

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

**EVALUACION DE LA CAPACIDAD FOTOPROTECTORA
FRENTE A LA RADIACIÓN UVB DE UNA CREMA ELABORADA
A BASE DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE
MASASAMBA (*Annona muricata* L.) EN RATONES DE LA RAZA
Mus Musculus VAR. BALB/C Y DETERMINACION DEL FACTOR
DE PROTECCION SOLAR IN VITRO**

PRESENTADO POR:

Br. YONY SUCSO LOPEZ

Br. KATIA LISSETH QUISPE VILCAHUAMAN

PARA OPTAR AL TÍTULO

PROFESIONAL DE QUÍMICO

FARMACÉUTICO

ASESORA:

Dra. CARLA DEL CARPIO JIMÉNEZ

CUSCO – PERÚ

2024



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor Dra. Carla del Corpio Jiménez.....
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada: Evaluación de la Capacidad Fotoprotectora frente a la
radiación UVB de una crema elaborada a base del extracto de flavonoides de las
hojas de masasamba (Annona muricata L.) en ratones de la raza Mus Musculus
Var. Balb/c y determinación del factor de Protección Solar in Vitro.....

Presentado por: Yony Susco Lopez..... DNI N° 44597257.....;

presentado por: Katia Lisseth Quispe Vilcahuaman..... DNI N°: 46463582.....

Para optar el título Profesional/Grado Académico de Química Farmacéutica.....

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de**
Similitud en la UNSAAC y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10.....%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	☒
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	☐
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	☐

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 11 de Agosto..... de 2026.....

Firma

Post firma Carla del Corpio Jiménez.....

Nro. de DNI 23945000.....

ORCID del Asesor 0000-0001-7487-354X.....

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: **oid:** 27289:613635118.....

Katia Lisseth Quispe Vilcahuaman

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FOTOPROTECTORA FRENTE A LA RADIACIÓN UVB DE UNA CREMA ELABORADA A BASE D...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:613635118

Fecha de entrega

10 ago 2026, 9:59 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

10 ago 2026, 10:06 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FOTOPROTECTORA FRENTE A LA RADIACIÓN UVB DE UNA CREMA....pdf

Tamaño del archivo

4.7 MB

184 páginas

34.202 palabras

185.164 caracteres

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 15 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 3%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Dedicatoria

Primeramente, dedicamos este logro a nuestro Creador, quien nos permite seguir con vida, por guiarnos por el camino correcto, porque nunca nos abandonó, por permitirnos conocer a excelentes profesores y amigos, y porque has llenado nuestros corazones con la luz de tu espíritu para cumplir nuestra meta.

Seguidamente, lo dedicamos a nuestros progenitores y familia por su apoyo, comprensión, amor, trabajo y sacrificio durante todos estos años. Gracias a ustedes hemos logrado llegar hasta aquí y convertirnos en lo que somos.

A nuestras hijas, por ser el motor y motivo de concluir nuestra meta y por ser una parte importante de nuestras vidas.

Katia Lisseth Quispe Vilcahuaman y Yony Sucso Lopez

Agradecimientos

Agradecemos infinitamente a nuestros progenitores por creer en nosotras desde el primer instante, por sus sacrificios y su apoyo constante, que han sido la clave de nuestro éxito.

A nuestras familias e hijas, por la comprensión brindada en todo momento y por ser el motivo para seguir adelante.

A nuestros profesores y mentores, por su dedicación y pasión por la enseñanza, y por guiarnos en nuestro camino.

A nuestra querida universidad San Antonio Abad del Cusco, de la cual siempre estaremos orgullosas, y a todas las personas que la conforman. No podríamos haber llegado hasta aquí sin su apoyo.

¡Gracias!

ÍNDICE

Dedicatoria

Agradecimientos

Resumen

Abstract

ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	X
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I – GENERALIDADES	5
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	8
1.3. OBJETIVOS	8
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	8
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
1.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	9
1.4.1. APORTE TEÓRICO	10
1.4.2. APORTE PRÁCTICO	10
1.4.3. APORTE SOCIAL	10
1.5. HIPÓTESIS	11
1.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS	11

CAPÍTULO II - MARCO TEÓRICO.....	13
2.1. VISIÓN HISTÓRICA.....	13
2.2. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO	13
2.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES	13
2.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES	15
2.2.3. ANTECEDENTES LOCALES.....	16
2.3. ESTADO DE LA CUESTIÓN.....	17
2.4. BASES TEÓRICAS-CIENTÍFICAS.....	18
2.4.1. ASPECTOS DESCRIPTIVOS DE LA ESPECIE VEGETAL.....	18
2.4.2. LA PIEL	25
2.4.3. Radiaciones solares	29
2.4.4. Fototipo	34
2.4.5. Efectos biológicos y patológicos de las radiaciones (43)	36
2.4.6. Niveles de radiación UV	44
2.4.7. Índice UV solar mundial	46
2.4.8. Fotoprotección	47
2.4.9. Nuevos retos de fotoprotección.....	47
2.4.10. Mecanismo de acción de los protectores solares.....	53
2.4.11. Factor de protección solar.....	53
2.4.12. Parámetros de evaluación en fotoprotectores.....	55
2.4.13. Criterios de utilización de un filtro solar (52)	56

2.4.14. Compuestos fenólicos	57
2.4.15. Producto patrón en ensayo de la capacidad fotoprotectora	60
2.5. Definición de términos	61
CAPÍTULO III - MATERIALES Y MÉTODOS	63
3.1. MATERIALES.....	63
3.2. SOLVENTES Y REACTIVOS	64
3.3. EQUIPOS E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO	64
3.4. DEL DISEÑO METODOLÓGICO	65
3.4.1. Tipo de estudio.....	65
3.4.2. Diseño experimental	66
3.4.3. Definición y operacionalización de variables.....	71
3.5. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO	76
3.5.1. Población:.....	76
3.5.2. Muestra:	76
3.6. Criterios de inclusión	77
3.6.1. De massamba (<i>Annona muricata L.</i>)	77
3.6.2. De los animales de experimentación.....	77
3.7. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	78
3.7.1. De los animales de experimentación.....	78
3.8. PROCEDIMIENTOS DE INVESTIGACIÓN.....	79
3.8.1. Recolección de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata L.</i>).....	80

3.8.2. Acondicionamiento y secado del material vegetal.....	80
3.8.3. Porcentaje de humedad de las hojas de <i>Annona muricata</i> L.	81
3.8.4. Obtención de extracto de flavonoides de masasamba.....	82
3.8.5. Caracterización fitoquímica de los extractos	82
3.8.6. Ensayo de irritación cutánea con extracto de flavonoides (57)	86
3.8.7. Crema de extracto de flavonoides en las concentraciones de 1, 2 y 3%	91
3.8.8. Determinación organoléptica de la crema	92
3.8.9. Determinación fisicoquímica de la crema medida de pH	92
3.8.10. Determinación microbiológica de la crema.....	93
3.8.11. Evaluación in vitro del factor de protección solar (FPS).....	94
3.8.12. Determinación en vivo de la capacidad fotoprotectora.....	97
3.8.13. Determinación de la capacidad fotoreparadora.....	99
3.9. MÉTODOS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	102
3.10. MÉTODOS Y ANÁLISIS DE PROCESAMIENTO DE DATOS 102	
CAPÍTULO IV – ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	103
4.1. SOBRE LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (<i>annona muricata</i> L.) Y LA DESCRIPCIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD	103
4.2. SOBRE EL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO Y LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (<i>annona muricata</i> L.).	105
4.2.1. Respecto al análisis fitoquímico cualitativo	105

4.2.2. Respecto a las pruebas de solubilidad.....	106
4.3. SOBRE LA PREPARACIÓN DE UNA CREMA BASE E INCORPORACION DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (<i>Annona muricata L.</i>).....	108
4.4. SOBRE LA REALIZACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD ORGANOLÉPTICO, FISICOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA ELABORADA A BASE DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (<i>Annona muricata L.</i>).....	109
4.5. SOBRE LA DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE PROTECCIÓN SOLAR DE LA CREMA ELABORADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (<i>annona muricata L.</i>) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES, UTILIZANDO EL MÉTODO DE IRRADIACIÓN UVB SOBRE LA PIEL EN RATONES (<i>Mus musculus</i>) albinos BALB/c.....	111
4.5.1. Valoración de cambios inflamatorios cutáneos	111
4.6. SOBRE LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR (FPS) MEDIANTE EL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA CREMA ELABORADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (<i>Annona muricata L.</i>) EN VARIAS CONCENTRACIONES DE UN PRODUCTO PATRÓN CON UN FPS CONOCIDO.....	128
4.6.1. Resultados del producto comercial (patrón) determinación in vitro del factor de protección solar (FPS).....	128
4.7. SOBRE LA EVALUACIÓN DE LA IRRITACIÓN CUTÁNEA AGUDA DE LA CREMA ELABORADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (<i>annona muricata L.</i>) A DIFERENTES CONCENTRACIONES EN RATONES.	133

4.7.1. Resultados del ensayo de irritación cutánea	133
4.7.2. Resultado del estudio histopatológico	136
4.7.3. Registro fotográfico de los tejidos histopatológicos.....	137
CONCLUSIONES.....	140
RECOMENDACIONES	142
BIBLIOGRAFÍA	143
ANEXOS	151

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Partes de la masasamba	21
Figura 2: Constitución biológica de la piel	26
Figura 3: Constitución de la epidermis	26
Figura 4: Capas de la epidermis	27
Figura 5: Elaboración histológica de la piel	27
Figura 6: Constitución celular de la dermis.....	29
Figura 7: Espectro de irradiación solar.....	30
Figura 8: Aspecto de los daños por radiación UVA.....	32
Figura 9: Factores de riesgo de los rayos UV	44
Figura 10: Clasificación de los Flavonoides. (53)	59
Figura 11: HPLC Agilent serie 1200.....	85
Figura 12: Prueba de irritación cutánea aguda	86
Figura 13: Evaluación de cambios inflamatorios y cambios morfológicos cutáneos.	101
Figura 14: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a los 30 minutos.	116
Figura 15: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 6 horas.	117
Figura 16: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 24 horas.	119

Figura 17: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 48 horas.	120
Figura 18: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a los 30 minutos.	124
Figura 19: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 6 horas.	125
Figura 20. Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 24 horas.	126
Figura 21. Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 48 horas.	127
Figura 22: Factor de protección versus concentración de las cremas elaboradas a las distintas concentraciones.	132
Figura 23: Piel tratada con la crema patrón.....	137
Figura 24: Piel tratada con crema al 1%.....	138
Figura 25: Piel tratada con la crema al 2%.....	138
Figura 26: Piel tratada con la crema al 3%.....	139

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Orden taxonómico de la especie vegetal	19
Tabla 2: Composición química y valor nutricional del fruto en 100 gramos.	21
Tabla 3: Contenido y composición de las hojas y semillas	22
Tabla 4: Contenido y composición de las hojas y semillas	23
Tabla 5: Efectos nocivos de la radiación solar.....	39
Tabla 6: Filtros homologados inorgánicos	50
Tabla 7: Inmunoprotectores solares	51
Tabla 8: Filtros organominerales.....	52
Tabla 9: Principales filtros químicos	52
Tabla 10: Tipos de protectores	54
Tabla 11: Niveles de radiación según el fototipo de piel	55
Tabla 12: Irritación dérmica aguda en ratones	88
Tabla 13: Clasificación de la sustancia a ensayar	89
Tabla 14: Categorías tóxicas en la irritación dérmica.....	89
Tabla 15: Formulación de la crema fotoprotectora	91
Tabla 16: Función del producto normalizado que se utilizarán en el cálculo de FPS	95
Tabla 17: Formación de eritema.	98
Tabla 18: Formación de edema.....	99

Tabla 19: Resultados del porcentaje de humedad de las hojas de masasamba.....	103
Tabla 20: Resultado del proceso fitoquímica de las hojas de masasamba	105
Tabla 21: Resultados de pruebas de solubilidad del extracto de flavonoides de la especie vegetal.....	106
Tabla 22: Características organolépticas y fisicoquímicas de las formas farmacéuticas.....	108
Tabla 23: Resultados de tiempos de retención de flavonoides del extracto.	109
Tabla 24: Resultados de la lectura microbiológica	110
Tabla 25: Resultado de la valoración de los cambios inflamatorios cutáneos.	111
Tabla 26: Resultados de la valoración de los cambios inflamatorios cutáneos como eritema	114
Tabla 27: Cambios de aspecto inflamatorio cutáneos- valoración de aspectos cutáneos como edema.....	122
Tabla 28: Resultado de las Absorbancias del Producto Comercial (Eucerin al 30 FPS).....	128
Tabla 29: Resultado del factor de protección solar del producto comercial (Eucerin al 30 FPS).....	129
Tabla 30: Resultado de las absorbancias en las formulaciones al 1%, 2% y 3%.....	130
Tabla 31: Resultado del factor de protección solar	131
Tabla 32. Resultados de ensayo de irritación cutánea aguda al 1, 2 y 3%.	133

Tabla 33: A través del test de Draize, para la determinación del índice de irritación primaria (PII).....	135
--	------------

Tabla 34: Resultados acerca de cambios morfológicos cutáneos, es decir, histopatológicos.	136
---	------------

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar *in vitro* e *in vivo* la capacidad fotoprotectora frente a la radiación UVB de una crema formulada a base de extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) en ratones (*Mus musculus*) albinos BALB/c, así como determinar su factor de protección solar (FPS).

El estudio presento un enfoque cuantitativo y correlacional, con un diseño experimental y longitudinal. Se obtuvo el extracto de las hojas determinándose una humedad de 9.548%, alta abundancia de flavonoides, compuestos fenólicos, quinonas, taninos y azúcares reductores, además de solubilidad en agua y alcoholes. Se formularon cremas a concentraciones del 1%, 2% y 3% del extracto, las cuales presentaron homogeneidad, textura ligera, un pH seguro entre 6.18 y 6.58 y conformidad microbiológica. El FPS *in vitro* determinado mediante espectrofotometría, fue de 0.900, 2.100 y 3.100 para las concentraciones del 1%, 2% y 3% respectivamente, evidenciando una relación directamente proporcional entre concentración y fotoprotección.

En la evaluación *in vivo*, el edema por radiación UVB remitió en todos los grupos a las 72 horas. El Índice de Irritación Primario clasificó a la crema al 1% como "No Irritante" y a las del 2% y 3% como "Ligeramente Irritante". El análisis histopatológico mostro que la crema al 2% presento la mejor protección dérmica.

Se concluye que el extracto *Annona muricata* L. posee un potencial como agente fotoprotector natural, recomendándose optimizar su formulación para desarrollar de alternativas fitoterapéuticas destinadas al cuidado dérmico.

Palabras clave: *Annona muricata* L., Masasamba, Fotoprotectora, Radiación.

ABSTRACT

The objective of this research work was to evaluate *in vitro* and *in vivo* the photoprotective capacity against UVB radiation of a cream formulated with a flavonoid extract from *Annona muricata* L. (masasamba) leaves in albino BALB/c mice (*Mus musculus*), as well as to determine its sun protection factor (SPF).

The study followed a quantitative and correlational approach, with an experimental and longitudinal design. The leaf extract was obtained, showing a moisture content of 9.548%, a high abundance of flavonoids, phenolic compounds, quinones, tannins, and reducing sugars, and complete solubility in water and alcohols. Creams were formulated at concentrations of 1%, 2%, and 3% of the extract, exhibiting homogeneity, light texture, a safe pH (6.18 to 6.58), and microbiological compliance. The *in vitro* SPF determined by spectrophotometry was 0.900, 2.100, and 3.100 for the 1%, 2%, and 3% concentrations, respectively, demonstrating a directly proportional relationship between concentration and photoprotection. In the *in vivo* biological evaluation, UVB radiation-induced edema subsided in all groups after 72 hours. The Primary Irritation Index classified the 1% cream as "Non-Irritant" and the 2% and 3% creams as "Slightly Irritant," meeting the acceptance criteria. Histopathological analysis revealed that the 2% cream offered the best dermal protection, showing moderate to absent morphological changes, which outperformed the other concentrations and the commercial standard under the testing conditions.

It is concluded that the leaf extract of *Annona muricata* L. possesses optimal potential as a natural photoprotective agent; thus, optimizing the formulations is recommended for the development of phytotherapeutic alternatives aimed at skin health care.

Keywords: *Annona muricata* L., masasamba, photoprotective capacity, UVB radiation, sun protection factor.

INTRODUCCIÓN

Los cambios ambientales hoy en día traen consecuencias que afectan severamente la salud pública como son los efectos UV, lo que amerita proponer soluciones desde la perspectiva de la investigación. El uso de protectores solares ante esta problemática se ha convertido en una necesidad generalizada en la sociedad con fines dermatológicos, preventivos y estéticos; existen en el mercado productos fotoprotectores reconocidos todas son de marcas reconocidas; sin embargo, dependiendo de su calidad y costo indirectamente todas contienen componentes químicos que causan daño a la piel. (1)

En el ámbito de nuestro país, los efectos negativos de los rayos UV son más nocivos debido a factores principalmente geográficos como son la altura y latitud particularmente en ciudades como el Cusco; por otro lado, nuestra riqueza natural nos permite buscar como en este caso, las bondades fotoprotectoras en productos naturales abundantes como la planta de masasamba (*Annona muricata* L.); en vista de ello el presente estudio tiene por objetivo evaluar la capacidad fotoprotectora de una crema elaborada a base de extracto de flavonoides de las hojas de masasamba y determinar su factor de protección solar. (2)

La importancia del estudio se basa en la búsqueda de alternativas naturales que principalmente causan menor toxicidad y por otro lado sean accesibles en cuanto a costos para el cuidado y salud de la piel; y ello en base a una planta originaria del Perú y de cultivo extendido en la región del Cusco; el estudio se organiza en cuatro capítulos además de las conclusiones, recomendaciones y anexos. (2)

En el primer capítulo se aborda el problema, objetivos y la justificación del estudio; como ya se ha indicado, el estudio responde los problemas que ocasionan los rayos UV sobre la salud de la piel de las personas; tiene por propósito determinar la capacidad fotoprotectora en los compuestos de la masasamba ya que de esta manera se puede establecer una alternativa natural en favor de la salud.

En el segundo capítulo; se ha realizado una recopilación de los antecedentes del tema de estudio, se ha desarrollado también los fundamentos teóricos de la

investigación y los conocimientos vigentes del órgano de la piel, los efectos de la radiación por rayos ultravioleta sobre la salud, los aspectos vigentes de la fotoprotección; etc.

El tercer capítulo contiene los elementos teóricos y procedimentales del estudio que inicia con la extracción de los flavonoides de la planta, pruebas de solubilidad, la preparación de la crema en base al extracto, control de calidad, el estudio de la capacidad fotoprotectora del producto y la estimación del factor de protección solar.

En el capítulo cuarto se realizó el análisis e interpretación de los resultados del estudio: Humedad, marcha fitoquímica, solubilidad, cromatografía HPLC, irritación cutánea, incorporación del extracto en la crema, evaluación microbiológica, factor de protección solar y capacidad fotoreparadora.

En la parte final del estudio se establecen las conclusiones y recomendaciones pertinentes; en los anexos se presentan los instrumentos usados y un registro fotográfico como evidencias del proceso de investigación realizado.

CAPÍTULO I – GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer de piel es la neoplasia más frecuente a nivel mundial, siendo la exposición a la radiación solar su principal factor de riesgo. Esta patología se clasifica en dos grandes grupos: Melanoma y cáncer cutáneo no melanoma (CCNM). El melanoma es un tumor altamente agresivo con una marcada capacidad metastásica, cuyo desarrollo está fuertemente influenciado por el patrón de exposición solar. Por su parte, el CCNM abarca el carcinoma basocelular (CBC) y el carcinoma espinocelular (CEC). El CBC representa el tumor maligno más común constituyendo el 60% de los casos cutáneos y se vincula principalmente a la exposición solar intermitente; en contraste, el CEC se asocia directamente con la exposición solar crónica acumulada. (1)

De acuerdo con Zhang et al., la incidencia y la prevalencia tanto del melanoma como del CCNM han mostrado un incremento sostenido entre 1990 y 2019. Datos del estudio de la Carga Global de Enfermedades (GBD, por sus siglas en inglés) de 2019 estimaron un impacto global de 4 millones de casos de CBC, 2.4 millones de CEC y 0.4 millones de melanoma. (3)

El melanoma surge de una compleja interacción entre la susceptibilidad genética del individuo y la exposición ambiental, mediada principalmente por la radiación ultravioleta (UV) del sol. Esta radiación se divide espectralmente en UVA (320–400 nm) y UVB (280–315 nm), mientras que la UVC (200–280 nm) es absorbida por la capa de ozono y el oxígeno atmosférico. Ambos tipos de radiación contribuyen a la oncogénesis cutánea al inducir eritema (quemaduras solares) y daño directo al ADN. Específicamente, los fotones UVB provocan la formación de dímeros de pirimidina ciclobutano entre bases de timina y citosina, lo que puede derivar en mutaciones oncogénicas durante la replicación celular. (4)

Se estima que cada célula de la piel experimenta entre 15 y 100 reacciones moleculares por segundo de exposición solar, aunque la mayoría son corregidas por los mecanismos de reparación celular antes de la replicación. No obstante, mientras que la exposición crónica y acumulativa a los rayos UV es clave para el desarrollo del carcinoma de células escamosas, el melanoma se relaciona

estrechamente con exposiciones agudas e intensas en fenotipos de piel clara.
(4)

Según el Observatorio Global del Cáncer (GLOBOCAN), en 2020 se registraron aproximadamente 300,000 nuevos casos de melanoma a nivel mundial, con 57,000 muertes atribuidas a esta enfermedad (5). A pesar de que la literatura epidemiológica sobre el melanoma en Latinoamérica sigue siendo escasa, estudios en el Perú, como el de Ziegler-Rodríguez et al., aportan datos cruciales. Al examinar tres cohortes retrospectivas de 584 pacientes diagnosticados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) durante los periodos 2005-2006, 2010-2011 y 2017-2018, los autores concluyeron que hubo un incremento en la incidencia de melanoma metastásico en etapas avanzadas, acompañado de una marcada disminución en las tasas de supervivencia global. Este panorama es alarmante debido a que la mitad de la población peruana reside en áreas sin acceso directo a servicios oncológicos; por ende, de no implementarse políticas de salud pública efectivas, se proyecta un incremento crítico en la carga de la enfermedad (6).

Para mitigar este impacto, los protectores solares actúan reduciendo la cantidad de radiación UV que alcanza los blancos biológicos de la piel. Para ser aprobados por agencias reguladoras como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos y la Unión Europea, estos productos deben demostrar su eficacia en la prevención del eritema, el enrojecimiento y la inflamación cutánea. Debido a que la radiación UVB es significativamente más efectiva en la inducción del eritema en comparación con la UVA especialmente la fracción UVA-1, el diseño inicial de los fotoprotectores se centró casi exclusivamente en el espectro UVB. Esta protección se cuantifica mediante el Factor de Protección Solar (FPS), el cual se determina analíticamente en laboratorio utilizando simuladores solares que simulan la radiación terrestre intensa rica en UVB, pero que carecen del espectro de luz visible (7) (8).

En la formulación de los protectores solares se integran tres componentes esenciales: Excipientes, aditivos/conservantes y filtros solares. Sin embargo, la seguridad de estos filtros UV sintéticos ha sido cuestionada recientemente debido a su impacto en la salud humana y el medio ambiente. Se ha evidenciado

que, bajo la influencia de la luz solar, ciertos filtros se degradan y generan especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales inducen estrés oxidativo, dañan el material genético, aceleran el fotoenvejecimiento y paradójicamente, pueden predisponer al cáncer de piel (9). Asimismo, diversas investigaciones han detectado la bioacumulación de estos filtros UV en tejidos biológicos humanos (10).

En contraposición, la selección natural y la evolución han dotado a plantas y animales de mecanismos altamente eficientes para protegerse del estrés oxidativo y la radiación UV. Por este motivo, los antioxidantes naturales con capacidad fotoprotectora están despertando un notable interés científico. (11)

El reino vegetal constituye una fuente inagotable de principios activos con efectos benéficos en la piel humana. Entre ellos, los flavonoides una fracción mayoritaria de los polifenoles destacan como un grupo relevante de metabolitos secundarios presentes en la mayoría de las especies botánicas, ya sea como moléculas libres (agliconas) o conjugadas con carbohidratos (glicósidos) (12). Ante escenarios de estrés por radiación UVB, los fotorreceptores UVR8 de las plantas activan vías de señalización y factores de transcripción específicos (como HY5, BES1, proteínas tipo MYB13 y la fosfatasa MKP1, entre otros) que promueven la síntesis de flavonoides. Estos metabolitos actúan neutralizando eficazmente las ERO generadas por la radiación (13).

Este mecanismo de daño tiene su análogo en la piel humana, donde el estrés oxidativo induce mutaciones en el ADN y eleva el riesgo de carcinogénesis. Por lo tanto, los flavonoides vegetales representan una alternativa prometedora con alto potencial fotoprotector para el ser humano (14).

En este contexto, el Perú, por su condición de país megadiverso, ofrece ventajas competitivas únicas para la bioprospección de compuestos naturales con potencial terapéutico a partir de su flora medicinal (15). Una de estas especies es la masasamba o guanábana (*Annona muricata*), a la cual se le atribuyen notables propiedades medicinales (16) (17). Investigaciones previas han confirmado la presencia de flavonoides en el género *Annona* (18), mientras que revisiones y estudios etnobotánicos reportan, entre otras virtudes, una

significativa actividad anticancerígena asociada a los flavonoides de *Annona muricata* L. (19) (20).

Tomando en consideración los antecedentes expuestos, la presente investigación tiene como objetivo evaluar la capacidad fotoprotectora de los flavonoides extraídos de las hojas de *Annona muricata* incorporados en una formulación tópica tipo crema, frente a la radiación UVB en ratones *Mus musculus* BALB/c, así como determinar su respectivo Factor de Protección Solar.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Una evaluación in vitro demuestra capacidad fotoprotectora frente a radiación UVB de una crema a base de extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) en ratones (*Mus musculus*) albinos BALB/c, y cuál será su factor de protección?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad fotoprotectora frente a la radiación UVB de una crema elaborada a base del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) en ratones de la raza *Mus musculus* var. BALB/c, y determinar su Factor de Protección Solar (FPS) in vitro.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener el extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) y determinar el porcentaje de la humedad.
- Realizar las pruebas de solubilidad y el análisis fitoquímico cualitativo del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).

- Preparar una crema base e incorporar diferentes concentraciones del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).
- Realizar el control de calidad organoléptico, fisicoquímico y microbiológico de la crema elaborada a base del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).
- Determinar la capacidad de protección solar de la crema elaborada a partir del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) en diferentes concentraciones (1, 2 y 3%), utilizando el método de irradiación UVB sobre la piel de ratones (*Mus musculus*) albinos BALB/c
- Determinar el factor de protección solar (FPS) mediante el método espectrofotométrico de la crema elaborada a partir del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) en varias concentraciones de un producto patrón con un FPS conocido.
- Evaluar la irritación cutánea aguda de la crema elaborada a partir del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) a concentraciones 1, 2 y 3% en ratones.

1.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Se ha observado un aumento significativo de casos de cáncer de piel, principalmente debido a la exposición excesiva al sol y particularmente a la radiación ultravioleta y sus efectos secundarios; entre los principales efectos inducidos por la radiación ultravioleta, se encuentra el aumento en la formación de especies reactivas de oxígeno y una disminución en la capacidad antioxidante de la piel, lo que conduce a un aumento en la incidencia de lesiones premalignas y malignas (3); en este aspecto, la prevención es una medida fundamental y para ello es preciso investigar acerca de los beneficios que pudieran proporcionar al respecto nuestras plantas.

En nuestro país, se da muy poca importancia al cuidado de la piel, pese a que factores como la altitud y la hora del día que por diversas razones estamos expuestos durante bastante tiempo a los rayos solares sobre todo en horarios de mayor incidencia solar, prueba de ello es que la mayoría de la población que habita en las regiones altiplánicas presenta en el rostro manchas que comúnmente llamamos “pecas” o decoloraciones de la piel (4).

1.4.1. APOORTE TEÓRICO

Los fotoprotectores de origen natural son un campo poco estudiado. Por lo tanto, la investigación y elaboración de una crema cuya fórmula contenga sustancias naturales con actividad fotoprotectora nos brindaría la posibilidad de prevenir, en futuras generaciones, las alteraciones que sufre la piel. Esto no se haría únicamente con fines estéticos, sino como una medida de prevención de enfermedades causadas por la radiación UVB (5). Si bien algunos productos naturales pueden ayudar a mitigar síntomas o efectos secundarios de los tratamientos tradicionales (terapia complementaria), ninguno ha demostrado eficacia para curar o erradicar el cáncer por sí solo, entonces una crema a base de productos naturales no puede curar, eliminar ni sustituir el tratamiento médico de una neoplasia (cáncer) de piel, sino más bien actúa como preventiva. (21)

1.4.2. APOORTE PRÁCTICO

La investigación promueve el estudio de nuestros recursos naturales, mediante una industrialización de una forma diferente, de manera que la comunidad o los productores se beneficien económica y laboralmente al usar materia prima natural y renovable, cuyo procesamiento no requiera de técnicas sofisticadas, ni costos elevados accesible a la mayoría de personas (2).

1.4.3. APOORTE SOCIAL

El presente estudio se lleva a cabo para evaluar el efecto fotoprotector del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona*

muricata L.), que se encuentran contenidas en la forma farmacéutica de crema y mejorar así, la salud de las personas vulnerables a los daños causados por la radiación UV.

1.5. HIPÓTESIS

La evaluación in vitro de la capacidad fotoprotectora frente a radiación UVB de crema a base de extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) en ratones (*Mus musculus*) albinos BALB/c presenta capacidad fotoprotectora frente a radiación UVB y alto factor de protección solar.

1.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

En El código de ética para el trabajo con animales de experimentación se rige universalmente por el principio de las 3 R (reemplazo, reducción y refinamiento). Su objetivo es asegurar un trato humanitario, minimizar el sufrimiento y garantizar que el uso de animales sea estrictamente necesario y científicamente válido. (22) Los lineamientos éticos internacionales, como las directrices del CIOMS (Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas) y normativas como la Guía del NIH (Institutos Nacionales de Salud de EE. UU.), se estructuran en los siguientes pilares clave: (23)

- **Reemplazo:** Siempre que sea posible, utilizar métodos alternativos que no involucren animales vivos (por ejemplo, modelos matemáticos, simulaciones por computadora o cultivos celulares *in vitro*).
- **Reducción:** Emplear el número mínimo indispensable de animales para obtener resultados estadísticamente significativos.
- **Refinamiento:** Minimizar el dolor, el estrés y las molestias, mejorando continuamente las técnicas experimentales y las condiciones de alojamiento y cuidado de los animales

En Perú, la experimentación con animales es regulada por la Ley N° 27265 y la Ley N° 30407 (Ley de Protección y Bienestar Animal). La normativa establece que los ensayos están prohibidos por principio general, permitiéndose

únicamente bajo estrictas justificaciones científicas, de salud o médico-legales donde no existan alternativas viables. (24)

La primera condición del investigador que trabaja con animales de laboratorio es el respeto por la vida, el dolor o el sufrimiento a que éstos pueden ser sometidos en los trabajos de experimentación bajo su responsabilidad. Siempre que se usen animales en investigación, se debe considerar que un objetivo tan importante como el de obtener resultados experimentales, será el de minimizar cualquier dolor o angustia que dichos animales puedan sufrir. (24)

Los investigadores que trabajen y experimenten con animales están moralmente obligados a manifestarles tres tipos de actitudes: respeto, afecto y gratitud. (24)

- **Respeto:** por tratarse de seres vivos y sensibles, que están experimentando sufrimiento y podrían terminar perdiendo la vida, tratárseles con todas las consideraciones que el caso merece.
- **Afecto:** considerándolos partícipes con nosotros, del misterio de la vida.
- **Gratitud:** reconocimiento por la importante ayuda al constituirse nuestros más íntimos colaboradores.

Finalmente, la presente investigación no viola en ninguna de sus etapas la normativa internacional y nacional vigente en cuanto a la investigación con animales y el cuidado del medio ambiente. Complementariamente, los resultados de esta investigación se presentan tal y como se han establecido previamente, refiriéndose a las fuentes utilizadas para el estudio.

CAPÍTULO II - MARCO TEÓRICO

2.1. VISIÓN HISTÓRICA

La protección de la piel de los efectos dañinos del sol, es una práctica ancestral y extendida en diversas culturas; se sabe por ejemplo que los antiguos griegos hacían uso del aceite de oliva con este propósito; el uso funcional de distintos elementos especialmente en zonas de mayor riesgo como los desiertos, es una práctica reconstituida con la llegada del fenómeno de la moda del bronceado en los años 20 (25).

La invención del primer fotoprotector moderno es atribuida a Franz Greiter en 1938 quien también introdujo la calificación del factor de protección; en las siguientes décadas, se fue extendiendo aún más el uso de protectores solares siempre asociado a la cultura del bronceado; ya en los años 90 se supo que además de los rayos UVB, los UVA también son peligrosas por lo que se empezó a recomendar el uso de protectores de amplio espectro (26).

En suma, la industria farmacéutica de protectores solares se renueva e innova constantemente al igual que la búsqueda de insumos cada vez más eficaces; en ese aspecto las plantas acumulan una gran diversidad de moléculas naturales fotoprotectoras entre ellos los terpenos, las flavonas, las catequinas, etc. dado que se encuentran expuestas precisamente al componente UVB de la radiación solar como la masasamba (*Annona muricata L.*) que es un alimento de uso extendido en el Perú (26).

2.2. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

2.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Quizphi, “Evaluación in vitro de la actividad fotoprotectora de los extractos alcohólicos y glicólicos de la cáscara de papa (*Solanum tuberosum L.*) Variedad superchola para su uso en la elaboración de un protector solar”, Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador, 2019. (27).

El objetivo de la investigación fue la “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”, mediante el método de Mansur, obteniéndose como resultados valores de FPS de 4,39 y 4,33 para el extracto alcohólico y extracto glicólico respectivamente, por el método de Mansur. También determinó la cantidad de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu utilizando el ácido gálico como patrón de referencia, obteniendo como resultado 37,38 mg GAE/L para el extracto alcohólico y 4,59 mg GAE/L para el extracto glicólico. Llegando a la conclusión de que el extracto presenta una marcada actividad fotoprotectora.

Tacurí, M, “Evaluación del potencial de los aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum*), caléndula (*Calendula officinalis*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y sus mezclas como fotoprotectores”, Ecuador. Universidad de Cuenca. 2019 (28).

El objetivo de la siguiente investigación fue evaluar la actividad fotoprotectora de los extractos de la cáscara de papa - (*Solanum tuberosum* L.) variedad Superchola mediante pruebas in vitro para su uso en la elaboración de un protector solar, mediante la metodología de Mansur, cuyos resultados mostraron que el extracto alcohólico posee un valor de IC₅₀ de 117.57 µg/mL con un porcentaje de inhibición de 13.98% a una concentración de 33.33 µg/mL y el extracto glicólico un IC₅₀ de 504.49 µg/mL con un porcentaje de inhibición de 3.49% a una concentración de 33.33 µg/mL; al comparar los extractos con los patrones de referencia indicaron que no presentan actividad antioxidante de mayor relevancia, esto se debe a que los compuestos antioxidantes están presentes en cantidades demasiado bajas. Donde se concluyó que un análisis estadístico ANOVA completamente al azar sirvió para determinar que existe una diferencia significativa entre los dos extractos. Debido a su mejor rendimiento en las pruebas

2.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES

Medina O, Perez M. “Efecto fotoprotector y capacidad antioxidante de una crema a base de fresa (*Fragaria x ananassa duch*) y la uva (*vitis vinífera*)” (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Huancayo. Huancayo, 2021 (29).

