el área de esparcimiento que se produce al aplicar una fuerza sobre el hidrogel (ver tabla 5), en relación a ello, se establece que el hidrogel con mejores propiedades para vehiculizar el extracto acuoso del hongo obtenido a condiciones de 60% de amplitud en un periodo de tiempo de 15 minutos, es el correspondiente al prototipo cuya concentración es de 2.0% p/p con una capacidad de esparcimiento semirigida (Naga Sravan Kumar Varma et al., 2014), lo cual indica que el hidrogel se extiende fácilmente aplicando una ligera cantidad de cizallamiento cuando se aplica en la piel, proporcionando un sistema de administración adecuado para vehiculización del extracto acuoso del hongo. Teniendo en cuenta también que los hidrogeles se caracterizan por ser redes tridimensionales de cadenas de polímeros (en este caso colágeno tipo I) y agua que llena el espacio entre las moléculas, dichas estructuras en equilibrio pueden contener diversas cantidades de agua; típicamente en estado hinchado, la fracción de masa de agua en un hidrogel es mucho mayor que la fracción de masa de polímero (Ahmed, 2015), a diferencia de los prototipos de mayor concentración, en los cuales se ve afectada las propiedades mecánicas del hidrogel, debido a que surge una modificación en el grado de reticulación física lo que da lugar a geles más consistentes y frágiles, la estructura es más densa y el hinchamiento menos intenso debido a la reducción de la movilidad de la cadena polimérica, se limita el flujo de fluido al atrapar e inmovilizar las moléculas del solvente, lo que genera resistencia del hidrogel a la deformación (Badola et al., 2021).

**Tabla 5.** Datos obtenidos de diámetros formados de los hidrogeles en ensayo de esparcibilidad para cada uno de los experimentos y sus respectivas concentraciones (0.5-3.0 %p/p).

<b>Ensayo de esparcibilidad de hidrogeles</b>					
<b>Prototipo</b>	<b>Concentración del hidrogel (%p/p)</b>	<b>Diámetro (cm) muestra 1</b>	<b>Diámetro (cm) muestra 2</b>	<b>Diámetro (cm) muestra 3</b>	<b>Capacidad de esparcimiento</b>
<b>1</b>	0.5	9.4 cm largo 8.4 cm ancho	9.2 cm largo 8.7 cm ancho	9.9 cm largo 9.1 cm ancho	Hidrogel muy fluido

<b>2</b>	1.0	7.1 cm largo 7.5 cm ancho	7.5 cm largo 7.9 cm ancho	7.8 cm largo 7.6 cm ancho	Hidrogel fluido
<b>3</b>	1.5	6.2 cm largo 7.0 cm ancho	6.1 cm largo 6.2 cm ancho	7.0 cm largo 6.4 cm ancho	Hidrogel semi-fluido
<b>4</b>	2.0	5.7 cm largo 5.6 cm ancho	5.8 cm largo 5.9 cm ancho	5.8 cm largo 5.6 cm ancho	Hidrogel semi-rígido
<b>5</b>	2.5	5.4 cm largo 5.0 cm ancho	5.3 cm largo 5.1 cm ancho	5.5 cm largo 5.4 cm ancho	Hidrogel rígido
<b>6</b>	3.0	4.3 cm largo 4.3 cm ancho	4.1 cm largo 4.5 cm ancho	4.2 cm largo 4.6 cm ancho	Hidrogel muy rígido

#### **7.4 Estudio de propiedades reológicas de hidrogeles (Hidrogeles sin cargar y con el extracto)**

Inicialmente se evaluó la viscosidad en función de la tasa de corte a 25°C de cada prototipo con sus respectivas repeticiones sin cargar con el extracto acuoso de *Inonotus obliquus*, aquí fue posible determinar el flujo de los hidrogeles el cual corresponde a no newtonianos donde la viscosidad varía a medida que cambia la tasa de corte y por otro lado se comportan como pseudoplásticos que se refiere a que, si disminuye la viscosidad, aumenta la velocidad de deformación aplicada. Por otro lado es importante relacionar la viscosidad con la esparcibilidad teniendo en cuenta que en este caso es nuestro atributo funcional y se puede ver afectado por la viscosidad, si esta es extremadamente alta como se observa en la tabla 6 para el prototipo 5 y 6 no se logra homogeneidad y esparcibilidad sobre la piel y obtener una viscosidad muy baja como se presenta en el prototipo 1, 2 y 3 hará que el hidrogel sea muy líquido y que no se cree una película o adherencia entre las partículas lo cual también dificulta la aplicación y esparcibilidad, mientras que el prototipo 4 se encuentra en una viscosidad media y en relación a la esparcibilidad cumple con la obtención de un hidrogel semi-rígido que es lo que se esperaba obtener teniendo

en cuenta la literatura y las propiedades reológicas de hidrogeles de colágeno tipo 1 para posterior vehiculización del extracto acuoso.

**Tabla 6.** Datos obtenidos al determinar reologicamente la viscosidad en función a la tasa de corte para cada uno de los prototipos sin cargar con el extracto.

