

ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA IN VITRO DE UNA CREMA OBTENIDA A PARTIR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *EUPHORBIA CANDELABRUM* WELW. EX HIERN “CANDELABRO”

Iris G. Castilla Villagaray*^a, Rocío Bendezú Acevedo^b, Felipe Surco Laos^b

RESUMEN

Se ha comprobado que una de las principales causas del melanoma es la exposición a la Radiación Ultravioleta (RUV), por lo que el uso de fotoprotectores es muy importante. El objetivo fue demostrar la actividad fotoprotectora in vitro de una crema obtenida a partir del extracto etanólico de *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “candelabro”, el extracto se obtuvo por el método de maceración, se le realizó un tamizaje fitoquímico para identificar los metabolitos secundarios, se comprobó la actividad antioxidante al extracto por los métodos de DPPH y FRAP, se elaboraron cremas a las concentraciones de 1%, 3% y 5% y se les realizó los controles de calidad pertinentes, la actividad fotoprotectora in vitro fue evaluada por el método descrito por Mansur. La actividad antioxidante por el método de DPPH mostró un IC50 de 0,09836 mg/mL, y por el método FRAP se reportó que 1 mg/mL de extracto es equivalente a 1,04 mmol de TROLOX. El extracto mostró un FPS de 17,70, mientras que las cremas al 1%, 3% y 5% obtuvieron un FPS de 4,81, 11,34 y 25,97 respectivamente. Concluyendo que la crema al 5% obtuvo un FPS alto según la clasificación COLIPA, demostrando que posee actividad fotoprotectora UVB.

Palabras claves: *Euphorbia candelabrum*, factor de protección solar, crema fotoprotectora, radiación, UVB.

IN VITRO PHOTOPROTECTIVE ACTIVITY OF A CREAM OBTAINED FROM THE ETHANOL EXTRACT OF *EUPHORBIA CANDELABRUM* WELW. EX HIERN “CANDELABRO”

ABSTRACT

It has been proven that one of the main causes of melanoma is exposure to Ultraviolet Radiation (RUV), so the use of photoprotectors is very important. The objective was to demonstrate the in vitro photoprotective activity of a cream obtained from the ethanolic extract of *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “chandelier”, the extract was obtained by the maceration method, a phytochemical screening was carried out to identify the secondary metabolites, the antioxidant activity of the extract was verified by the DPPH

^{a,b} Facultad de Farmacia y bioquímica. Universidad Nacional San Luis Gonzaga. Av de los Maestros, Ica, Perú

* geraldine1502_cv@hotmail.com

and FRAP methods, creams were prepared at the concentrations of 1%, 3% and 5% and the relevant quality controls were carried out, the in vitro photoprotective activity was evaluated by the method described by Mansur. The antioxidant activity by the DPPH method showed an IC₅₀ of 0.09836 mg/mL, and by the FRAP method it was reported that 1 mg/mL of extract is equivalent to 1.04 mmol of TROLOX. The extract showed an SPF of 17.70, while the 1%, 3% and 5% creams obtained an SPF of 4.81, 11.34 and 25.97 respectively. Concluding that the 5% cream obtained a high SPF according to the COLIPA classification, demonstrating that it has UVB photoprotective activity.