El objetivo fue demostrar el efecto fotoprotector y antioxidante de una crema a base de fresa (*Fragaria x ananassa duch*) y la uva (*Vitis vinífera*). Cuyo método fue de tipo cuantitativo, experimental, transversal y prospectivo, los extractos se obtuvieron mediante maceración con etanol, la determinación del FPS y DPPH, se realizó con espectrofotómetro UV VIS. Los resultados del estudio mostraron un FPS para la crema a base de fresa fue de 7,941 (10%), de 12,243 (20%); para uva de 4,723 (10%), de 7,856 (20%) y en combinación de 5,746 (10%) y 10,074 (20%). El efecto antioxidante para la crema a base de fresa fue de 36,20 (10%), de 42,71(20%); para uva de 32,16 (10%), de 38,29 (20%) y en combinación de 40,67 (10%) y 45,56 (20%). Se concluyó que la crema a base de fresa y uva y su combinación presenta efecto fotoprotector y antioxidante a concentraciones del 10% y 20%.

Deza Peña, Marck. “Efecto fotoprotector solar in vitro del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum L.*) y mastuerzo (*Tropaeolum majus L.*)” (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, 2019. (30)

El objetivo del estudio fue determinar el factor de protección solar (FPS) *in vitro* de los aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum L.*) y mastuerzo (*Tropaeolum majus L.*) extraídos mediante destilación por arrastre de vapor de agua. Los resultados mostraron que el proceso no logró obtener aceite esencial a partir del mastuerzo; sin embargo, para la albahaca se consiguió un rendimiento del 0.3% p/p. Este aceite esencial presentó una textura líquida oleosa, color amarillo claro, olor agradable, una densidad de 0.8754 g/mL, pH de 4.1, índice de

refracción de 1.502 y un índice de acidez de 0.0012 mg NaOH/g, mostrando además solubilidad en etanol de 96° GL, solubilidad media en etanol de 70° GL e insolubilidad en alcohol de 50° GL y agua. Finalmente, se concluye que el aceite esencial de albahaca al 0.1% posee potencial fotoprotector al registrar un factor de protección solar *in vitro* de 6.2922.

2.2.3. ANTECEDENTES LOCALES

Colque A G "Evaluación de la capacidad fotoprotectora, determinación del FPS e irritación primaria en piel de ratones de una crema elaborada con el extracto etanólico al 96% de las semillas de achiote (*Bixa orellana*)" (Tesis Pregrado). Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, 2019. (31)

El objetivo de este estudio cuasi-experimental fue evaluar el factor de protección solar (FPS), la irritación dérmica primaria, y la capacidad fotoprotectora y fotorreparadora —mediante la valoración de cambios inflamatorios y morfológicos cutáneos— de una crema elaborada con el extracto etanólico al 96% de semillas de achiote (*Bixa orellana*). Los resultados mostraron un rendimiento del extracto seco del 4.51%, identificándose en el análisis fitoquímico la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, leucoantocianidinas y quinonas. En los ensayos de irritación dérmica primaria en ratones albinos, el extracto disuelto en Tween 80 a concentraciones del 1.0%, 3.0% y 5.0% se clasificó en la categoría de "no irritante". Para las pruebas *in vivo* en ratones hembra de la especie *Mus musculus*, el extracto se incorporó en cremas base; la determinación del FPS arrojó valores de 1.1, 1.2 y 1.4 para las concentraciones del 1.0%, 3.0% y 5.0% respectivamente, frente a un FPS de 42 del patrón comercial (Bahía superblock). A pesar de los bajos valores de FPS, las tres concentraciones lograron disminuir el grado de eritema y edema tras la irradiación UV. Se concluye que la formulación al 1.0% destaca como la opción óptima, ya que exhibió un FPS (1.1) estadísticamente similar a las demás concentraciones, pero con una menor intensidad en el daño morfológico cutáneo (evaluado

mediante hiperqueratosis, espongiosis, úlceras, congestión e hiperplasia), demostrando una mejor respuesta fotorreparadora.

2.3. ESTADO DE LA CUESTIÓN

A nivel mundial en toda Sudamérica la masasamba es nombrada de diferentes maneras: Catuche o catoche, guanábana, corosol, chachiman, huana huana, graviola, chirimoya brasilera. (16)

Hoy en día se viene cultivando en países de clima tropical como Centroamérica; actualmente se vienen cultivando también en el oeste asiático y las Islas Filipinas; gracias a su creciente demanda por sus gustosas cualidades, se ha introducido en muchos países y se considera la más tropical de las chirimoyas. (16)

A nivel nacional, la herbolaria medicinal en la naturaleza es vasta, particularmente en la zona andina y amazónica, tienen caracterización según la época de producción y recolección, en cuanto a las plantas son dependientes de las personas que hacen la recolección de la misma. Al respecto la masasamba cuyo origen todavía es un debate, Las investigaciones de carácter histórico y arqueológico establecen que su cultivo data incluso de la época prehispánica en Perú, evidenciable en las representaciones por ejemplo de la cerámica Chimú, La especie de Annonaceae, fueron mayormente cultivados por los nativos, en valles como las amazonas y otros lugares; actualmente la medicina tradicional hace uso de esta planta para curar ciertos malestares, como digestivos y cataplasmas, en caso de paperas; así mismo sus flores, presenta propiedades favorables para el sistema respiratorio. (32)

A nivel local, la masasamba crece en los valles de Quillabamba y algunos distritos de la Provincia de La Convención, resaltando hoy en día el producto KIMOS SHIRI que esta producido a partir de las hojas de masasamba, guanabana o grabiola. Planta ancestral utilizada para la prevención y curación del cáncer, conocida por la cultura Inca y las naciones amazónicas que forman parte de antiguo Tawantinsuyo y está preparada según receta original con un

tiempo de secado y trituración que permite la mejor conservación de los componentes anticancerígenos que metaboliza el cuerpo humano, en combinación con otra planta que permite asimilar estos componentes naturales. En cuanto al extracto de la masasamba ha cobrado mayor importancia en los últimos años, gracias a sus múltiples aplicaciones en la salud: inflamaciones, dolor, insomnio, mala digestión, etc., también tiene otros usos como la obtención de aceites perfumados y otros. (32)

2.4. BASES TEÓRICAS-CIENTÍFICAS

2.4.1. ASPECTOS DESCRIPTIVOS DE LA ESPECIE VEGETAL

a. Nombre científico

Annona muricata L. pertenece a la familia Annonaceae y se conoce en América como graviola y sursop en inglés. Sus sinónimos son: *Annona bonplandiana* (Kunth), *Annona cearensis* (Barb.Rodr), *Annona macrocarpa* (Wercklé), *Annona muricata* L. (var *Borinquensis* Morales) y *Guanabanus muricatus* (M. Gómez). (32)

b. Nombres populares

Annona muricata L. se conoce con nombres como: masasamba, graviola, carasol, chachaimam, huanahuana. El origen no se conoce con certeza, sin embargo, se cultiva actualmente en América tropical, en el sudeste asiático y Filipinas. (32)

c. Origen

La masasamba (*Annona muricata* L.) es una planta cuyo centro de origen es la parte tropical de Sudamérica, pero que ha sido introducida en muchos países, crece perfectamente entre los 0 a 1000 metros de altitud, es considerada la más tropical de las annonas, porque no soporta el frío. (32)

d. Orden taxonómico

Tabla 1: Orden taxonómico de la especie vegetal

División	:Magnoliophyta
Clase	:Magnoliopsida
Orden	:Magnoliales
Familia	:Annonaceae
Subfamilia	:Annonoideae
Tribu	:Annoneae
Género	:Annona
Especie	: <i>Annona muricata</i> L.

Fuente: Mendoza Méndez O., 2022 (16)

e. Reseña botánica

Planta. - La masasamba es un arbusto, pertenece a la familia anonaceas con una altura que oscila entre cinco y nueve metros, compuesto por madera y hojas tiernas perennes, de 6 a 20 cm de largo y 2 a 7 cm de ancho, oblongo o elíptico y con mal olor. Sus pequeñas flores (4,5 cm de largo) crecen en cualquier parte del tallo o en las ramas. (16)

Se propaga por semilla o por injerto, crece bien a alturas por debajo de los 1000 metros de altitud, en zonas de clima cálido y seco con temperaturas medias de 25 a 28°C, con precipitación anual de más de 1000 mm y una marcada estación seca. (16)

No es exigente en cuanto al terreno, pero es sensible a la asfixia. Existe una gran cantidad de variedades, se clasifican según su sabor en dulce, semidulce y ácido. (16)

La masasamba es un árbol de bajo porte de 3-10 m de altura; copa angosta y abierta, fuste recto de 15 cm de DAP, corteza externa lisa de color pardo grisáceo y corteza interna rosada. (16)

Hoja. - La hoja de la masasamba suele crecer de manera alternada, no cuentan con estipulas, o limbo tiende a crecer de 5 a 18 cm de altura y 27 cm en sus bordes, la punta es un tanto puntiaguda, con procedencia subcunea de color verde brillante, glabra y obscuro, su cara inferior es de un verde un tanto opaco y amarillento con un pedúnculo que llega a medir alrededor 0,8 cm. (16)

Flor. - Las flores se caracterizan por ser bisexuales ya sea por parejas o solas, presentan pequeños tallos que van creciendo en ramas ya antiguas, su cáliz posee tres sépalos discretos, minúsculos y de color verde, a su vez posee 6 pétalos amarillos pálidos, además de tres externos que son voluminosos y tienen una forma de corazón. (16)

Frutos. - Consiste en una especie de baya verde que aparece sin alguna carpa, tiende a medir de 15 a 40 cm de altura y mantiene una forma ovalada, suele alcanzar el taño de un melón y una piña, de cascara delgada y verde que presenta puntillas que sobresalen, la pulpa se caracteriza por ser blanca, carnosa, cremosa, subácida y jugosa. (16)

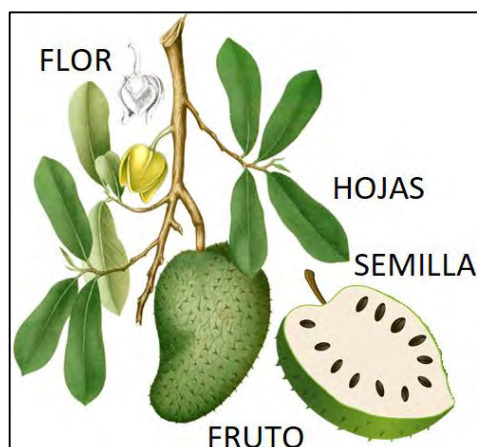
Semillas. - Marrones y de textura lisa, su forma es elipsoidal con un arilo en la parte superior y un hilo delgado de forma circular, la cual se envolviendo al micropilo externamente, su endospermo en su mayoría en blanquecino de estructura dura y aceitosa; al crecer abarca el hueco que presenta la semilla, llegando a ser espinos. (16)

Raíz. - La raíz tiende a estrecharse por medio de un ancla ramificada y fuerte, su sistema radicular es superficial y bastante fibroso. El mayor porcentaje de raíces, se encuentra en los

primeros 30 cm de profundidad y están distribuidas alrededor del tronco del tallo. (16)

Alrededor de 80% de árboles que poseen de siete a ocho 8 años presenta raíces que alcanzan hasta 80 cm de profundidad. (16)

Figura 1: Partes de la masasamba



Fuente: Mendoza Méndez O., 2022 (16)

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL

Tabla 2: Composición química y valor nutricional del fruto en 100 gramos.

Humedad (%)	80.6
Fibra	1.63
Cenizas (%)	0.73
Grasas (%)	0.31
Proteínas (%)	1.22
Almidón (%)	1.62
Vitamina C (%)	0.021
Azucares (Gluc, Fruct(%))	15.63
Potasio (mg)	45.8
Sodio (mg)	23

Magnesio (mg)	10.3
Fósforo (mg)	26
Hierro (mg)	47
Citrulina (proteína) (10)	
Arginina (aminoácido) (10)	
Ácido caproico (lípidos) (10)	
Annonaine (isoquinolina) (10)	
Anoniine (isoquinolina) (10)	
Acimilobine (isoquinolina) (10)	

Fuente: Mendoza Méndez O., 2022 (16)

COMPONENTES QUÍMICOS DE LA SEMILLA

Tabla 3: Contenido y composición de las hojas y semillas

Lactonas
Annomonicina
Annomontacina
Annonacina
Annomuricata
Annonacinona
Javoricina
Contiene además:
Annomuricata (proteína)
Ácido linoleico (lípidos)

Fuente: Mendoza Méndez O., 2022 (16)

COMPONENTES DE LA HOJA

Tabla 4: Contenido y composición de las hojas y semillas

Lactonas	Isoquinolinas	Lípidos
Annohexocina	Annonaine	Ácido gentísico
Annomuricina A, B, C y E	Anoniine	Ácido Lignocérico
Annomutacina	Atherospermine	Ácido Linoleico
Annopentocinas A, B y C	Coriximine	Ácido esteárico
Muricoreacina		
Gigantetronemina		
Murihexocina A y C		
Javoricina		

Fuente: Mendoza Méndez O., 2022 (33)

f. Antecedentes Etnofarmacológicos

El uso de la masasamba (*Annona muricata* L.) varía según la cultura, pero comparte un patrón común en el tratamiento de infecciones, dolores y trastornos metabólicos. (34)

- **América Latina y El Caribe**

Hojas: En países como Perú, Brasil y el Caribe, las infusiones de las hojas son el remedio tradicional por excelencia para estabilizar la presión arterial (antihistamínico/hipotensor) y calmar los nervios (sedante). También se aplican de forma tópica para aliviar dolores reumáticos y la inflamación de la artritis. (34)

Fruto y Semillas: El jugo del fruto se consume para combatir la diarrea y como agente antipirético (para bajar la fiebre). Las semillas pulverizadas se han usado históricamente como un potente astringente y para eliminar piojos o parásitos de la piel. (34)

- **África (Región Subsahariana)**

Corteza y Raíces: En la medicina tradicional de países como Burkina Faso y Camerún, la corteza y las raíces se emplean activamente como remedio contra la disentería y como agentes vermífugos (para expulsar lombrices y parásitos intestinales). (34)

Hojas: Se preparan decocciones para tratar la "debilidad de la sangre" (síntomas relacionados con la anemia crónica tras sufrir malaria) y para reducir la fiebre tifoidea. (34)

- **Asia (Malasia e Indonesia)**

Uso metabólico: En el sudeste asiático, la planta destaca en el tratamiento herbolario de la diabetes mellitus. Las hojas se hierven para preparar té destinados a regular los niveles de glucosa en la sangre. (34)

g. Usos en la medicina tradicional

En cuanto a las hojas pueden ser utilizadas en infusión como antidiarreico y digestivo. Aplicados localmente como cataplasma contra de las inflamaciones, se usaban en caso de paperas. (33)

Por otra parte, en cuanto las flores se tiene la función de pectorales además de febrífugas, para tratar casos de gripe y también en casos de catarro bronquial, tienen particularidades consideradas astringentes, el mismo modo colagogo digestivo que de manera adecuada puede ser de función desparasitante (33).

La etnofarmacología moderna ha clasificado los usos populares de cada parte de la *Annona muricata* L. correlacionándolos con sus compuestos activos detectados (principalmente acetogeninas anonáceas, alcaloides y flavonoides): (35)

Parte de la Planta	Preparación Común	Uso Tradicional Principal	Compuestos Relacionados
Hojas	Infusión / Decocción oral	Diabetes, hipertensión, insomnio, inflamación, tumores.	Flavonoides, alcaloides, acetogeninas.
Corteza	Macerado / Té	Fiebre, parásitos, asma, sedante.	Alcaloides (anonaina, liriodenina).
Raíces	Decocción oral	Antiparasitario, espasmos.	Alcaloides, fenoles.
Fruto	Jugo / Consumo directo	Escorbuto (vitamina C), diarrea, lactogogo (estimula la leche).	Ácidos orgánicos, vitaminas.
Semillas	Polvo / Aceite tópico	Insecticida, piojos, astringente.	Altas concentraciones de acetogeninas.

Fuente: Coria Telles, AV.; Montalvo González, E.; Yahia, E. M.; Oviedo Vázquez. 2016 (35)

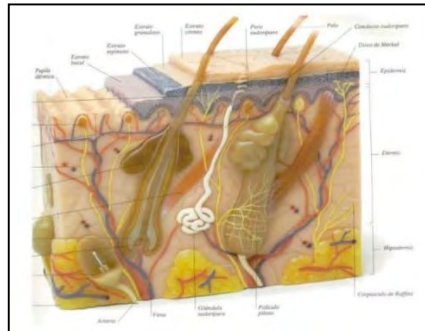
2.4.2. LA PIEL

La piel es el órgano que recubre nuestro cuerpo, forma una barrera protectora frente al ambiente externo, minimiza las pérdidas de agua y temperatura y nos protege de los rayos ultravioleta y agentes infecciosos; consiste en una capa externa, la epidermis, que está formada por tejido epitelial (varias capas de células que están conectadas como ladrillos para formar una pared). (36)

La unidad de la piel madura a partir de la procedencia hacia la parte superior para después tejidos que forman la capa córnea de la piel, que se rellena de queratina y forma una película; esta capa protectora restringe rigurosamente la permeabilidad de la piel y esto minimiza la

pérdida de agua el cual hace que sea difícil el ingreso de distintos productos que se puedan aplicar en la piel. El tejido superficial se pierde gradualmente y son reemplazadas por las células de abajo, un proceso que es todo menos espontáneo, sino que está fuertemente regulado. (36)

Figura 2: Constitución biológica de la piel



Fuente: Buendía Eisman A., 2018 (36)

a. Epidermis

Corresponde a la zona superficial de piel, la cual rodea la totalidad del cuerpo y se compone de dos tipos de tejidos, no detríticas y detríticas. (36)

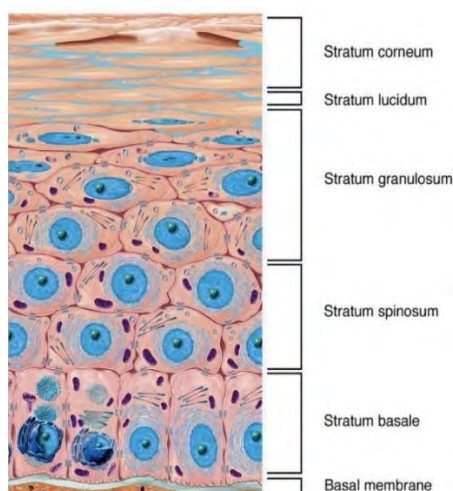
Aquellas consideradas no detríticas se forma de varias capas entre ellas la córnea, que no posee núcleo, lucida, granulosa, espinosa y basal. (36)

Figura 3: Constitución de la epidermis



Fuente: Buendía Eisman A., 2018 (36)

Figura 4: Capas de la epidermis

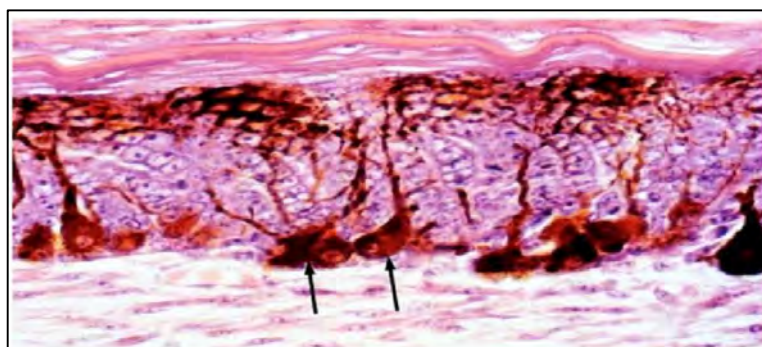


Fuente: Buendía Eisman A., 2018 (36)

La epidermis se cambia constantemente, renovándose completamente entre 3 a 4 semanas, dicho proceso se vuelve más lento con el tiempo, de modo que las células de piel en mayores se ven envejecidas por no poder funcionar de forma correcta. (36)

Las células consideradas no dendríticas tienden a madurar luego de la germinal hacia la capa córnea, se llena completamente de y posteriormente muere, estas células ya muertas son eliminadas hacia el exterior y contienen uno cuantos melanocitos que se sintetizan en melanina (define el tono de piel). (36)

Figura 5: Elaboración histológica de la piel



Fuente: Buendía Eisman A., 2018 (36)

Lo que se muestra en la figura anterior es la elaboración histológica que presenta la piel, en la cual se pueden ver la dermis además de melanocitos (lo que indica la flecha), en la zona basal. (36)

La piel contiene “células de Langerhans” las cuales sirven para cuidarnos de agentes que resulten infecciosos que suelen producir una serie de alteraciones de piel, estas se encuentran en la capa espinosa y suelen ser destruidas por rayos UV, lo que puede producir cáncer de piel. (36)

Contar con una piel cuidada es parte de una serie de procesos que implican la hidratación de la epidermis, logrando evitar imperfecciones, para ello existen una diversidad de tratamientos como el peeling o la microdermoabrasión, lo que ayuda a evitar la piel reseca, se debe evitar el uso de jabones comunes, dado que eliminan la grasa de forma excesiva, además del consumir ácidos grasos en la dieta. (36)

b. Dermis

Ubicada en la zona inferior de la denominada epidermis y se constituye por un tejido de tipo conectivo (posee colágeno, reticulares y elastina), posee un mínimo de células, pero varias matrices extracelulares (grupo de proteínas, proteoglicanos y glicoproteínas). (36)

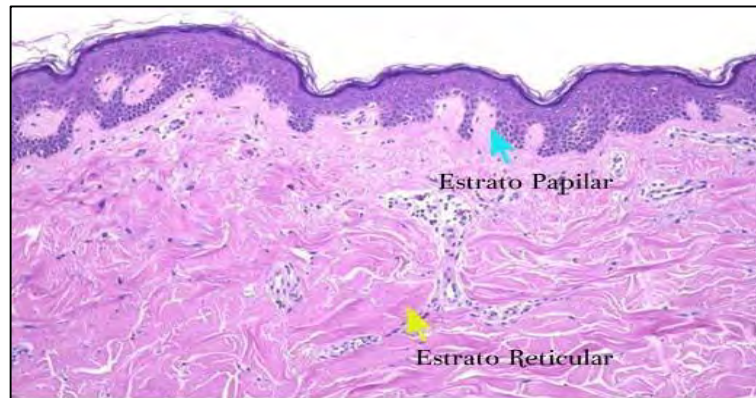
Se divide en dermis papilar y reticular

Papilar: Abunda en vasos sanguíneos y posee varias células.

Reticular: Contiene bastante fibra y es más profunda.

La dermis contiene glándulas sebáceas, sudoríparas, terminaciones nerviosas, algunos vasos sanguíneos, linfáticos y folículos pilosos. (36)

Figura 6: Constitución celular de la dermis



Fuente: Buendía Eisman A., 2018 (36)

El elemento principal a la matriz extracelular es un componente llamado colágeno, esta contiene una proteína fibrosa de 03 subunidades las cuales conforman un cordón que resiste a tracción y brinda flexibilidad. Estas fibras son parte de la epidermis, pues lo mantiene firme y unido al tejido subcutáneo. Existen varios colágenos entre ellos: el tipo I (80%) y el tipo III (entre 10-15%). (36)

c. Hipodermis

Capa gruesa interna, que se constituye de tejidos conectivos, y cuyos espacios están rellenos de células que almacenan grasas (adipocitos). (36)

2.4.3. Radiaciones solares

“La radiación solar terrestre está formada por longitudes de onda de energía electromagnética no ionizante, cuyo espectro de irradiación (potencia radiante por unidad de superficie) es el siguiente”. (37)

a. Clasificación de Espectro de irradiación solar

Radiación infrarroja:	3000 a 760 nm
Radiación visible:	7600 a 400 nm
Radiaciones UVAI:	400 a 340 nm

Radiaciones UVAII:	340 a 315 nm
Radiaciones UVB:	315 a 280 nm
Radiaciones UVC:	280 a 100 nm

Fuente: Gallardo V., 2000 (37)

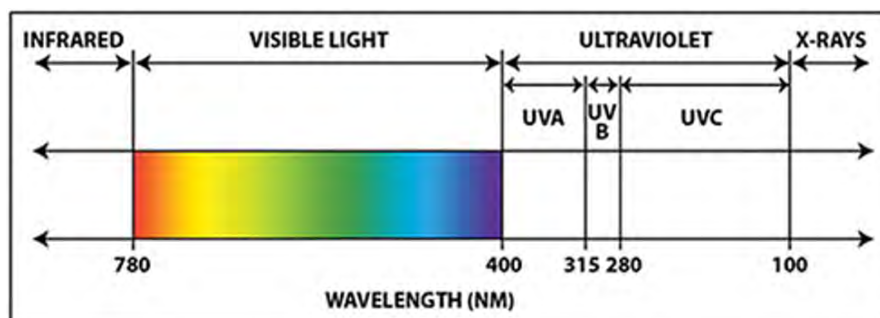
b. Clasificación de Espectro fotobiológico integrado por

Radiaciones visibles
Radiaciones UVA I
Radiaciones UVA II
Radiaciones UVB

Fuente: Gallardo V., 2000 (37)

Estas radiaciones solares son las que intervienen en las reacciones cutáneas.

Figura 7: Espectro de irradiación solar



Fuente: Gallardo V., 2000 (37)

La radiación producida por el sol se compone de 5% de UV y 95% de radiación infrarroja visible, y es la radiación de tipo UVA la que constituye el 98% de rayos UV. (37)

La cantidad de UVB en la radiación solar disminuye en gran medida entre verano e invierno, mientras los rayos UVA se minimizan aún más; cabe considerar que los rayos UVA no pueden ser retenidos por las ventanas de los automóviles; en caso de rayos UVB si son retenidos en un 90%. Los rayos UVA presentan gran capacidad de penetración incluyendo en el agua, por lo que a pesar que los UVB poseen una energía mayor, esta

no llega a penetrar la piel en gran medida, pero son los UVA los que poseen una longitud larga de mínima energía y de gran impacto a la piel, durante todo el año. (37)

Aquellos rayos que generan quemaduras ($< 315\text{nm}$) suelen ser filtrados gracias a las ventanas, y significativamente por la niebla y el humo; gran parte de la radiación suele atravesar las nubes lo que genera quemaduras, lo mismo pasa con la niebla y a 30 cm en agua clara, lo que provoca graves lesiones, a quienes no se protegen, además la arena, nieve y cielos brillantes incrementan esta exposición. (37)

Otra de las grandes razones de gran exposición a rayos UVA y UVB es el daño al ozono el cual filtra dichos rayos, este está siendo destruido por ciertos clorofluorocarbonos artificiales (aerosoles o refrigerantes). (37)

Existen varias fuentes que generan luz de manera artificial, estas emiten fuertes cantidades de rayos UV, entre ellos están los fluorescentes, máquinas de revisión de billetes y fotocopiadoras, además de una variedad de actividades que nos exponen continuamente a radiación como obras de construcción, deportes al aire libre, entre otras. (37)

Radiación UVC

Son ondas de corta longitud y extremadamente peligrosos, sin embargo, no penetran las principales capas de la atmósfera pues son retenidos y absorbidos allí. (37)

Radiación UVB

Son ondas de media longitud, estas logran atravesar las capas atmosféricas y se bloquean por gracias al ozono y las nubes moderadamente; el momento de mayor intensidad de estos rayos es de 10 a.m. a 4 p.m.; estos rayos penetran la capa externa de la piel generando ampollas y quemaduras, y son los causantes de

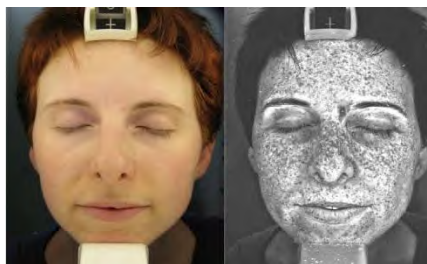
cáncer de piel y son los que implican más peligro para el cuerpo.
(37)

- Activa el bronceado.
- Engrosa el estrato córneo.
- Sintetiza vitamina D.
- Enrojece la piel y el eritema actínico.
- Puede provocar alteraciones del sistema inmunitario.
- Causante de la foto carcinogénesis

Radiación UVA

Rayos de ondas de longitud larga que penetra toda capa de la atmósfera las cuales se filtran de forma moderada por el ozono, estos rayos penetran profundamente la piel, lo que activa los niveles de melanina generando una piel bronceada, este tipo de radiación destruye el colágeno el cual hace elástico la piel provocando un envejecimiento de forma prematura, además de generar lesiones y manchas precancerosas, este tipo de rayos no pueden ser bloqueados por nubes y se encuentran presentes todo el día. (37)

Figura 8: Aspecto de los daños por radiación UVA



Fuente: Gallardo V., 2000 (37)

Rayos IR (37)

- Tiene acción calórica.
- Responsable del enrojecimiento de la piel.
- Aumenta la temperatura.
- Mejora los efectos negativos de la radiación UV.
- Es responsable de la pérdida de agua de la piel.

DATOS DE PERÚ SOBRE LA INCIDENCIA DE RAYOS SOLARES

El Perú registra algunos de los índices de radiación UV más extremos del mundo, especialmente en la región andina y el sur (incluyendo Cusco). Esta intensa incidencia solar genera alteraciones cutáneas graves y acumulativas, que van desde quemaduras solares y manchas, hasta el temido cáncer de piel. (38)

El territorio peruano experimenta niveles de radiación ultravioleta (IUV) que frecuentemente oscilan entre "Muy Altos" y "Extremadamente Altos" (índices de 8 a más de 15) según el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI). Las causas principales de esta alta incidencia son su cercanía a la línea ecuatorial y la gran altitud de la cordillera andina, lo que reduce la barrera de la atmósfera y permite que los rayos incidan de forma casi perpendicular. (39)

El Perú se encuentra entre los países con mayores niveles de radiación ultravioleta (UV) a nivel mundial, según el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (Senamhi). Esta exposición sostenida incrementa el daño acumulativo en la piel y eleva el riesgo de desarrollar cáncer cutáneo si no se adoptan medidas de protección adecuadas. De acuerdo con proyecciones de la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC), los casos de melanoma en Latinoamérica podrían aumentar cerca de 67,6% hacia el año 2045. (40)

En el Perú, cada año fallecen aproximadamente unas 728 personas por cáncer de piel. Esto en gran medida está asociado a la exposición al sol en horarios inadecuados, siendo este efecto acumulativo a lo largo de los años. De acuerdo a cifras del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades en el periodo del 2021 al 2023, se registraron 3525 casos de cáncer de piel. Al respecto, Víctor Palacios Cabrejos, director de la Dirección de Prevención y Control de Cáncer (DPCAN), informó que el cáncer de piel puede aparecer en cualquier parte del cuerpo, pero es más común en zonas que están expuestas al sol, como la cara, el cuello, las manos y los brazos. En la actualidad empieza a manifestarse en adultos o adultos mayores que se expusieron indebidamente al sol durante su infancia o juventud. Por ello, explicó que la primera norma es no exponernos al sol, sobre todo en horas entre las 10 a. m. y 3 p. m. y si lo hacemos debemos colocarnos un bloqueador solar con filtro 50 SPF a más en todas las áreas que son expuestas al sol. Los niños pueden estar expuestos hasta tres veces más a la radiación UV que un adulto, debido a que pasan más tiempo al aire libre y su piel es más sensible. Cáncer de piel: Radiación solar podría elevar en 60% los casos en el Perú. (41)

2.4.4. Fototipo

Toda persona posee un número determinado de melanocitos, lo cual define el tono de melanina (sea clara u oscura), el bronceado se clasifica acorde a la escala elaborada de Fitzpatrick, esta menciona a 6 tipos. (42)

	ACCIÓN DEL SOL SOBRE LA PIEL (SIN PROTECCIÓN)	CARACTERÍSTICAS PIGMENTALES
FOTOTIPO I	Presenta quemaduras solares intensas, casi nunca pigmentación y escamas de larga duración	Personas de piel muy clara, ojos azules, pelo rojo y con pecas en la piel, la piel generalmente no expuesta al sol y es de color blanco lechoso.
FOTOTIPO II	Se quema fácil e intensamente, se pigmenta levemente y descansa considerablemente	Personas de piel clara, cabello rubio, ojos azules y pecas, incluida la piel, que no suele estar expuesta al sol, es blanca
FOTOTIPO III	Se quema moderadamente y está correctamente pigmentado.	Razas caucásicas (europeas) de piel blanca que no se exponen regularmente al sol.
FOTOTIPO IV	Se quema moderadamente o poco y se pigmenta con bastante facilidad e inmediatamente después de la exposición al sol	Personas de piel morena o ligeramente morena, cabello y ojos oscuros (mediterráneo, mongol, oriental)
FOTOTIPO V	Rara vez se quema, se pigmenta fácil e intensamente (siempre ha una reacción de pigmentación inmediata)	Individuos de piel morena (nativos americanos, hindúes, árabes e hispanos)
FOTOTIPO VI	Nunca se quema ni se pigmenta intensamente (siempre tiene una reacción de pigmentación inmediata)	Razas negras.