<b>Viscosidad y tasa de corte de prototipos sin cargar con extracto</b>		
<b>Prototipo</b>	<b>Viscosidad [mPa·s]</b>	<b>Tasa de corte [1/s]</b>
1 [0.5]	4.6521	50
2 [1.0]	40.336	50
3 [1.5]	37.478	50
4 [2.0]	421.05	50
5 [2.5]	4296.9	50
6 [3.0]	669.5	50

El prototipo 4 con una concentración de colágeno tipo 1 de 2.0 %p/p se consideró el más adecuado para aplicaciones de protección solar y vehiculizar el extracto, por lo cual en la figura 6 se observa el gráfico trazado para viscosidad vs tasa de corte sin cargar con el extracto con sus respectivas repeticiones obteniendo una viscosidad entre 280.72 mPa·s a 419.97 mPa·s y una tasa de corte de 50 1/s, posteriormente se estudió el comportamiento reológico (contribución elástica y viscosa a la viscoelasticidad de los hidrogeles) en cuanto al módulo de almacenamiento  $G'$  y de pérdida  $G''$ , en función del % de deformación de corte de prototipo a concentración 2.0 %p/p sin cargar como se observa en la figura 7, donde el comportamiento viscoelástico lineal se mantiene al alcanzar una deformación entre 0.46 % y 2.15 % para el caso del módulo de pérdida  $G''$  el cual nos indica que se está comportando como un líquido, sin embargo también se observa el módulo de almacenamiento  $G'$  el cual indica que se comporta como sólido, en este caso se observa que es mayor que el módulo  $G''$ , y tiene una deformación continua entre 0.15 % y 0.32 %. Estos resultados permiten deducir que el prototipo presenta un comportamiento viscoelástico y que es semi-sólido al presentarse ambos módulos ejerciendo una deformación de corte.

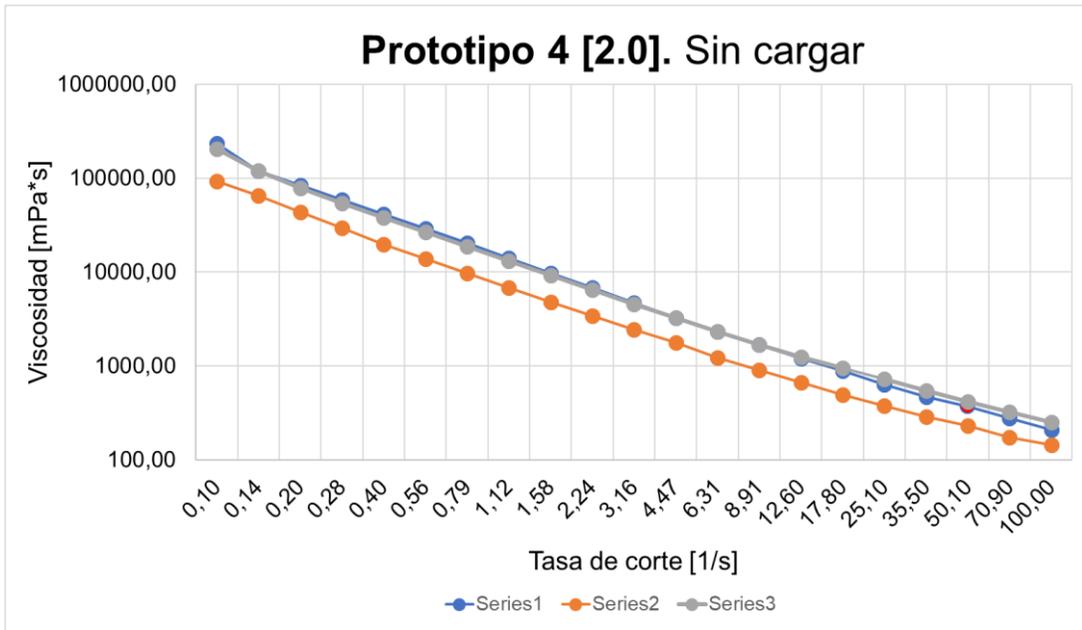


Figura 6. Gráfica de viscosidad vs tasa de corte de prototipo a concentración 2.0 %p/p sin cargar.

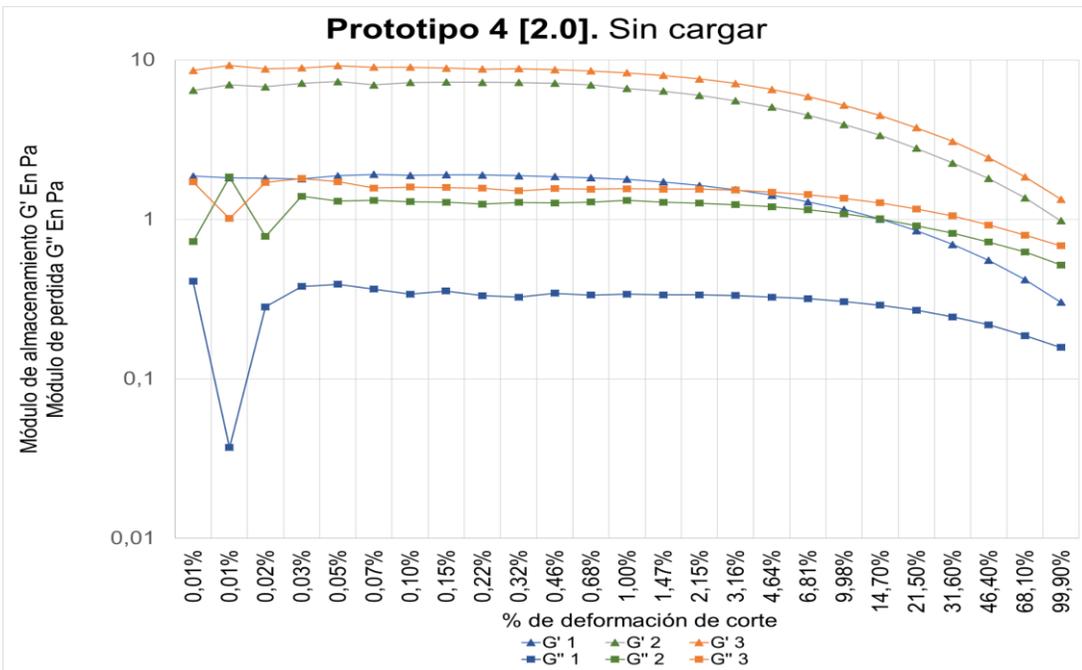
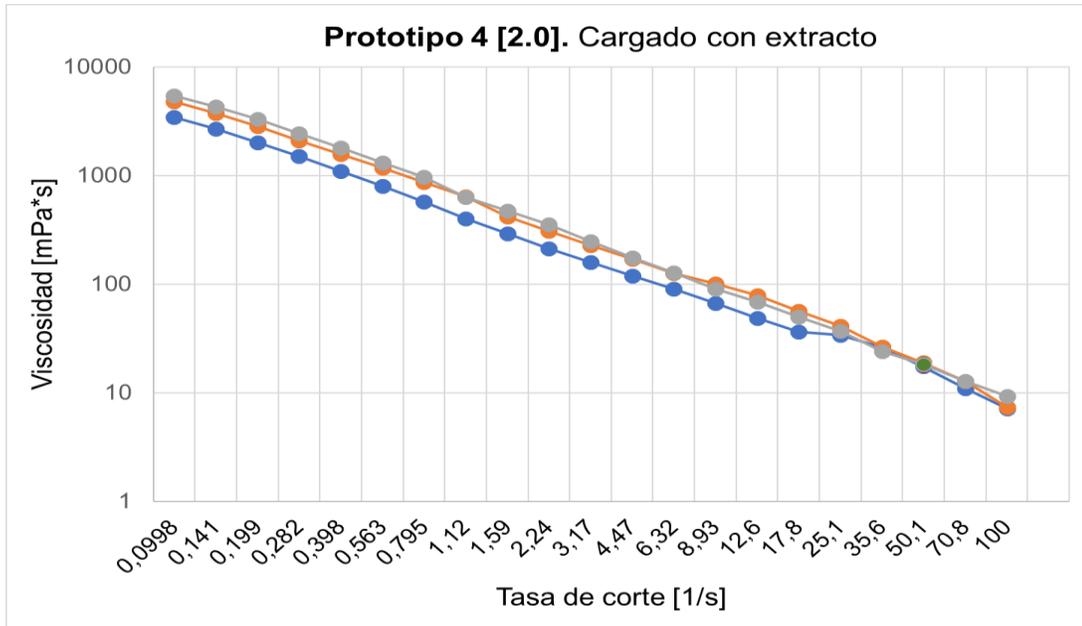