Keywords: *Euphorbia candelabrum*, sun protection factor, photoprotective cream, radiation, UVB.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el melanoma es uno de los cánceres de piel más predominante a nivel mundial (75%), y una de sus causas principales es la radiación UV (ultravioleta)¹. El uso de fotoprotectores de predominio químico, es usado comúnmente por la población, sin embargo, existen estudios que demuestran que a largo plazo estos presentan efectos adversos, incluido a ello no solo se causa un daño al ser humano, si no también es pernicioso para el medio ambiente². El uso de productos naturales está siendo muy empleado en formulaciones cosméticas, debido a que tienen la capacidad de anular o reducir los procesos oxidativos que se desarrollan de manera incontrolada dentro del tejido cutáneo³. Es por ello que en la actualidad existe una mayor tendencia al consumo de estos a través de la fitocosmética. *Euphorbia candelabrum* es una especie perteneciente a la familia Euphorbiaceae, es conocida comúnmente como “candelabro”, es usado como planta ornamental, algunos pobladores utilizan su látex como abortivo, se aplica tópicamente para tratar heridas, llagas y verrugas, solo existe un estudio a nivel nacional sobre los frutos de esta especie, Vásquez et al.⁴ en su investigación determinaron la capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos al 10% y 20% de los frutos de esta especie, mediante el método de DPPH y la cuantificación de polifenoles del extracto en estudio; obteniendo como resultado que el extracto hidroalcohólico al 20% de los frutos, es el que tuvo mayor actividad antioxidante in vitro, sin embargo, son más las investigaciones internacionales realizadas al género de esta especie, por ejemplo, Rodríguez V. et al.⁵ (2022), en su investigación, demostraron la actividad fotoprotectora y la composición fitoquímica de distintas plantas entre ellas *Euphorbia tirucalli*, la actividad fotoprotectora se realizó mediante el método de Mansur; obteniendo como resultados que el extracto de *E. tirucalli* presentó un FPS de 6,4, esto debido posiblemente a la presencia de los metabolitos secundarios encontrados tales como taninos, esteroides y flavonoides. En base a los estudios realizados y a la necesidad de elaborar formulaciones cosméticas con recursos naturales que eviten el uso de sustancias químicas que dañen la piel; se presenta la alternativa de elaborar una crema fotoprotectora a base del extracto etanólico de esta especie, la cual cumpla con los parámetros de calidad, aprovechando la biodiversidad de nuestro país y que se encuentre al alcance de la población, dejando una base para futuras investigaciones.

PARTE EXPERIMENTAL

Recolección y clasificación de la muestra.

Los frutos de la especie *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern fueron recolectados en la región de Ica, provincia de Ica, distrito de Ica, se realizó a las primeras horas de la mañana, haciendo uso de tijeras de podar (para evitar contaminación) y bolsas papel Kraft, luego se trasladó la muestra al laboratorio de Química General de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga". Una pequeña muestra se entregó al Museo de Historia Nacional de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para su respectiva clasificación botánica.

Obtención del extracto etanólico

Se seleccionaron aquellos frutos que estuvieran en buen estado, estos se secaron de manera artificial mediante una estufa a una temperatura de 38°C durante 5 días para luego proceder a cortar los frutos secos en 4 pedazos, después fueron envasados en frascos de vidrios de color ámbar para evitar la exposición de la luz, estos frascos contenían alcohol de 96°, se dejó macerando por 15 días, realizando una agitación diaria, para posibilitar la mayor extracción de los metabolitos secundarios. Una vez transcurrido estos días, se procedió a filtrar el macerado el cual fue colocado en una bandeja para su posterior secado.

Tamizaje fitoquímico

Se usaron 60g del extracto y con solventes de distinta polaridad se obtuvieron distintas fracciones, esto con el fin de llevar a cabo las reacciones de precipitación y/o coloración para la identificación de los metabolitos secundarios, según lo establecido por Lock⁶.

Caracterización fisicoquímica

Este ensayo se realizó con el fin de poder determinar las características propias del extracto, para ello se determinaron: sólidos totales (AOAC 925.03) por el método gravimétrico, sólidos solubles (AOAC 932.12) usando un método refractométrico, cenizas (AOAC 923.03) y pH por el método potenciométrico (AOAC 981.12)⁷.

Preformulación de la crema

Solubilidad.- Para esta prueba se usaron tubos de ensayos a los cuales se les agregó 5mL de los solventes a comprobar (Glicerina, aceite de oliva, agua destilada a temperatura ambiente, propilenglicol, agua a T° 70°C, vaselina, alcohol de 70°C y de 96°C) con una mínima cantidad de extracto, luego de ello se procedió a pesar la cantidad de extracto usado y anotar el peso, este ensayo se realizó por triplicado. Para clasificar la solubilidad se usó el cuadro establecido por la farmacopea.

Formulación de la crema

Para la formulación se usaron los excipientes que tuvieron una mayor compatibilidad en la Preformulación, los cuales otorgaron una buena estabilidad, cumpliendo con los parámetros de calidad, necesarios para su aplicación o administración, y que están estipulados según la normativa⁸. La fórmula seleccionada fue la crema O/W (Emulsión

Oleo-acuosa), a la cual se le incorporaron diferentes concentraciones del extracto etanólico de la especie *Euphorbia candelabrum*, tanto al 1%, 3% y 5%.