Fuente: Oakley HA. 2012, (42)

Cabe tomar en cuenta el aspecto genético al momento de analizar el tono de piel, pueda que se tenga gradaciones bajas o bronceados intensos, dicha información será de utilidad para aplicar una serie de tratamientos basados en técnicas láser o peelings en caso de “presentar hiperpigmentación postinflamatoria, en tonos de piel oscuras” (Fitzpatrick 4-6, especialmente 5 y 6). (42)

Fototipo	Tipo de piel	Reacción solar	Ejemplo de piel
Fototipo 1	Piel muy clara, casi albinos. Común las pecas. Cabellos rubios a blancos	Eritema, gran descamación y no se pigmentan	
Fototipo 2	Piel muy pálida, común en personas con cabellos peli rojos y ojos claros	Generalmente se quema y poco se broncea o pigmenta. Hay descamación	
Fototipo 3	Piel blanca, sensible y delicada. Común en personas con cabellos rubios o claros y ojos castaños	Al igual que el fototipo II, apenas se broncean, hay descamación	
Fototipo 4	Piel intermedia, común en personas con cabellos castaños y ojos oscuros	Piel que se enrojece primero y se broncea después de su exposición al sol	
Fototipo 5	Piel oscura o morena, común en personas de cabellos oscuros	Piel que forma eritema imperceptible, se pigmentan de forma fácil y ligera	
Fototipo 6	Piel más oscura, común en personas con cabellos afrodescendientes	Piel que forma eritema imperceptible, se pigmentan de forma fácil y ligera	

Fuente: Oakley HA. 2012, (42)

2.4.5. Efectos biológicos y patológicos de las radiaciones (43)

- Radiación UVA
- Produce pigmentación directa
- Tiene poca fuerza eritematosa
- Provoca alteración del ADN.
- Tiende a dañar el colágeno, y con ella, la elastina, generando una piel roja.
- Causante de la foto-carcinogénesis.
- Causante de ciertas reacciones fotoalérgicas y fototóxicas.
- Genera ciertas alteraciones en el sistema inmune

Actualmente, con la destrucción de la capa de ozono, que está a 40 km de la superficie de la tierra, la transmisión de la radiación solar es cada vez mayor. La cantidad y calidad de radiación UV se vincula a diversos aspectos, como el horario, la altitud,

estación, y latitud de la zona; su máximo impacto se logró identificar de 10 am a 16:00 pm. (43)

Se sabe que el ozono no presenta una capa uniforme, en altitudes mayores su vuelve cada vez más delgada, ello implica un incremento de irradiación de 8% y 10% por 1000 m de altitud, además que por grado de latitud esa se va alejando, por otro lado, los UVB incrementan alrededor de 3%, acorde a la estación y de la superficie en la que no se encuentre como hielo, nieve, hormigón, vidrio y playas, la cual refleja rayos UV en alrededor del 90%. Este tipo de radiación llega a penetrar alrededor de 60 cm bajo el agua, los UVA no pueden ser filtrados por los vidrios, de modo que se cree que alrededor de 50 del espectro se recibe donde cae sombra. (43)

Ciertamente el ozono es como una especie de agente protector de toda la estratósfera, gracias a él se puede proteger contra la exposición al sol porque los rayos no pueden penetrarla, este tipo de profundidad va acorde a la longitud que posee la onda. (43)

Exponer la piel a rayos UV conlleva a tener una serie de fenómenos biológicos, los cuales modifican el comportamiento de la inmunidad, estimulando las células y describiendo la Langerhans, que en el proceso de migración responden a los linfocitos T, en específico la TH2, lo que incrementa la capacidad de un adecuado sistema inmune, que darán respuesta a antígenos de tipo microbianos y favorece al incremento celular, los rayos UV tienden a volverse en cancerígenas lo que puede ser causa de un efecto inmunomodulador lo que puede conllevar a provocar neoplasias. (44)

El cromóforo es una molécula puede absorber ciertas hiervas que se exponen a la radiación, en caso esté en un nivel muy excitado al exponerse a rayos ultravioletas; son este tipo de reacciones que modifican el cromóforo, lo que provoca fotosensibilidad; de modo

que las células de la piel reaccionan generando una eritema, edema o hiperpigmentación, generando un bronceado de larga duración y provocando que tanto la dermis como la epidermis lleguen a engrosarse, ello ayuda a sintetizar la vitamina D, pero en caso de una exposición continua, puede generar daños como el envejecimiento o hasta el cáncer de piel. (43)

Un eritema se origina por efecto de los rayos UVB y de algún modo por efecto de los UVA. Un eritema producido por UVB tiende a llegar su punto alto de 6 y 12 horas posterior a exponerse al sol, sin embargo, exponerse a cantidades de UVA altas provoca eritemas de manera inmediata; el rayo UVA suele oscurecer el tono de piel además de funcionar bifásicamente, este oscurecimiento ocurre en las dos primeras horas de exposición a causa de una melanina que empieza a oxidarse; posterior al oscurecimiento continuo del pigmento luego de 72 h, provocado por el incremento de la actividad de tirosinasa y la generación de melanina nueva, incrementando la cantidad de melanocitos. Los rayos UV generan una radiación que daña al ADN por medio de un estrés oxidativo; además el oxígeno considerado reactivo reacciona junto a los fotosensibilizadores que dependen de ella ocasionando un daño al ADN indirectamente, se incrementa la sintetización de la melanina y de forma directa daña a las células que son parte del tejido dérmico conectivo, incrementado la acción mitótica, que llega a durar semanas. (43)

Estar expuesto constantemente a la luz del sol no eritematosa daña al ADN que en sus zonas heterocíclicas y bases aromáticas llega a absorber de manera fuerte los rayos UV formando dímeros de pirimidinas, los cuales son una especie de foto productos que ocasionan un tipo de hipersensibilidad que se caracteriza por ser retardada, asimismo genera especies que son reactivas al oxígeno, oxidación de proteínas y lípidos que producen metaloproteinasas las cuales degradan al colágeno así como a la

elastina provocando una despigmentación, desempeñando un rol relevante en aparición de enfermedades de fotosensibilidad, llegando a generar envejecimiento, lentigos y neoplasias malignas o benignas. (45)

Tabla 5: Efectos nocivos de la radiación solar

	Efectos agudos	Efectos crónicos
Piel	Eritema (enrojecimiento)	Cáncer de piel
	Quemaduras	Foto envejecimiento
Ojos	Foto queratitis	Cataratas
	Foto conjuntivitis	Cáncer de conjuntiva
Sistema inmunitario	Respuesta inmunitaria general reducida	
	Mayor riesgo de infección y reacciones alérgicas	
	Reducción de la eficacia de la vacuna	

Fuente: Merin KA.,2017 (45)

a. Efectos agudos

Eritema: Se denomina al enrojecimiento de la piel que tiene como síntomas la sensación de picor, calor; que también presentan inflamación y por ende se tiene que afectación por la acción de afectar a los vasos sanguíneos que al final hace que se presente vasodilatación, esto puede ser causado dentro de 6 horas y llegar al punto más alto en las 25 horas, las que pueden llegar a desaparecer en varios días mediante un proceso denominado descamación. (45)

Quemaduras: Este tipo de afecciones se presentan más frecuentemente en tiempos de vacaciones, se trata del cambio de

color rosado o denominado eritema, en un color rojo vivo o también la presencia de ampollas, estas últimas son parte de lo que se denominan como quemaduras, situaciones causadas por la alta exposición y tiempo prolongado sin la misma protección a la radiación solar; más allá de los cambios visibles se puede presentar molestias; al final, estas quemaduras pueden causar el melanoma; es decir, el cáncer a la piel, situación bastante frecuente en los últimos años. (45)

Acerca de las edades, se entiende que es más peligroso sufrir de estos malestares antes de los 15 años, por eso la importancia de la prevención en niños y jóvenes de estas edades, donde ciertas partes del cuerpo son más sensibles que otras; en algunas zonas se tiene que utilizar protectores especiales, como por ejemplo los bálsamos para labios, gafas para los ojos, con protección de rayos UVA; es importante diferenciar las afectaciones naturales sobre la capa externa de la piel, por lo que sin pigmentación la piel sería de color pálido blanco; además, que de manera natural se presentan en variaciones del color rosa; la melanina es el componente que forma parte base de la pigmentación natural de la piel, que al final tiene un color marrón oscuro además de ser un producto de los melanocitos, que hace parte de la epidermis o la capa más alta de la piel. (45)

En cuanto a la exposición de manera prolongada a la radiación solar, sin tener en cuenta medidas de prevención, llega a ocasionar las llamadas manchas solares, que solo son parte de los efectos de cambios externos de los melanocitos; para no llegar a estos niveles se debe tener el cuidado necesario a la exposición del calor. (45)

Fotoqueratitis: Esta es la denominación de las quemaduras causadas por el sol en zonas como los ojos, esta afección causa dolor además de incomodidad, además hace que los ojos tomen un color rojo y la sensación de que algo se tiene dentro de los

ojos; por lo general es una afección temporal y rara vez causa daño ocular permanente. (45)

Fotoconjuntividad: Es una inflamación de la conjuntiva o de la córnea. (45)

b. Efectos crónicos

Cáncer de la piel: Incluye un grupo de enfermedades neoplásicas con diagnósticos, tratamientos y pronósticos muy diferentes; el factor común es la zona atómica de la piel donde aparece. (43)

El factor principal que influye en la formación de cáncer de piel son en su mayoría los rayos UV que procede de la luz del sol, el cual provoca una serie de modificaciones en el ADN que se van acumulando en el transcurso del tiempo; el cáncer generado en la piel es más común en la población de piel blanca. Existen tres principales tipos de cáncer a la piel: el carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas (con posibilidad de recuperación) y el melanoma maligno. Toda persona que se expone a situaciones de riesgo debe tomar en cuenta heridas que se le produzcan o irritaciones que o pueden cicatrizar: marcas de nacimiento y otros lunares que se agrandan o cambian de color. (43)

El cáncer de piel provocado por el no melanoma puede identificarse por una serie de marcas que se reconocen sobre la piel, lo cual se advierte en un tipo de nueva masa, bulto o parche que va creciendo (en algunos meses o en los dos primeros años) o en forma de úlceras que no logran cicatrizar por alrededor 3 meses. (43)

c. Tipos de cáncer de piel

Carcinoma basocelular (Basalioma): Es un tipo de tumor cutáneo maligno llamado así porque se origina a partir de células ubicadas en la superficie germinal basal (capa final de la epidermis); este denota un tipo de masa, que se puede dar en ambos géneros; sin embargo, suele presentarse en mayor medida en las mujeres y en adultos de más de 50 años, inicialmente es insidioso y se caracteriza por que empiezan a aparecer más de un nódulo cuyo volumen va aumentando lentamente. (46)

El basalioma no hace metástasis, pero puede ser muy peligroso si penetra en capas más profundas de la piel provocando compresión de órganos importantes ubicadas en la piel de la zona del rostro, su malignidad se extiende y se localizada por toda la periferia, llegando a cicatrizar en la zona central, en caso de manifestarse en el rostro, la persona presenta complicaciones estéticas, las cuales pueden llegar solucionarse con intervención quirúrgica. (46)

Carcinoma de células escamosas: El tipo de cáncer se da en la zona del epitelio escamoso y presenta la sintomatología usual del cáncer de piel. (46)

Melanoma maligno: Es un tumor maligno de origen melanocítico, con origen en la cresta neural que afecta la piel en un 95%, ojos y mucosas en un 5%, provocando neoformaciones pigmentadas que dan lugar a hematógenas y metástasis linfáticas que pueden provocar una muerte prematura, aunque la mortalidad se reduce gracias al diagnóstico temprano y las modalidades terapéuticas mejoradas. Estos tumores aparecen principalmente en la capa de la piel, pero también pueden aparecer en la mucosa, la capa de pigmento del globo ocular, etc. (47)

El sistema simplificado de estadificación que es de utilidad al momento de elegir tratamientos y de conocer los posibles

resultados da a conocer la situación de los ganglios linfáticos por medio de exámenes microscópicos de aquellos ganglios linfáticos que fueron extirpados por medio de una cirugía, de no realizarse estos exámenes los pacientes en estadio clínico II pueden llegar al estadio III afectando en gran medida a los ganglios linfáticos. (47)

d. Causas del cáncer de piel (46)

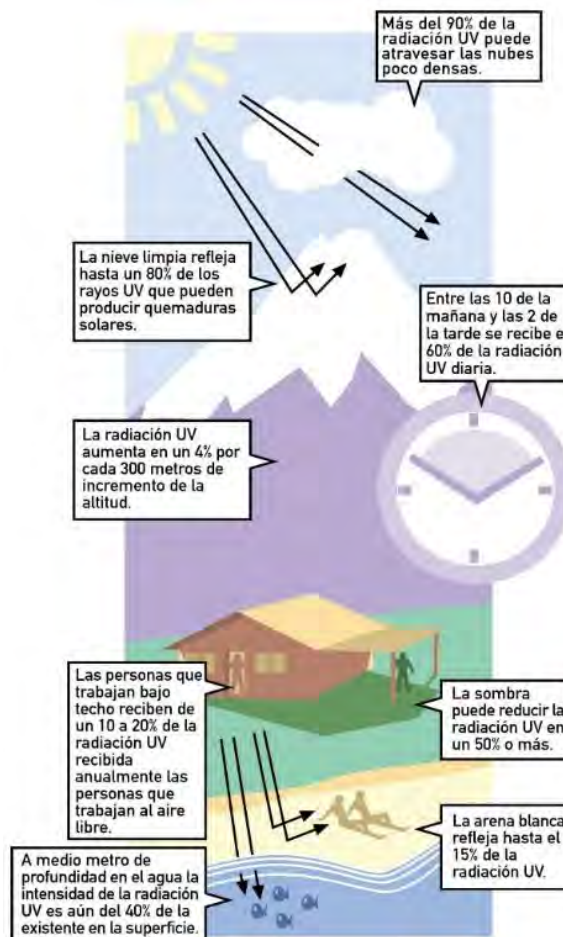
- Exposición prolongada a los rayos UV por la acción del sol.
- Cabinas para bronceado y lámparas las cuales son fuentes de radiación UV y que son un alto riesgo que genera cáncer no melanoma de la piel.
- Este continuamente expuesto a determinados químicos como el alquitrán, arsénico, carbón, parafina y determinados aceites.
- Exposición a radiaciones a partir de la radioterapia.
- Inflamación o lesión cutánea grave o prolongada, como quemaduras graves, zonas de piel donde hubo alguna infección ósea que resultó grave, además de daños cutáneos a causa de alguna enfermedad inflamatoria.
- Tratamientos para la psoriasis en base a rayos UV y psoralenos.
- El xeroderma pigmentoso, es una enfermedad heredada, donde la piel no puede reparar el daño que causa la exposición del sol al ADN, quienes la padecen desarrollan una serie de tumores cancerosos de piel incluso desde su niñez.

- El “síndrome del nevus de células basales”, consiste en una enfermedad hereditaria rara, que ocasiona tumores múltiples cancerosos de células basales, sin embargo, algunos casos no son heredados.

2.4.6. Niveles de radiación UV

El nivel de radiación ultravioleta que llega a la superficie de la tierra puede variar dependiendo de muchos factores. (48)

Figura 9: Factores de riesgo de los rayos UV



Fuente: Duro Mota E.,2003 (48)

Cualquiera de los siguientes factores puede aumentar el riesgo de sobreexposición a los rayos UV y sus efectos sobre la salud:

a. El ozono estratosférico

La capa de ozono absorbe la mayor parte de la radiación ultravioleta, pero el grado de absorción varía según la época del año y los cambios climáticos; además, esta absorción ha disminuido debido a la reducción de la capa de ozono debido a las emisiones industriales que agotan la capa de ozono. (48)

b. La hora del día

Es al mediodía cuando el sol alcanza su punto máximo y es en este momento donde la distancia recorrida por sus rayos en la atmósfera es corta y los rayos de UVB son los más altos; en las primeras horas de la mañana y finalizado la tarde, el rayo del sol atraviesa en ángulo la atmósfera minimizando su intensidad. (48)

c. Temporada

La incidencia y ángulo de luz solar y los rayos UV cambian acorde a la estación, la cual se intensifica cuando es verano. (48)

d. Anchura o latitud

La potencia de los rayos del sol es mayor en el ecuador, porque el sol atraviesa la parte más alta del cielo y la distancia de los rayos ultravioleta dentro de la atmósfera es más corta; además, el espesor de la capa de ozono en los trópicos es más delgado que en latitudes altas y medias, lo que hace que el ozono absorba menos radiación al momento de que esta atraviese la atmósfera. En caso de las latitudes altas, el sol se encuentra más bajo, de modo que los rayos UV recorren mayores distancias por medio de las capas atmosféricas en las cuales se encuentra más ozono, de modo que, la será menor tales latitudes. (48)

e. Altitud

La intensidad de la radiación ultravioleta aumenta con la altitud porque hay menos atmósfera para absorber los rayos dañinos del sol, por lo tanto, el riesgo de sobreexposición excesiva al sol aumenta con la altitud. (48)

f. Estado del tiempo

Se sabe que las nubes minimizan la radiación UV pero no las eliminan completamente, porque ello dependerá de su grosor pues en días nublados aún existe un riesgo de padecer los efectos dañinos del sol (incrementando el riesgo de contraer cáncer de piel o algún tipo de daños en los ojos con el tiempo) a pesar de no haber mucho calor. (48)

g. Luz reflectante

En ciertas superficies tales como la arena, nieve, hierba o agua se puede reflejar gran parte de radiación UV, ello por la reflexión o intensidad de radiación, la cual se ve incrementada en zonas de sombra. (48)

2.4.7. Índice UV solar mundial

Mide la intensidad de la misma radiación proveniente de la luz solar que se deposita en la superficie terrestre, de allí que el índice es expresado como valor mayor al valor de cero, mientras más alto, son mayores las posibilidades de contraer lesiones cutáneas y oculares ocasionadas por este fenómeno. (43)

¿Por qué es necesario el IUV? Se observa relación causal entre el incremento de casos de cáncer con los tonos claros de piel a nivel global, además de una excesiva exposición a la radiación UV del sol y otras fuentes que producen radiación UV de forma artificial. (43)

Exponerse excesivamente a rayos UV implica un peligro, por lo que es necesario que toda persona pueda protegerse, si las personas se exponen menos al sol, se puede minimizar todo efecto que resulte perjudicial a la salud y evitar los costos que implique un tratamiento. (43)

2.4.8. Fotoprotección

Es un proceso natural o artificial contra los posibles efectos negativos de la luz ultravioleta y estas son: La intrínseca y exógena. (48)

a. La intrínseca

Para poder protegerse de ciertas radiaciones que proceden del exterior, la piel genera una serie de defensas de forma intrínseca, haciendo más gruesa a la dermis y epidermis y sintetiza la melanina (pigmento que causa el efecto de bronceado). Todo mecanismo será acorde al fototipo, que resultan insuficientes al tratar de evitar la fotocarcinogénesis y el fotoenvejecimiento. (48)

b. La exógena

La fotoprotección de forma exógena se basa en tomar toda medida que ayude a minimizar los efectos negativos de la radiación solar sobre la piel (ropa, parasoles, lentes de sol, evitar exposición, bloqueador solar, etc. (48)

2.4.9. Nuevos retos de fotoprotección

La finalidad de la fotoprotección es prevenir el daño que ocasiona la exposición a la radiación solar en nuestra piel, que no se limita al eritema solar, sino que incluye también efectos crónicos muchos más graves en los que la radiación UVA y UVB juegan un papel muy importante. Hoy en día se habla de fotoprotección integral para hacer referencia a protegerse antes, durante y después de la exposición solar. (49)

La industria cosmético-farmacéutica ofrece en la actualidad una amplia gama de productos orientados a evitar los efectos nocivos de la exposición a los rayos ultravioleta (fotoprotección); hoy en día existen diferentes tipos de filtros solares; los filtros físicos, que reflejan y difunden la radiación solar, son los más indicados para niños menores de 3 años, siendo los más comunes el dióxido de titanio y el óxido de zinc. (50)

Se cuenta con filtros químicos los cuales se encargan de absorber energía de luz fotónica de ciertas ondas, evitando el paso de la radiación, estos filtros contienen PABA (ácido paminobenzoico) y derivados, antranilatos, cinamatos, bencilideno alcanfor, benzofenonas, salicilatos y dibenzoilmetano. (50)

Del mismo modo se tiene a los biofiltros, los cuales son un tipo de antioxidantes que ayudan a prevenir radicales libres además de fortalecer el sistema inmune que posee la piel, previniendo edemas, fotocarcinogénesis, eritemas e inmunosupresión; para ello se hace uso de vitaminas E y A que se usan en forma de palmitato o acetato. (50)

Hay una diversidad de sustancias de uso tópico para poder evitar los efectos producidos por el sol, pero, estas solo se estudiaron in vitro y en ciertos animales, de modo que es necesario ensayos en humanos que puedan realmente demostrar sus pros y contras, sobre todo en aquellas que hacen uso de la sílice para minimizar el contacto de ingredientes que resultan activos en la piel, disminuyendo posibles irritaciones o reacciones alérgicas. (50)

También se considera a la microencapsulación para solucionar la incompatibilidad que hay entre algunos ingredientes; incluyendo aquellos que no logran absorber los rayos UV, por lo que el protector solar resulta más eficaz al incrementar su FPS y dispersarlo, minimizando la elasticidad, además evitar el cáncer de piel. No solo los bloqueadores brindan fotoprotección sino también el consumo de nicotinamida, que ayuda a bloquear la radiación, dado que inhibe la

elaboración de ATP provocando modificaciones energéticas que limita la inmunidad del paciente, la reparación del ADN y de la piel. (50)

a. Fotoprotector

Se conoce como filtro solar a ciertos productos en base a cremas, leches, lociones, entre otros, que se usan encima de la piel para que esta sea protegida por los rayos UVA o UVB y suelen estar compuestos de sustancias conocidas como filtros que ayudan a detener cualquier acción de los rayos. (49)

b. Clasificación

Físicos: Poseen propiedad de impermeabilidad de radiación solar y su acción es de reflexión, consiste en un espectro amplio que ayuda a controlar los UV visibles, así como IR. Por su tamaño grande los filtros resultan opacos lo que hace posible que otorguen protección estando incluso a luz visible, siendo muy útiles en fotodermatosis para hacer frente al lupus eritematoso entre otros; pero a pesar de tener una sensación por la máscara de efecto mínimo y el desarrollo de puntos negros, se ha ido mejorando estéticamente, por lo que cuentan con partículas micronizadas y ultrafinas, haciéndolos aceptables a la vista, además de ser estable químicamente y eficaz en ondas cortas. (49)

Hoy en día hay dos tipos de filtros homologados inorgánicos: óxido de zinc y dióxido de titanio, estas moléculas demostraron ser estables en plena luz y no generar sensibilización o alergia alguna, esas dos tienen la capacidad de proteger ondas de hasta 380 nm (UVA), por otro lado, varios protectores expendidos en el mercado cuentan con filtros inorgánicos de formas nanoparticuladas o micronizadas que suelen tener un tamaño de 100 nm. (49)

Tabla 6: Filtros homologados inorgánicos

Filtros físicos	Radiación a la que actúan
Dióxido de titanio	UVA-UVB-Visible – IR
Óxido de zinc	UVA-UVB-Visible – IR
Mica	UVA-UVB-Visible – IR

Fuente: Gabros S.,2024 (49)

- Óxido de zinc (ZnO): Consisten en partículas de alrededor de 60 nm, su protección de los UV es buena, también protege de los UVA I, se cree que dado al tamaño de tales macropartículas, estas llegan a absorberse dentro de la dermis y hacer contacto con el tejido de piel; pero estudios in vivo e in vitro confirma que se mantienen en área córnea, de modo que resulta seguro aquellos filtros considerados inorgánicos. (49)
- Dióxido de Titanio (TiO₂): Sustancia usada en polvos, cremas o ungüentos como protector de la piel frente a los rayos solares. En su formulación microfina, cada vez más utilizada, corresponde a un polvo color blanco preparado en suspensión con concentraciones del 1% y 10%, esto puede ser combinado junto a otro tipo de sustancias que ayuden a absorber los UV. La actual formula se usa en concentraciones del 25%, así mismo, esta sustancia cuenta con partículas de 120 nm resultando eficaces al proteger de rayos UVB y UVA II. (49)

Efectos adversos del dióxido de titanio (TiO₂): Esta sustancia es componente de todo protector solar, tintes dentales, medicamentos, colorantes alimentarios, y su uso descuidado

provoca diversos efectos no deseados, aunque sus propiedades poseen como: compatibilidad con mucosas y piel, no tóxico de gran dispersabilidad en soluciones orgánicas, además se encuentra en varios fármacos que pueden afectar de forma negativa a la fertilidad, conlleva al aborto, impacta al ADN, incrementando las probabilidades de cáncer. (49)

Biológicos: Se trata de antioxidantes que previenen la formación de radicales libres, aumentando así el sistema inmunológico. También llamados inmunoprotectores solares, son sustancias que estimulan al sistema inmune que posee la piel para protegerse de rayos UV, aquellos filtros solares orgánicos contribuyen con la protección de piel sin necesidad de aplicar filtro solar, ello implica que es capaz de absorber o reflejar dicha luz, de modo que complementan lo bloqueadores. Como ejemplo de este tipo de activo se obtiene a partir de la soja, demostrado su capacidad al momento de activar proteínas que suprimen tumores p14ARF y p53, además activa procesos reparadores de ADN, además reduce la elastasa, minimizando y haciendo más lento el proceso de foto envejecimiento de piel. (48)

Tabla 7: Inmunoprotectores solares

Filtros Biológicos	Acción
Tocofenil	Antioxidante: Bloquea la formación de radicales libres
Acetato	Antioxidante: Bloquea la formación de radicales libres
Retinil Palmitato	Antioxidante: Bloquea la formación de radicales libres
Pantenol	
Ascórbico Ácido	Antioxidante: Bloquea la formación de radicales libres
Zinc	Antioxidante: Bloquea la formación de radicales libres
Magnesio	Antioxidante: Bloquea la formación de radicales libres

Fuente: Durc Mota E.,2003 (48)

Organominerales: Su descubrimiento es reciente, este contiene filtros insolubles y químicos; hace uso de filtros químicos y físicos evitando penetrar la piel; así mismo, actúa por medio de un sistema triple de filtros: por dispersión, reflexión y absorción. (48)

Tabla 8: Filtros organominerales

Filtros organominerales	Radiación sobre la que actúan
Metileno Bsi-benzotriazolil	
Tetrametibutil	UVA
Butifenol	UVB

Fuente: Durc Mota E.,2003 (48)

Químicos: Son productos químicos que ayudan a absorber onda de espectro UBA o UVB transformándolas evitando que la radiación afecte las estructuras de la piel. Actualmente se están estudiando nuevas moléculas inofensivas con capacidad para filtrar los rayos UVA, que provocan efectos fototóxicos y reacciones fotoalérgicas; los bloqueadores con filtros UVB incrementa el estar expuesto a rayos UVA, para evitar un prolongado eritema que ocurre al exponerse al sol sin filtrar rayos UVA. (48)

Tabla 9: Principales filtros químicos

Los filtros químicos	Radiaciones sobre las que actuan PABA
Paba	UBV
Cinamatos	UBV
Salicilatos	UBV
Benzofenonas	UBV, UVB
Antralinatos	UVA
Dibenzoilmetanos	UVA

Fuente: Durc Mota E.,2003 (48)

2.4.10. Mecanismo de acción de los protectores solares

Existen protectores solares que se consideran químicos, donde el carbono es el componente activo, a su vez se consideran no químicos los cuales son inorgánicos que no poseen carbono que incluyen químicos pigmentados que es visible en piel y son conocidos como protectores solares. (49)

Hay dos procesos involucrados en su mecanismo de acción: la absorción y dispersión, y ambos son parte de los filtros solares.

- **La dispersión:** Se da cuando aquellos rayos UV impactan una pantalla o película que hace que se desvíe del camino, disipándose de esta manera en el ambiente, lo que caracteriza a los bloqueadores. (49)
- **La absorción:** Las moléculas de los filtros solares poseen la capacidad de absorber radiaciones UV, lo que evita la incorporación de energía al filtro solar, estos fotones son absorbidos hasta llegar a la zona de piel y se van transportando por medio del calor. (49)

2.4.11. Factor de protección solar

Este factor señala el tiempo en que un protector solar incrementa su capacidad natural de defensa antes de tener quemaduras solares así también se toma en cuenta la climatología del lugar en donde nos encontramos, mediante el uso de un producto con protección solar protegemos la piel contra el eritema o enrojecimiento. Por ejemplo, las persona con piel clara generalmente se queman posterior a los 10 min de exponerse al sol, ello tomar 15 veces más con ayuda del SPF 15 (alrededor de 2.5 horas). (51)

a. Factor adecuado

FP, SPF e IP corresponden al índice de factor de protección, la cual señala el periodo en que la piel se encuentra protegida sin necesidad de quemarse a causa de la radiación UV. (51)

Tabla 10: Tipos de protectores

Tipo de Fotoprotector	FPS
Protección Baja	2-6
Protección Media	8-12
Protección Alta	15-25
Protección Muy Alta	30-50
Protección Ultra	50+

Fuente: Tandem HSE.,2023 (51)

El factor de protección depende

- El tipo de bloqueador que se use
- La piel que se tiene
- La cantidad que se aplica y su frecuencia de uso
- Actividades que impliquen exposición
- Protector solar absorbido.

La piel clara es mucho más sensible al sol comparado con las oscuras (51)

Piel clara: su pigmentación de piel es leve y esta suele quemarse en ciertas veces y obtiene un bronceado ligero. (51)

Piel oscura: no suele quemarse y su bronceado es permanente. (51)

Tabla 11: Niveles de radiación según el fototipo de piel

Nivel de radiación UVI	Piel Clara		Piel Oscura	
	Exposición máxima sin protección	Índice protección indicado	Exposición máxima sin protección	Índice protección indicado
0-2 (bajo)	80 minutos	15	110 minutos	8
3-5 (moderado)	40 minutos	20	60 minutos	15
6-7 (alto)	25 minutos	30	35 minutos	25
8-10 (muy alto) verano	20 minutos	50+	30 minutos	30
11+ (extremo) verano	15 minutos	50+	25 minutos	50+

Fuente: Duro Mota E., 2003 (48)

2.4.12. Parámetros de evaluación en fotoprotectores

a. Eficacia

Es medida por el factor de protección solar, en específico en dosis eritematógenas de rayos UVA II y UVB de hasta 340 nm, la cual es complementada con espectrofotometría in vitro; estableciendo parámetros para la longitud de las ondas de 290 nm a 400 nm, la cual es absorbida en un 90%, se establece que el un protector con espectro amplio requiere de cubrir ondas de más de 370 nm con factor de protección UVA > de 4. (52)

Conocer su eficacia al proteger de rayos UVA, implica valorar el nivel de pigmentación producida por este tipo de rayos, además del espectro visible por la melanina que existe; sin embargo, su medida es complicada en pacientes de piel fototipo I y II. Pues su respuesta de pigmentación es tardía, por lo que se evalúa a las 02h de estar expuesto. (52)

Respecto a los factores que afectan la eficacia, la cantidad que se aplique será un factor determinante en la protección, pues

aquellas que usan cantidades mínimas de 2 mg/cm², y no se lo aplican en la espalda, orejas o cuello resultará menos eficaz, en caso de un protector inorgánico, este es requerido en cantidades menores a comparación de los orgánicos, por la apariencia que deja incomoda a quien la usa. (52)

b. Seguridad

La seguridad es evaluada dependiendo de los efectos posterior a la aplicación, entre ellas la sensibilidad, irritación, déficit de Vitamina D y penetración dérmica, lo que ocasiona una absorción mínima de calcio. (52)

Usar protectores de sol puede ocasionar que una persona se sienta más segura al exponerse al sol; sin embargo, esta solo incrementa los riesgos de contraer carcinoma de piel. (52)

c. Sustantividad

Característica del protector solar al momento de demostrar su efectividad en determinadas situaciones, como una exposición en agua o del sudor. El protector de sol es resistente en agua en caso mantenga el factor protección inicial posterior a dos inmersiones de 20 min, considerándose resistente al agua si continúa siendo efectivo posterior a cuatro inmersiones. (52)

2.4.13. Criterios de utilización de un filtro solar (52)

El filtro solar debe ser seguro, eficaz, y cosméticamente aceptable; a la hora de recomendar un filtro solar deberemos tener en cuenta tres consideraciones:

- El fototipo frente al sol.
- El factor de protección solar (FPS) del filtro recomendado

2.4.14. Compuestos fenólicos

Estos compuestos forman grupos heterogéneos y químicos de alrededor de 10.000 compuestos siendo algunos solubles en solventes de tipo orgánico, otros en glicósidos solubles o ácidos carboxílicos y otros resultan polímeros grandes insolubles. (53)

La fórmula AR-OH, (AR: anillo aromático y OH unido a dicho anillo) se caracteriza por poseer núcleos bencénicos conduciendo grupos hidroxilos, lo cuales juegan el rol de antioxidantes de procedencia natural, dicha actividad varía en gran medida acorde a la concentración, estructura química y el nivel de oxidación, y respecto a la concentración se identificó que con mínimas cantidades de antioxidantes fenólicos se conduce hacia una circulación sistémica ocasionando un incremento en el nivel antioxidante del plasma. (53)

a. Clasificación de compuestos fenólicos

Esta clasificación es en base a la identificación de componentes flavonoides y no flavonoides, los flavonoides poseen un esqueleto en C6- C3-C6, además los polifenoles contienen ciertos derivados (glicósidos, ésteres, etc.). (53)

- **Compuestos no flavonoides**

Se les conoce así a los ácidos fenoles, los cuales se dividen en ácidos benzoicos (C6-C1) y cinámicos, que conducen una cadena insaturada lateral (C6-C3), además de otros derivados como estilbenos. (53)

El fenol libre además de los ácidos fenoles es considerado en un solo grupo, pues se identifican de forma simultánea al analizar las plantas; su estructura básica cuenta con un anillo aromático acompañado de un grupo carboxilo. Los ácidos benzoicos como gálico, p-hidroxibenzoico, vainillínico se encuentran en grandes cantidades los helechos y espermatofitas. En caso de la cinámica, sus ácidos (cafeíco,

sináptico, p-cumárico y ferúlico) pocas veces están libres y se encuentran en derivados. (53)

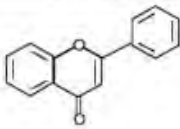
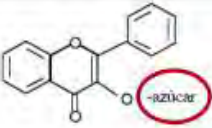
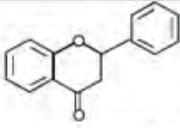
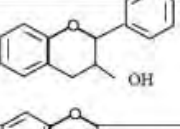
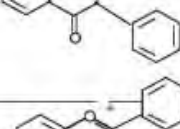
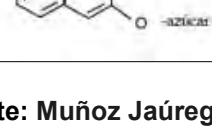
Los estilbenos consisten en compuestos constituidos por 2 anillos de benceno que se separan por 2 átomos de C, está en una diversidad de vegetales, especialmente en la médula que es parte del tronco del eucalipto o el pino. (53)

- **Compuestos flavonoides**

Del latín flavus cuyo significado es el color que va de amarillo a rojo, siendo en su mayoría de color rojo, azul y amarillo de frutas y plantas, son un tipo de moléculas polifenólicas que se caracterizan por ser dos anillos de benceno que se unen cadenas pequeñas en base a tres C, donde uno de los átomos se encuentra conectado siempre a un anillo de benceno; de forma directa o gracias a un puente de hidrógeno, constituyendo un tercer anillo central que puede contener 05 a 06 miembros. (53)

Se caracterizaron alrededor de 5000 flavonoides existentes en el medio natural de gran cantidad de plantas; su clasificación consta de una serie de subgrupos que dependen de la posición del sustituyente en el anillo C. Su nivel de oxidación del anillo heterocíclico y su posición del anillo B, resultan de gran relevancia para su clasificación. (53)

Figura 10: Clasificación de los Flavonoides. (53)

Subclase	Estructura	Compuestos	Fuente
Flavona		Sinensetina, apigenina Diosmina y luteolina	Hierbas, apio pimentón, uva naranja limón
Flavonol		Quercetina, myricetina y kaempferol	Cebolla, vino, tomate, naranj manzana, té, frutas rojas
Flavanona		Naringenina, hesperidina y isoxanthohumol	Miel, cítricos, tomate, lúpulo cerveza
Flavanol ó catequina		Catequina, epicatequina y galocatequina	Vino, chocolata cocoa, té, uva, manzana y per
Isoflavona		Genisteina, daidzeina y gliciteina	Soya y leguminosas
Antocianina		Cianidina, pelargonidina, delphinidina y peonidina	Frutas rojas manzana, pera uva y naranja

Fuente: Muñoz Jaúregui AM. 2007, (53)

La acción del antioxidante flavonoide en resultante de la mezcla de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, así también inhiben oxidasas como: La lipooxigenasa, xantina oxidasa, mieloperoxidasa y la ciclooxigenasa, evitando la aparición de especies reactivas de hidroxiperóxidos orgánicos y oxígeno. (53)

b. Actividad biológica de los compuestos fenólicos

Los antioxidantes de fenoles poseen una actividad cuyas funciones son de origen biológicas como el antienviejecimiento, la antimutagénica y la anticancerígena. (53)