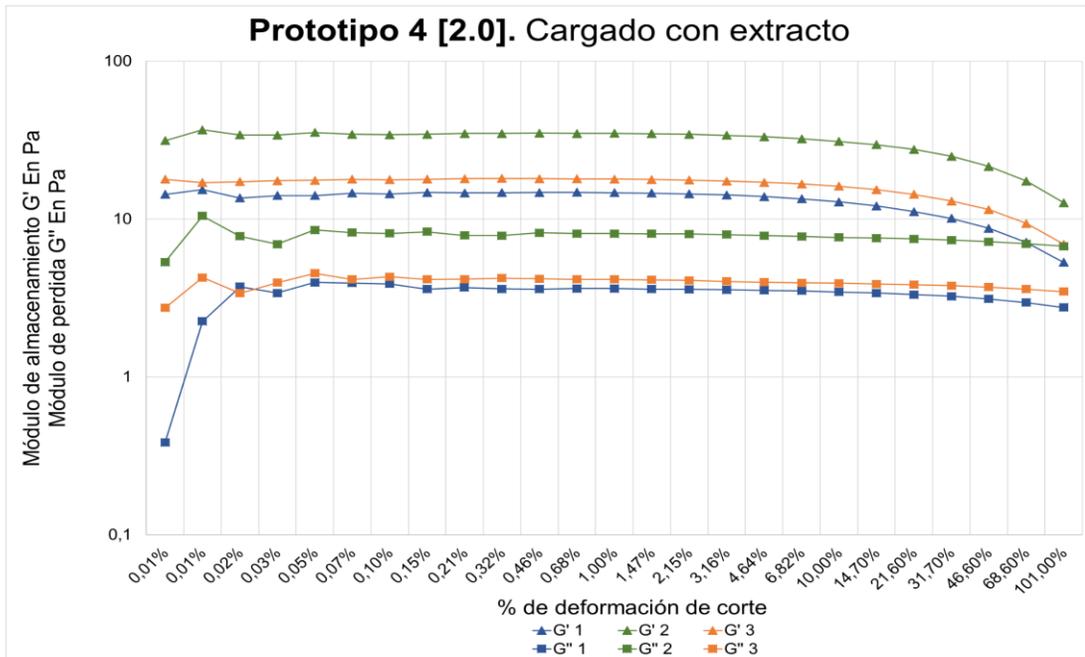
Figura 7. Módulo de almacenamiento  $G'$  y de pérdida  $G''$  en función del porcentaje de deformación de corte de prototipo a concentración 2.0 %p/p sin cargar.

Finalmente se procedió a cargar el prototipo 4 con el extracto acuoso y nuevamente se evaluó el comportamiento reológico como se muestra en la figura 8, en cuanto a la viscosidad vs la tasa de corte se obtuvo una viscosidad entre 17.379 mPa·s a 18.863 mPa·s con una tasa de corte de 50 1/s, que en comparación con los hidrogeles sin cargar es menor pero se sigue comportando como no newtoniano y pseudoplástico, por otro lado el cambio de viscosidad se atribuye a que el extracto vehiculizado es acuoso y se forman puentes de hidrógeno en el hidrogel y dejando de ser un hidrogel completamente semi-rígido, sin embargo al observar la figura 9 del módulo de almacenamiento  $G'$  y de pérdida  $G''$  en función del % de deformación de corte de prototipo 4 cargado con el extracto si se hace una comparación con el gráfico del hidrogel sin cargar, el módulo  $G'$  y  $G''$  aumentaron aproximadamente el doble y se observa que se mantienen más constantes entre 0.10% y el 4.64% para el caso del módulo de pérdida  $G''$  y en el módulo de almacenamiento  $G'$  entre 0.07% y 1.47%, y de igual manera el módulo de almacenamiento  $G'$  sigue estando por encima del de pérdida  $G''$  presentando un comportamiento semi-sólido.