Control microbiológico.- Este control se basa en la capacidad de determinar la presencia o ausencia de algunos microorganismos mediante el uso de medios de cultivo, para ello se transfiere una pequeña cantidad de la crema a tratar en los medios de cultivos correspondientes, a una temperatura de incubación adecuada, para poder evidenciar si existe crecimiento microbiano, para comprobar que los resultados estén dentro de los parámetros adecuados se ha considerado las especificaciones descritas en la RESOLUCIÓN N° 2120 de la Comunidad Andina¹¹.

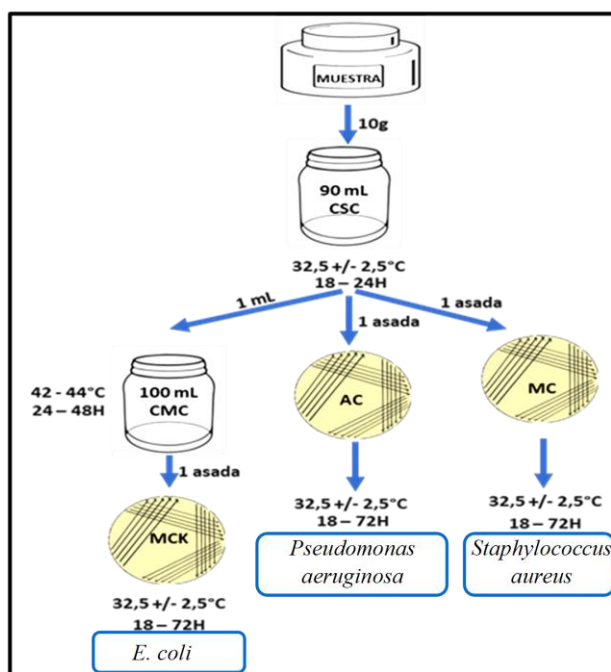


Figura 1. Esquema del método para el control microbiológico

Controles de calidad

a) **Ensayos organolépticos.-** Para la realización de los ensayos organolépticos (color, olor, aspecto), se utilizó la metodología descrita por Hernandez P. et al.⁹

b) Ensayos fisicoquímicos

- **Determinación de pH:** Para este método se usó un pH-metro digital, se pesó 1g de la crema para que sea homogenizada con 10mL de agua destilada en un vaso precipitado, luego se colocaron los electrodos correspondientes para poder medir el pH en las 3 cremas formuladas¹⁰.
- **Extensibilidad:** Para ello se usaron 3 pesas: 2 pesas de 2g y 1 pesa de 5g, y un papel milimetrado. Se colocó un portaobjeto previamente pesado encima del papel y 0,025g de la muestra, luego se colocó encima otro portaobjeto (también pesado) y se esperó por un tiempo de 1 minuto. Se midió la extensibilidad en 3 parámetros: sin peso, con las 2 pesas de 2g y 1 pesa de 5g y se midió el radio que se formaba, por último, se usó la siguiente fórmula para medir el área¹⁰.

$$\text{Área} = 3,1416 \times (r^2)$$

- **Viscosidad:** Se tomó una pequeña muestra representativa de la crema colocándola en un tubo de ensayo para luego ser medido en el viscosímetro rotatorio durante 120 segundos, se midió con un spin de 4 y en un RPM de 6. Finalmente, los resultados se registraron en Centipoises (cps)¹⁰.