Los flavonoides exhiben especialmente una gama de reacciones biológicas, que incluyen procesos antibacterianos, antiinflamatorios, antivirales, antioxidantes, antialérgicos, vasodilatadora y antitrombótica. Incrementar el consumo de antioxidantes fenólicos naturales se relaciona con una reducción de las enfermedades coronarias; dietas ricas en compuestos fenólicos se asocian con mayor expectativa de vida, estas propiedades incluyen actividad anticáncer, antiviral, antiinflamatoria, efectos sobre la fragilidad capilar, y habilidad para inhibir la agregación de las plaquetas humanas. (53)

2.4.15. Producto patrón en ensayo de la capacidad fotoprotectora

Eucerin crema FPS 30 es de amplio espectro, está especialmente desarrollada para proteger la piel de las quemaduras solares y del daño inducido por el sol. No pose PABA, algún filtro de origen químico, parabenos, perfume o colorante. (54)

Posee una protección efectiva ante UVA/UVB y está elaborado con micro pigmentos que reflejan UV de forma directa de la superficie de la piel penetrarla (es recomendada por la UE). (54)

Poseen Vitamina E la cual ayuda a fortalecer los niveles de defensa propios de la piel, además contiene Dexpantenol para aliviar la piel. Siendo sus ingredientes activos: (54)

- Homosalato
- Butyl Methoxydibenzoylmethane
- Salicilato de etilhexilo
- Octocrileno

2.5. Definición de términos

- **Flavonoides:** Cada uno de los compuestos polifenólicos heterocíclicos derivados del 2-fenilbenzopirano. Se obtienen distintos flavonoides: flavonas, flavononas y flavanos, dependiendo de los grupos funcionales en la estructura base, y están ampliamente distribuidos en los vegetales superiores. (53)
- **Crema:** Formula de origen cosmética o farmacéutica que posee una textura pastosa que cuenta con grasa emulsionada en agua o viceversa. Suele usarse también como medio de aplicación de fármacos de aplicación tópica. (31)
- **Dermatitis:** Todo tipo de inflamación crónica, aguda o subaguda presente en la piel de afectación dermoepidérmica, el patrón procedente de tales inflamaciones suele ser variado, tomando diferentes nombres (eccematosas, liquenoide, psoriasiforme, entre otros. (31)
- **Dosis eritematosa mínima (MED):** consiste en la dosis provocada por radiación UVB, requerida para elaborar eritema que se percibe a las 24h. Asimismo determinan reacciones que son anómalas a luz UVA y visible. (49)
- **Edema:** Resulta de la acumulación de líquidos en ciertos tejidos, en especial en espacios intersticiales extracelulares y pocas veces en las intracelulares, las razones van desde la hipoproteinemia, incremento de presión capilar hidrostática (obstrucción de venas), entre otras. (31)
- **Eritema:** Implica una lesión clínica cutánea, es vista en varias enfermedades de la piel expuesta a sol y viento. Son manchas rojas lisas y no infiltradas de varios tonos, tamaños y formas. Su coloración suele desaparecer al hacer presión en la zona y vuelve a aparecer si se elimina tal presión, lo que la hace diferente de las púrpuras cutáneas. (31)

- **Extracción:** Procedimiento químico o farmacéutico para obtener una o varias sustancias o principios activos a partir de materiales de origen vegetal, o de mezclas resultantes de una reacción química. (55)
- **Factor de Protección Solar:** Escala que clasifica en nivel de protección de quemaduras provocadas por el sol de productos que cuentan con filtro solar. (46)
- **Filtro Solar:** Sustancia para proteger a la piel de rayos UV, estos filtros reflejan, esparcen y absorben tanto rayos UVB como UVA, utilizar este tipo de filtros ayuda a evitar el envejecimiento de piel prematuro, así como evitar el riesgo de cáncer de piel. (46)
- **Fotoenvejecimiento:** Conjunto de cambios que se producen en la piel expuesta habitualmente a la luz solar, que se añaden a los que se producen por el paso del tiempo. Se afecta principalmente la cara, el cuello y la superficie de extensión de los miembros superiores, donde la piel está seca, áspera, arrugada, con pigmentación irregular, queratosis actínica, telangiectasias, lagos venosos, púrpura, comedones e hiperplasia sebácea. (31)

CAPÍTULO III - MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

Material biológico	Materiales de campo	Materiales de laboratorio	Otros materiales
Muestra vegetal: Hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) que serán recolectados en el distrito de Vilcabamba, provincia de La Convención, departamento de Cusco, altitud de recolección entre 2300 m.s.n.m.	• Libreta de campo. • Tijeras podadoras. • Bolsas de papel Kraft. • Cámara fotográfica. • Plumón indeleble. • Lapiceros. • Cinta de embalaje	• Vasos precipitados de 50, 100 y 200 mL • Pipetas de 5 y 10 mL • Micro pipetas. • Matraz Erlenmeyer. • Filtro Buchner • Balón volumétrico. • Probetas de 50 y 100 mL • Fiolas de 25, 50 y 100 mL • Tubos de ensayo. • Baguetas. • Embudo de vidrio. • Pera de decantación. • Gradillas para tubos de ensayo. • Papel filtro. • Picetas. • Goteros. • Papel secante • Tiras indicadoras de pH • Picnómetro • Capsula	• Algodón. • Gasas estériles. • Jeringas descartables de 1, 5, 10, 20 mL. • Guantes estériles. • Esparadrapo.
Ratones (<i>Mus musculus</i>) albinos BALB/c: De 2 a 3 meses de edad y con un peso que oscila entre 20 y 25 gramos.			

Fuente: Elaboración propia.

3.2. SOLVENTES Y REACTIVOS

Reactivos para la obtención de extracto	Reactivos para la prueba de solubilidad:	Reactivos para determinación organoléptica	Reactivos para ensayos de irritación dérmica aguda	Reactivos para la determinación del FPS in vitro
• Bencina • Metanol Q.P.	• Agua destilada. • Metanol Q.P. • Etanol de 40° • Etanol de 70° • Etanol Q.P. • Acetona Q.P. • Acetato de etilo Q.P. • Éter etílico Q.P. • Cloroformo Q.P. • Hexano	• Agua destilada	• Suero fisiológico • Tween 80	• Etanol al 70%. • Agua destilada.

Fuente: Elaboración propia

3.3. EQUIPOS E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO

- Cuba cromatografía de vidrio
- Balanza analítica OHAUS Pioneer™
- Espectrofotómetro PG Instrumenst Ltd T80+UV/VIS Spectrometer
- Rota vapor BOECO Germany RVO 400 SD
- Agitador magnético BENCHMARK
- Microscopio BOECO
- Equipo de filtración al vacío Rocker

3.4. DEL DISEÑO METODOLÓGICO

3.4.1. Tipo de estudio

El presente estudio tiene por objetivo determinar la capacidad fotoprotectora y el factor de protección solar de la masasamba; para lograr dicho objetivo se plantea establecer los efectos de la radiación UV sobre un grupo de ratones albinos; es decir, se efectuarán una serie de procesos intencionales en al menos una de las variables de estudio (extracto de flavonoides) sin embargo esta manipulación se lleva a cabo con grupos específicos que no fueron asignados ni emparejados de manera aleatoria.

A partir de los argumentos metodológicos expuestos podemos establecer que el presente estudio corresponde a un estudio de tipo cuasi-experimental, cuantitativo y longitudinal, con un procedimiento determinado en cada una de las siguientes etapas:

- **Etapla I:** Para la evaluación de la irritación dérmica aguda de nuestro extracto en estudio (hojas de masasamba) al 1%, 2% y 3% en ratones albinos corresponde a un diseño cuasi-experimental con varias post-pruebas y grupo control.
- **Etapla II:** Para la evaluación de la capacidad fotoprotectora de las cremas con nuestro extracto de flavonoides (hojas de masasamba se realizará un estudio correlacional con diseño cuasi-experimental prospectivo porque se evaluará la capacidad de inhibición de la formación de procesos inflamatorios cutáneos, formando grupos específicos que no fueron asignados ni emparejados al azar.
- **Etapla III:** Para la determinación in vitro del factor de protección solar con el método espectrofotométrico del producto estándar y cremas con el extracto flavonoide (hojas de masasamba), se realizará un estudio correlacional con un diseño de estudio prospectivo cuasi-experimental se manipulará una

variable independiente (extracto de flavonoides) que afectará a la variable dependiente (factor de protección solar).

3.4.2. Diseño experimental

- **Para la evaluación de la irritación dérmica aguda**

C₁, C₂ y C₃: Son grupos de sujetos de experimentación (3 ratones albinos por cada grupo).	C₁: Conjunto de 3 ratones albinos a los que se aplicó extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 1% disuelto en tween-80. C₂: Conjunto de 3 ratones albinos a los que se aplicó extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 2% disuelto en tween-80. C₃: Conjunto de 3 ratones albinos a los que se aplicó extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 3% disuelto en tween-80.
Y₁, Y₂ y Y₃: Aplicación directa sobre la piel de los ratones con el extracto de flavonoides disueltos en tween-80.	Y: Parte Superior del lomo de los sujetos de experimentación – Control (sin aplicación). Y₁: Parte Inferior del lomo al que se aplicó extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 1% disuelto en tween-80. Y₂: Parte Inferior del lomo al que se aplicó extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 2% disuelto en tween-80. Y₃: Parte Inferior del lomo al que se aplicó extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 3% disuelto en tween-80.
E₁, E₂...E₂₁: Es la observación de desarrollo de eritema, edema u otros signos de irritación como enrojecimiento, prurito (picor) o aumento de la temperatura corporal.	E₁, E₂, E₃, E₄, E₅, E₆, E₇: Observación de la reacción dérmica después de la aplicación del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 1% disuelto en tween-80. E₈, E₉, E₁₀, E₁₁, E₁₂, E₁₃, E₁₄: Observación de la reacción dérmica después de la aplicación del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 2% disuelto en tween-80. E₁₅, E₁₆, E₁₇, E₁₈, E₁₉, E₂₀, E₂₁: Observación de la reacción dérmica después de la aplicación del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) al 3% disuelto en tween-80.

	C₁	Y₁	Y	E₁	E₂	E₃	E₄	E₅	E₆	E₇
C₂	Y₂	Y	E₈	E₉	E₁₀	E₁₁	E₁₂	E₁₃	E₁₄	
C₃	Y₃	Y	E₁₅	E₁₆	E₁₇	E₁₈	E₁₉	E₂₀	E₂₁	

Fuente: Elaboración propia

- **Para la evaluación de capacidad fotoprotectora mediante la valoración de cambios inflamatorios**

C₁, C₂... C₆: Conjunto de sujetos de experimentación (3 ratones albinos por cada grupo) con lomo depilado.	C₁: Conjunto de 3 ratones albinos con lomo depilado a los que se aplicó crema al 1% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). C₂: Conjunto de 3 ratones albinos con lomo depilado a los que se aplicó crema al 2% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). C₃: Conjunto de 3 ratones albinos con lomo depilado a los que se aplicó crema al 3% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). C₄: Conjunto de 3 ratones albinos con lomo depilado a los que se les aplicó la crema patrón ISDIN al 30% C₅: Conjunto de 3 ratones albinos con lomo depilado a los que no se aplicó crema y fueron expuestos a irradiación (CONTROL POSITIVO). C₆: Conjunto de 3 ratones albinos con lomo depilado a los que no se aplicó crema y no fueron expuestos a irradiación (CONTROL NEGATIVO).
Y: Irradiación directa sobre el lomo depilado del ratón.	Y: Irradiación con luz UV
E₁, E₂...E₂₄: Observación de cambios inflamatorios.	E₁, E₂, E₃, E₄, E₅, E₆: Observación de cambios inflamatorios cutáneos a las 4 horas. E₇, E₈, E₉, E₁₀, E₁₁, E₁₂: Observación de cambios inflamatorios cutáneos a las 24 horas E₁₃, E₁₄, E₁₅, E₁₆, E₁₇, E₁₈: Observación de cambios inflamatorios cutáneos a las 48 horas. E₁₉, E₂₀, E₂₁, E₂₂, E₂₃, E₂₄: Observación de cambios inflamatorios cutáneos a las 72 horas.

C₁	Y	E₁	E₂	E₃	E₄
C₂	Y	E₅	E₆	E₇	E₈
C₃	Y	E₉	E₁₀	E₁₁	E₁₂
C₄	Y	E₁₃	E₁₄	E₁₅	E₁₆

Fuente: Elaboración propia

- **Para la capacidad fotoprotectora mediante la valoración de cambios morfológicos**

C₁, C₂... C₆: Conjunto de sujetos de experimentación (3 ratones albinos por cada grupo) con lomo depilado.	C₁, C₂... C₆: Conjunto de 3 ratones albinos con lomo depilado.	C₁: Observación de cambios morfológicos cutáneos después de 5 días de la aplicación con la crema al 1% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). C₂: Observación de cambios morfológicos cutáneos después de 5 días de la aplicación con la crema al 2% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). C₃: Observación de cambios morfológicos cutáneos después de 5 días de la aplicación con la crema al 3% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). C₄: Observación de cambios morfológicos cutáneos después de 5 días de la aplicación con la crema patrón EUCERIN al 30% C₅: Observación de cambios morfológicos cutáneos después de 5 días de la aplicación con la crema y fueron expuestos a irradiación (CONTROL POSITIVO). C₆: Observación de cambios morfológicos cutáneos después de 5 días, sin la aplicación de crema y que no fueron expuestos a irradiación (CONTROL NEGATIVO). ... no se realiza la actividad.
Y: Irradiación directa sobre el lomo depilado del ratón.	Y: Irradiación con luz UV	

Fuente: Elaboración propia

- **Para determinar in vitro del factor de protección solar (FPS) de la crema con el extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.)**

C₁, C₂ y C₃: Solución metanólica de la crema a base del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.) en la concentración adecuada.	C₁: Solución metanólica de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). C₂: Solución metanólica de la crema a base del extracto de flavonoides al 2% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). C₃: Solución metanólica de la crema a base del extracto de flavonoides al 3% de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.).
Y: Condiciones de transmitancia en nanómetros (nm).	Y₁: Longitud de onda a 290nm Y₂: Longitud de onda a 295nm Y₃: Longitud de onda a 300nm Y₄: Longitud de onda a 305nm Y₅: Longitud de onda a 310nm Y₆: Longitud de onda a 315nm Y₇: Longitud de onda a 320nm
E₁, E₂...E₂₁: Medición de absorbancia (lectura en el espectrofotómetro)	E₁: Lectura espectrofotométrica a 290nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₂: Lectura espectrofotométrica a 295nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₃: Lectura espectrofotométrica a 300nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₄: Lectura espectrofotométrica a 305nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₅: Lectura espectrofotométrica a 310nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₆: Lectura espectrofotométrica a 315nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₇: Lectura espectrofotométrica a 320nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₈: Lectura espectrofotométrica a 290nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 2% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₉: Lectura espectrofotométrica a 295nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 2% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₁₀: Lectura espectrofotométrica a 300nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 2% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₁₁: Lectura espectrofotométrica a 305nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 2% de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.). E₁₂: Lectura espectrofotométrica a 310nm de la crema a base del extracto

de flavonoides al 2% de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₁₃: Lectura espectrofotométrica a 315nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 2% de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₁₄: Lectura espectrofotométrica a 320nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 2% de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₁₅: Lectura espectrofotométrica a 290nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 3% de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₁₆: Lectura espectrofotométrica a 295nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 3% de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₁₇: Lectura espectrofotométrica a 300nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 3% de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₁₈: Lectura espectrofotométrica a 305nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 1% de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₁₉: Lectura espectrofotométrica a 310nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 3% de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₂₀: Lectura espectrofotométrica a 315nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 3% de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).

E₂₁: Lectura espectrofotométrica a 320nm de la crema a base del extracto de flavonoides al 3% de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.).

C ₁	Y ₁	E ₁
C ₁	Y ₂	E ₂
C ₁	Y ₃	E ₃
C ₁	Y ₄	E ₄
C ₁	Y ₅	E ₅
C ₁	Y ₆	E ₆
C ₁	Y ₇	E ₇
C ₂	Y ₁	E ₈
C ₂	Y ₂	E ₉
C ₂	Y ₃	E ₁₀
C ₂	Y ₄	E ₁₁
C ₂	Y ₅	E ₁₂

Fuente: Elaboración propia

3.4.3. Definición y operacionalización de variables

Variable independiente

Variable	Indicador	Sub Indicador	Naturaleza	Medición	Escala	Instrumento	Expresión final
Extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.)	Concentración		Cuantitativa	Directa	Proporción	Balanza analítica de sensibilidad 0.001g.	%P/P

Fuente: Elaboración propia

Variable dependiente

Variable	Indicador	Sub Indicador	Naturaleza	Medición	Escala	Instrumento	Expresión final
Capacidad fotoprotectora in vivo	Valoración de los cambios inflamatorios cutáneos	Eritema	Cualitativa	Directa	Ordinal	Ficha de registro	0: No eritema 1: Eritema ligero 2: Eritema definido 3: Eritema moderado a severo 4: Eritema muy severo (enrojecido)
		Edema	Cualitativa	Directa	Ordinal	Ficha de registro	0: No edema 1: Edema ligero 2: Edema definido 3: Edema moderado a severo 4: Edema muy severo (enrojecido)

Fuente: Elaboración propia

Variable dependiente (Continuación)

Variable	Indicador	Sub Indicador	Naturaleza	Medición	Escala	Instrumento	Expresión Final
Capacidad fotoprotectora in vivo	valoración de los cambios morfológicos cutáneos	Hiperqueratosis	Cualitativa	Directa	Ordinal	Ficha de valoración	Intensa / Leve / Moderada / Escasa / Ausente
		Espongiosis	Cualitativa	Directa	Ordinal	Ficha de valoración	Intensa / Leve / Moderada / Escasa / Ausente
		Ulceras	Cualitativa	Directa	Ordinal	Ficha de valoración	De Grado 1 / De Grado 2 / De Grado 3 / Ausente
		Congestión	Cualitativa	Directa	Ordinal	Ficha de valoración	Intensa / Leve / Moderada / Escasa / Ausente
		Costras	Cualitativa	Directa	Nominal	Ficha de valoración	Presente / Ausente
Capacidad fotoprotectora in vitro de la crema	Determinación in vitro del FPS.	Factor de Protección Solar (FPS)	Cualitativa	Indirecta	Ordinal	Espectrofotometría	De 2 a 6 =Protección baja De 8 a 12 =Protección media De 15 a 25 =Protección alta De 30 a 50 =Protección muy alta Mayor a 50 =Protección ultra

Fuente: Elaboración propia

Variable dependiente (Continuación)

Variable	Indicador	Sub Indicador	Naturaleza	Medición	Escala	Instrumento	Expresión Final
Crema con extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (<i>Annona muricata</i> L.)	Análisis de las características organolépticas y fisicoquímicas de la crema	Aspecto	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Ficha de estimación	Homogéneo / Heterogéneo
		Extensibilidad	Cualitativa	Indirecta	Razón	Fórmula Matemática	mm ²
		Color	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Ficha de estimación	Verde claro / Verde / Verde intenso
		Consistencia	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Ficha de estimación	Fluida / Densa
		Olor	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Ficha de estimación	Sin olor / Olor característico
		pH	Cualitativa	Indirecta	Razón	pH metro	Valor de pH
		Textura	Cualitativa	Indirecta	Nominal	Ficha de estimación	Cremosa / Fluida

Fuente: Elaboración propia

Variable dependiente (Continuación)

Variable	Indicador	Sub Indicador	Naturaleza	Medición	Escala	Instrumento	Expresión Final
Toxicidad dérmica de la crema	Irritación cutánea aguda	Eritema	Cualitativa	Directa	Ordinal	Ficha de estimación	0: No irritante 0.1 - 1.9: Ligeramente irritante 2.0 - 5.0: Moderadamente irritante 5.1 - 8.0: Severa irritación
		Edema	Cualitativa	Directa	Ordinal	Ficha de estimación	0: No irritante 0.1. a 1.9: Ligeramente irritante 2.0 a 5.0: Moderadamente irritante 5.1 a 8.0: Severa irritación

Fuente: Elaboración propia

Variables intervinientes

De la especie vegetal: Masasamba (*Annona muricata* L.)

- **Altitud del área de recolección:** Las especies vegetales estudiadas fueron recolectadas en el valle de San Miguel, distrito de Vilcabamba, provincia de La Convención, departamento de Cusco, a una altitud de 2300 m.s.n.m.
- **Órganos vegetales:** Se trabajó con las hojas de las especies vegetales.
- **Período de crecimiento:** Las especies de plantas se recolectó durante la producción y donde las hojas han emergido recientemente.

En relación a la selección de animales para el experimento.

- Se consideró ratones (*Mus musculus*) albinos cepa BALB/c con edades desde los dos meses hasta los tres meses, y peso de 20 hasta los 25 gramos.

3.5. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

3.5.1. Población:

- **Población in vivo:** 18 ratones de laboratorio de la raza *Mus musculus* variedad BALB/c, machos y hembras, de 2 – 3 meses de edad y pesos entre 20 – 25 gramos.
- **Población In Vitro:** 25 gramos de Crema elaborada a base del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) al 1%, 2% y 3% respectivamente.

3.5.2. Muestra:

- **Muestra in vivo:**
Grupo 1: 3 ratones *Mus musculus* variedad BALB/c con crema al 1%

Grupo 2: 3 ratones *Mus musculus* variedad BALB/c con crema al 2%

Grupo 3: 3 ratones *Mus musculus* variedad BALB/c con crema al 3%

Grupo 4 control: 3 ratones *Mus musculus* variedad BALB/c control (-)

Grupo 5 control: 3 ratones *Mus musculus* variedad BALB/c control (+)

Grupo 6 patrón: 3 ratones *Mus musculus* variedad BALB/c

- **Muestra In Vitro:** 0.5 gramos de crema elaborada a base del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) al 1%, 2% y 3% respectivamente mediante el método de espectrofotometría en la región de radiación UVB (290 – 320 nm).

3.6. Criterios de inclusión

3.6.1. De massamba (*Annona muricata* L.).

En cuanto al criterio de inclusión; fueron consideradas las hojas sanas y libres de contaminación.

En cuanto al criterio de exclusión, se descartaron todas las hojas que se encontraban dañadas, inmaduras y contaminadas.

3.6.2. De los animales de experimentación

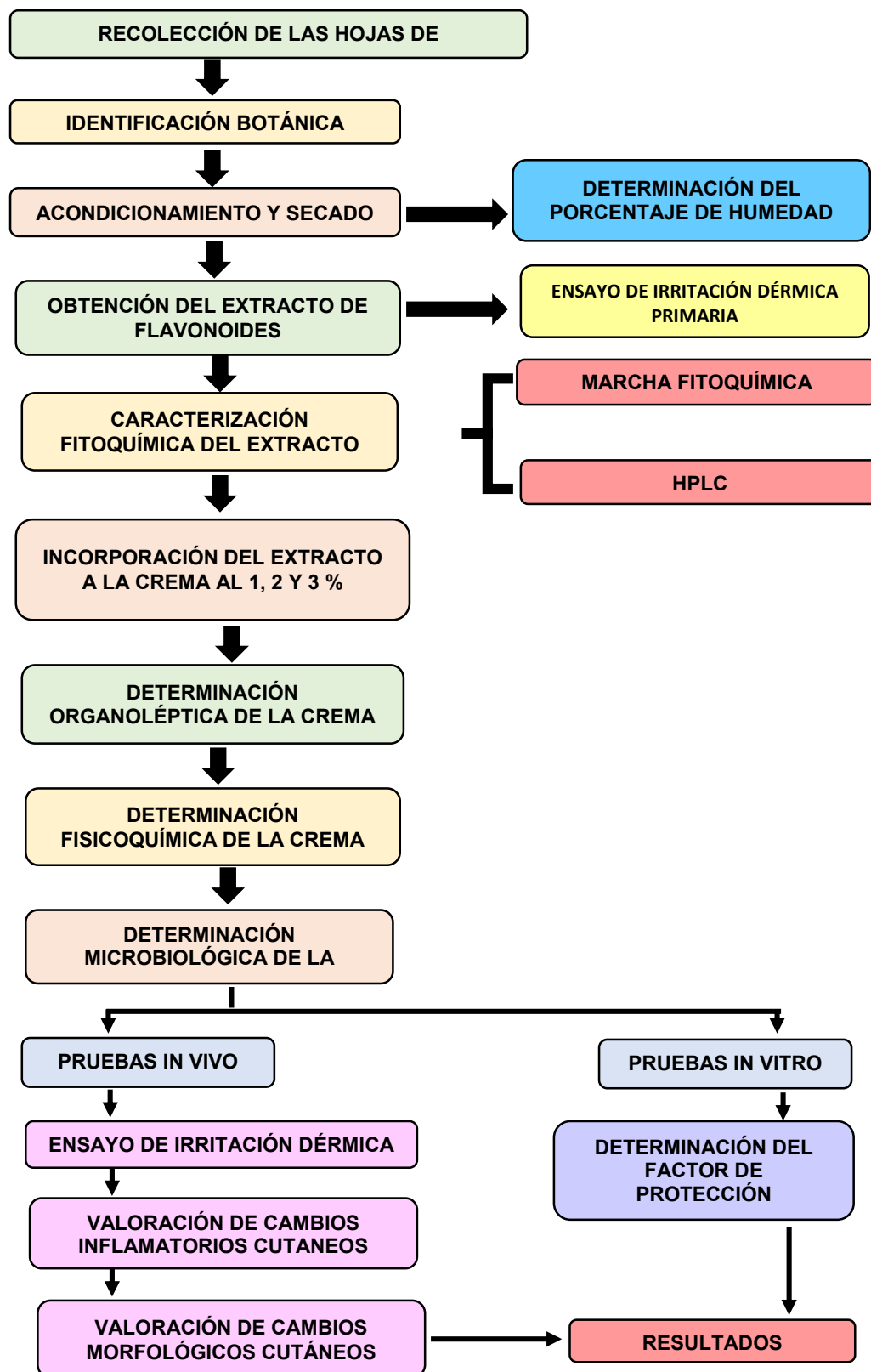
- Ratones albinos *Mus músculus*, variedad BALB/c.
- Ratones sanos
- Edad de 2 - 3 meses de edad.
- Con pesos entre 20 - 25 gramos que se trabajará con radiación UV-B.

3.7. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

3.7.1. De los animales de experimentación.

- Ratones ensayados anteriormente.
- Ratones que hayan enfermado.

3.8. PROCEDIMIENTOS DE INVESTIGACIÓN



Fuente: Elaboración propia

3.8.1. Recolección de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.)

Las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) fueron recolectadas entre enero y febrero en el Valle de San Miguel, distrito de Vilcabamba, provincia La Convención, región Cusco.

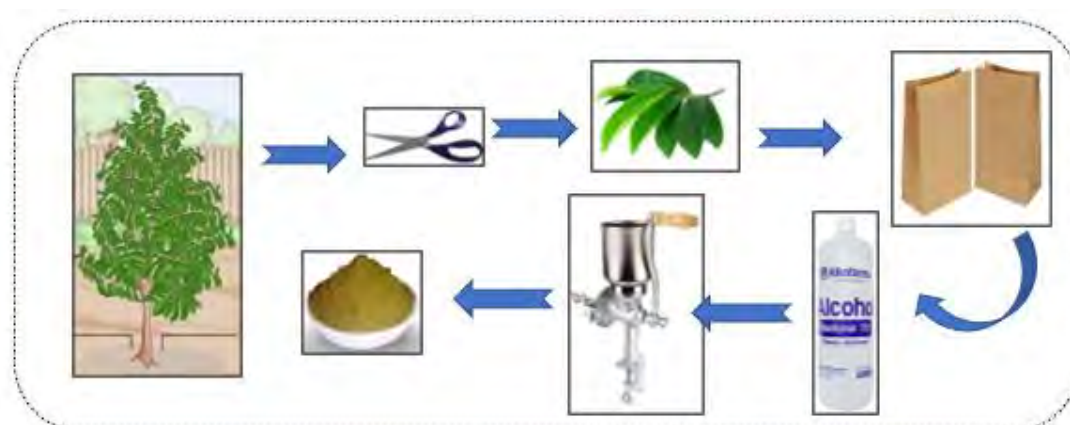
Las hojas se recolectaron a las cinco de la mañana, antes que llegue el sol y se cortaron las hojas enteras y sanas las cuales fueron almacenadas en bolsas de papel y un ejemplar reposa en el herbario Vargas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC).

3.8.2. Acondicionamiento y secado del material vegetal

El material vegetal se desinfectó con etanol al 70% durante 10 segundos, se colocó bajo un contador de flujo laminar y se fragmentó asépticamente con pinzas y tijeras circulares en el laboratorio de farmacología de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la (UNSAAC).

El material vegetal se sometió a secado a 40 °C. y cada parte de la planta se molió hasta la obtención de un polvo fino.

Procedimiento de recolección, acondicionamiento, secado y molido del material vegetal:



Fuente: Elaboración propia

3.8.3. Porcentaje de humedad de las hojas de *Annona muricata* L.

La pérdida de agua se determinó mediante el uso del horno, para determinar el porcentaje de humedad se utilizó el método gravimétrico. En cuanto a la humedad se realizó por triplicado, en placas Petri con aproximadamente 10 gramos de muestra seleccionada, las cuales fueron introducidas en un horno a una temperatura de 50 ° C hasta obtener un peso constante respectivamente, posteriormente se determinó el porcentaje de humedad usando la siguiente ecuación. (17)

$$\%H = \frac{P_o - P_f}{P_o} \times 100$$

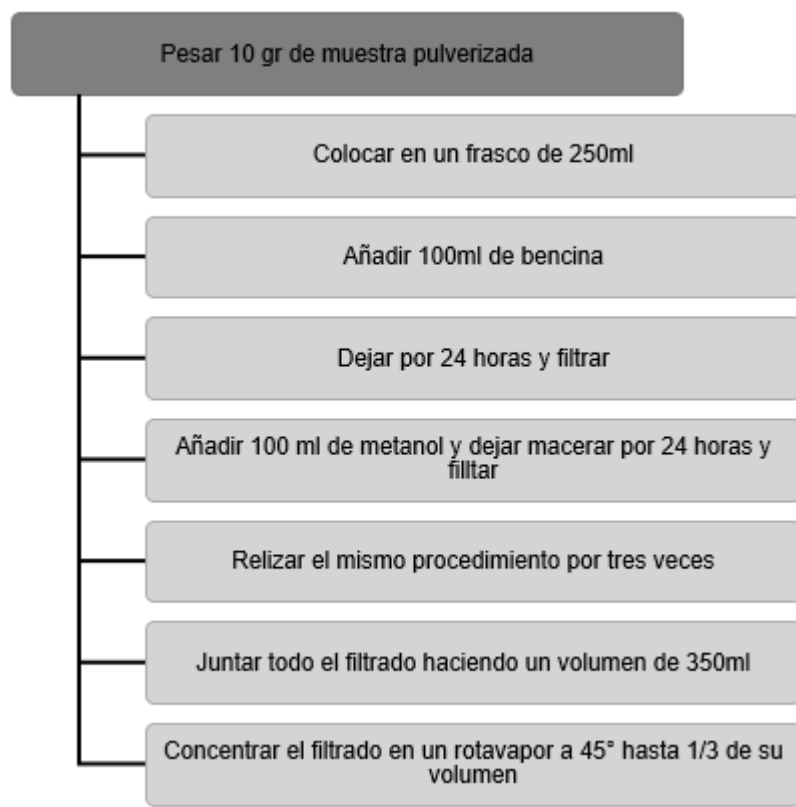
Donde:

%H: Porcentaje de humedad

P_o: Peso de muestra inicial (g)

P_f: Peso de muestra final (g)

3.8.4. Obtención de extracto de flavonoides de masasamba



Fuente: Elaboración propia

3.8.5. Caracterización fitoquímica de los extractos

Los extractos se analizaron cualitativamente mediante marcha fitoquímica y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en inglés). (56)

Marcha fitoquímica del extracto de flavonoides

Se realizaron estas pruebas para detectar la presencia de flavonoides y así observar en cuál de los extractos existe más presencia de flavonoides. (56)

- **Prueba de Shinoda para la detección de flavonoides**

Para realizar esta prueba se adicionó un trozo de magnesio metálico y 5 gotas de HCl al 10% a 0.5mL del extracto etanólico.

Prueba de Vapores de NH_3 : al exponer a los flavonoides a vapores de NH_3 se produce una coloración amarilla al espectro visible y se intensifica su fluorescencia al espectro UV. (56)

- **Prueba de cloruro férrico al 1% para la detección de compuestos fenólicos**

Se utiliza para identificar compuestos que tienen una función fenólica en su estructura, como los taninos, los colores varían de azul a negro (pirogálico) a verde (catéquicos). Compuestos como los flavonoides pueden generar coloraciones verdes; la identificación de taninos se realizó con el EMET y el INF disueltos en agua destilada agregando una o dos gotas de FeCl_3 . (56)

- **Para la detección de quinonas**

Prueba de KOH al 10%: para realizar esta prueba se agregaron 3 gotas de extracto a 2 gotas de KOH al 10%. (56)

- **Para la detección de taninos**

Prueba de Cloruro férrico: para realizar esta prueba, se agregaron 2 gotas de solución de cloruro férrico en etanol a 1.5 mL de extracto. (56)

- **Para detección de alcaloides**

Prueba de Dragendorff: reactivo constituido por yoduro doble de bismuto y potasio, para realizar esta prueba se agregaron 4 gotas de reactivo Drangendorff a 1 mL de extracto y se hace reaccionar con un compuesto que contiene un par de electrones poco común, como el nitrógeno, como en el caso de una sal doble, que se observan por la aparición de una coloración anaranjada. (56)

Prueba de Mayer: para efectuar esta prueba se agregaron 4 gotas de reactivo de Mayer a 1 mL de extracto.