Asimismo se quiso comparar el comportamiento reológico obtenido con la literatura pero no hay información o estudios específicos para hidrogeles de colágeno tipo I cargados con extracto acuoso de *Inonotus obliquus*, sin embargo se encontró una similitud con un estudio de las propiedades estructurales y reológicas de hidrogeles de colágeno que contienen ácido tánico y digluconato de clorhexidina destinados a aplicaciones tópicas, donde se obtuvo que el módulos de almacenamiento era dos veces mayor que el de pérdida y que los hidrogeles que contenían el extracto aumentaron la rigidez de los sistemas inducido por la presencia de CHDG, muy probablemente debido a su posible papel en la reticulación física adicional del colágeno, al igual que el módulo  $G'$  presentó valores mayores en comparación con los obtenidos para los correspondientes hidrogeles de colágeno libres de CHDG. (Brazdaru et al., 2015)



**Figura 8.** Gráfica de viscosidad vs tasa de corte de prototipo a concentración 2.0 %p/p cargado con extracto.



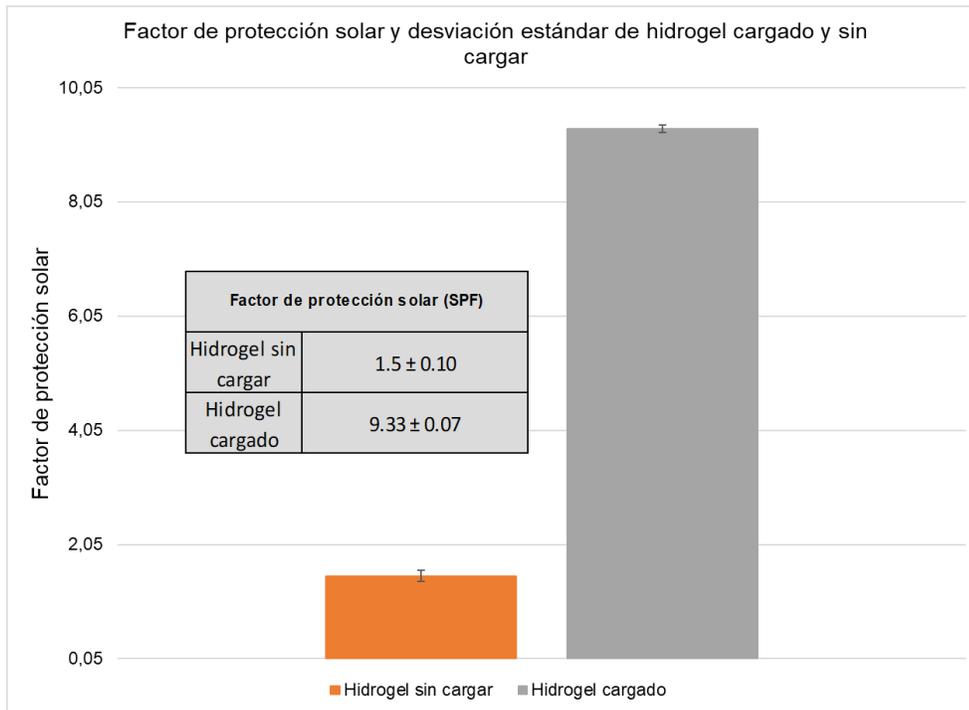
**Figura 9.** Módulo de almacenamiento  $G'$  y de pérdida  $G''$  en función del porcentaje de deformación de corte de prototipo a concentración 2.0 %p/p cargado con extracto.

## **7.5 Determinación del factor de protección solar del hidrogel polimérico cargado con el extracto acuoso de *Inonotus obliquus***

La metodología *in vitro* para determinación del factor de protección (SPF), se llevó a cabo por el método desarrollado por Mansur, a través de la fórmula matemática desarrollada según el método, se relacionan los valores de absorbancia obtenidos de las muestras con el FPS de la formulación, el cual ha demostrado ser eficaz, rápido y seguro, para formulaciones establecidas o de extractos de plantas (Camones et al., 2014).

En el presente estudio se determinó el factor de protección solar FPS del extracto acuoso del hongo (obtenidos a condiciones de amplitud al 60% por un tiempo de 15 minutos), esto según el método *in vitro* establecido por Mansur, en donde se relaciona la absorbancia con el efecto eritemogénico y la intensidad de la radiación UVB 290 a 320 nm, principal responsable de una variedad de enfermedades de la piel (Quizhpi, 2019). Los resultados indicaron que para el hidrogel sin cargar el FPS fue de  $1.5 \pm 0.10$  y para el hidrogel cargado con el extracto fue de  $9.33 \pm 0.07$  (ver figura 10); esto después de haber realizado las tres lecturas correspondientes y obtener su promedio. Teniendo en cuenta lo anterior se pudo evidenciar que al vehiculizar el extracto en el hidrogel se logró obtener un valor de SPF superior al del hidrogel sin extracto, principalmente se debe a la presencia de polifenoles los cuales tienen la capacidad de absorber radiación ultravioleta, incluye todo el espectro UVB de longitudes de onda y parte de los espectros UVC y UVA (Joi & Santosh, 2010).

Por otro lado, estudios científicos han demostrado que cuando se aplican tópicamente productos con polifenoles presentes en su formulación, se puede evitar la penetración de la radiación en la piel, debido a su capacidad de actuar como filtro solar, reduciendo la inflamación, el estrés oxidativo y los efectos dañinos del ADN de la radiación UV en la piel y que si se obtiene un SPF con un valor mayor a 8, este sería un filtro que permite un bronceado escaso y una máxima protección frente a los efectos nocivos de la radiación, con un porcentaje de reducción de la radiación UV del 87.5% (León, 2007). Esto significa que el extracto acuoso del hongo *Inonotus obliquus* puede ser empleado como filtro solar en las formulaciones, ya sea como ingrediente principal de los protectores solares o a su vez como sinergistas con los demás ingredientes para bloquear la radiación solar, finalmente la vehiculización del extracto en un hidrogel de colágeno tipo I permite una administración exitosa de los polifenoles, ya que estos requieren formulaciones tópicas a base de ingredientes orgánicos los cuales puedan mejorar la penetración de los polifenoles (Joi & Santosh, 2010).