Métodos para determinar la actividad antioxidante

a) Determinación de la actividad antioxidante mediante la decoloración del catión radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•)

Este método mide el grado de decoloración que provocan los componentes de los extractos a una solución etanólica de DPPH mediante el método de Brand Williams¹² con algunas modificaciones. Se preparó un volumen de 2,9 mL de solución DPPH y se le adicionó 0,1 mL de cada una de las diluciones preparadas, se agitó y luego se dejó reposar por un tiempo de 30 min., pasado ese tiempo se leyeron las absorbancias a una longitud de 517 nm, como blanco se utilizó el etanol, luego se empleó la fórmula de porcentaje de inhibición y esto nos permitió hallar el IC50 que es la concentración de la muestra problema necesaria para poder obtener una inhibición del 50% la absorbancia del radical libre DPPH.

b) Determinación de la Actividad antioxidante mediante el método FRAP (Reducción del hierro férrico a ferroso)

Este método se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito por Benzie y Strain¹³ con algunas modificaciones. Para este ensayo se usó un buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 3,4), que contiene 2,4,6-tri (2- piridil) s-triazina (TPTZ) y Cloruro de hierro (III) (FeCl₃). Se usó 3 mL de esta solución y 100 µL de solución extracto, pasado 6 minutos de reacción se determina la absorbancia a una longitud de 593 nm. Se elaboró una curva patrón TROLOX® usando los resultados de la actividad, que se expresaron como valores TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity).

Método para evaluar la actividad fotoprotectora

Para este ensayo se tomó como referencia la técnica usada por Mansur, con algunas modificaciones, este método consiste en un análisis espectrofotométrico en el cual la formulación se diluye en etanol y se mide en el rango de la radiación UVB, para ello se realizaron diluciones sucesivas hasta llegar a una concentración mínima de 0,2 mg/mL. Con ese fin, se colocó 1 g de la muestra en una fiola de 100 mL, se procedió a filtrar descartando los primeros 10 ml, una vez obtenida esa dilución se tomó 5 mL de esa muestra, se colocó en una fiola 50 mL y se enrazó con etanol 96°. Por último, se tomaron 5mL de la muestra anterior y se enrazó en una fiola de 25 mL. Luego en el espectrofotómetro UV/VIS se procedió a leer las absorbancias dentro de 290 – 320 nm (UV-B) con un intervalo de 5 nm¹⁴. Una vez obtenida las absorbancias se realizó la fórmula para poder comprobar el FPS. Este ensayo se efectuó en el extracto y también por triplicado a las 3 cremas formuladas, así mismo se clasificó el FPS según COLIPA¹⁵.

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

Donde:

FPS = Factor de Protección Solar

FC= Factor de corrección equivalente a 10

EE = Efecto eritematogénico de la radiación de longitud de onda

I = Intensidad solar de longitud de onda

Abs= absorbancia de la solución en la longitud de onda

Los valores para EE (λ) x I (λ) se muestran a continuación:

Tabla 1. Relación del efecto eritematogénico (EE) con la intensidad de la radiación (I) en cada longitud de onda (nm).

Longitud de onda (nm)	290	295	300	305	310	315	320
EE (λ) x I (λ)	0,0150	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0839	0,0180

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de caracterización del extracto etanólico de *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “candelabro”.

Parámetros	Olor	Color	Aspecto	pH	Sólidos	Sólidos	Cenizas
					Totales	Solubles	
Resultados	Suigénieris	Verde oscuro	Viscoso	4,20	89,03516	42%	3,3985%
Unidades	---	---	---	---	g/100g	°Bx (Brix)	g/100g

Se efectuaron los controles fisicoquímicos como se puede observar en la tabla N°2, a los cuales aún no se les puede contrastar debido a que no se han encontrado investigaciones al respecto, por lo que se puede describir que es propio de esta especie.

En el tamizaje fitoquímico (tabla N°3) se obtuvo como metabolitos secundarios a los flavonoides, triterpenoides, esteroides, alcaloides, leucoantocianidinas y catequinas, a diferencia de la investigación realizada por Gonzales García K¹⁶ que si bien realizó un estudio al género más no a la especie, se obtuvo la presencia de taninos, lo que se mostró ausente en nuestra investigación, sin embargo concuerda con la presencia de flavonoides al igual que la investigación realizada por Azaat¹⁷, donde también se encontró alcaloides tal como se obtuvo en el tamizaje fitoquímico de la especie en estudio, además se ha visto una relación de la actividad antioxidante con el efecto fotoprotector². Con respecto a la

solubilidad, el extracto de la especie fue soluble en agua T° 70°C, en alcohol de 70° y 96°, en propilenglicol, en glicerina y parcialmente soluble en agua a T° ambiente.