- **Para la detección de azúcares reductores y glicósidos**

Prueba de Fehling: En sus reacciones, se basa principalmente en la oxidación del cobre en monosacáridos, polisacáridos, aldehídos y algunas cetonas, la capacidad reductora de los azúcares y la capacidad reductora del grupo carbonilo de los aldehídos que se oxidan a ácidos. La sal de cobre se reduce a óxido de cobre en un medio alcalino para formar un precipitado rojo. (56)

- **Para la detección de esteroides**

Prueba de Liebermann-Burchard: Se utilizan cantidades iguales de anhídrido acético y ácido sulfúrico para detectar la presencia de compuestos orgánicos como los triterpenos. Para realizar esta prueba, se agregaron 4 gotas de reactivo de Liebermann Burchard a 0,5 ml del extracto, dando como resultado púrpura y esteroides, que variaron en color de rosa a verde a marrón. (56)

- **Para la detección de saponina**

Prueba de Espuma: esta prueba permite detectar la presencia de saponinas a través de la formación de espuma persistente y homogénea, para ejecutar esta prueba se mezcló 1 mL de extracto con 5 ml de agua y se agitó vigorosamente por un lapso de 5 minutos. (56)

- **Para el descubrimiento de lactonas sesquiterpenicos**

Prueba de Baljet: para realizar esta prueba se agregaron 0.5 mL de reactivo de Baljet a 0.5 mL de extracto. (56)

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida fueron realizados en un aparato de cromatografía líquida Agilent serie 1200. La columna usada fue una Zorbax Eclipse XDB-C18 tamaño de partícula 5um de 4.6 x 250mm y

pre columna usada fue una Zorbax Eclipse XDB-C18 tamaño de partícula 5µm de 4.6d x 12.5mm, usando 21.6mM de fosfato de sodio (Na_3PO_4) como solvente A y acetonitrilo (CH_3CN) como solvente B; el gradiente de elución comenzó con solvente B de 0% hasta 100%, siendo isocrático durante 30 min.; los flavonoides se examinaron con un detector de UV para obtener los espectros de UV de varios compuestos fenólicos; el cromatograma fue registrado en 370nm. (56)

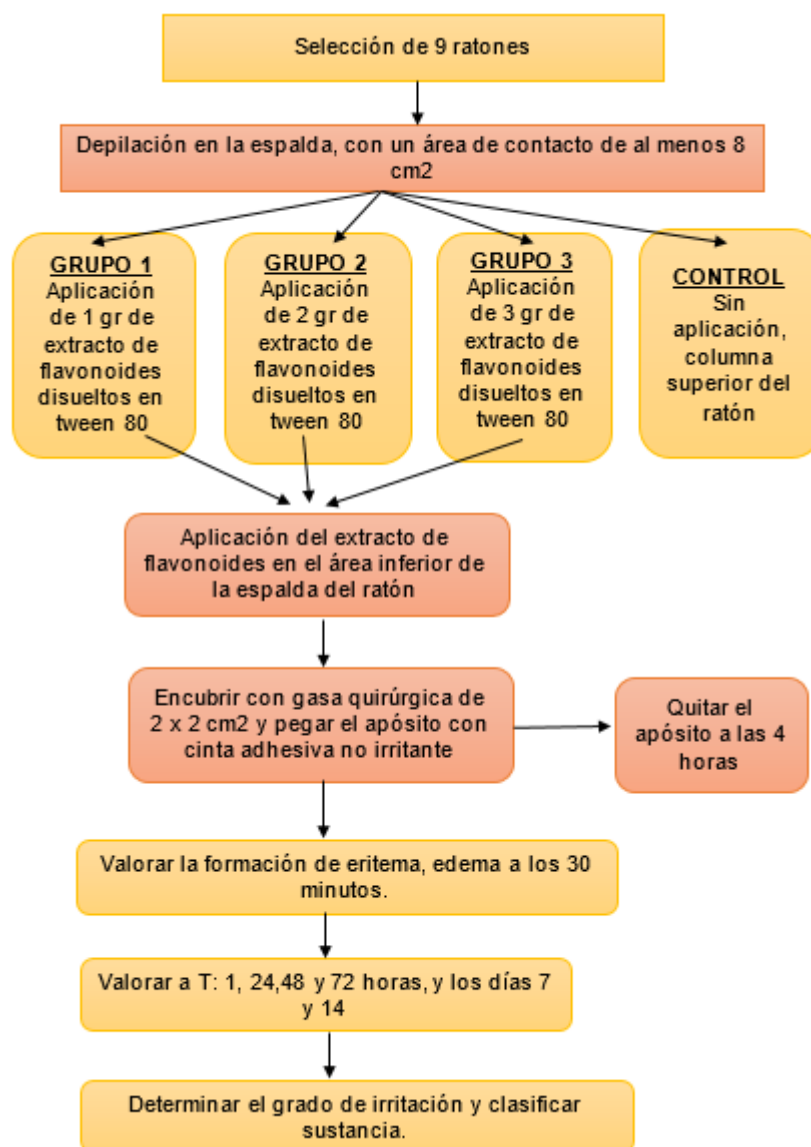
Figura 11: HPLC Agilent serie 1200.



Fuente: García Alva R.;2020. (56)

3.8.6. Ensayo de irritación cutánea con extracto de flavonoides (57)

Figura 12: Prueba de irritación cutánea aguda



Fuente: Elaboración propia

Los animales utilizados para este tipo de ensayos fueron ratones albinos, divididos en 3 grupos, cada grupo de 3 ratones. Extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata L.*) la 1, 2, y 3%. Se utilizaron los tres ratones albinos de cada grupo para la prueba de la sustancia problema. (57)

Cada lugar de aplicación se trató con 500 uL de la sustancia disuelta en Tween 80. En cada animal de prueba hubo una porción de piel intacta que se utilizó como control y otra región contigua como sitio de aplicación del extracto. La sustancia probada se mantuvo en contacto con la piel con un apósito durante 4 horas. (57)

Se realizaron las observaciones a los 30 minutos, 1, 24, 48 y 72 horas, 7 y 14 días después de remover el apósito.

Material biológico

- Animales para experimentación:
- Especies y razas: Ratones (*Mus musculus*) albinos BALB/c
- Cantidad y sexo: 18 ratones *Mus musculus* entre machos y hembras.
- Identificación de los animales: Se colorea la parte de la cola con diferente color.
- Peso corporal: 20-25 gr.

Cría y mantenimiento

- Tipo de jaula: Jaula de malla metálica especial para ratones.
- Agua y alimento: El agua y el alimento se administraron “*ad libitum*”.
- El tiempo de aclimatación antes del procedimiento de prueba fue de 15 días.

a. Método de la evaluación de irritación cutánea:

Las escalas utilizadas para la evaluación de la irritación cutánea aguda se muestran en la tabla 13. Para cada animal, sume los valores de eritema y edema durante los 14 días del período de observación y divida este total entre 7 (el número de

observaciones realizadas) para obtener los valores individuales del índice de irritación primaria (IVP). (58)

Este indicador se determina calculando el promedio de los valores de irritación de todos los animales y se utiliza para obtener el valor del IIP de la sustancia que se está probando. (58)

Sobre la base de las observaciones que se realizaran durante los 14 días, se le asignará a la sustancia a ensayar, un valor de acuerdo a la escala que se muestra en el cuadro N°3.

Ecuación para determinar los VIP e IIP para (n) animales de experimentación:

$$VIP_1 = \sum (\text{valores de eritema} + \text{valores de edema}) / n$$

$$VIP_2 = \sum (\text{valores de eritema} + \text{valores de edema}) / n$$

$$VIP_3 = \sum (\text{valores de eritema} + \text{valores de edema}) / n$$

$$VIP_{(n)} = \sum (\text{valores de eritema} + \text{valores de edema}) / n$$

Dónde:

VIP = valor individual del índice de irritación primaria.

n= Número de observaciones realizadas.

$$IIP = \sum (VIP_1 + VIP_2 + VIP_3 + VIP_{(n)}) / (n)$$

Dónde:

IIP = Índice de irritación primaria.

(n) = Número de animales de experimentación

Tabla 12: Irritación dérmica aguda en ratones

Escala de valorización de la irritación dérmica primaria	
Formación de eritema	Valor
Ausencia de eritema	0
Eritema muy leve (casi imperceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema de moderado a severo	3

Eritema muy severo (rojo remolacha) / (lesiones profundas)	4
Máximo posible	4
Formación de edema	Valor
Sin edema	0
Edema muy leve (casi imperceptible)	1
Edema ligero (bordes del área y levantamiento bien definidos)	2
Edema moderado (levantamiento aproximado 1mm)	3
Edema severo (extendiéndose más allá del área de exposición)	4
Máximo posible	4

Fuente: Técnica de Draize 1944 (58)

Tabla 13: Clasificación de la sustancia a ensayar

Tasa descriptiva	Índice de irritación primaria (IIP)	Criterio de aceptación
No irritante	0,0	Se aprueba (no irritante)
Ligeramente irritante	0,1 – 1,9	
Moderadamente irritante	2,0 – 5,0	Se rechaza (irritante)
Severa irritación	5,1 – 8,0	

Fuente: Técnica de Draize (58)

El índice de irritación primaria se calculó usando observaciones a 72h.

Tabla 14: Categorías tóxicas en la irritación dérmica

Categoría tóxica	Criterio
I	Corrosivo
II	Severa irritación a los 14 días

III	Moderada irritación a los 14 días
IV	No irritante, mediana o ligera irritación a los 14 días

Fuente: Manual de toxicidad. (58)

b. Administración de la sustancia a ensayar

Se utilizó nueve ratones, cada uno se preparó un día antes del tratamiento depilándolos toda la superficie del lomo, el área de contacto fue de al menos 8cm², sin dañar la piel.

Se utilizó animales sin lesiones e irritaciones cutáneas; el área depilada se dividió en dos partes iguales, una inferior donde se aplicó la sustancia a ensayar y una superior adyacente que fue utilizada como control.

Los animales se dividieron en 3 grupos, cada grupo de 3 ratones cada uno, cada grupo se trató con concentraciones al 1 %, 2 % y 3% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata L.*) respectivamente, el extracto a las concentraciones mencionadas fue aplicadas en el área inferior de 4 cm² delimitada del lomo del animal, a la parte superior del lomo de cada animal no se aplicó ninguna sustancia y se usó como control dicha zona.

Después de aplicar el extracto de flavonoides al 1 %, 2 % y 3% a cada zona de ensayo, se procedió a cubrir con una gasa quirúrgica de 2 x 2 cm cada lugar de aplicación, así como también el área control. Cada apósito se fijó con cinta adhesiva no irritante.

En las primeras 4 horas de aplicación del extracto se mantuvo a los animales en cepo para evitar la remoción del apósito y el contacto oral con la sustancia.

c. Remoción de la sustancia a ensayar:

Los lugares de tratamiento se limpiaron cuidadosamente con suero fisiológico, se utilizó algodón estéril para remover todo el material posible. Después de 4 horas de la aplicación del extracto de flavonoides al 1 %, 2% y 3%, posteriormente se procedió a retirar el apósito.

Se observaron los sitios de prueba para evaluar la formación de eritema, edema o cualquier otro tipo de irritación, estas observaciones se realizaron a los 30 minutos, 1, 24, 48 y 72 horas y a los días 7 y 14 después de la aplicación del extracto.

3.8.7. Crema de extracto de flavonoides en las concentraciones de 1, 2 y 3%

Para incorporar el extracto de flavonoide seco, a la forma farmacéutica elaborada (crema), se describieron en la literatura y se realizaron varios controles adecuados para este tipo de forma de dosificación para así determinar, cuál de ellas incorporaba adecuadamente con el extracto de flavonoide. Los controles realizados en la preparación fueron los siguientes:

Tabla 15: Formulación de la crema fotoprotectora

Reactivos	Cantidad
Cera lanette	33,75 gr
Twen 80	6.75 gr
Glicerina	6.75 gr
Metil parabeno	1.16 gr
Propil parabeno	1.16 gr
Agua destilada	375 ml
E.A.M	6 gr

Fuente: Elaboración propia

Donde:

E.A.M: Extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.)

3.8.8. Determinación organoléptica de la crema

Una de las principales características fue, que a primera vista se notó una mezcla uniforme, color característico (de acuerdo a la concentración de extracto), olor agradable, una buena textura y suave al tacto.

Los tiempos a observar fueron desde las 2 horas, las 72 horas hasta llegar a los 7 días. A medida que se fueron analizando la uniformidad, textura, consistencia, color y olor sobre las muestras.

3.8.9. Determinación fisicoquímica de la crema medida de pH

Se diluyo 1g de crema en 10mL de agua destilada y la determinación del pH se realizó mediante el uso del electrodo de vidrio a 20°C.

Extensibilidad o esparcimiento. (31)

- Colocar la placa inferior de vidrio sobre una hoja de papel milimetrado.
- Dibujar líneas diagonales.
- Coloque $1 \pm 0,1$ g de emulsión en la intersección
- Pese la placa de vidrio superior de 10 cm²
- Coloque la placa de vidrio de 10 cm² sobre la formulación
- Después de 1 minuto, mida el diámetro (mm) de la circunferencia o elipse formada (diámetro inicial)
- Comprimir con cada peso de 100gr,200 gr,300gr y 500gr cada uno durante 1 minuto

- Medir el diámetro (mm) de la capacidad de expansión del producto (diámetro final).

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

$$AE = \pi (R_P)^2$$

Dónde:

R_P : Radio promedio de las 2 medidas (mm²).

3.8.10. Determinación microbiológica de la crema

a. Microorganismo aeróbico

Se transfirió asépticamente 10 mL de la mezcla, en un recipiente que contenía peptona, tween, peptona o TAT (Tryptona - Azolectina- Tween) y se ajustó el volumen a 100 mL, se mezcló bien en un vortex mixer y posteriormente fue colocado en un baño a 40 – 45°C durante más de 10 minutos. (31)

b. Conteo de bacterias

Se transfirió 1 mL de la mezcla de 100 mL a dos placas de Petri separadas, luego se agregó aproximadamente 20 mL de TSA (agar de soja tripticasa) a cada placa. Se removió la placa con un movimiento rotatorio para obtener una buena mezcla de la muestra con el agar. Posteriormente se dejó solidificar, se invirtieron las placas y se dejaron incubarlas de 30 – 35 °C durante 7 días. (31)

c. Conteo de hongos y levaduras

Se realizó como en el punto anterior, pero en lugar de usar TSA se agregó SAB. (Sabourad dextrosa agar) y se incubó a 20 – 25°C por 5 – 7 días. Al final del periodo de incubación se contó las

colonias formadas y se reportó el promedio de bacterias y hongos encontrados por gramo de muestra. (31)

3.8.11. Evaluación in vitro del factor de protección solar (FPS)

a. Preparación de la solución

Se preparó tres formulaciones con concentraciones diferentes del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata L.*), para el vehículo seleccionado: 1.0, 2.0 y 3.0 gr de extracto en la base cremosa.

Se pesó un promedio de 0.5 gr de cada crema, se transfirieron cuantitativamente a un balón volumétrico de 100 ml por separado, conteniendo cada uno aproximadamente 30 ml de metanol para disolver la sustancia de 1.0 ml de cada balón y se transfirieron a otro balón volumétrico de 25 mL cada uno, completándose al volumen con metanol.

b. El análisis del FPS

Se sometieron las soluciones preparadas a base de las formulaciones elaboradas con el extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata L.*) y fueron analizadas mediante espectrofotómetro en la región de la radiación UVB (290 – 320 nm), principal responsable por los foto-daños cutáneos. Este análisis espectrofotométrico fue parte del método de verificación de FPS in vitro descrito por Sayre (1979) y utilizada por Mansur. (1986). (59)

Las diluciones se analizaron mediante el espectrofotómetro, los resultados obtenidos se aplicaron en la ecuación para calcular el SPF.

Tabla 16: Función del producto normalizado que se utilizaran en el cálculo de FPS

Longitud de onda (λ)	EE (λ) x I(λ)
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180
	1.0000

Fuente: Elaboración propia

Las diluciones se comprobaron con un espectrofotómetro y los resultados obtenidos se usaron en la ecuación de cálculo FPS: (59)

$$FPS = FC. \sum_{290}^{320} .EE(\lambda)2.I(\lambda).Abs(\lambda)$$

Donde:

FC: Factor de corrección (igual a 10) determinado en dos cremas fotoprotectoras de FPS conocido, igual a una crema que contiene 8% de homosalato de FPS igual a 4.

EE (λ): Efecto eritomogenico de la radiación de longitud de onda λ .

I (λ): Intensidad del sol en la longitud de onda.

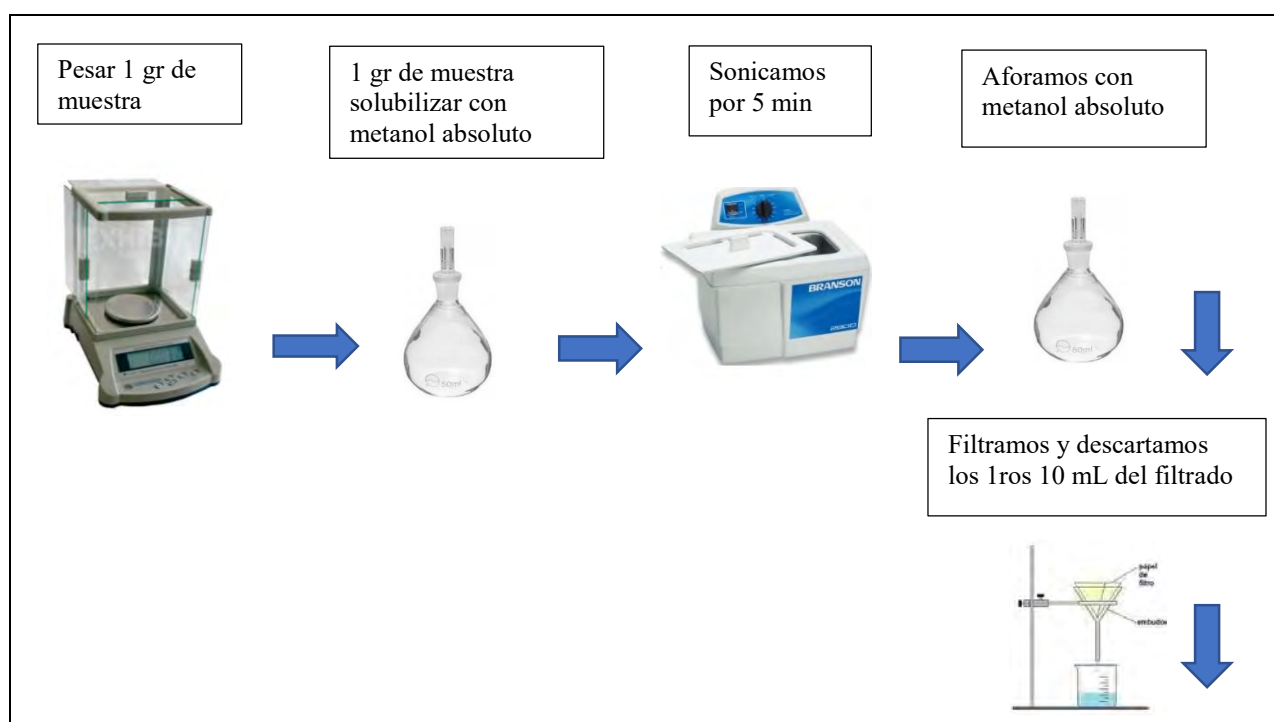
Abs (λ): Absorbancia de la solución en la longitud de onda (Borghetti y Knorst, 2006).

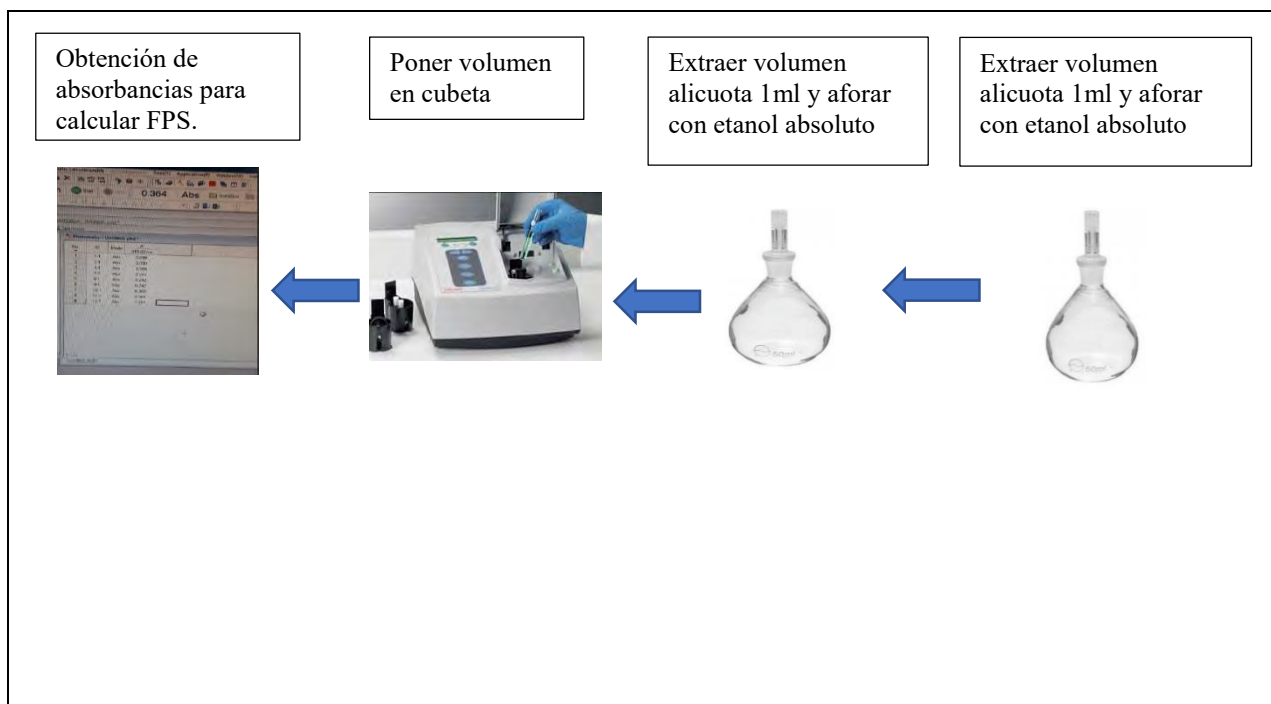
Se ha demostrado que el método desarrollado por Mansur y sus colegas demostró ser eficiente y rápido además de tener una

buena correlación con los resultados in vivo, utilizados también en otros estudios (Barth, 2000 Santos et al 1999 García et al 1990). Medir las absorbancias de una disolución en la formulación con múltiples longitudes de onda (290, 295, 300, 305, 310, 315, 320nm) y las aplicaciones en la fórmula. (59)

El método desarrollado por Diffey (Diffey, 1997) utilizando un SPF calcula la reflectancia del espectrofotómetro. Se tiene un aproximado de 30ml de etanol, que permite la disolución de contenido; luego para sonificar durante 5 minutos filtrarlo con un filtro adecuado de calibre 0.22µm, desechar los primeros 10 mL, y pipetear una alícuota de 1.0mL transferir a una fiola de 50mL, aforar con el reactivo etanol absoluto, mezclar, volver a pipetear una alícuota de 1.0mL y transferir a una fiola de 25mL enrasando con el mismo solvente y sacar la muestra a la cubeta de cuarzo, para realizar con las corridas respectivas con el espectrofotómetro previamente calibrado para longitudes de onda. (59)

Proceso de técnica in vitro del factor de protección solar (FPS):





Fuente: Elaboración propia.

3.8.12. Determinación en vivo de la capacidad fotoprotectora

a. Evaluación de cambios inflamatorios cutáneos

En el estudio in vivo, se utilizaron ratones BALB/c (*Mus musculus*), que son comúnmente empleados en fotobiología debido a su sensibilidad a la luz ultravioleta, tanto aguda como crónica, similar a la piel humana. Los mecanismos desencadenantes en estos ratones son comparables a los de los humanos. (24)

Las ventajas se resumen en: En cuanto al grosor de la piel, esta permita que existe mejor transmisión de UV, ciclo de vida corto, y pigmentación. Otro aspecto es el de fotoenvejecimiento o la otocarcinogenesis demora aún más en la piel humana, en cuanto a los experimentos es más seguro que ocurra antes. (24)

Del mismo modo se utilizaron ratones hembras BALB/c, con peso de 30 gr en promedio, y edades de 2 a 3 meses, para poder

adecuarlos estuvieron en temperaturas de 20° a 25° en ciclos de luz y oscuridad, por 15 días

Seguidamente, el animal fue depilado 48 horas antes del tratamiento, dejando un área de 8 cm² en el lomo del animal; en cuanto al producto para el experimento, fue la crema con extractos (de flavonoides) en porcentajes distintos; en los animales fueron aplicados con la ayuda de los guantes en base de latex, para ser absorbidos durante 30 minutos se tuvo que asegurar una distribución uniforme; la luz UVA/UVB utilizada fue generada por la lámpara Repti Glo 5.0 Compact; el espectro tuvo medidas de 270 a 400nm., la salida de UVA/UVB se midió utilizando sensores Nul 230 y Nul 232 (Neulog).

La lámpara se colocó a unos 15 cm del ratón; se irradió a los animales de ensayo durante 1 hora con 30 minutos a una dosis de 2.8 J/cm².

b. Cambios en la inflamación del pie

Eritema: Se realizó una evaluación del grado de enrojecimiento de las áreas expuestas de los distintos animales presentados en el sistema Draize que pudo evaluar visualmente y puede tomar valores dentro del rango 0 a 4. (58)

Tabla 17: Formación de eritema.

Formación de eritema	Valor
No hay eritema	0
Definido (rojo apreciable)	1
Moderado (rojo)	2
Intenso (rojo intenso)	3
Severo (muy enrojecido-granate)	4

Fuente: Técnica de Draize 1944 (58)

Edema: Mediante el uso de sistema de anotación Draize, que trata de estimar valores de edemas en los animales irradiados; donde se refiere a edemas a toda secreción en base a líquidos y proteínas; estos por lo general se mueven desde la sangre hacia el tejido intersticial; es por ello que puede presentarse un excesivo líquido que se le conoce también como hinchazón en la misma zona. (58)

Tabla 18: Formación de edema.

Formación de edema	Valor
No hay edema	0
Visible (desnivel definido)	1
Moderado (irregularidad de hasta 1 mm)	2
Severo (irregularidad mayor de 1 mm)	3
Severo (muy enrojecido-granate)	4

Fuente: Técnica de Draize, 1944 (58)

Se evaluaron dos parámetros desde la aparición del primer eritema y edema, luego a los 30 minutos, 6, 24, 48 y 72 horas.

3.8.13. Determinación de la capacidad fotoreparadora

a. Evaluación de los cambios morfológicos de la piel

Se tuvo que tener características especiales para proceder algunas acciones en los ratones, donde las hembras fueron usadas para estudiar los aspectos morfológicos para ello se usaron hembras sanas de peso de 30gr, entre edades de 2 a 3 meses pertenecientes a la cepa de BALB/c. (57)

Para poder asegurar resultados se mantuvo a los animales en temperaturas adecuadas de 22° hasta los 25°, para poder al final realizar una adaptación de los mismos a la luz y a la oscuridad en tiempos de 12 horas por día; el periodo de aclimatación duro

alrededor de 15 días, para proceder a su depilación antes de las 48 horas antes de iniciar con el tratamiento, dejando un área aproximada de 8 cm² en el lomo del animal.

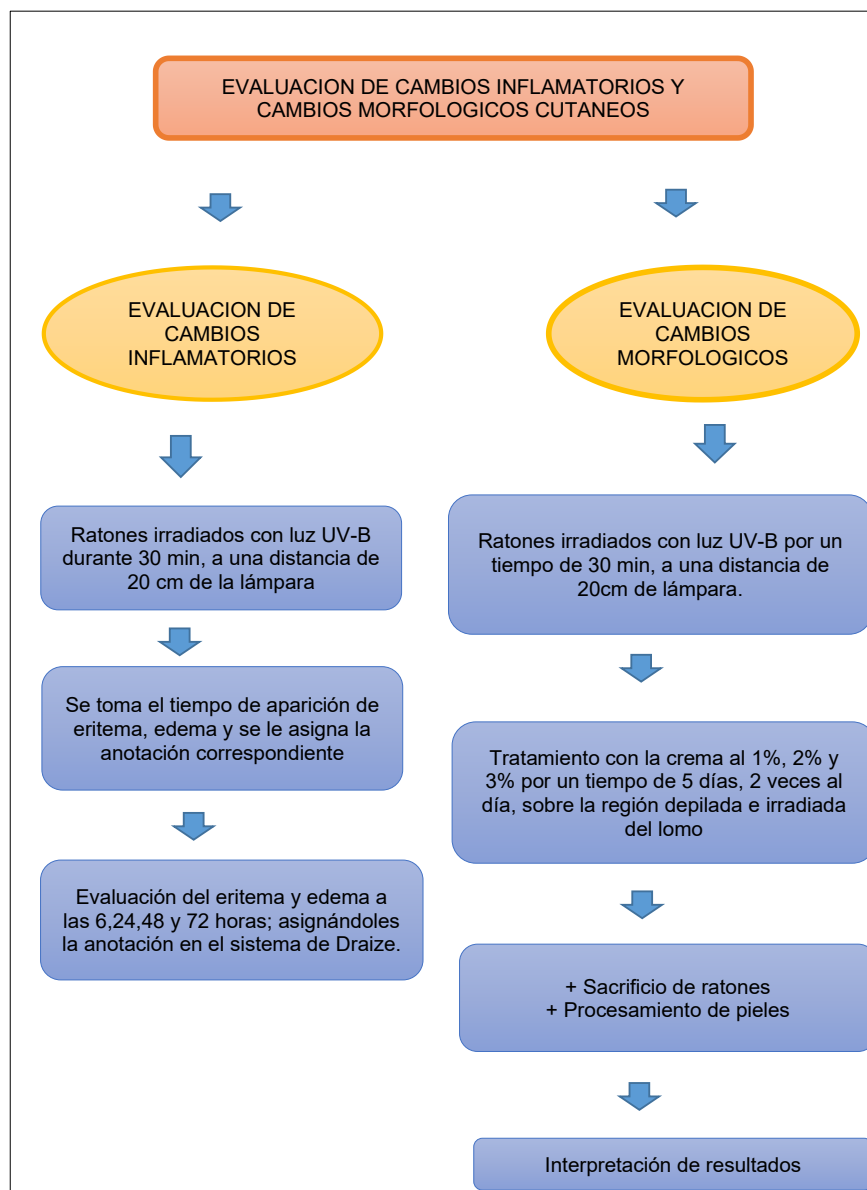
Un cierto grupo fue sometido a la irradiación de la luz ultravioleta, la cual fue realizada mediante (lámpara Repti Glo 5.0), la distancia de la lámpara con el animal fue de 16 centímetros, además de que las dosis fueron de 2,8 J/cm² en periodos de 1 hora y 30 min. El periodo de tratamiento duró cinco días, mediante el uso de las respectivas cremas del 1%, 2%, y del 3%; sobre el área depilada.

Al final del proceso, los animales fueron sacrificados mediante la dislocación cervical, el área de la piel fue consiguientemente colocada en formol en niveles de 10%; después fue conducido al laboratorio para iniciar con los análisis histopatológicos apropiados. (57)

b. Estudio histopatológico

Para el examen histopatológico se observó al microscopio óptico la preparación teñida con hematoxilina-eosina; se evaluaron los siguientes parámetros; congestión, espongiosis, hiperqueratosis, anexos, costra y úlceras; la evaluación fue realizada por especialistas en el servicio de histopatología del Hospital Regional del Cusco.

Figura 13: Evaluación de cambios inflamatorios y cambios morfológicos cutáneos.



Fuente: Elaboración propia

3.9. MÉTODOS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Ficha de registro para la recopilación de datos de la prueba de solubilidad (Anexo 1).
- Ficha de registro para la recopilación de datos de la formación de eritema y edema en el ensayo de irritación dérmica primaria. (Anexo 2).
- Ficha de registro para la recopilación de datos de la valoración de cambios inflamatorios cutáneos. (Anexo 3).
- Ficha de registro para la recolección de datos del análisis físico de las cremas con extractos. (Anexo 4).

3.10. MÉTODOS Y ANÁLISIS DE PROCESAMIENTO DE DATOS

E procesamiento de los datos estadísticos se realizó en Microsoft Excel, utilizando tablas de contingencia (cuadros cruzados) para el análisis de las variables.

CAPÍTULO IV – ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. SOBRE LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*annona muricata L.*) Y LA DESCRIPCIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

Tabla 19: Resultados del porcentaje de humedad de las hojas de masasamba

Hojas secas	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Porcentaje de humedad (%)
M1	10.00	9.0437	9.563
M2	10.00	9.0437	9.535
M3	10.00	9.0437	9.548
Promedio			9.548

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 19, se evaluó el porcentaje de humedad en tres muestras (M1, M2 y M3) de hojas secas de masasamba, partiendo de un peso inicial homogéneo de 10.00 g para cada muestra. Tras el proceso de deshidratación o secado, las tres muestras registraron un peso final constante de 9.0437 g. A partir de la pérdida de masa (agua evaporada), se determinaron los porcentajes de humedad individuales, los cuales oscilaron en un rango muy estrecho: Desde un mínimo de 9.535% (M2) hasta un máximo de 9.563% (M1). Por lo tanto, se obtuvo un **porcentaje de humedad promedio del 9.548%**. Estos resultados demuestran que las condiciones de tiempo y temperatura empleadas en el secado de las hojas fueron las adecuadas, logrando retirar el agua libre de manera uniforme y eficiente sin llegar a una sobre-deshidratación que pudiera calcinar o volatilizar compuestos orgánicos termolábiles.

En la ciencia de alimentos y productos naturales, se establece de manera general que un contenido de humedad inferior al 10% - 12% en material vegetal seco es óptimo. Al encontrarse el resultado por debajo de este umbral (9.548%), se garantiza que la actividad de agua es lo suficientemente baja como para inhibir el crecimiento de microorganismos (mohos, levaduras y bacterias) y ralentizar las reacciones enzimáticas de degradación. Esto asegura una prolongada vida útil del insumo sin riesgo de descomposición. (59)

Un proceso de secado eficiente que logre estabilizar la humedad en torno al 9.5% previene la hidrólisis y la oxidación de los metabolitos secundarios (principios activos) de las hojas de masasamba, preservando sus propiedades medicinales o agroindustriales intactas para su posterior procesamiento (como la obtención de extractos. (55)

Así también el resultado en comparación a otros estudios se mostró que se encuentra dentro del rango de los resultados de 9.38%-9.59%, estudios según Díaz Marin y Carballo Castillo.

4.2. SOBRE EL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO Y LAS PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*annona muricata L.*).

4.2.1. Respecto al análisis fitoquímico cualitativo

Tabla 20: Resultado del proceso fitoquímica de las hojas de masasamba

Componentes	Reactivos	Extracto metanolico
Flavonoides	Shinoda	+++
	Vapores de NH ₃	+++
Fenolicos	FECl ₃ 1%	+++
Quinonas	KOH 10%	+++
Taninos	FECl ₃	+++
Alcaloides	Dragendorf	+
	Mayer	+
Azucares reductores	Fheling	+++
Glicosidos	Fheling	++
Esteroides	Liebermann - Burchard	-
Saponinas	Espuma	-
Lactonas sesquiterpenicos	Baljet	+

Fuente: Datos experimentales.

LEYENDA

+++ : Presente en abundancia

++ : Presente en mediana cantidad

+ : Presente en poca cantidad

- : Resultado negativo

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los efectos medicinales de las plantas resultan de la combinación de varios metabolitos secundarios presentes en ellas, que por actividades sinérgicas o acciones aditivas pueden actuar en diferentes objetivos asociados a procesos fisiológicos. De acuerdo a la Tabla 20, se determinó en abundancia lo que son los flavonoides, compuestos fenólicos, quinonas, taninos, azúcares reductores y en mediana cantidad se encontró los glicósidos y en poca cantidad se encontró alcaloides, lactonas sesquiterpénicos y en resultado negativo se encontró esteroides y saponinas

En función a estos resultados el extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata L.*) presentan metabolitos secundarios bioactivos que le confiere efectos antioxidantes, estos compuestos neutralizan los radicales libres y protegen al cuerpo del daño celular. (19)

4.2.2. Respecto a las pruebas de solubilidad

Tabla 21: Resultados de pruebas de solubilidad del extracto de flavonoides de la especie vegetal.