**Figura 10.** Datos obtenidos del ensayo para determinación del factor de protección solar de hidrogel cargado y sin cargar.

## 8. Conclusiones

- El estudio del tamaño de partícula de la muestra comercial del hongo en polvo Chaga orgánico en presentación de 40z -113 g, cuenta con un tamaño representativo D90 de 1.171 mm, sin embargo, resultaría favorable trabajar con las partículas de menor tamaño, debido a que proporcionan una mayor estabilidad e idoneidad para el transporte de los compuestos polifenólicos presentes en el hongo.
- Los extractos obtenidos a condiciones de amplitud al 60% por un tiempo de 15 minutos mostraron una mayor concentración de compuestos polifenólicos, en comparación a las demás condiciones de estudio, lo que promueve una penetración significativa del solvente en la matriz del hongo, aumentando la eficiencia de la extracción.
- El hidrogel a base de colágeno tipo I cuya concentración es de 2.0% p/p con una capacidad de esparcimiento semirígida, siendo el prototipo que obtuvo mejores condiciones para vehiculización del extracto acuoso del hongo, debido a que este se extiende fácilmente aplicando una ligera cantidad de cizallamiento cuando se aplica en la piel.
- El comportamiento de flujo de los hidrogeles corresponde a no newtonianos pseudoplásticos.
- Los hidrogeles sin cargar y cargados presentan mayores valores para módulo de almacenamiento  $G'$  en función con el porcentaje de deformación de corte que para módulo de pérdida  $G''$ .
- Los hidrogeles continúan con un comportamiento viscoelástico semi-sólido después de vehiculizar el extracto acuoso de *Inonotus obliquus*.
- Los hidrogeles de colágeno tipo I cargados con extracto de *Inonotus obliquus* exhibieron una excelente protección UV en la región de UVB, lo cual significa que el extracto acuoso del hongo puede ser empleado como filtro solar en las formulaciones.

## 9. Recomendaciones

Con respecto al método de análisis de distribución de tamaño de partícula sería bueno realizar los demás estudios con la muestra que cuenta con menor tamaño, dado que mejora las propiedades de adherencia del producto, logrando mantener la formulación unida a la epidermis cuando entra en contacto con ella.

En cuanto al método de extracción empleado, sería conveniente tener en cuenta aumentar el tiempo de extracción, teniendo en cuenta que el tiempo de extracción es un factor fundamental, dado que varios estudios han encontrado generalmente que a medida que aumenta el tiempo de extracción, la cantidad de polifenoles extraídos también se incrementa. Se sugiere que un tiempo adecuado para este proceso sería de 40-60 min alcanzando el máximo rendimiento de extracción de compuestos polifenólicos presentes en la muestra, puesto que una exposición más larga, puede dar lugar a la producción de radicales libres en el interior del disolvente, causando la disrupción celular, disminuyendo el rendimiento de extracción (Wong Paz et al., 2015). Otro aspecto a considerar sería optar por otras técnicas de extracción de compuestos polifenólicos, como la extracción asistida por microondas (MAE), ya que esta ofrece una rápida entrega de energía al volumen de solvente y matriz vegetal, con un posterior calentamiento de manera eficiente y homogénea, debido a la rotación del dipolo del solvente, lo que facilita la absorción de los productos químicos de la matriz, que comparado con la extracción asistida por ultrasonido, este método aumenta el rendimiento y reduce el tiempo de extracción (Guntero et al., 2015).

Por otro lado, en cuanto a la elaboración del hidrogel, teniendo en cuenta que se debe mantener el pH de la piel y que se debe desarrollar con sustancias compatibles con el colágeno tipo I que permitan que se gelifique, para futuros estudios podría evaluarse la posibilidad de realizar la formulación con otro tipo de ácido, como por ejemplo el ácido cítrico el cual presenta propiedades antioxidantes y puede aumentar el FPS o el ácido láctico que favorece la hidratación de la piel.

Para futuros estudios en cuanto a las pruebas de factor de protección solar, se recomienda emplear una molécula de referencia con un FPS alto para poder realizar una comparación y observar de qué forma actúan los componentes del extracto.

Por último, se recomienda realizar elucidación estructural, por medio de técnicas espectrométricas y espectroscópicas del metabolito polifenólico encontrado en los procesos de extracción acuosa del hongo, para determinar la estructura química que está presente en el hongo *Inonotus obliquus* para establecer una comprensión de las relaciones estructura-actividad

a fin de optimizar su rendimiento fotoprotector.