Tabla 3. Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “candelabro”.

Metabolitos	Reacción	Resultado
Taninos	De gelatina-sal	-
Grupos aminos libres	De ninhidrina	+
Antraquinonas	De Bornträger	-
Flavonoides	De shinoda	+
Esteroides y/o triterpenoides	De Lieberman Burchard	+
Alcaloides	De Dragendorff	+
	De Mayer	
	De Wagner	
Leucoantocianidinas y catequinas	De Rosenheim	+

Nota: + positivo, - negativo

Con respecto a los resultados de los ensayos organolépticos en la crema, presentaron coloraciones propias, los cuales fueron comparados con la escala PANTONE¹⁸ una referencia de colores identificados por códigos para otorgarle una tonalidad y denominación exacta, se observó que el que tenía mayor concentración es el que presentó un color más intenso. El aspecto en todas las cremas formuladas fue uniforme y el olor característico para cada una de ellas. Por lo tanto, se obtuvieron buenos parámetros organolépticos. En cuanto a los controles fisicoquímicos en la crema, en los resultados del ensayo de extensibilidad, se obtuvo que la crema formulada al 5% es la que alcanzó una mayor extensibilidad, lo cual es favorable porque permite una mejor distribución de la crema en la zona de aplicación, asimismo con los resultados de viscosidad en todas las cremas formuladas, según la USP 39 - NF 34, se encuentran dentro del rango aceptable. Con respecto al pH los resultados muestran que las cremas son ligeramente ácidas, que están dentro del rango de pH de nuestra piel (4.7 – 5.9), lo que brinda una barrera protectora, inhibiendo el crecimiento de bacterias que puedan afectar a la piel.

Tabla 4. Resultado del control microbiológico de la crema al 5%

Microorganismos patógenos	Limitaciones	Resultados
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia (1g ó 1ml)	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia (1g ó 1ml)	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia (1g ó 1ml)	Ausente

Finalmente habiendo culminado con los ensayos organolépticos y fisicoquímicos de las crema elaboradas a las concentraciones respectivas, y siendo la crema al 5% la que presentar un valor alto de FPS, según la clasificación COLIPA y demostrando buenos parámetros fisicoquímicos y organolépticos, se le efectuó el control microbiológico, tal

como se puede apreciar en la tabla N° 4, la cual, demostró la ausencia de microorganismos específicos (patógenos), cumpliendo de esta manera con las normas estipuladas por la UPS 37 y por lo establecido en la Resolución N°2120 de la Comunidad Andina¹¹.

Tabla 5. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH realizada al extracto etanólico de *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “candelabro”

Concentración mg/MI	Absorbancia Promedio	%Inhibición
0,0158	0,898	14%
0,0319	0,800	23%
0,0638	0,647	38%
0,1275	0,402	61%

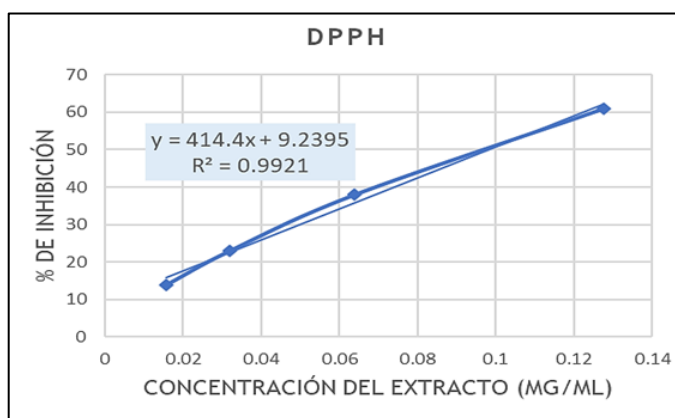


Figura 2. Correlación entre las concentraciones del extracto etanólico de de *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “candelabro” y el % de inhibición del radical DPPH

IC₅₀ = 0.0983 mg/mL

Tabla 6. Valores de absorbancia de las diluciones patrones de trolox por el método FRAP

Concentración TROLOX (mM/mL)	Promedio Absorbancias
0,031	0,137
0,0625	0,189
0,125	0,306
0,25	0,48
0,5	0,828
1	1,51