Solventes	Extracto de flavonoides
Agua	+++
Metanol o alcohol metílico	+++
Alcohol etílico 40%	+++
Alcohol etílico 70%	+++
Etanol absoluto	+
Acetona	+
Acetato de etilo o etanoato de etilo	+
Éter	+
Cloroformo o tricloruro de metilo	-
n-Hexano	-

Fuente: Elaboración propia a partir de datos experimentales

LEYENDA

+++ : Presente en abundancia

++ : Presente en mediana cantidad

+: Presente en poca cantidad

-: Resultado negativo

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La selección del solvente a utilizar para la extracción de flavonoides a partir de las bracteadas de masasamba (*Annona muricata* L.) está basada en criterios de solubilidad y selectividad y al realizar el estudio de solubilidad de los extractos, se utilizaron diferentes solventes como se muestra en la Tabla 21.

Los resultados obtenidos determinan el rendimiento de extracción de flavonoides en cada solvente por tanto se afirma que es totalmente soluble en H₂O, alcohol metílico, alcohol etílico al 40% y alcohol etílico al 70%, poco soluble en etanol absoluto, propanona, acetato de etilo y éter e insoluble en cloroformo y hexano

El solvente es capaz de cumplir con las condiciones de solubilidad y selectividad y por tanto se cuenta con todos los que consideramos totalmente soluble, por el cual se decidió utilizar como solvente el agua ya que esta es de menor costo y por ser un buen solvente extractor de alcaloides a comparación del resto.

4.3. SOBRE LA PREPARACIÓN DE UNA CREMA BASE E INCORPORACION DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*annona muricata L.*)

Tabla 22: Características organolépticas y fisicoquímicas de las formas farmacéuticas.

Análisis organoléptico			
Análisis	Concentraciones		
	Crema al 1%	Crema al 2%	Crema al 3%
Aspecto	Homogéneo	Homogéneo	Homogéneo
Textura	Cremosa	Cremosa	Cremosa
Consistencia	Ligera (poco densa y de fácil absorción)	Ligera (poco densa y de fácil absorción)	Ligera (poco densa y de fácil absorción)
Color	Verde musgo suave (PANTONE 17-0535 TPG – Green Olive)	Amarillo-verdoso (PANTONE 18-0625 TCX – Martini Olive)	verde oliva oscuro (PANTONE18-0521 TCX – Burnt olive)
Olor	Característico	Característico	Característico
Análisis fisicoquímico			
pH	6.18	6.21	6.23
Extensibilidad	22.15	23.44	24.23

Fuente: Elaboración propia a partir de datos experimentales

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Según la tabla 22 el **Aspecto, Textura y Consistencia** en las tres formulaciones (1%, 2% y 3%) mostraron un aspecto homogéneo, textura cremosa y consistencia ligera. Esto indica que el incremento en la concentración del principio activo o extracto no alteró la estructura física base de la emulsión, manteniendo las propiedades mecánicas deseadas para una aplicación tópica confortable. **Color**, se observa una variación gradual y directamente proporcional a la concentración: Verde claro (1%), verde (2%) y verde oscuro (3%). Este comportamiento es esperado y confirma la presencia progresiva del componente

activo. **Olor** en todos los casos el olor fue característico, lo que demuestra la estabilidad aromática de la crema elaborada sin indicios de degradación o rancidez durante la mezcla.

A pesar del leve aumento del pH, los valores de las tres formulaciones se mantienen en un rango ligeramente ácido/neutro (6.18 - 6.23). Este rango es altamente compatible con el pH fisiológico de la piel humana (que oscila entre 4.5 y 6.5 según la zona corporal). Esto garantiza que ninguna de las tres variantes resultaría irritante o agresiva para la barrera cutánea, asegurando su seguridad dermatológica preliminar. (60)

Con estos resultados observados se puede concluir que al momento de incorporar los extractos a la crema base hubo una homogenización adecuada entre la crema base y el extracto para seguir con los ensayos posteriores y el cual señala que las cremas están en condiciones favorables para el uso.

4.4. SOBRE LA REALIZACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD ORGANOLÉPTICO, FISICOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA ELABORADA A BASE DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona muricata* L.)

Tabla 23: Resultados de tiempos de retención de flavonoides del extracto.

Flavonoides	Tiempo de retención (min)
1	17.28
2	17.58
3	18.12
4	19.03
5	19.18
6	20.22
7	20.78
8	21.61

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Mediante HPLC se obtuvieron los valores de retención como se muestra en el Tabla 23 y picos máximos de absorción para las fracciones de la muestra y los estándares de flavonoides, al analizar los resultados se identificó la presencia de flavonoides en el extracto de *Annona muricata* L.(masasamba). Los resultados cualitativos obtenidos por HPLC para la detección de flavonoides se basaron utilizando la librería de espectros ultravioleta de quercetina 3 glucosido.

Tabla 24: Resultados de la lectura microbiológica

Crema	<i>Salmonella</i> spp	Microorganismos aerobios (UFC/g)	Hongos y levaduras/g	Observaciones
1%	Ausencia	< 10 ² UFC	< 10 ² UFC	Cumple LPM
2%	Ausencia	< 10 ² UFC	< 10 ² UFC	Cumple LPM
3%	Ausencia	< 10 ² UFC	< 10 ² UFC	Cumple LPM

Fuente: elaboración propia a partir de los datos experimentales

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Según la Tabla 24, se determinó la ausencia de *Salmonella* spp. en todas las muestras, tanto el recuento de microorganismos aerobios como el de hongos y levaduras se mantuvieron por debajo del límite permitido (<10² UFC/g); también en los tres casos se registró la observación límite Permisible Máximo (LPM).

La ausencia de *Salmonella* spp. es el indicador más crítico de seguridad alimentaria y cosmética, ya que este patógeno está estrictamente restringido debido a su potencial para causar infecciones graves. Los recuentos de aerobios, hongos y levaduras inferiores a < 10² UFC/g reflejan una baja carga microbiana inicial. Esto indica que las materias primas utilizadas contaban con una calidad sanitaria óptima y que los procesos de elaboración, envasado y manipulación se realizaron bajo estrictas condiciones higiénico-sanitarias (Buenas Prácticas de Manufactura). Al cumplir con el límite permisible máximo "LPM" confirma que el producto final se encuentra dentro de los rangos de tolerancia exigidos por las normativas sanitarias vigentes. Por lo tanto, el producto es apto para la aplicación

segura, garantizando una vida útil estable frente a la degradación microbiana.
(61)

4.5. SOBRE LA DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE PROTECCIÓN SOLAR DE LA CREMA ELABORADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*annona muricata* L.) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES, UTILIZANDO EL MÉTODO DE IRRADIACIÓN UVB SOBRE LA PIEL EN RATONES (*Mus musculus*) albinos BALB/c

4.5.1. Valoración de cambios inflamatorios cutáneos

Tabla 25: Resultado de la valoración de los cambios inflamatorios cutáneos.

Grupo	No animal	Eritema					Edema				
		30min	6h	24h	48h	72h	30min	6h	24h	48h	72h
Control (-)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control (+)	1	3	2	2	1	0	2	1	1	0	0
	2	2	1	1	0	0	1	1	0	0	0
	3	3	2	2	1	0	3	2	2	1	0
Patrón	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1%	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	2	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
	3	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
2%	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3%	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia de datos provenientes de la experimentación

LEYENDA

Control (-): Conjunto de ratones sin ningún tratamiento, no sometidos a radiación.

Control (+): Conjunto de ratones sin ningún tratamiento, sometidos a radiación.

En base a crema con extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.)

- Patrón: Conjunto de ratones, con tratamiento de crema patrón.
- 1%: grupos de ratones tratados con crema de extracto a 1%.
- 2%: grupos de ratones tratados con crema de extracto a 2%.
- 3%: grupos de ratones tratados con crema de extracto a 3%.

Eritema

- 0: Sin eritema
- 1: Presencia de Eritema muy ligero (casi imperceptible – rojo apreciable)
- 2: Presencia de Eritema bien definido (rojo)
- 3: Eritema moderado a severo (rojo intenso)
- 4: Eritema muy severo (muy enrojecido – granate)

Edema

- 0: Sin edema
- 1: Presencia de edema muy ligero (casi imperceptible)
- 2: Presencia de edema ligero (desnivel definido)
- 3: Edema moderado (levantamiento aproximado de 1 mm)
- 4: Edema muy severo (desnivel mayor a 1 mm)

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Según la tabla 25, el **Control (-)** mantuvo un valor de 0 en todo el ensayo, garantizando que el manejo físico de los animales no causó falsos positivos. El

Control (+) generó respuestas severas inmediatas (eritema de grado 3 y edema de grado 3 en algunos animales a los 30 min y 6 h), lo que demuestra la sensibilidad del modelo biológico.

Comportamiento de las Concentraciones (1%,2% y 3%):

A los **30 minutos**, las tres concentraciones muestran una respuesta leve y homogénea de eritema (puntuación constante de 1 en casi todos los animales). El edema también se manifiesta de forma muy sutil (puntuaciones de 1 o 0). Esto indica un efecto irritante transitorio inmediato tras la aplicación.

A las **6 horas**, los signos empiezan a mostrarse visiblemente en todos los grupos experimentales.

A partir de las **24 horas**, la recuperación es prácticamente total. La única excepción es un leve eritema remanente a las 24 horas en el grupo de 1% (animal 1) y en el de 3% (animales 1 y 2), el cual desaparece por completo (puntuación 0) a las 48 y 72 horas.

Las tres concentraciones evaluadas (**1%,2% y 3%**) presentaron una excelente tolerancia dérmica en el modelo animal. Aunque existió una reacción biológica muy leve durante las primeras horas post-aplicación (enrojecimiento mínimo), esta fue de carácter reversible y transitorio, desapareciendo antes del umbral crítico del estudio.

Tabla 26: Resultados de la valoración de los cambios inflamatorios cutáneos como eritema

Concentración		Eritema 30min				Eritema 6h			Eritema 24h			Eritema 48h		Eritema 72h	Total
		No eritema	Eritema ligero	Eritema definido	Eritema moderado a severo	No eritema	Eritema ligero	Eritema definido	No eritema	Eritema ligero	Eritema definido	No eritema	Eritema ligero	No eritema	
Control +	Recuento	0	0	1	2	0	1	2	0	1	2	1	2	3	3
	% dentro de concentración	0.0%	0.0%	33.3%	66.7%	0.0%	33.3%	66.7%	0.0%	33.3%	66.7%	33.3%	66.7%	100.0%	100.0%
Patrón	Recuento	1	2	0	0	2	1	0	3	0	0	3	0	3	3
	% dentro de concentración	33.3%	66.7%	0.0%	0.0%	66.7%	33.3%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%	100.0%
1%	Recuento	0	3	0	0	1	2	0	3	0	0	3	0	3	3
	% dentro de concentración	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	33.3%	66.7%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%	100.0%
2%	Recuento	0	3	0	0	2	1	0	3	0	0	3	0	3	3
	% dentro de concentración	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	66.7%	33.3%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%	100.0%
3%	Recuento	0	3	0	0	2	1	0	2	1	0	3	0	3	3
	% dentro de concentración	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	66.7%	33.3%	0.0%	66.7%	33.3%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%	100.0%
Total	Recuento	1	11	1	2	7	6	2	11	2	2	13	2	15	15
	% dentro de concentración	6.7%	73.3%	6.7%	13.3%	46.7%	40.0%	13.3%	73.3%	13.3%	13.3%	86.7%	13.3%	100.0%	100.0%

Fuente: elaboración propia a partir de datos experimentales

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- **A los 30 minutos**

- El control positivo presenta un caso de eritema definido y 2 casos de eritema moderado a severo
- El patrón presenta 1 caso sin eritema y 2 casos de eritema ligero
- Los grupos del 1%, 2% y 3% presentan eritema ligero en todos sus casos.
- De esto podemos deducir que el patrón presenta una mayor efectividad en comparación con los extractos.
- También podemos observar que el 73.3% del total de los casos presenta eritema ligero.

- **A las 6 horas**

- El grupo control positivo tiene 1 caso de eritema ligero y 2 casos de eritema definido, aquí podemos evidenciar como la piel de los ratones empieza a recuperarse sin la necesidad de ningún tratamiento.
- El patrón presenta 2 casos sin eritema y 1 caso con eritema ligero, vemos que el patrón ejerce un mayor efecto en la recuperación de la piel de los ratones, lo cual se puede deber a la composición que contiene. (Evaluar la composición del patrón y sugerir posibles causas de este efecto)
- Al 1% tenemos 1 caso sin eritema y 2 casos con eritema ligero.
- Al 2% y al 3% tenemos 2 casos sin eritema y 1 caso con eritema ligero en cada grupo, finalmente vemos que estas concentraciones ejercen un efecto mayor en la recuperación de la piel de los ratones en comparación con el extracto al 1%.

- **A las 24 horas**

- El grupo control positivo se mantiene igual que a las 6 horas.
- El patrón, 1% y 2 % ya no poseen eritema en su totalidad

- Al 3% se tiene 2 casos sin eritema y 1 con eritema ligero.

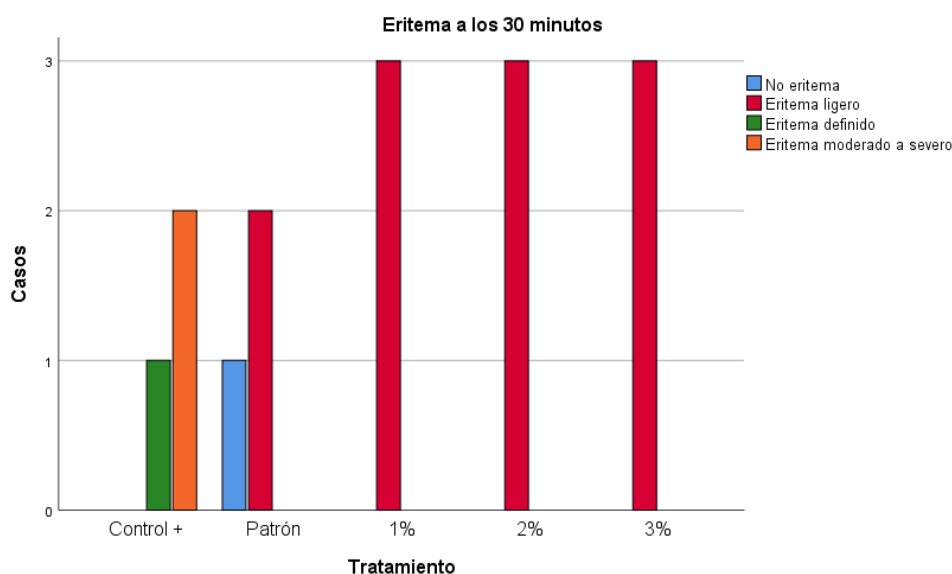
- **A las 48 horas**

- El grupo control presenta 1 caso sin eritema y 2 con eritema ligero, siendo el que más tarda en recuperarse.
- El resto de grupos ya presenta recuperación en su totalidad.

- **A las 72 horas**

- Todos los grupos presentan recuperación total.

Figura 14: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a los 30 minutos.



Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la **Figura 14** se detalla la distribución de los casos (número de animales de experimentación) según el grado de eritema observado a los 30 minutos de la exposición cutánea a los diferentes tratamientos.

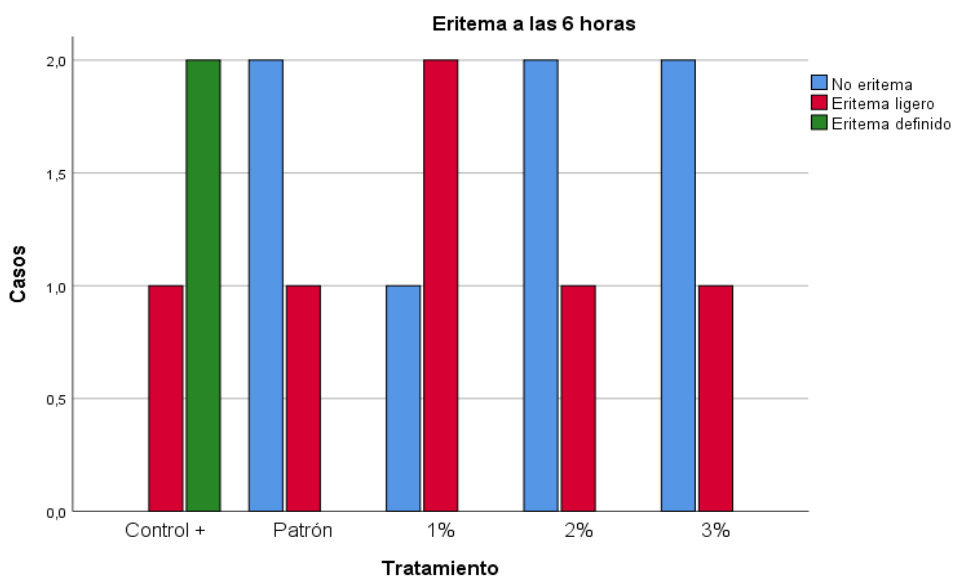
El grupo **Control positivo (Control +)** manifestó la mayor severidad clínica en este periodo inicial, registrando 1 animal con eritema definido y 2 animales con

eritema moderado a severo, sumando la totalidad de su muestra con signos evidentes de alteración dérmica. Por su parte, el grupo **Patrón** exhibió una respuesta atenuada, donde 1 animal no presentó eritema (no eritema) y los 2 restantes desarrollaron únicamente eritema ligero.

En lo que respecta a los grupos experimentales tratados con las **cremas a concentraciones del 1%, 2% y 3%**, se evidenció un comportamiento homogéneo entre sí a los 30 minutos de la evaluación. En los tres grupos evaluados, el 100% de los animales de experimentación (n=3 para cada concentración) presentaron exclusivamente eritema ligero, sin registrarse variaciones graduales ni casos de mayor severidad (definido o moderado a severo) a pesar del incremento en la concentración del principio activo.

La manifestación uniforme de eritema ligero en las concentraciones del 1%, 2% y 3% sugiere que el efecto biológico primario de las formulaciones se establece de manera rápida (dentro de la primera media hora), pero con un perfil de seguridad o irritabilidad bajo y controlado en comparación con el control positivo.

Figura 15: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 6 horas.



Fuente: Elaboración propia

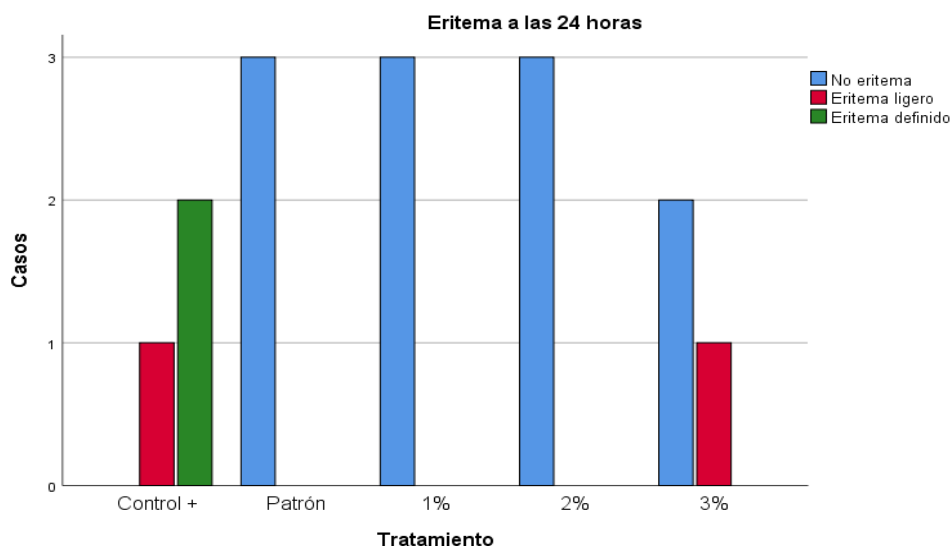
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la figura 15 se observa lo siguiente: **Control Positivo (Control +)**: Muestra el mayor nivel de irritación. Registra 2 animales con eritema definido (el grado más alto) y 1 animal con eritema ligero. Ningún animal quedó libre de eritema.

Patrón (Estándar de referencia): Registra 2 animales sin eritema y solo 1 animal con eritema ligero. Presenta un perfil seguro, con una respuesta irritante mínima. **Crema al 1%**: Registra 1 animal sin eritema y 2 animales con eritema ligero. Es la concentración de los tratamientos evaluados que muestra un mayor índice de irritación leve. **Crema al 2%**: Invierte el resultado de la concentración anterior, mostrando 2 animales sin eritema y 1 animal con eritema ligero. **Crema al 3%**: Muestra exactamente el mismo comportamiento que el grupo Patrón y la crema al 2%, registrando 2 animales sin eritema y 1 animal con eritema ligero.

Todos los tratamientos evaluados (**Patrón, 1%, 2% y 3%**) demostraron ser significativamente menos irritantes que el Control Positivo. La ausencia total de "Eritema definido" (barras verdes) en las cremas experimentales y en el patrón confirma que las formulaciones no alcanzan niveles severos de irritación cutánea a las 6 horas de exposición. **La crema al 1%** produce una irritación leve en la mayoría de los ratones (2 de 3 casos). Al aumentar la concentración al 2% y 3%, el perfil de seguridad mejora, ya que la mayoría de los animales (2 de 3 casos) no presentaron ningún tipo de eritema.

Figura 16: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 24 horas.



Fuente: Elaboración propia

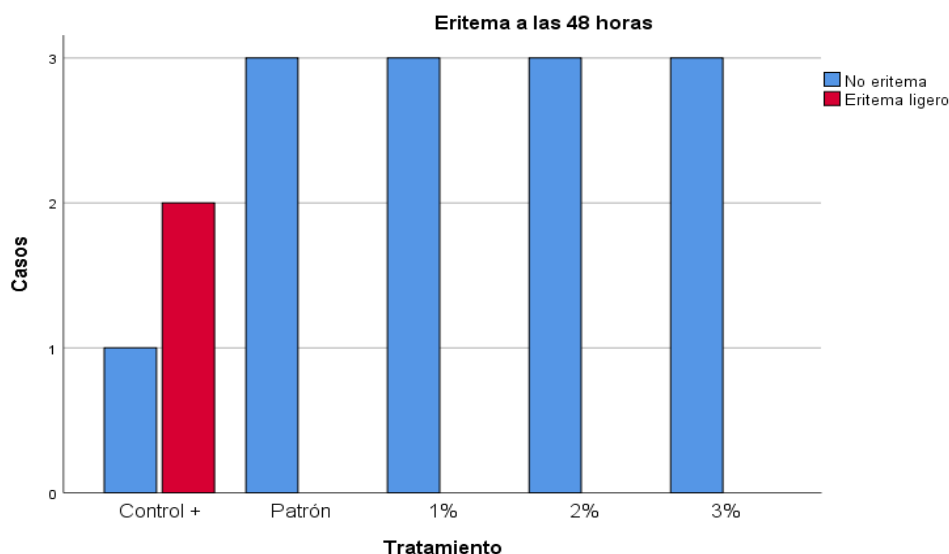
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la figura 16 se observa lo siguiente: **Control Positivo (Control +):** Muestra la mayor reacción adversa. De los 3 animales evaluados, 1 presentó eritema ligero y 2 presentaron eritema definido. No hubo ningún animal libre de eritema (0% en azul). Esto valida el ensayo, demostrando que el modelo es sensible a agentes irritantes. **Patrón:** Los 3 animales presentaron una ausencia total de eritema ("No eritema"). Esto indica que el estándar de referencia utilizado es completamente inocuo para la piel en las condiciones evaluadas a las 24 horas. **Crema al 1%:** Los 3 animales se mantuvieron sin eritema. A esta concentración baja, el producto no genera ninguna reacción adversa visible a las 24 horas. **Crema al 2%:** Al igual que en los dos grupos anteriores, los 3 animales presentaron "No eritema". La duplicación de la concentración no alteró el perfil de seguridad inmediata. **Crema al 3%:** A la concentración más alta evaluada, se observa la aparición de reactividad. 2 animales no presentaron eritema, pero 1 de ellos desarrolló eritema ligero.

Los resultados sugieren un excelente perfil de tolerabilidad cutánea para las concentraciones más bajas. Las formulaciones al 1% y 2% igualan el

comportamiento del grupo "Patrón", lo que significa que a las 24 horas son completamente seguras y no irritantes en el modelo animal utilizado.

Figura 17: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 48 horas.



Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la figura 17 se observa lo siguiente: La muestra consta de 3 animales por grupo de tratamiento, evaluando un total de 5 grupos. **Control Positivo:** Presenta 1 caso de "No eritema" (azul) y 2 casos de "Eritema ligero" (rojo). Es el único grupo que muestra una reacción adversa en la piel. Los grupos patrón, crema al (1%, 2% y 3%) todos ellos presentan 3 casos de "No eritema" (100% de la muestra sin reacción).

Por lo tanto, las cremas evaluadas en sus tres concentraciones diferentes (1%, 2% y 3%), al igual que el tratamiento "Patrón", demostraron ser completamente inocuas respecto a la inducción de eritema a las 48 horas de la exposición. Ninguno de los animales en estos grupos desarrolló enrojecimiento, ni siquiera de nivel ligero. El incremento en la concentración de la crema (del 1% al 3%) no

generó ningún tipo de irritación acumulativa o tardía a las 48 horas, lo que sugiere un excelente perfil de tolerabilidad cutánea para los componentes de la fórmula en el rango testado.

Tabla 27: Cambios de aspecto inflamatorio cutáneos- valoración de aspectos cutáneos como edema.

Concentración		Edema 30 min				Edema 6 h			Edema 24 h			Edema 48 h		Edema 72 h
		No edema	Edema ligero	Edema definido	Edema moderado a severo	No edema	Edema ligero	Edema definido	No edema	Edema ligero	Edema definido	No edema	Edema ligero	No edema
Control +	Recuento	0	1	1	1	0	2	1	1	1	1	2	1	3
	% dentro de Concentración	0.0%	33.3%	33.3%	33.3%	0.0%	66.7%	33.3%	33.3%	33.3%	33.3%	66.7%	33.3%	100.0%
Patrón	Recuento	3	0	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	3
	% dentro de Concentración	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%
1%	Recuento	0	3	0	0	1	2	0	3	0	0	3	0	3
	% dentro de Concentración	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	33.3%	66.7%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%
2%	Recuento	2	1	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	3
	% dentro de Concentración	66.7%	33.3%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%
3%	Recuento	2	1	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	3
	% dentro de Concentración	66.7%	33.3%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%
Total	Recuento	7	6	1	1	10	4	1	13	1	1	14	1	15
	% dentro de Concentración	46.7%	40.0%	6.7%	6.7%	66.7%	26.7%	6.7%	86.7%	6.7%	6.7%	93.3%	6.7%	100.0%

Fuente: Elaboración propia a partir de datos experimentales.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- **A los 30 min**

- El control positivo presenta 1 caso de edema ligero, 1 caso de edema definido y 1 caso de edema moderado a severo.
- El patrón no presenta edema.
- Al 1 % todos los casos presentan edema ligero.
- Al 2 y al 3 %, 2 casos no presentan edema y 1 caso edema ligero en cada grupo.

- **A las 6 horas**

- El control positivo presenta 2 casos de edema ligero y solo 1 casos de edema definido.
- Al 1% tenemos 1 caso sin edema y 2 casos con edema ligero.
- Al 2% y 3%, ya no presentan edema.

- **A las 24 horas**

- El grupo control positivo presenta 1 caso sin edema, 1 caso con edema ligero y 1 caso con edema definido.
- Al 1% ya no presenta edema.

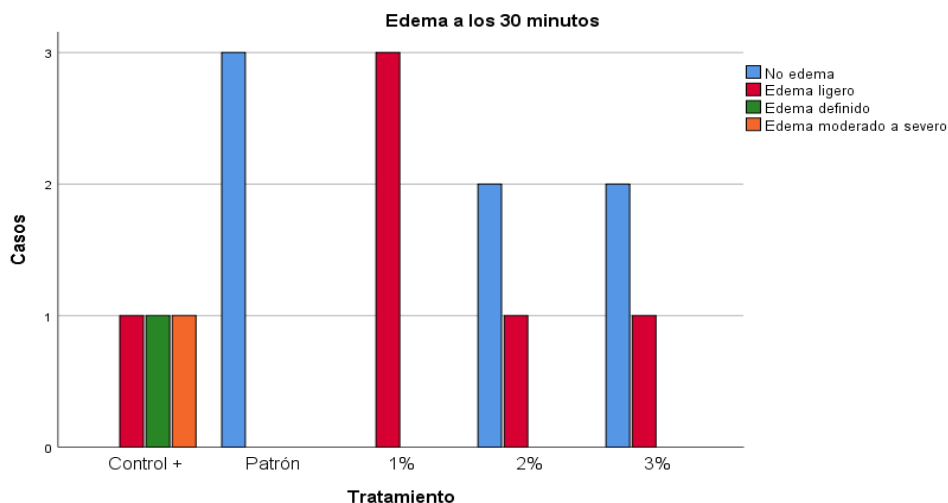
- **A las 48 horas**

- El grupo control positivo presenta 2 casos sin edema y 1 caso con edema ligero.

- **A las 72 horas**

- Todos los grupos presentan recuperación total.

Figura 18: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a los 30 minutos.



Fuente: Elaboración propia

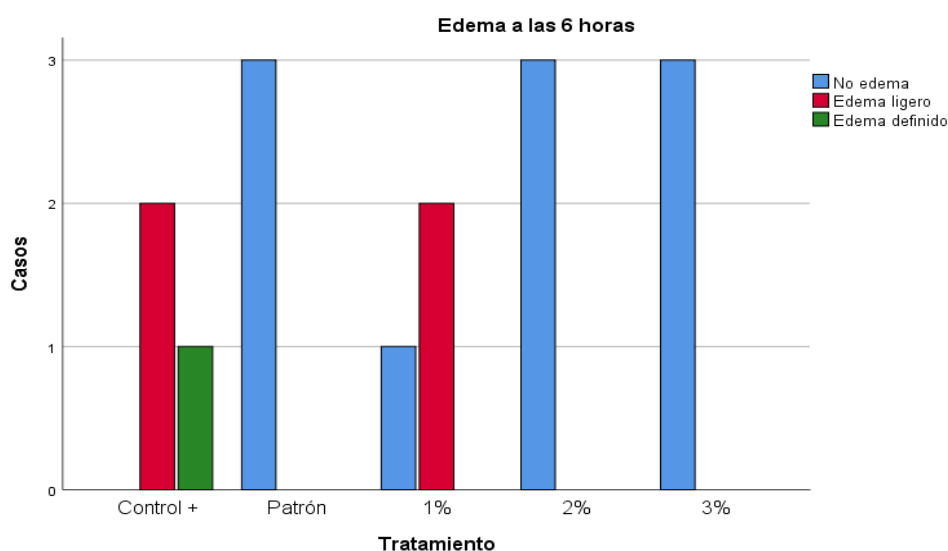
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la figura 18 se muestra lo siguiente: **Control Positivo:** Muestra el perfil de mayor gravedad. De los 3 animales observados, ninguno está libre de edema: 1 presenta Edema ligero (rojo), 1 presenta Edema definido (verde) y 1 presenta Edema moderado a severo (naranja). Es el único grupo que manifiesta los grados más altos de inflamación. **Patrón:** Muestra una eficacia óptima a los 30 minutos. Los 3 animales evaluados se encuentran en la categoría de No edema (azul). **Crema al 1%:** Los 3 animales presentan Edema ligero (rojo). Ninguno logró la ausencia de edema, pero tampoco desarrollaron cuadros severos. **Crema al 2%:** Muestra una mejoría respecto a la concentración del 1%. De los 3 animales, 2 lograron revertir el síntoma (No edema) y solo 1 se mantuvo con Edema ligero. **Crema al 3%:** Presenta exactamente el mismo comportamiento que el grupo del 2% (2 animales con No edema y 1 con Edema ligero).

A los 30 minutos, el tratamiento "Patrón" sigue siendo el más efectivo, logrando el 100% de efectividad (No edema en los 3 ratones). Existe una clara relación entre el incremento de la concentración de la crema y la disminución del edema. Al pasar del 1% al 2%, el número de ratones sanos (No edema) sube de 0 a 2. Sin embargo, este efecto parece alcanzar una meseta al 2%, ya que duplicar o

triplicar la dosis (pasar al 3%) no genera una mejoría adicional en este periodo de tiempo.

Figura 19: Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 6 horas.



Fuente: Elaboración propia

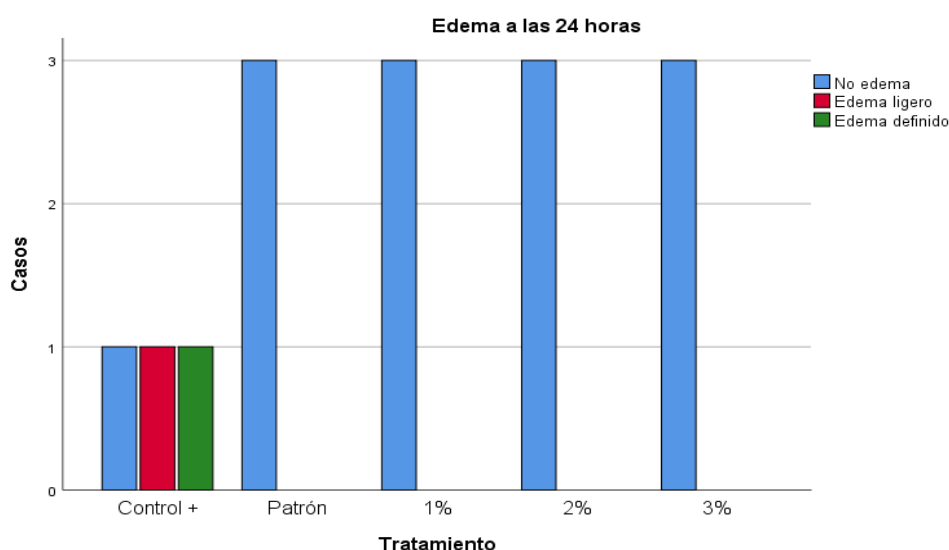
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la figura 19 se muestra lo siguiente: **Control Positivo:** Presenta la mayor severidad de inflamación. 2 animales desarrollaron Edema ligero (barra roja) y 1 animal desarrolló Edema definido (barra verde). Ninguno quedó libre de edema. **Patrón:** Mostró una efectividad total. Los 3 animales se mantuvieron en la categoría No edema (barra azul). **Crema al 1%:** Presenta una respuesta intermedia/baja. 1 animal no tuvo edema, pero **2 animales** desarrollaron Edema ligero. **Crema al 2%:** Mostró una efectividad total. Los 3 animales se registraron en la categoría No edema. **Crema al 3%:** Al igual que el grupo anterior, mostró máxima efectividad, con los 3 animales en la categoría No edema.

La concentración más baja (1%) no es suficiente para contrarrestar por completo la inflamación, ya que la mayoría de los animales manifestaron edema ligero. Al incrementar la concentración al 2% y 3%, el efecto inflamatorio se inhibe por completo (0% de edema), igualando la eficacia del tratamiento Patrón.

Por lo tanto, las cremas al 2% y 3% nos indica un perfil terapéutico óptimo a las 6 horas, igual de eficaz que el grupo patrón, logrando prevenir o revertir por completo la formación del edema en la totalidad de los animales en experimentación de prueba.

Figura 20. Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 24 horas.