## 10. Referencias bibliográficas

1. Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(2), 105–121. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>
2. Alipal, J., Mohd Pu'ad, N. A. S., Lee, T. C., Nayan, N. H. M., Sahari, N., Basri, H., Abdullah, H. Z. (2021). A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. *Materials Today: Proceedings*, 42, 240-250. Recuperado de: [doi:https://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.matpr.2020.12.922](https://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.matpr.2020.12.922)
3. Antón, R. (2004). Influencia de la formulación sobre la estabilidad de las emulsiones. Recuperado de: [https://es.firp-ula.org/wp-content/uploads/2019/07/04\\_MS\\_Lopez\\_E.pdf](https://es.firp-ula.org/wp-content/uploads/2019/07/04_MS_Lopez_E.pdf)
4. Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Heras Caballero, A., & Acosta, N. (2021). Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. *Polymers*, 13(19), 3256. Recuperado de: <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
5. Badhani, B., Sharma, N., Kakkar, R., & Kakkar, R. (s.f). Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. Rsc.org. <https://pubs.rsc.org/de-ch/content/getauthorversionpdf/C5RA01911G>
6. Badola, A., Goyal, M., & Baluni, S. (2021). Gels and jellies a recent technology in semisolids: A review. *World journal of pharmaceutical research*. <https://doi.org/10.20959/wjpr202110-21230>
7. Brazdaru, L., Micutz, M., Staicu, T., Albu, M., Sulea, D., & Leca, M. (2015). Structural and rheological properties of collagen hydrogels containing tannic acid and chlorhexidine digluconate intended for topical applications. *Comptes Rendus Chimie*, 18(2), 160-169. Recuperado de <https://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.crci.2014.07.007>
8. Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(7), 901. <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
9. Calvo, B., Esquisabel, A., Hernández, R., & Igartua, M. (2015). Preparaciones dermatológicas. Ehu.eus. [https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/47657/mod\\_resource/content/1/10122015\\_materiales\\_de\\_estudio/19\\_Preparaciones\\_dermatologicas.pdf](https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/47657/mod_resource/content/1/10122015_materiales_de_estudio/19_Preparaciones_dermatologicas.pdf)

10. Camones, M. Á. I., Chota, G. E. T., Malla, J. H., Jáuregui, A. M. M., Morán, R. I. G., Fuentes, G. Q., Pacheco, C. J. P., & Del Rosario Taype Espinoza, E. (2014). *Actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de Camu camu (Myrciaria dubia Kunth.)*. Org.pe. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v80n1/a08v80n1.pdf>
11. Campus, B. C. (2017). Fungi. Recuperado de: <https://opentextbc.ca/conceptsofbiologyopenstax/chapter/fungi>
12. Chaga. (2019). Hifas da Terra. <https://hifasdaterra.com/hongos-medicinales/chaga-inonotus-obliquus/>
13. Cordero, A. (2018). El protector solar: ¿ un nuevo enemigo? *Revistas.Ucr.Ac.Cr*, 116(2008), 2008. Recuperado de <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/download/36384/37039>
14. Corona, E et al. (2016). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chia (*Salvia hispanica* L.) y su actividad antioxidante. *Agrociencia*, 50(4), 403-412. Recuperado de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952016000400403&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000400403&lng=es&tlng=es).
15. Creek, R. (2019). Mushroom benefits for skin. Recuperado de <https://www.realmushrooms.com/mushroom-benefits-skin/>
16. D'Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., & Scott, T. (2013). UV radiation and the skin. *International journal of molecular sciences*, 14(6), 12222–12248. Recuperado de <https://doi.org/10.3390/ijms140612222>
17. FDA. (2017). Sun protection factor (SPF). Recuperado de <https://www.fda.gov/about-fda/center-drug-evaluation-and-research-cder/sun-protection-factor-spf>
18. Flores et al., (2016). *Optimización del proceso de extracción de sustancias antioxidantes a partir del orégano mexicano (lippia graveolens HBK) utilizando la metodología de superficie de respuesta (MSR)*. Redalyc.org. <https://www.redalyc.org/pdf/620/62048168009.pdf>
19. Gauri, S., Gupta, K., Tuohy, M., & Rajeeva, G. (2016). *The handbook of microbial bioresources* (Ilustrada ed.) CABI. Recuperado de [https://books.google.com.co/books?id=HJurDAAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=the+handbook+of+microbial+bioresources&hl=es&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=the%20handbook%20of%20microbial%20bioresources&f=false](https://books.google.com.co/books?id=HJurDAAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=the+handbook+of+microbial+bioresources&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=the%20handbook%20of%20microbial%20bioresources&f=false)
20. Géry, A., et al., (2018). Chaga (*Inonotus obliquus*), a Future Potential Medicinal Fungus in Oncology? A Chemical Study and a Comparison of the Cytotoxicity Against Human Lung

- Adenocarcinoma Cells (A549) and Human Bronchial Epithelial Cells (BEAS-2B). *Integrative cancer therapies*, 17(3), 832–843. Recuperado de <https://doi.org/10.1177/1534735418757912>
21. Guntero, V. A., Longo, M. B., Ciparicci, S. A., Martini, R. E., & Andreatta, A. E. (2015). *Comparación de métodos de extracción de polifenoles a partir de residuos de la industria vitivinícola*. Org.ar. [https://www.aaig.org.ar/SCongresos/docs/06\\_029/papers/05c/05c\\_1775\\_727.pdf](https://www.aaig.org.ar/SCongresos/docs/06_029/papers/05c/05c_1775_727.pdf)
22. Heibe, I., Aciole<sup>1</sup>, M., Patricio De Andrade Júnior<sup>2</sup>, F., Cordeiro, L. V., & Pereira De Souza, J. B. (2020). *Aloe gel: manipulation and characterization of physical-chemical quality adjustment*. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v49n3.91345>
23. *Hongo chaga de abedul. Descripción, propiedades curativas y uso del abedul chaga Jardín de abedules con chaga*. (s.f). Strojdzain.ru. <https://strojdzain.ru/es/grib-chaga-berezovyi-opisanie-celebnye-svoistva-i-primenenie/>
24. *Hongos en la Cosmética - Macroestetica*. (2020). Macroestetica.com. <https://www.macroestetica.com/cosmetologia/hongos-en-la-cosmetica>
25. Hossain, M. D. S., Islam, M. A., Badhon, F. F., & Imtiaz, T. (2021). Sieve analysis. En *Properties and Behavior of Soil - Online Lab Manual*. Mavs Open Press.
26. Hwang, B. S., Lee, I.-K., & Yun, B.-S. (2016). Phenolic compounds from the fungus *Inonotus obliquus* and their antioxidant properties. *The Journal of Antibiotics*, 69(2), 108–110. <https://doi.org/10.1038/ja.2015.83>
27. Joi, N., & Santosh, K. (2010). Fotoprotección de la piel por polifenoles naturales: Mecanismos antiinflamatorios, antioxidantes y de reparación del ADN. . *Centro De Investigación De Nutrición Clínica*, 71(83) Recuperado de <https://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1007/s00403-009-1001-3>
28. Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.-S., & Olivier Dangles, F. C. (2010). *Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (Citrus sinensis L.) peel*. Researchgate.net. [https://www.researchgate.net/publication/222055663\\_Ultrasound-assisted\\_extraction\\_of\\_polyphenols\\_flavanone\\_glycosides\\_from\\_orange\\_Citrus\\_sinensis\\_L\\_peel](https://www.researchgate.net/publication/222055663_Ultrasound-assisted_extraction_of_polyphenols_flavanone_glycosides_from_orange_Citrus_sinensis_L_peel)