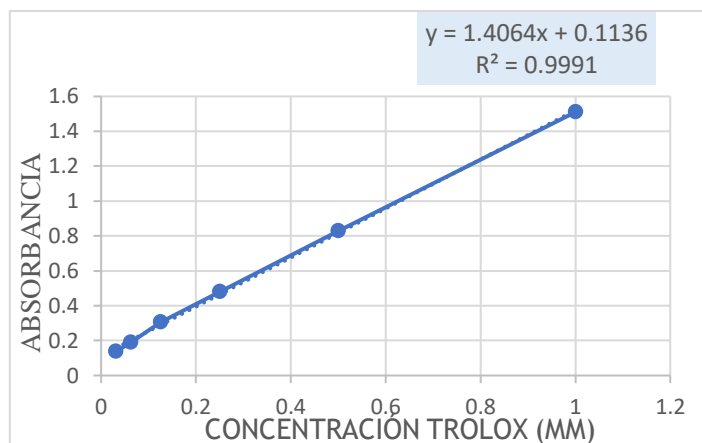


Figura 3. Curva de calibración de Trolox para la determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP

Tabla 7. Determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP realizada al extracto etanólico de *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “candelabro”

Concentración mg/mL	Absorbancia Promedio	TEAC (mM de trolox)
0,157	0,45	0,239
0,314	0,713	0,426
0,628	1,210	0,780
1,25	1,863	1,244

Nota: TEAC (Capacidad antioxidante equivalente al trolox)

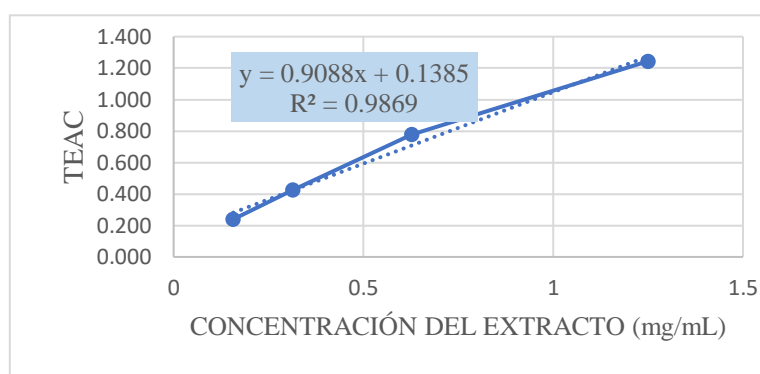


Figura 4. Correlación entre las concentraciones del extracto etanólico de *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “candelabro” y TEAC.

Empleando la ecuación de la recta $y=0,9088x + 0,1385$ se obtiene que:

1.04 mM de trolox equivale a 1,0 mg/mL de extracto

Para la determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico por el método de DPPH se obtuvo un IC 50 de 0.0983 mg/mL (tabla N° 5, figura N°2), mientras que la investigación realizada por Vásquez E.⁴ demostró que el extracto hidroalcohólico al 20% de la especie *Euphorbia candelabrum* presenta una mayor actividad antioxidante que el

mismo extracto al 10%, afirmando que la especie si presenta actividad antioxidante. Por otro lado, también se realizó la misma actividad por el método FRAP, afín de corroborar que, si presenta dicha actividad, lo cual reportó que 1 mg/mL de extracto es equivalente a 1.04 mmol del patrón TROLOX (tabla N° 7, figura N° 4). Así mismo podemos decir que la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Euphorbia candelabrum* puede deberse posiblemente a la presencia de flavonoides.