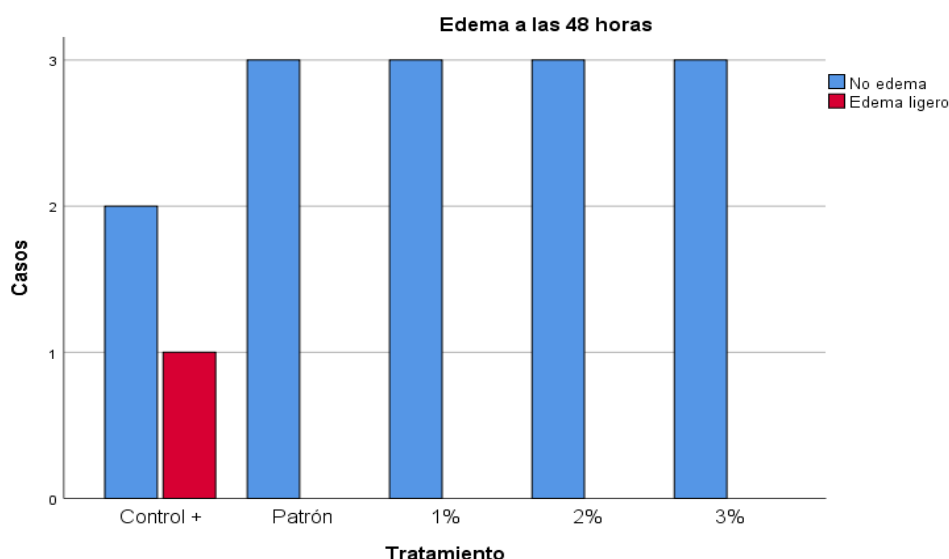
Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la figura 20 se muestra lo siguiente: En el **Grupo Control Positivo**: 1 ratón no presenta edema (barra azul), el otro ratón presenta edema ligero (barra roja) y el tercer ratón presenta edema definido (barra verde). **Grupo Patrón y Grupos de Tratamiento (1%, 2% y 3%)**: Los cuatro grupos muestran un comportamiento idéntico y uniforme. En cada uno de ellos: Los 3 animales evaluados entran en la categoría de "No edema" (barra azul). Hay 0 casos de edema ligero o definido.

La total ausencia de edema ligero o definido en las concentraciones evaluadas (1%, 2% y 3%) demuestra que las cremas experimentales son seguras para la piel en las condiciones del ensayo a las 24 horas. No generan reacciones adversas inflamatorias agudas perceptibles.

Figura 21. Gráfico de casos (Nro. de animales de experimentación) respecto al tratamiento (cremas a diferentes concentraciones, patrón y control positivo) observados a las 48 horas.



Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la figura 21 se muestra lo siguiente: **Control Positivo:** De un total de 3 animales, 2 casos no presentaron edema (azul) y 1 caso desarrolló un edema ligero (rojo). Es el único grupo del experimento donde se registró una reacción adversa cutánea a las 48 horas. **Patrón:** Los 3 animales evaluados se mantuvieron completamente sanos, registrando la categoría de "No edema". **Cremas Experimentales (1%, 2% y 3%):** En las tres concentraciones evaluadas, el 100% de los animales (3 casos por cada grupo) se mantuvieron en la categoría de "No edema". No se observó ninguna variación ni dosis-respuesta que indicara toxicidad o irritación al aumentar la concentración de la crema.

Por lo tanto, Las cremas evaluadas en las concentraciones del 1%, 2% y 3% demuestran ser totalmente inocuas o seguras a las 48 horas bajo las condiciones del ensayo. Su comportamiento es idéntico al del grupo Patrón.

4.6. SOBRE LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR (FPS) MEDIANTE EL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA CREMA ELABORADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona muricata* L.) EN VARIAS CONCENTRACIONES DE UN PRODUCTO PATRÓN CON UN FPS CONOCIDO.

4.6.1. Resultados del producto comercial (patrón) determinación in vitro del factor de protección solar (FPS)

Tabla 28: Resultado de las Absorbancias del Producto Comercial (Eucerin al 30 FPS)

Longitud de onda (λ)	EExI	Absorbancias	EExIxAbs
290	0.0150	2.637	0.040
295	0.0817	2.554	0.209
300	0.2874	2.545	0.731
305	0.3278	2.632	0.863
310	0.1864	3.562	0.664
315	0.0839	3.239	0.272
320	0.0180	3.256	0.059
Sumatoria			2.837
x10			28.368
FPS			30.000

Fuente: Datos experimentales

Fórmula para la determinación del factor de protección solar

$$FPS = FC. \sum_{290}^{320} EE(\lambda) 2. I(\lambda). Abs(\lambda)$$

Donde:

FC: Factor de corrección (igual a 10) determinado en dos cremas fotoprotectoras de FPS conocido, semejante manera a una crema que contiene 8% de homosalato de FPS igual a 4.

EE (λ): Efecto eritomogenico de la radiación de longitud de onda λ .

I (λ): Intensidad del sol en la longitud de onda.

Abs (λ): Absorbancia de la solución en la longitud de onda.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En tabla 28, la sumatoria de los productos individuales da un valor corregido de 2.837. Al aplicar el factor de corrección multiplicador (x 10), el resultado final obtenido en el ensayo es un FPS de 30.000. Dado que el producto de referencia evaluado es comercialmente etiquetado como Eucerin 30 FPS, el valor obtenido en este análisis *in vitro* (30.000) coincide de manera exacta con el valor teórico esperado. (62)

Por lo tanto, demuestran una excelente precisión técnica en la calibración de los equipos de medición y en la preparación de las diluciones de la muestra.

Tabla 29: Resultado del factor de protección solar del producto comercial (Eucerin al 30 FPS)

Producto comercial	Composición declarada	FPS declarada	FPS calculada
Eucerin crema	Homosalato Butil metoxidibenzoilmetano Salicilato de etilhexilo Octocrileno	30.000	28.368

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

En el resultado obtenido (Tabla 29), nos indica que la metodología *in vitro* de Mansur empleada resulta altamente confiable para ser utilizada como control de calidad o patrón de comparación frente a otros fotoprotectores formulados en desarrollo, ya que los resultados fueron idénticos al del teórico. (62)

4.6.2. Resultado de la determinación *in vitro* del factor de protección solar (FPS) de las cremas con el extracto de flavonoides de la masasamba (*Annona muricata* L.)

Tabla 30: Resultado de las absorbancias en las formulaciones al 1%, 2% y 3%

Longitud de onda λ	Absorbancias		
	1%	2%	3%
290	0.04	0.087	0.098
295	0.028	0.067	0.095
300	0.087	0.201	0.292
305	0.104	0.236	0.341
310	0.102	0.242	0.358
315	0.098	0.242	0.364
320	0.103	0.248	0.373

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La **Tabla 30** nos muestra los valores de absorbancia medidos en un rango de longitud de onda (λ) de 290 nm a 320 nm (región espectral correspondiente principalmente a la radiación UVB, crítica para el cálculo del FPS *in vitro* mediante el método de Mansur). (62)

Con estos resultados se observa un comportamiento directamente proporcional entre la concentración del extracto de masasamba y los niveles de absorbancia en todo el espectro evaluado. A una longitud de onda de 310 nm, por ejemplo,

la absorbancia se incrementa de 0.102 (crema al 1%) a 0.242 (crema al 2%) y alcanza un máximo de 0.358 (crema al 3%). Independientemente de la concentración, las tres curvas muestran una tendencia similar. Existe una disminución leve en la absorbancia a los 295 nm (alcanzando el mínimo de 0.028 para la formulación al 1%), seguido de un incremento a partir de los 300 nm.

El incremento notable de la absorbancia a medida que aumenta el porcentaje del extracto demuestra que los metabolitos secundarios presentes en la *Annona muricata* L. (específicamente los flavonoides) poseen estructuras químicas con cromóforos capaces de absorber eficazmente la radiación ultravioleta en el rango analizado (290- 320 nm). (56)

Dado que el Factor de Protección Solar (FPS) se calcula matemáticamente de forma integrada a partir de estos valores de absorbancia multiplicados por el efecto eritematogénico y la intensidad solar (según la ecuación de Mansur), la formulación al **3%** es la que ofrecerá el **mayor valor de FPS**. Su capacidad de absorción supera en más de tres veces a la formulación del 1% en casi todas las longitudes de onda. (por ejemplo, a 315 nm se observa 0.364 frente a 0.098). (62)

Tabla 31: Resultado del factor de protección solar

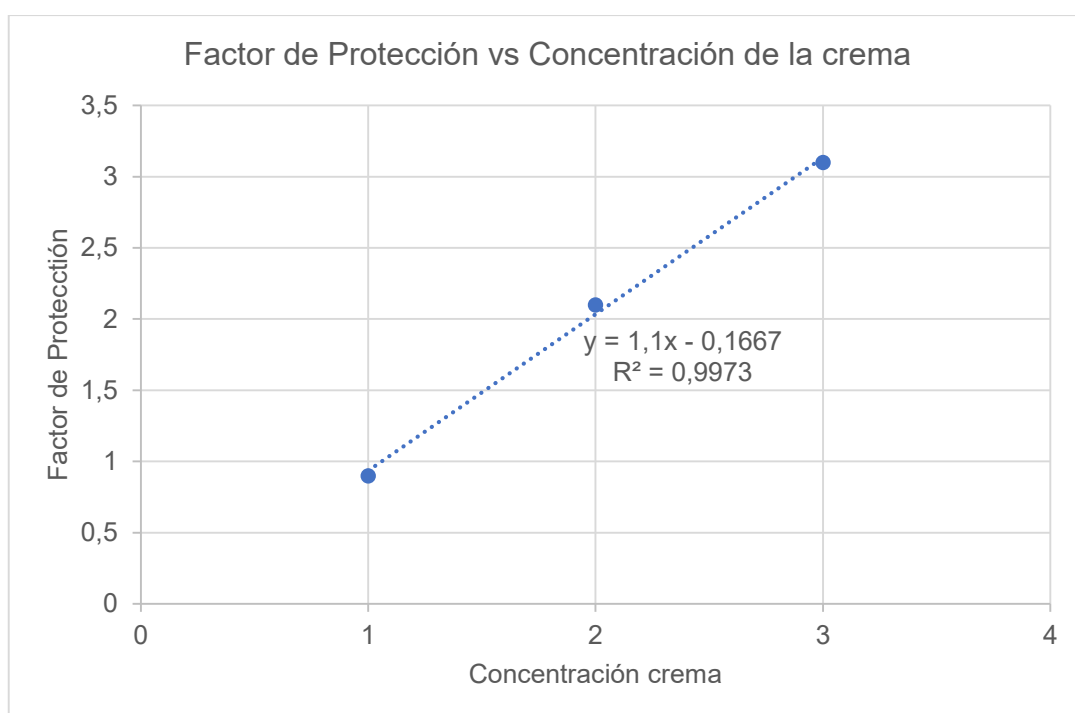
Absorbancias					EExIxAbs		
(nm)	EExI	1%	2%	3%	1%	2%	3%
290	0.015	0.040	0.087	0.098	0.001	0.001	0.001
295	0.082	0.028	0.067	0.095	0.002	0.005	0.008
300	0.287	0.087	0.201	0.292	0.025	0.058	0.084
305	0.328	0.104	0.236	0.341	0.034	0.077	0.112
310	0.186	0.102	0.242	0.358	0.019	0.045	0.067
315	0.084	0.098	0.242	0.364	0.008	0.020	0.031
320	0.018	0.103	0.248	0.373	0.002	0.004	0.007
Sumatoria					0.091	0.212	0.309
X 10					0.911	2.118	3.089
FPS					0.900	2.100	3.100

Fuente: Elaboración propia

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la tabla 31 se observa un comportamiento lineal y proporcional, directamente relacionado con la concentración del extracto de flavonoides de la masasamba (*Annona muricata* L.: A medida que aumenta el porcentaje de la muestra (1%, 2% y 3%), la absorbancia se incrementa notablemente en prácticamente todas las longitudes de onda.

Figura 22: Factor de protección versus concentración de las cremas elaboradas a las distintas concentraciones.



Fuente: Elaboración propia

Donde: R^2 es el coeficiente de determinación

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la gráfica vemos que en el eje x tenemos a la variable independiente (crema a distintas concentraciones) y en el eje y a la variable dependiente (FPS), al realizar la regresión lineal simple obtenemos la ecuación de regresión lineal y el coeficiente de determinación.

En la Figura 22 también se evalúa el comportamiento del factor de protección en función de tres niveles de concentración de la crema analizada (1%, 2% y 3%). Los datos experimentales muestran una tendencia claramente ascendente, donde los valores del factor de protección se incrementan de manera proporcional al aumentar la concentración del extracto de flavonoides de la masasamba (*Annona muricata* L. en la formulación).

Específicamente, a una concentración de 1% el factor de protección se ubica cercano a 0.9; al duplicar la concentración a 2%, el factor asciende a un valor aproximado de 2.1; y finalmente, a una concentración de 3%, se alcanza el punto máximo evaluado con un factor de protección de 3.1.

Aquí tenemos un valor de $R^2 = 0.9973$, el cual es cercano a 1, por lo tanto, podemos decir que al aumentar la concentración del extracto en la crema también aumentará el Factor de Protección.

Finalmente, la regresión lineal simple, nos permite conocer la magnitud y dirección de la asociación de las variables.

4.7. SOBRE LA EVALUACIÓN DE LA IRRITACIÓN CUTÁNEA AGUDA DE LA CREMA ELABORADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*annona muricata* L.) A DIFERENTES CONCENTRACIONES EN RATONES.

4.7.1. Resultados del ensayo de irritación cutánea

Tabla 32. Resultados de ensayo de irritación cutánea aguda al 1, 2 y 3%.

Conc. extrac	Nº ratón	Eritema							Edema							Suma total	Total, Obs.	VIP
		30m	1h	24h	48h	72h	7d	14d	30m	1h	24h	48h	72h	7d	14d			
1%	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/7	0.00
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/7	0.00
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/7	0.00
	Índice de irritación cutánea (IIP) = 0.0																	Promedio

2%	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/7	0.00
	2	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	/7	0.43
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/7	0.00
	Índice de irritación cutánea (IIP) = 0.1																	Promedio
3%	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	/7	0.00
	2	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	/7	0.43
	3	0	0	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	8	/7	1.14
	Índice de irritación cutánea (IIP) = 0.5																	Promedio

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: d: día, h: horas, min: minutos

- Índice de irritación primaria: No irritante (1%)
- Ligeramente irritante (2% y 3%)
- Categoría toxica: IV (No irritante, mediana o ligera irritación a los 14 días)
- Duración del estudio: 14 días.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la tabla 32 el ensayo evalúa el grado de **Eritema** (enrojecimiento) y **Edema** (hinchazón) en la piel de ratones en diferentes periodos de tiempo (desde los 30 minutos hasta los 14 días), utilizando tres concentraciones distintas del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*annona muricata* L. (1%, 2% y 3%).

Concentración al 1%: Ninguno de los tres ratones evaluados presentó signos de eritema ni de edema en ningún punto de control temporal. La suma total de puntuaciones para todos los ratones fue de 0. El Índice de Irritación cutánea (IIP) para esta concentración es de 0.0.

Concentración al 2%: Los ratones 1 y 3 no mostraron ninguna reacción observable (puntuación 0). El ratón 2 mostró una reacción leve de eritema (puntuación de 1) detectable a las 24, 48 y 72 horas, la cual revirtió por completo (puntuación 0) al séptimo día. No se observó edema en ningún ratón. El

promedio de Valor de Irritación Primaria (VIP) del grupo dio como resultado un IIP de 0.1.

Concentración al 3%: El ratón 1 no presentó alteraciones. El ratón 2 repitió el comportamiento observado en la dosis anterior, con un eritema leve (puntuación de 1) entre las 24 y 72 horas, completamente curado al día 7. El ratón 3 experimentó una reacción de eritema ligeramente más moderada/persistente (puntuación de 2) detectada a las 24h, 48h, 72h y que aún se mantenía al día 7, revirtiéndose totalmente al día 14. Tampoco se registraron casos de edema. El incremento en la concentración se tradujo en una mayor puntuación acumulada, resultando en un **IIP de 0.5**.

Tabla 33: A través del test de Draize, para la determinación del índice de irritación primaria (PII).

Concentración del extracto	Índice de irritación primaria (PII)	Criterio de aceptación
1%	0	No irritante (Se aprueba)
2%	0.1	Ligeramente irritante (Se aprueba)
3%	0.5	Ligeramente irritante (Se aprueba)

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Existe una correlación directa y positiva entre la concentración del extracto y el Índice de Irritación Primaria. A mayor concentración, el valor del PII aumenta de forma gradual (0, 0.1 y 0.5). Esto demuestra que el potencial de reactividad cutánea depende de la dosis administrada.

Aunque la concentración se triplica (del 1% al 3%), el índice de irritación se mantiene en niveles sumamente bajos (máximo de 0.5). En los parámetros estandarizados del test de Draize, un PII inferior a 2.0 suele considerarse seguro o de baja reactividad. (58)

Las tres concentraciones evaluadas son viables. Incluso al 3%, el extracto no alcanza un umbral de irritación moderada o severa que signifique un riesgo para la salud, por lo que todas las dosis son aptas para su posterior formulación o aplicación.

4.7.2. Resultado del estudio histopatológico

Tabla 34: Resultados acerca de cambios morfológicos cutáneos, es decir, histopatológicos.

Cambios morfológicos	Grupos					
	Negativo	Patrón	Positivo	1%	2%	3%
Hiperqueratosis	Ausente	Grave	Muy grave	Grave	Moderado	Moderado
Espongiosis	Ausente	Grave	Moderado	Leve	Ausente	Ausente
Ulceras	Ausente	Ausente	Ausente	Grave	Ausente	Leve
Congestión	Ausente	Grave	Grave	Moderado	Moderado	Moderado
Anexos	Normal	Normal	Inconstante	Normal	Normal	Normal
Costras	Ausente	Leve	Moderado	Grave	Ausente	Moderado
Inflamación	Ausente	Moderado	Moderado	Moderado	Ausente	Leve
Hiperplasia	Ausente	Muy grave	Grave	Moderado	Moderado	Moderado

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la tabla 34 se observa lo siguiente: **Grupo Negativo:** Como era de esperarse por ser un grupo de control sano o sin estímulo, todos los cambios morfológicos patológicos se encuentran ausentes. **Grupo Patrón y Grupo Positivo:** Ambos muestran un daño tisular severo. El **Grupo Patrón** exhibe niveles graves de hiperqueratosis, espongiosis y congestión, así como una hiperplasia muy grave, lo que indica una fuerte alteración en la proliferación celular y respuesta inflamatoria local. El **Grupo Positivo** de igual forma alcanzo un grado **muy grave** en hiperqueratosis y **grave** en congestión e hiperplasia.

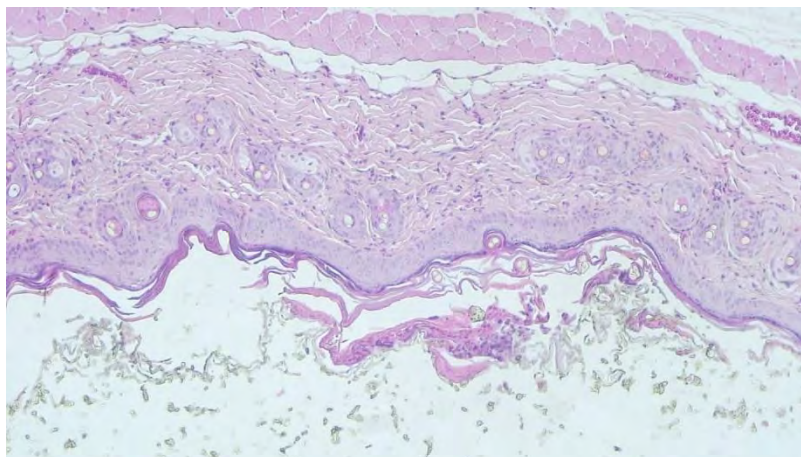
Con respecto al análisis del Efecto de los Tratamientos (1%, 2% y 3%). El grupo al **1%** mantiene niveles preocupantes de Hiperqueratosis e Hiperplasia (*Grave* y *Moderado* respectivamente). Sin embargo, al incrementar la concentración al **2% y 3%**, ambos parámetros logran estabilizarse en un nivel moderado.

Mientras que en el caso de la Espongiosis es uno de los resultados más claros de recuperación. Pasa de ser *grave/moderado* en los controles de daño a *leve* en la concentración al 1%, y desaparece por completo (ausente) en las concentraciones del 2% y 3%. Esto indica que el tratamiento a mayor concentración ayuda a recuperar los cambios morfológicos cutáneos.

Inflamación: Muestra una mejoría notable en la concentración más alta. Mientras que en el 1% es *moderada*, en el grupo del 2% está ausente y en el 3% es leve. Esto podría interpretarse como un rango de eficacia óptima cercana al 2% o 3%.
Costras: El grupo del 1% presenta un nivel *grave* (posiblemente por la evolución del daño previo no contenido), pero en el 2% se reporta ausente, volviendo a aparecer de forma *moderada* en el 3%.

4.7.3. Registro fotográfico de los tejidos histopatológicos

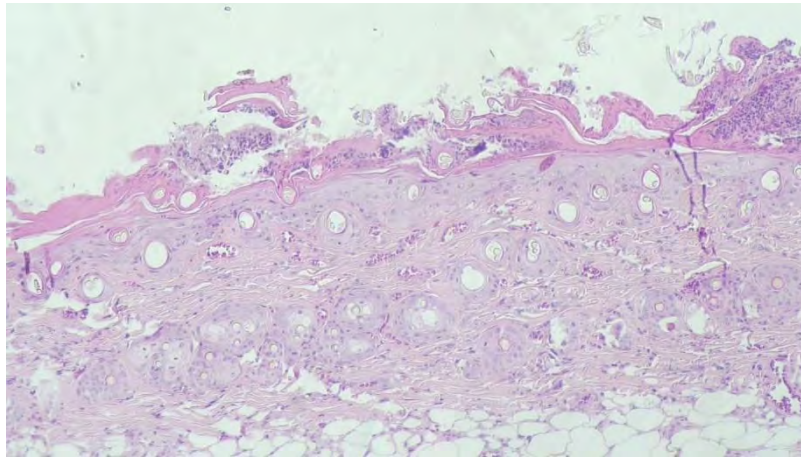
Figura 23: Piel tratada con la crema patrón



Fuente: Registro fotográfico propio

Se puede observar la presencia de: Costra, úlceras, inflamación, hiperqueratosis leve, congestión leve, edema leve y no hay presencia de hiperplasia ni espongiosis.

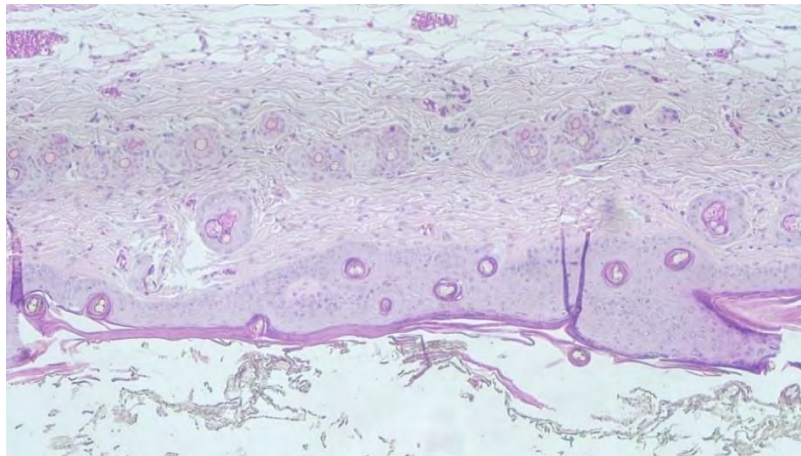
Figura 24: Piel tratada con crema al 1%



Fuente: Registro fotográfico propio

Se puede observar la presencia de: Costra, hiperqueratosis, espongiosis, ulcera, congestión, inflamación, hiperplasia y eritema.

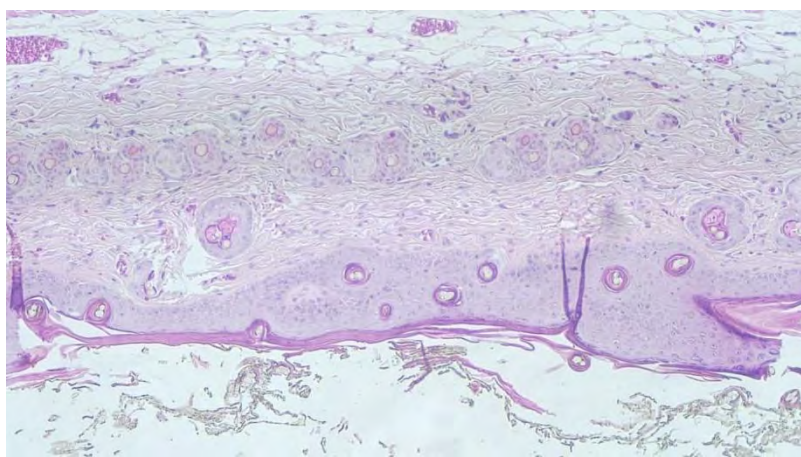
Figura 25: Piel tratada con la crema al 2%



Fuente: Registro fotográfico propio

Se puede observar la presencia de: Hiperqueratosis, congestión, eritema e hiperplasia y no presenta espongiosis, ulceras, costras ni inflamación.

Figura 26: Piel tratada con la crema al 3%



Fuente: Registro fotográfico propio

Se puede observar la presencia de: hiperqueratosis, úlceras, congestión, eritema, costras, inflamación e hiperplasia y no presenta espongiosis.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

A partir de los resultados histopatológicos obtenidos, podemos decir: Que la crema patrón utilizada no ofrece buena protección ya que existe grandes cambios morfológicos como se observa en la Figura 23, en la piel tratada con la crema al 1% se observa que la protección es mínima presentado cambios morfológicos graves como se observa en la Figura 24, en la piel tratada con la crema al 2% se observa que la protección es buena presentado cambios morfológicos moderados y ausentes como se observa en la Figura 25 y por último en la piel tratada con la crema al 3% se observa que la protección es medianamente baja presentado cambios morfológicos leves y moderados como se observa en la Figura 26.

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos se concluye:

1. Se evaluó con éxito la capacidad fotoprotectora frente a la radiación UVB de la crema formulada a base del extracto rico en flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) mediante un modelo integrado *in vitro* e *in vivo* en ratones de la raza *Mus musculus* var. BALB/c, y se logró determinar su factor de protección solar *in vitro*
2. Se obtuvo el extracto de las hojas de *Annona muricata* L. y se determinó que el material vegetal seco presenta un porcentaje de humedad promedio del 9.548%. Este resultado certifica un proceso de secado eficiente y seguro, óptimo para evitar la degradación de los metabolitos secundarios y garantizar la calidad del extracto obtenido.
3. El análisis fitoquímico de las hojas de *Annona muricata* L. reveló abundancia de flavonoides, fenoles, quinonas, taninos y azúcares reductores, presencia moderada de glicósidos, baja de alcaloides y lactonas, y ausencia de esteroides y saponinas. En consecuencia, el extracto demostró ser soluble en solventes polares (agua, metanol y etanol al 40% y 70%), poco soluble en solventes de polaridad intermedia e insoluble en solventes apolares.
4. Se elaboró una crema incorporando el extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.) en concentraciones del 1%, 2% y 3%.
5. Al realizar el control de calidad de las cremas al 1%, 2% y 3% demostraron óptima estabilidad, homogeneidad, pH dermocompatible (6.18–6.23) e inocuidad microbiológica, presentando características organolépticas estables con una variación gradual de color verde directamente proporcional a la concentración del extracto vegetal.

6. El análisis espectrofotométrico (290–320 nm) confirmó que la absorbancia incrementa de forma directamente proporcional a la concentración del principio activo. La formulación al 3% alcanzó la mayor capacidad de absorción de radiación, con picos máximos a 315 nm (0.364) y 320 nm (0.373), demostrando que el aumento del extracto optimiza significativamente la propiedad fotoprotectora del producto.
7. El ensayo de irritación cutánea aguda *in vivo* demostró que las formulaciones tópicas al 1%, 2% y 3% poseen un excelente perfil de seguridad y una alta tolerabilidad biológica, clasificándose como no irritantes.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a los docentes promover la investigación de las propiedades químicas de las plantas nativas para buscar nuevas alternativas en el tratamiento de enfermedades comunes de la piel.
2. Se recomienda a los estudiantes realizar más estudios sobre los principios activos con propiedades antioxidantes y fotoprotectoras en plantas medicinales, debido a sus beneficios para la salud y otras aplicaciones.
3. Se recomienda a la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica desarrollar eventos académicos sobre productos naturales, especialmente aquellos relacionados con fotoprotectores elaborados a partir de insumos naturales capaces de prevenir problemas de la piel.
4. Se recomienda a los profesionales de la salud promover el uso de productos a base de insumos naturales, destacando los principios activos sin conservantes que pueden causar reacciones alérgicas en la piel.

BIBLIOGRAFÍA

1. Belmonte C, Montero T. Situación actual de la prevención del cáncer de piel: Una revisión sistemática. *Actas Dermosifiliogr.* 2022; 113(8).
2. Soplin Trigos H. "Propagacion botánica *Annona muricata* L. "Guanabana" bajo cuatro sustratos Iquitos-Perú". Tesis. IQUITOS: Universida Nacional de la Amazonia Peruana, IQUITOS; 2015.
3. Zhang W, Zeng W, Jiang A, He Z, Shen X, Dong X. Incidencia, mortalidad y años de vida ajustados por discapacidad nivel mundial, regional y nacional por cáncer de piel y analisis de tendencias de 1990 a 2019: Un análisis del estudio de la carga global de enfermedad 2019. *Libro Nacional de Medicina.* 2021; 10(14).
4. Dzwierzynski W. Factores de riesgo y prevención del melanoma. *Libro Nacional de Medicina.* 2021 Octubre 2; 48(4): 543-550.
5. Sung H, Ferlay J, Siegel R, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A. Estadísticas mundiales sobre el cáncer 2020: Estimaciones de Globocan sobre la incidencia y la mortalidad a nivel mundial de 36 tipos de cáncer en 185 países. *Libro Nacional de Medicina.* 2021 Mayo; 71(3): 209-249.
6. Ziegler Rodríguez G, De La Cruz Ku G, Piedra Delgado L, Torres Maldonado J, Dunstan J, Cotrina Concha JM, et al. Desvelando el melanoma: Un análisis profundo de las desigualdades en un isntituto oncologico latinoamericano. *Oncologia Quirurgica Anual.* 2024 Septiembre 18; 31(9): 6097.
7. Schmalwieser AW, Wallisch S, Diffey B. Una biblioteca de espectros de acción para el eritema y la pigmentación. *Ciencias Fotoquímicas y Fotobiológicas.* 2012; 11(2).

8. Young AR. Las consecuencias negativas de no usar protectores solares. *Revista Internacional de Ciencia Cosmética*. 2023 Octubre; 45(1): 11-19.
9. Santander Ballestin S, Luesma Bartolomé M. Toxicidad de diferentes componentes químicos en los filtros de cremas solares y su impacto en la salud humana. *Ciencias Aplicadas*. 2023; 13(2): 712.
10. Valle Sistac J, Molins Delgado D, Díaz M, Ibáñez L, Barcelo D, Díaz Cruz MS. Determinación de parabenos y filtros UV de tipo benzofenona en placenta humana. Primera descripción de la existencia de bencilparabeno y benzofenona-4. *Medio Ambiente Internacional*. 2016 Marzo; 88: 243-249.
11. Granizo E, Anqi L, Shiqin L, Jie T, Li L, Lidan X. Componentes naturales en protectores solares: Formulaciones tópicas con factor de protección solar (FPS). *Biomedicina y Farmocoterapia*. 2021 Febrero; 134(2).
12. Michalak M. Antioxidantes de origen vegetal: Importancia para la salud de la piel y el proceso de envejecimiento. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*. 2022 Enero; 23(2): 585.
13. Chen S, Hongtao L. Cómo se protegen las plantas del estrés causado por la radiación ultravioleta B. *Fisiología Vegetal*. 2021 Mayo 26; 187(3): 1096-1103.
14. Hui Min L, Min Yan C, Meng Han X, Zhi Wei Z, Yun Z, Wei T, et al. Posibles mecanismos de senescencia celular cutánea, inflamación y cáncer inducidos por estrés oxidativo y el potencial terapéutico de los polifenoles vegetales. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*. 2023 Febrero 13; 24(4).
15. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. Lima: OPS; 2019.

16. Mendoza Mendez O, Palacios De La Cruz A, Salinas Mata H, Sarmiento Vilela K, Paucar Menacho LM. Guanábana (*Annona muricata* L): Origen, características, cosecha, poscosecha, actividad antioxidante, actividad antiinflamatoria y beneficios para la salud. *Agroindustrial Science*. 2022 Enero-Abril; 12(1).
17. Poma E, Requis E, Gordillo G, Fuentes C. Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. (Guanábana) de Cuzco. *Ciencia e Investigación*. 2011; 14(2): 29-33.
18. Cruz Ramos AL, Carmo Mazzinghy AC, Veiga Correia VT, Vieira Nunes B, Ribeiro LV, Medeiros Silva VD. Un enfoque integrador del perfil de flavonoides en algunas partes de plantas del género *Annona*. *Plantas*. 2022 Octubre 26; 11(21).
19. Llango S, Sahoo DK, Paital B, Kathirvel K, Gabriel JI, Subramaniam K, et al. Una revisión sobre *Annona muricata* y su actividad anticancerígena. *Canceres (Basilea)*. 2022 Septiembre 19; 14(18).
20. Mutakin M, Fauziati R, Fadhilah FN, Zuhrotun A, Amalia R, Hadisaputri YE. Actividades farmacológicas de la guanabana (*Annona muricata* Lin.). *Moleculas*. 2022; 27(4).
21. Instituto Nacional del Cáncer. Gobierno de los Estados Unidos. [Online].; 2023 [cited 2024 Febrero 16. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/cam/hp>.
22. Vanda Cantón B. La experimentación biomédica en animales en los códigos bioéticos. *Humanidades y Ciencia*. 2003; 15(2).
23. Aranda García A, Pastor García LM. Ética de la experimentación con animales. *Bioética y Ciencias de la Salud*. ; 3(4).

24. Instituto Nacional de Salud. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratones. [Online].; 2008 [cited 2024 12 Enero. Available from: <https://repositorio.ins.gob.pe/server/api/core/bitstreams/32b42aea-d9f3-4da0-8416-685b6d77e3cb/content>.
25. Aldahan AS, Shah VV, Mlacker S. La historia del protector solar. *Jama Dermatolgy*. 2015 Diciembre; 151(12): 1316.
26. Rubin A. Historia de los protectores solares. Jamaica: Centro Medico del Hospital de Jamaica, Jamaica; 2016.
27. Quizhpi Cuesta NC. 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. Tesis. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana; 2019.
28. Tacuri M. Evaluacion del Potencial de los Aceites Esenciales de Abahaca(*Ocimum Basilicum*), Calendula (*Calendula Officinalis*) y Manzanilla (*Matricaria Chamomilla*) y sus Mezclas como Fotoprotectores”. Tesis. Ecuador: Universidad de Cuenca, Ecuador; 2019.
29. Medina Ochoa G, Pérez Montenegro LR. Efecto fotoprotector y capacidad antioxidante de una crema a base de *Fragaria X ananassa* Duch. (fresa) y *Vitis vinífera* L. (uva). Tesis. Huancayo: Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Junín; 2021.
30. Deza Peña M. Efecto fotoprotector solar in vitro del aceite esencial de albahaca(*Ocimum basilicum* L.) y mastuerzo (*Tropaeolum maius* L.). Tesis. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad; 2019.
31. Colque Arce G. Evaluación de la capacidad fotoprotectora, determinación del FPS e irritación primaria en piel de ratones de una crema elaborada con el extracto etanólico al 96% de las semillas de *Bixa orellana* (Achiote). Tesis.