29. León, V. (2007). Fotoprotección-Fotoeducación. En G. Calero, & J. Ollague, *Dermatología Práctica. Actualización de conocimientos y Experiencia docente*. Guayaquil: Laboratorios INTERPHARM DEL ECUADOR S.A.
30. López Luengo, M.T. (2001). Saponósidos. *Revista Offarm*, 20(6), 124- 129. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-saponosidos-13015492>
31. Lu, Y., Liu, M., Cao, Y., Yin, J., Zhou, H., Yu, W., . . . Zhao, G. (2021). Hydrogel sunscreen based on yeast /gelatin demonstrates excellent UV-shielding and skin protection performance. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 205, 111885. Recuperado de: [doi:https://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.colsurfb.2021.111885](https://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.colsurfb.2021.111885)
32. Martínez, G., Segovia, F., & López, F. (s.f). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.* Upv.es. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>
33. Martínez, G., Segovia, F., & López, F. (s/f-a). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.* Upv.es. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>
34. Mecmesin. (2015). Texture testing of the physical characteristics of cosmetics. Recuperado de <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=12477>
35. Medina, N. (2017). *Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa (Citrus latifolia).* Repositorioinstitucional.mx. <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/447/1/Nelly%20Carolina%20Medina.pdf>
36. Mitura, S., Sionkowska, A., & Jaiswal, A. (2020). Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, 31(6). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7248025/>
37. Mori, S., & Wang, S. Q. (2021). 50 - sunscreens. In S. E. Wolverton (Ed.), *Comprehensive dermatologic drug therapy (fourth edition)* (pp. 565-575.e2) Elsevier. Recuperado de [doi:https://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/B978-0-323-61211-1.00050-4](https://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/B978-0-323-61211-1.00050-4)  
Recuperado de <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/B9780323612111000504>

38. Muñoz, E. (2022). *Desarrollo de hidrogeles tubulares de polivinil-alcohol (PVA) con recubrimiento de PVA producido por electrohilado para aplicaciones vasculares*. Edu.co. [https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/29165/1/MunozEdison\\_2022\\_PVAElectrohiladoVascular.pdf](https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/29165/1/MunozEdison_2022_PVAElectrohiladoVascular.pdf)
39. Naga Sravan Kumar Varma, V., Maheshwari, P. V., Navya, M., Reddy, S. C., Shivakumar, H. G., & Gowda, D. V. (2014). Calcipotriol delivery into the skin as emulgel for effective permeation. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 22(6), 591–599. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.02.007>
40. Naomi, R., Ridzuan, P. M., & Bahari, H. (2021). Current insights into collagen type I. *Polymers*, 13(16), 2642. <https://doi.org/10.3390/polym13162642>
41. Oroian, M., Ursachi, F., & Dranca, F. (2020). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from crude pollen. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(4), 322. <https://doi.org/10.3390/antiox9040322>
42. Parrado, C., Gilaberte, Y., Philips, N., Juarranz, A., & Gonzalez, S. (2021). Chapter 34 - fern extract, oxidative stress, and skin cancer. In V. R. Preedy, & V. B. Patel (Eds.), *Cancer* (second edition) (pp. 387-398). San Diego: Academic Press. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819547-5.00034-1> Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128195475000341>
43. Pontón, J. (2008). La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. *Iberoam*, 78(82), 5. Recuperado de: <http://www.reviberoammicol.com/2008-25/078082.pdf>
44. Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). *Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular*. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>
45. Quizhpi, N. (2019). “Evaluación in vitro de la actividad fotoprotectora de los extractos alcohólico y glicólico de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad superchola para su uso en la elaboración de un protector solar”. Edu.ec. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17968/1/UPS-CT008531.pdf>
46. Rai, R., Shanmuga, S. C., & Srinivas, C. (2012). Update on photoprotection. *Indian journal of dermatology*, 57(5), 335–342. Recuperado de <https://doi.org/10.4103/0019-5154.100472>