Tabla 8. Determinación de la actividad fotoprotectora del extracto etanólico de *Euphorbia candelabrum* Welw. ex Hiern “candelabro” por el método Mansur

Longitud de Onda	EE (λ) x I(λ)	Extracto		
		a	b	c
290	0,015	2,058	2,152	2,856
295	0,0817	2,009	2,07	2,321
300	0,2874	1,871	1,908	2,009
305	0,3278	1,684	1,707	1,871
310	0,1864	1,496	1,514	1,684
315	0,0839	1,332	1,35	1,506
320	0,018	1,197	1,214	1,332
SUMATORIA		1,6969011	1,7266394	1,8873931
FPS		16,969011	17,266394	18,873931
FPS PROMEDIO			17,703112	
Desviación estándar			1,024803401	
FPS FINAL			17,70 \pm 1,02	

Nota: Se usó la formula según Mansur (FC. \sum EE (λ) x I (λ). Abs (λ))

Donde:

EE (λ) x I(λ) = Relación del efecto eritematogénico (EE) con la intensidad de la radiación (I) en cada longitud de onda.

FPS= Factor de Protección Solar.

a, b, c = Repetición por cada análisis.

Se realizó la actividad fotoprotectora por el método de Mansur al extracto etanólico, obteniendo como resultado un FPS de 17,70 \pm 1,02, que según la clasificación europea (COLIPA)¹⁵ está dentro del rango de alto FPS.

Se determinó la actividad fotoprotectora in vitro a las cremas al 1%, 3% y 5%, obteniendo un FPS de 4,81 \pm 0,367, 11,34 \pm 0,76 y de 25,97 \pm 0,67 respectivamente, asimismo se halló la determinación del FPS de la base obteniendo un valor de 0,043 \pm 0,01, lo cual nos indica que es mínima la protección que ofrece la base sola, en comparación con las formulaciones que contienen el ingrediente activo (extracto etanólico); este ensayo nos permitió visualizar que la crema al 5% fue la que tuvo un mayor FPS.

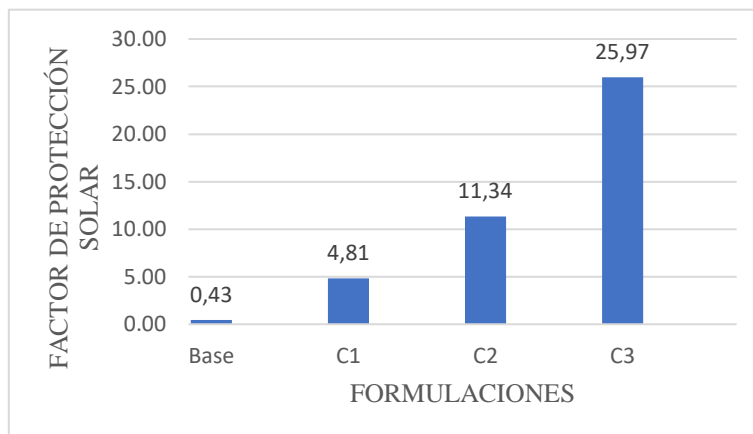


Figura 5. Gráfico del Factor de Protección Solar obtenido en las diferentes formulaciones

CONCLUSIONES

Se demostró la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Euphorbia Candelabrum* Welw. ex Hiern “Candelabro”, el método de DPPH reportó un IC₅₀ de 0.0983 mg/mL, y por el método de FRAP, se encontró que 1 mg/mL de extracto es equivalente a 1.04 mmol del patrón TROLOX®. De igual manera la actividad fotoprotectora in vitro del extracto obtuvo un FPS de $17,70 \pm 1,02$, lo que indica que presenta un valor alto de FPS frente a la radiación UVB, con respecto a la actividad fotoprotectora in vitro de las cremas obtenidas a partir del extracto etanólico de la especie, a las concentraciones del 1%, 3% y 5%, siguiendo el método de Mansur, demostraron que la crema al 5% tiene un mayor FPS con $25,97 \pm 0,67$, considerándola como protección alta frente a la radiación ultravioleta B (UVB), además se puede asociar el efecto obtenido a los flavonoides encontrados en el extracto, asimismo todas las formulaciones realizadas se encontraron dentro de los parámetros establecidos por la normativa vigente. La evaluación del control microbiológico evidenció la ausencia de microorganismos específicos, en la crema al 5%, cumpliendo con las normas estipuladas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Dr. Jorge García Ceccarelli por su apoyo en el transcurso de esta investigación, asimismo a la Asociación Científica de Investigación Farmacéutica - Ica, por la motivación constante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso-Belmonte C, Montero-Vilchez T, Arias-Santiago S, Buendía-Eisman A. Situación actual de la prevención del cáncer de piel: una revisión sistemática. *Actas Dermosifiliogr.* 2022 Sep 1;113(8):781–91. doi: 10.1016/j.ad.2022.04.015.