Cusco: Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Cusco; 2019.

32. Leiva Gonzáles S, Gayoso Bazán G, Chang Chávez L. Anona muricata L. "Guanabana" (Annonaceae), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. 2018 Enero-Abril; 25(1).
33. Vit P, Santiago B, Pérez Pérez EM. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semillas de Guanábana Annona muricata L. Asociación Interciencia. 2014 Mayo; 39(5).
34. Quílez AM, Fernández Arche MA, García Giménez MD, De la puerta R. Posibles aplicaciones terapéuticas del género Annona: Usos locales y tradicionales y farmacología. Etnofarmacología. 2018 Octubre; 28(225).
35. Coria Téllez AV, Montalvo Gonzáles E, Yahia EM, Obledo Vázquez EN. Una revista exhaustiva sobre sus usos medicinales tradicionales, fitoquímicos, actividades farmacológicas, mecanismos de acción y toxicidad. Review. 2016; 11(5): 662-691.
36. Buendía Eisman A, Mazuecos Blanca J, Camacho Martínez FM. Anatomía y Fisiología de la Piel. Manual de Dermatología. 2018; 1(2).
37. Gallardo V, Ruiz MA, Parera A, Hernández A. Radiaciones solares: Tipos y efectos. Pharmaceutica. 2000; 41(2).
38. Zwebmaster Fundación Acuorum. Cambio climático, contaminación, la radiación solar alcanzará niveles récord en Perú, salud, UV. [Online]. [cited 2024 Febrero 8. Available from: [ZWebmaster Fundación Acuorum](#).
39. Senamhi. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. [Online].; 2023 [cited 2024 Enero 28. Available from: <https://www.gob.pe/senamhi>.
40. Correo Salud. Cáncer de piel: Radiación solar podría elevar en 60% los

- casos en el Perú. [Online].; 2024 [cited 2024 Enero 16. Available from: <https://diariocorreio.pe/salud/cancer-de-piel-radiacion-solar-podria-elevar-en-60-los-casos-en-el-peru-noticia/>.
41. Ministerio de Salud (Minsa). gop.pe. [Online].; 2024 [cited 2023 Julio 22. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/904693-cuidado-con-el-sol-minsa-registro-mas-de-3500-casos-de-cancer-de-piel-del-2021-al-2023>.
42. Oakley HA. Fototipo de Piel Fitzpatrick. 2012.
43. Organización Mundial de la Salud. Radiación: ¿Como afecta la Radiación Ultravioleta a la Salud? Organización Mundial de la Salud; 2024.
44. Gonzales M VMSA. La radiación ultravioleta. Su efecto dañino y consecuencias para la salud humana. [Online].; 2017 [cited 22 marzo 12. Available from: <http://www.ubiobio.cl/miweb/webfile/media/194/v/v1>.
45. Merin KA, Merin S, Kameswaran R. Exposición al sol y las enfermedades de la piel. Revista India de Dermatología. 2017 Setiembre-Octubre; 67(5).
46. Oncosalud. ¿Cuáles son los tipos de cáncer de piel y como diferenciarlos? Oncosalud tu lucha, nuestra lucha. 2022;: 6.
47. Schmerling R, Loria D, Cinat G, Ramos W, Cardona A, Sánchez J. Melanoma cutáneo en América Latina: La necesidad de más datos. Revista Panamericana Salud Pública. 2011; 30(5): 431-438.
48. Duro Mota E, Campillos Páez MT, Causín Serrano S. El sol y los filtros solares. Medifam. 2003 Marzo; 13(3): 159-165.
49. Gabros S, Patel P, Zito PM. Protectores solares y fotoprotección. Libro

Nacional de Medicina. 2024 Marzo.

50. Carvalho de Matos RM, Ortega M, Panella E. Novedades en fotoprotección. Revista Peruana de Dermatología. 2002; 12: 32-35.
51. Tandem HSE. Protección solar. Características y tipos de los protectores solares. [Online].; 2023 [cited 2024 Febrero 18. Available from: <https://www.tandemhse.com/seguridad-de-producto-blog/proteccion-solar/>.
52. Ribera M PC. El sol y la piel. Fotoprotección y filtros solares. Medicina integral. 1997.
53. Muñoz Jáuregui AM, Ramos Escudero F. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. Revista Horizonte Médico. 2007 Junio; 7(1).
54. Sánchez Saldaña L, Lanchipa P, Pancorbo J, Regis A, Sánchez E. Fotoprotectores tópicos. Revista Peruana de Dermatología. 2002; 12(2).
55. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica, plantas medicinales. 2nd ed.: Acribia; 2001.
56. García Alva R, Martínez Soto J. Perfil fitoquímico y evaluación espectrofotométrica de extractos de *Annona muricata* L.. Revista de Fitoterapia Aplicada. 2020; 14(2): 45-53.
57. Aquino Hanco R, Paredes Olivera KE. Evaluación de la capacidad fotoprotectora de una crema elaborada a base el extracto antociánico obtenido de los frutos *Muehlenbekia volcanica* (Mullaq'a) en ratones de la raza *Mus musculus* var. Balb/c. Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco; 2018.
58. Draize J, Woodard G, And Calvery HO. Métodos para el estudio de la

irritación y la toxicidad de sustancias aplicadas tópicamente a la piel y las mucosas. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1944;; 82-377.

59. Badui Dergal S. Química de los alimentos. 6th ed.: Pearson Educación; 2016.

60. Saba MA, Yosipovitch G. pH de la piel: De la ciencia al cuidado básico. *Dermatología clínica, cosmética y de investigación*. 2013 Mayo; 93(3).

61. ISO 17516. Límites microbiológicos en cosméticos. NTC-ISO 17516. 2022 Agosto.

62. Mansur JS, Breder MN, Mansur M, Azulay RD. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 1986; 61(3): 121-124.

63. Paola Dueñas CD. Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad citotóxica de un extracto de hojas de *Annona muricata* L. (Guanabana) frente a las líneas celulares MCF-7, 4T1, B16 y 3T3. Tesis. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá; 2019.

ANEXOS

ANEXO 1: CERTIFICADO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

		INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO N°		185- 2019	
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M-29-2019
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 30
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 1 mês ½
Peso	: Mayor a 25 g.	Sexo	: macho
Guía de remisión	: 0037745	Destino	: Sucso Lopez, Yony.
Chorrillos	: 15 - 07 - 2019		
El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *. *Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación. Chorrillos, 15 de julio del 2019 (Fecha de emisión del certificado)  M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586 NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.			

Anexo 2: Constancia de análisis histopatológico

CONSTANCIA

La que suscribe, Violeta Aragon Carrasco, Médico Anatómo Patólogo del Hospital Nacional Adolfo Guevara Velasco del Cusco.

Doy constancia de haber realizado el estudio histopatológico de 18 láminas de pieles de ratón pertenecientes a la tesis intitulada **"EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FOTOPROTECTORA FRENTE A LA RADIACIÓN UVB DE UNA CREMA ELABORADA A BASE DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona muricata* L) EN RATONES DE LA RAZA *Mus musculus* Var. Balb/C Y DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR IN VITRO"** de las Bachilleres Katia Lisseth Quispe Vilcahuaman y Yony Sucso Lopez de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Lo que expido para los fines convenientes.



Dra. Violeta Aragon Carrasco
MÉDICO ANATOMOPATOLOGO
CMP: 39911 RNE: 18804

Cusco, 20 de enero del 2020

Anexo 3: Control microbiológico de extracto

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE EXTRACTO SECO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona muricata* L)

Solicitantes:

- YONY SUCSO LOPEZ
- KATIA LISSETH QUISPE VILCAHUAMAN

Para la tesis de investigación intitulada "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FOTOPROTECTORA FRENTE A LA RADIACIÓN UVB DE UNA CREMA ELABORADA A BASE DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona muricata* L) EN RATONES DE LA RAZA *Mus musculus* Var. Balb/C Y DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR IN VITRO"

Muestra: Extracto seco de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L).

Lugar y fecha: Cusco, 18 setiembre de 2019.

Indicadores microbiológicos:

1. **Criterio imperativo:** Presencia de salmonella spp (Agar SS).
2. **Criterio indicativos de higiene:** Número de Coliformes fecales *Escherichia coli* (caldo lactosado verde brillante billis 2%).
3. **Criterio de alerta o límites críticos:**
 - 3.1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables (Agar Piate Count).
 - 3.2. Recuento de hongos y levaduras (agar sabouraud).

Reporte de resultados del control biológico del extracto seco de flavonoides de las hojas de masasamba (*annona muricata* l).

CRITERIOS	RECuento EN LA DILUCIÓN 10'	LIMITES BIOLÓGICOS PERMISIBLES (LMP)	OBSERVACIONES
Criterio imperativo	Ausencia de <i>salmonella</i> spp	Ausencia de <i>salmonella</i> spp	La muestra cumple LPM
Criterio indicativos de higiene	Recuento de micro organismos aerobios mesófilos viables: < 10 ² UFC	10 ⁴ - 10 ⁵ UFC	La muestra cumple LPM
Criterio de alerta o límites críticos	Recuento de hongos y levaduras: < 10 ² UFC	10 ² - 10 ³ UFC	La muestra cumple LPM

El método es el de la IMCSF (Comisión Internacional de Especializaciones Microbiológicas para Alimentos) laboratorio de calidad de agua Ministerio de Salud.

Conclusión: La muestra cumple con los criterios de los límites microbiológicos permisibles.



Anexo 4: Control microbiológico de las cremas

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LAS CREMAS ELABORADAS A BASE DEL EXTRACTO SECO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona muricata* L) AL EN LAS CONCENTRACIONES DEL 1,2 Y 3 %:

Solicitantes:

- YONY SUCSO LOPEZ
- KATIA LISSETH QUISPE VILCAHUAMAN

Para la tesis de investigación intitulada "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD FOTOPROTECTORA FRENTE A LA RADIACIÓN UVB DE UNA CREMA ELABORADA A BASE DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona muricata* L) EN RATONES DE LA RAZA *Mus musculus* Var. Balb/C Y DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR IN VITRO"

Muestra: Cremas elaboradas a base del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*annona muricata* l) en las concentraciones de 1 ,2 y 3 %:

Lugar y fecha: Cusco, 18 setiembre de 2019.

Indicadores microbiológicos:

1. **Criterio imperativo:** Presencia de salmonella spp (Agar SS).
2. **Criterio indicativos de higiene:** Número de Coliformes fecales *Escherichia coli* (caldo lactosado verde brillante billis 2%).
3. **Criterio de alerta o límites críticos:**
 - 3.1. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables (Agar Piate Count).
 - 3.2. Recuento de hongos y levaduras (agar sabouraud).

Reporte de resultados del control biológico de las Cremas elaboradas a base del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*annona muricata* l) en las concentraciones de 1,2 y 3 %:

CRITERIOS	RECUESTO EN LA DILUCIÓN 10'	LIMITES BIOLÓGICOS PERMISIBLES (LMP)	OBSERVACIONES
Criterio imperativo	Ausencia de <i>salmonella spp</i>	Ausencia de <i>salmonella spp</i>	La muestra cumple LPM
Criterio indicativos de higiene	Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables: < 10 ² UFC	10 ⁴ - 10 ⁵ UFC	La muestra cumple LPM
Criterio de alerta o límites críticos	Recuento de hongos y levaduras: < 10 ² UFC	10 ² - 10 ³ UFC	La muestra cumple LPM

El método es el de la IMCSF (Comisión Internacional de Especializaciones Microbiológicas para Alimentos) laboratorio de calidad de agua Ministerio de Salud.

Conclusión: La muestra cumple con los criterios de los límites microbiológicos permisibles.



Anexo 5: Identificación taxonómica de las hojas de masasamba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

- **APARTADO POSTAL**
N° 921 - Cusco - Perú
- **FAX:** 238156 - 238173 - 222512
- **RECTORADO**
Calle Tigre N° 127
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398
- **CIUDAD UNIVERSITARIA**
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226
- **CENTRAL TELEFÓNICA:** 232398 - 252210
243835 - 243836 - 243837 - 243838
- **LOCAL CENTRAL**
Plaza de Armas s/n
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015
- **MUSEO INKA**
Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380
- **CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA**
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- **COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"**
Av. De la Cultura N° 721
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

HERBARIO VARGAS CUZ

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 001-2022-HVC-FC-UNSAAC

La Directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: la señorita **Katia Lisseth Quispe Vilcahuaman**, con código de matrícula N° 083398, y la señorita **Yony Sucso López**, con código de matrícula N° **093909**, Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, han presentado a la Dirección del Herbario Vargas CUZ, una muestra botánica para su determinación taxonómica (expediente N° 400660). La que al ser diagnosticada por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada y comparación con muestras del herbario, concuerdan con la siguiente especie; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE LOCAL
1	Annonaceae	<i>Annona muricata</i> L.	"masa-samba"

Se le expide la presente certificación a petición formal de las interesadas para los fines que vieran por conveniente.

Cusco, 07 de Enero del 2022

Blga. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas CUZ



Anexo 6: Ficha de registro para la recopilación de datos

Determinación del porcentaje de rendimiento

HOJAS SECAS	PESO INICIAL MUESTRA (G)	PESO FINAL EXTRACTO SECO (G)	PORCENTAJE DE EXTRACCIÓN (%)
<i>Annona muricata</i> L. (masasamba)			

Determinación de las pruebas de solubilidad

SOLVENTES	EXTRACTO DE FLAVONOIDES
Agua	
Metanol	
Etanol 40%	
Etanol 70%	
Etanol absoluto	
Acetona	
Acetato de etilo	
Eter	
Cloroformo	
Hexano	

LEYENDA

- Totalmente soluble: +++
- Parcialmente soluble: ++
- Poco soluble: +
- Insoluble: -

Determinación de la marcha fitoquímica

Componentes	Reactivo	Annona muricata L (Masasamba)	
		Extr. metanolico	Extr. hidroalcoholica
		M1	M2
Flavonoides	Shinoda		
	Vapores de NH ₃		
Fenolicos	FeCl ₃ 1%		
Quinonas	KOH 10%		
Taninos	FeCl ₃		
Alcaloides	Dragendorf		
	Mayer		
Azucares reductores	Fheling		
Glicosidos	Fheling		
Esteroides	Liebermann - Burchard		
Saponinas	Espuma		
Lactonas sesquiterpenicos	Baljet		

LEYENDA

- +++: Presente en abundancia
- ++: Presente en mediana cantidad
- +: Presente en poca cantidad
- -: Resultado negativo

Análisis de estabilidad organolépticas de las cremas

Análisis	Formulación		
	1%	2%	3%
Aspecto			
Textura			
Consistencia			
Color			
Olor			
PH			
Extensibilidad			

Ensayo de irritación dérmica aguda del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata L.*) al 1, 2 y 3% en ratones albinos.

Conc. extrac	N° ratón	Eritema							Edema							Suma total	Total, Obs.	VIP
		30m	1h	24h	48h	72h	7d	14d	30m	1h	24h	48h	72h	7d	14d			
1%	1																	
	2																	
	3																	
	Índice de irritación cutánea (IIP) = 0.0																	Promedio
2%	1																	
	2																	
	3																	
	Índice de irritación cutánea (IIP) = 0.1																	Promedio
3%	1																	
	2																	
	3																	
	Índice de irritación cutánea (IIP) = 0.5																	Promedio

Valoración de cambios inflamatorios cutáneos

Grupo	Nº animal	Eritema					Edema				
		30min	6h	24h	48h	72h	30min	6h	24h	48h	72h
Control (-)	1										
	2										
	3										
Control (+)	1										
	2										
	3										
Patrón	1										
	2										
	3										
1%	1										
	2										
	3										
2%	1										
	2										
	3										
3%	1										
	2										
	3										

Valoración de cambios morfológicos cutáneos

Grupo	Nº animales	Hiperqueratosis	Espongiosis	Úlceras	Congestión	Anexos	Costras	Inflamación	Hiperplasia
Control (-)	3								
Control (+)	3								
Patrón	3								
1%	3								
2%	3								
3%	3								

Ficha de registro para la recolección de datos para la obtención de la sumatoria de EE x I x Abs

CONCENTRACIÓN	DE LA	FORMULACIÓN	
Longitud de onda $\lambda(\text{nm})$	EE x I	Absorbancia	EE x I x Abs
290			
295			
300			
305			
310			
315			
320			
$\sum_{290}^{320}$			

ANEXO 7: GALERÍA DE FOTOS

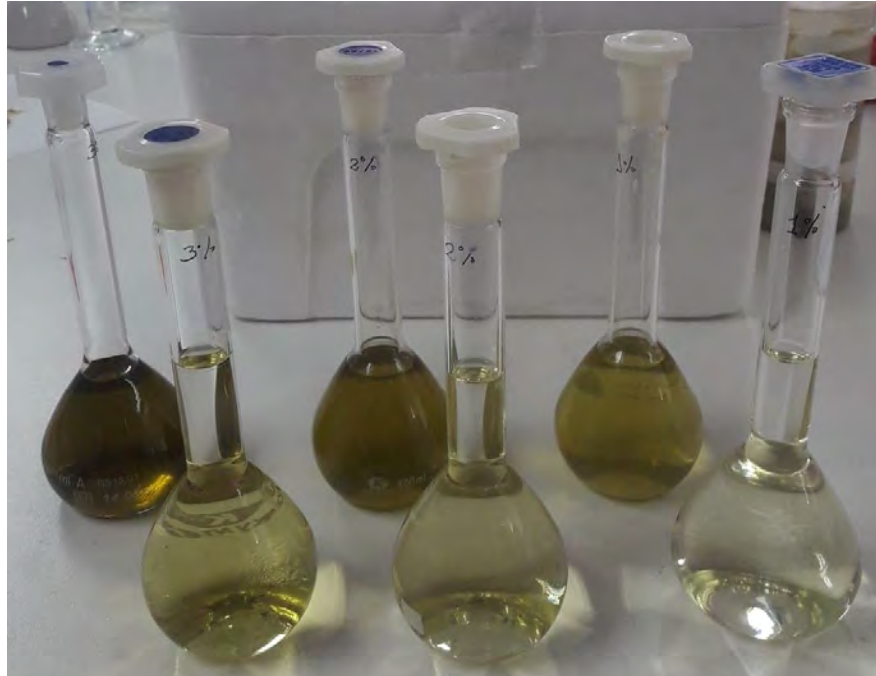
FOTOGRAFÍA N° 01: HOJAS DE MASASAMBA (*ANNONA MURICATA* L.)



FOTOGRAFÍA N° 02: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona muricata* L.)



**FOTOGRAFÍA N° 03: LECTURA EN ESPECTROFOTÓMETRO DEL
EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*Annona
muricata* L.)**



ANEXO 8: IMÁGENES DE LOS PROCESOS DE EXPERIMENTACIÓN

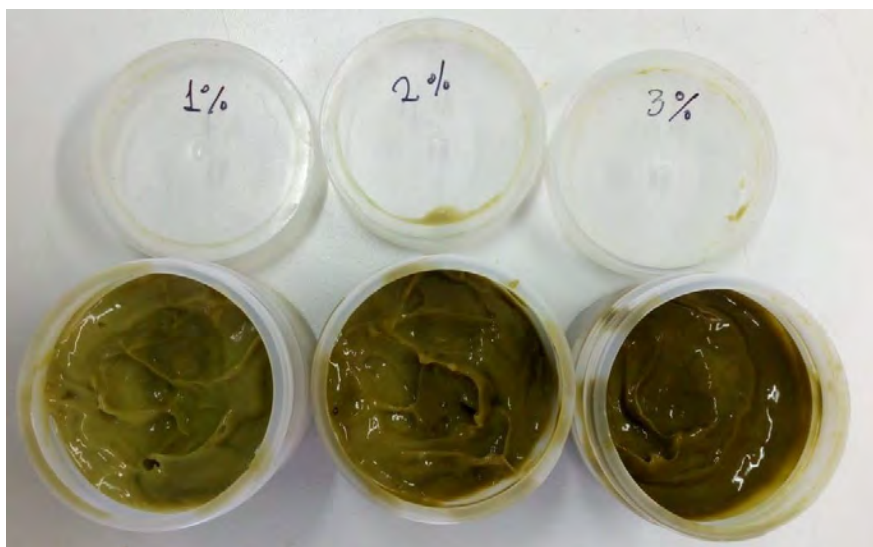
FOTOGRAFÍA N° 01

- Corte de pelo de los ratones albinos
- Aplicación de crema depilatoria
- Ratones albinos depilados



FOTOGRAFÍA N° 02

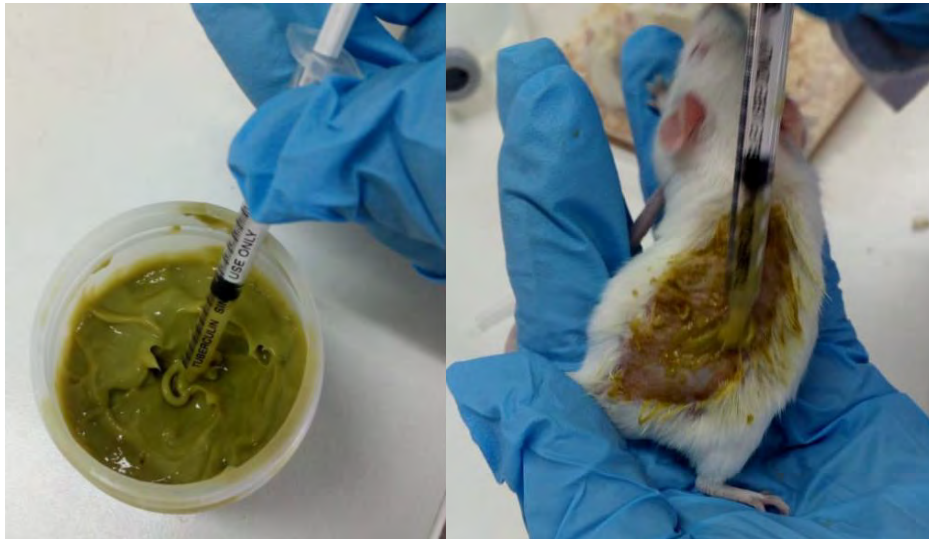
- Crema al 1% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.)
- Crema al 2% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.)
- Crema al 3% del extracto de flavonoides de las hojas de masasamba (*Annona muricata* L.)



FOTOGRAFÍA N° 03: PROCESO DE ANESTÉSICO DEL RATÓN PREVIO A LA APLICACIÓN DE LAS CREMAS Y LA IRRADIACIÓN.



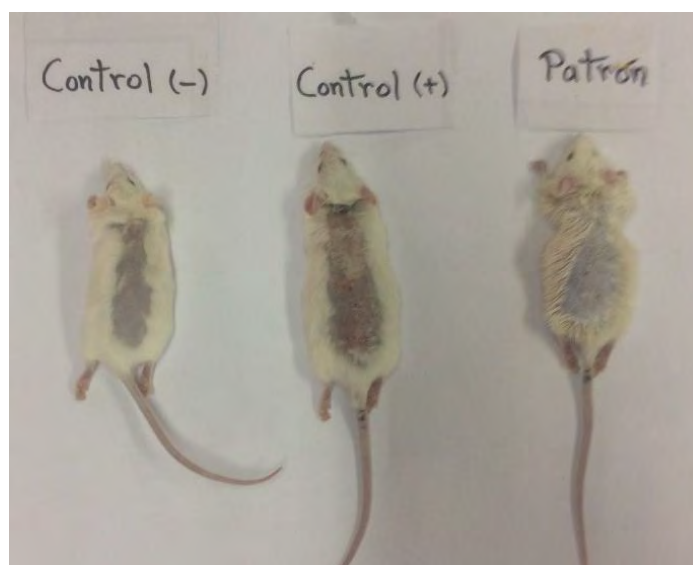
FOTOGRAFÍA N° 04: APLICACIÓN DE LAS CREMAS PARA LA PRUEBA DE EVALUACIÓN DE CAMBIOS INFLAMATORIOS CUTÁNEOS.



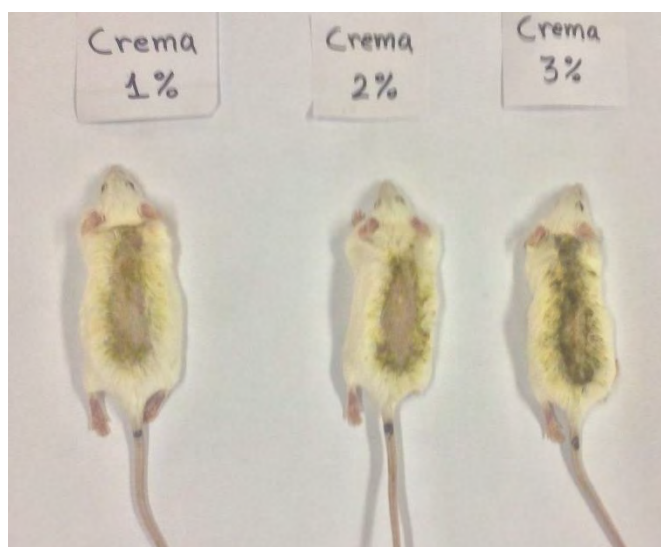
FOTOGRAFÍA N° 05: ENSAYO DE IRRADIACIÓN DE RATONES ALBINOS



FOTOGRAFÍA N° 06: RATONES DE CONTROL NEGATIVO, RATÓN CONTROL POSITIVO, RATÓN TRATADO CON CREMA PATRÓN.



FOTOGRAFÍA N° 07: RATONES TRATADOS CON LA CREMA AL 1%, 2% Y 3% DEL EXTRACTO DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE MASASAMBA (*annona muricata* L.)

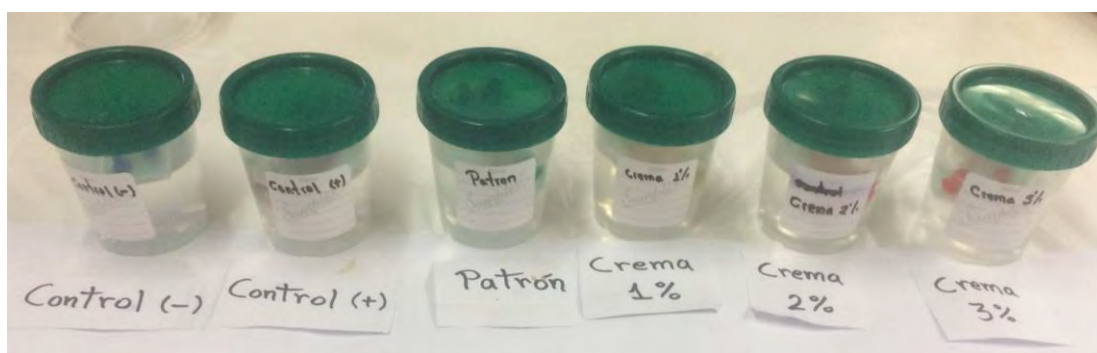


ANEXO 9: IMÁGENES DEL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

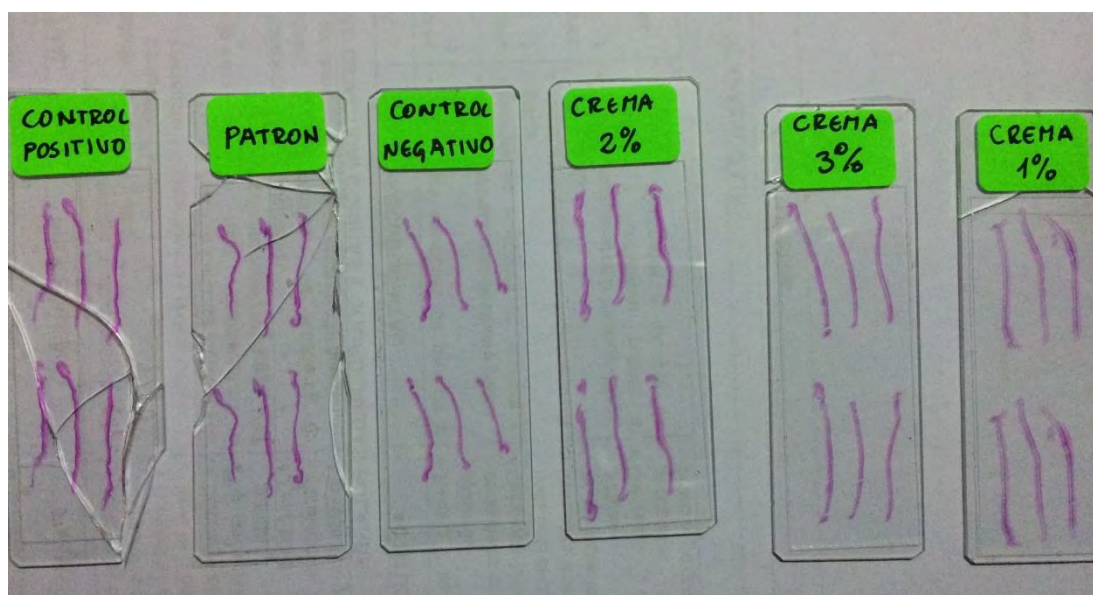
FOTOGRAFÍA N° 01: TEJIDO EPIDÉRMICO DE RATONES PARA REALIZAR EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO



FOTOGRAFÍA N° 02: TEJIDO EPIDÉRMICO DE RATONES ALBINOS EN FORMOL AL 10% PARA SU CONSERVACIÓN Y ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.

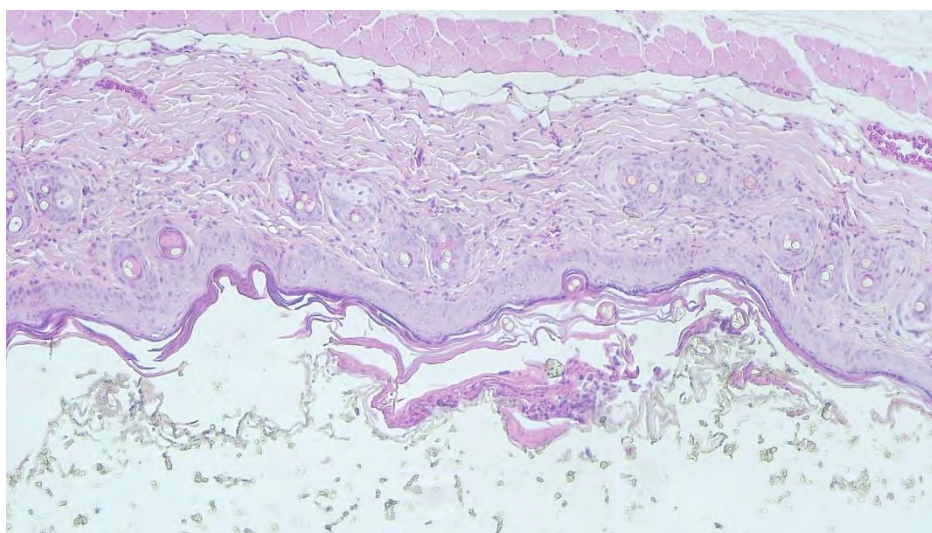


FOTOGRAFÍA N°3: LÁMINAS DE PIELES DE RATONES PARA LA OBSERVACIÓN PATOLÓGICA

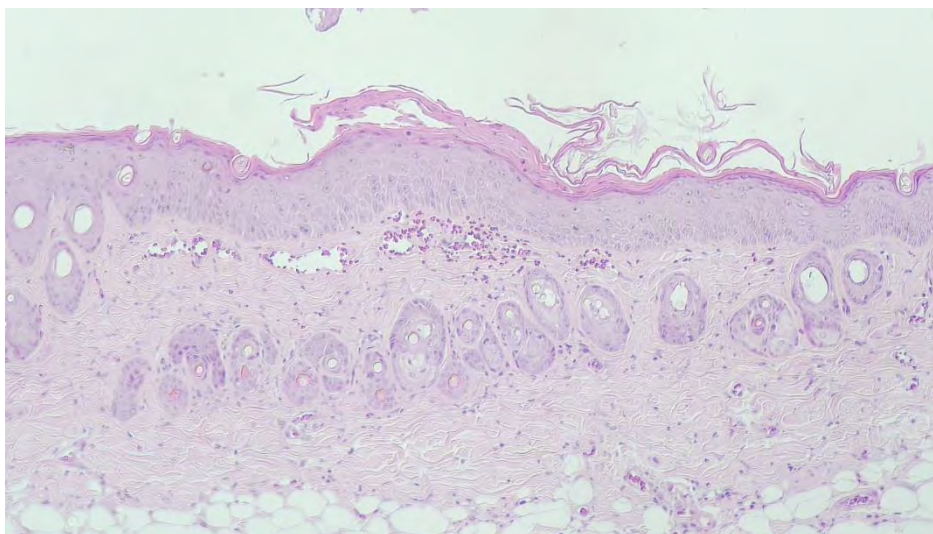


FOTOGRAFÍA N° 04: OBSERVACIÓN A MICROSCOPIO DE LAS PIELES.

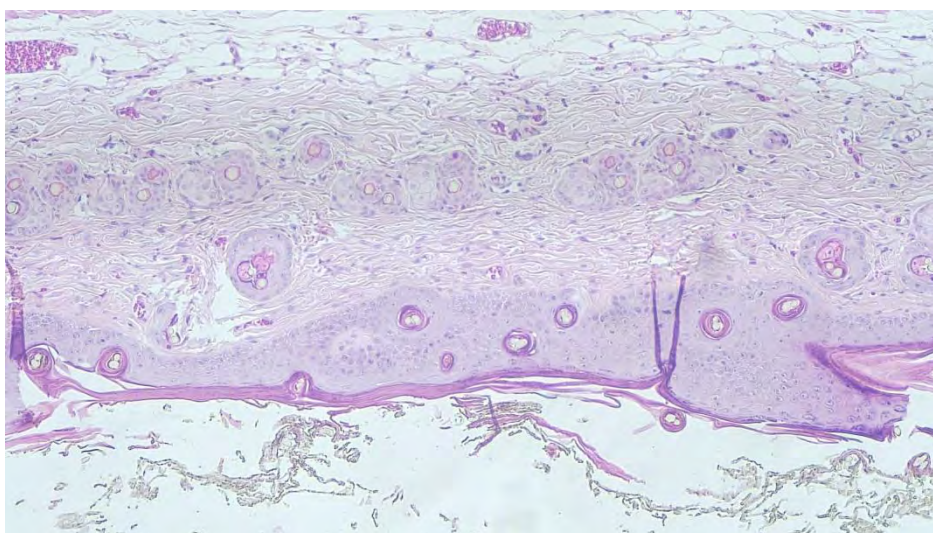
Piel de ratón con crema patrón



Piel de ratón con crema al 1%



Piel de ratón con crema al 2%



Piel de ratón con crema al 3%