47. Ranade, M. B. (1987). Adhesion and removal of fine particles on surfaces. *Aerosol Science and Technology: The Journal of the American Association for Aerosol Research*, 7(2), 161–176. <https://doi.org/10.1080/02786828708959155>
48. Razumov, E et al. (2019). Influence of development conditions on qualitative indicators of fungus chaga. *IOP Science*, Recuperado de <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/666/1/012084>
49. Razumov, E., Mukhametzyanov, S., & Hucko, B. (2019). *Influence of development conditions on qualitative indicators of Fungus Chaga*. Researchgate.net. [https://www.researchgate.net/publication/337820583\\_Influence\\_of\\_development\\_conditions\\_on\\_qualitative\\_indicators\\_of\\_Fungus\\_Chaga](https://www.researchgate.net/publication/337820583_Influence_of_development_conditions_on_qualitative_indicators_of_Fungus_Chaga)
50. Roberts, S. (2021). *5 increíbles beneficios de Chaga para la salud de la piel*. Ommushrooms.com. <https://ommushrooms.com/blogs/blog/chaga-benefits-for-skin-m2>
51. Sánchez, M. L., Ávila Rodríguez, M. I., & Rodríguez Barroso, L. (2017). Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *Wiley Online Library*, 17(1), 20-26. Recuperado de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jocd.12450>
52. Sánchez, R. A., del Carmen Gutiérrez Castorena, M., García, P. S., Solorio, C. O., Volke Halle, V. H., & Panta, J. E. R. (2009). *Tamaño de partícula y relación micromorfológica en propiedades físicas de perlita y zeolita*. Org.mx. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0568-25172009000200002](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172009000200002)
53. Softa, M., Percoco, G., Lati, E., & Bony, P. (2019). Birch sap (betula alba) and chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extracts show antioxidant, anti-inflammatory and DNA protection/repair activity in vitro. *Journal of Cosmetics*, 9(2) Recuperado de <https://www.scirp.org/journal/papercitationdetails.aspx?paperid=92972&JournalID=530>
54. Suhaida, N., Rahman, A., & Hamid, N. (2021). Antioxidative and Photoprotective Effects of Pleurotus flabellatus (Pink Oyster Mushroom) Polysaccharides Against UVA Radiation-Induced Cytotoxicity in Human Dermal Fibroblast (HS-27) Cell Line. Researchgate.net. [https://www.researchgate.net/publication/353013117\\_Antioxidative\\_and\\_Photoprotective\\_Effects\\_of\\_Pleurotus\\_flabellatus\\_Pink\\_Oyster\\_Mushroom\\_Polysaccharides\\_Against\\_UVA\\_Radiation-Induced\\_Cytotoxicity\\_in\\_Human\\_Dermal\\_Fibroblast\\_HS-27\\_Cell\\_Line](https://www.researchgate.net/publication/353013117_Antioxidative_and_Photoprotective_Effects_of_Pleurotus_flabellatus_Pink_Oyster_Mushroom_Polysaccharides_Against_UVA_Radiation-Induced_Cytotoxicity_in_Human_Dermal_Fibroblast_HS-27_Cell_Line)
55. Suhaimi, S. H., Hasham, R., Hafiz Idris, M. K., Ismail, H. F., Mohd Ariffin, N. H., & Abdul Majid, F. A. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions followed by

- solid phase extraction fractionation from *Orthosiphon stamineus* Benth (Lamiaceae) leaves for antiproliferative effect on prostate cancer cells. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(22), 4183. <https://doi.org/10.3390/molecules24224183>
56. Syahir, A., Sulaiman, S., Mel, M., Othman, M., & Zubaidah Sulaiman, S. (2020). An Overview: Analysis of ultrasonic-assisted extraction's parameters and its process. *IOP conference series. Materials science and engineering*, 778(1), 012165. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/778/1/012165>
57. Thirumurugan D., Cholarajan A., Raja S. & Vijayakumar R. (2018). An Introductory Chapter: Secondary Metabolites, en R. Vijayakumar & S. Raja, *Secondary Metabolites - Sources and Applications*, Ramasamy. IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.79766.
58. Tobón, N. (2015). *Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la pulpa de café (Coffea arabica L.) variedad Castillo*. Edu.co. [http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1800/1/Extraccion\\_asistida\\_ultrasonido\\_compuestos\\_fenolicos\\_pulpa\\_c.pdf](http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1800/1/Extraccion_asistida_ultrasonido_compuestos_fenolicos_pulpa_c.pdf)
59. Tung, H., & Chow, A. (2007). *Análisis de tamaño de partículas en productos farmacéuticos: principios, métodos y aplicaciones*. Researchgate.net. [https://www.researchgate.net/publication/6609677\\_Particle\\_Size\\_Analysis\\_in\\_Pharmaceutics\\_Principles\\_Methods\\_and\\_Applications](https://www.researchgate.net/publication/6609677_Particle_Size_Analysis_in_Pharmaceutics_Principles_Methods_and_Applications)
60. Ultrasonication outcompetes other extraction methods by speed. (2022). Hielscher Ultrasonics; Hielscher Ultrasound Technology. <https://www.hielscher.com/ultrasonication-outcompetes-other-extraction-methods-by-speed.htm>
61. *ULTRA-TURRAX UTC*. (s.f.). IKA. Retrieved March 19, 2022, from <http://www.ikausa.com/products/ultra-turrax-utc-batch-mixers-batch-disperser-dispersing-machine/>
62. *View of Qualitative analysis of secondary metabolites of chaga mushroom (Inonotus Obliquus): phenolics, fatty acids, and terpenoids*. (2022). *Journal of Food Bioactives*. <http://www.isnff-jfb.com/index.php/JFB/article/view/279/450>
63. Wang, T., Zhao, J., Yang, Z., Xiong, L., Li, L., Gu, Z., & Li, Y. (2022). Polyphenolic sunscreens for photoprotection. *Green Chemistry*, 24(9), 3605-3622. doi:<https://doi.org/10.1039/d1gc04828g>

64. Wong Paz, J. E., Muñiz Márquez, D. B., Martínez Ávila, G. C. G., Belmares Cerda, R. E., & Aguilar, C. N. (2015). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from native plants in the Mexican desert. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 474–481. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.06.001>
65. Zagórska-Dziok, M., & Sobczak, M. (2020). Hydrogel-Based Active Substance Release Systems for Cosmetology and Dermatology Application: A Review. *Pharmaceutics*, 12(5), 396. Recuperado de: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12050396>
66. Zambrano Cabrera, D. (2022). *Síntesis de un análogo del octinoxato con menor ecotoxicidad como alternativa de fotoprotección*. Recuperado de <https://repositorio.unbosque.edu.co/handle/20.500.12495/7710>
67. Zychowski, K. A., Skóra, B., Pomianek, T., & Gmiński, J. (2021). *Inonotus obliquus* – from folk medicine to clinical use. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(4), 293-302. Recuperado de [doi:https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2020.08.003](https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2020.08.003)