2. Garnacho Saucedo GM, Salido Vallejo R, Moreno Giménez JC. Effects of solar radiation and an update on photoprotection. *An Pediatr.* 2020;92(6):377.e1-377.e9. doi: 10.1016/j.anpedi.2020.04.014.
3. Issn P. Determinación de la actividad antioxidante in vitro de los aceites volátiles de cuatro plantas de uso tradicional mediante la medición de la peroxidación lipídica de aceite. *Scientia.* 2006;1(30):365–70.
4. Vasquéz E, Vasquéz J, Bravo G. Actividad antioxidante in vitro de los extractos hidroalcohólicos de los frutos de *Euphorbia candelabrum* Trémaux. (cactus candelabro). [Tesis para optar por el Título Profesional de Químico Farmacéutico] Lima: Universidad María Auxiliadora; 2022.
5. Heya MS, Rodríguez RA, Guillén-Meléndez GA, González E, García-Hernández DA, Cordero A, et al. Actividade fotoprotetora in vitro de extratos vegetais / In vitro photoprotective activity of plant extracts. *Brazilian J Dev.* 2022;8(4):30472–83.
6. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos Naturales. Segunda ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
7. AOAC. Methods Official of Analysis. AOAC International- 16^a Edition. Rockville, Maryland: AOAC International; 2012.
8. Ministerio de Salud del Perú. Normas y Directrices para la Regulación de Productos Cosméticos y de Higiene Personal. Lima: MINSA; 2019
9. Hernández P, Huamaní L, Mirano M. Efecto fotoprotector y calidad del gel cosmético a base del extracto del alga marina “*Caulerpa filiformis* (Subr) Hering” recolectada en la provincia de Pisco – Ica. [Tesis para optar por el Título Profesional de Químico Farmacéutico] Ica: Universidad Nacional San Luis Gonzaga; 2015.
10. Nuñez K, Romero T. Elaboración de una forma farmacéutica semisólida con actividad antiinflamatoria a partir del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nutans* Schulz Bipontinus “CHOCRA” [Tesis para optar por el título de Químico Farmacéutico]. Ica: Universidad Nacional San Luis Gonzaga; 2015.
11. Reglamento Técnico Andino sobre Especificaciones Técnicas Microbiológicas de Productos Cosméticos [Internet]. 1.^a ed. Lima: Jorge Hernando Pedraza; 2019 [citado el 14 de mayo del 2024]. Disponible en: https://www.mincetur.gob.pe/reglamentostecnicos/inventario_reglamentos_tecnicos/pdf/Resolucion_2120_RTA_EETT_Microbiologicas.pdf
12. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol.* 1999; 22:25-30.
13. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996; 239: 70 – 76.
14. Nuñez Arango L. Antioxidantes y/o fotoprotectores de los líquenes del páramo de *Sumapaz Thamnolia vermicularis* y *Cladonia* cf. *didyma* y estudio de su posible producción biotecnológica [Tesis para optar por el grado de Doctora en Ciencias Farmacéuticas]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2022.
15. COLIPA /JCIA/CTFA-SA. International Sun Protection Factor Test Method. Brussels: COLIPA; 2006.
16. Gonzales Garcias K. Compuestos antioxidantes en brácteas de *Euphorbia pulcherrima* Y actividad antiinflamatoria de la variedad “Amanecer Navideño”. [Tesis para optar por el grado de Doctor en Ciencias en horticultura]. México: Universidad Autónoma Chapingo; 2021.

17. Azaat A, Babojian G, Issa N. Phytochemical Screening, Antioxidant and Anticancer Activities of *Euphorbia hyssopifolia* L. against MDA-MB-231 Breast Cancer Cell Line. J Turkish Chem Soc Sect A Chem. 2022;9(1):295–310.
18. Tabla de códigos Pantone y RGB - Logorapid [Internet]. 2014 [citado el 01 de Junio del 2024]. Disponible en: <https://www.logorapid.com/pantone>