

# Foto-protección: mecanismos bioquímicos, punto de partida hacia mejores filtros solares

## Photo-protection: Biochemistry mechanism, the basis to improve sunscreens

Juan Camilo Mejía Giraldo<sup>1</sup>, Lucía Atehortúa<sup>2</sup>, Miguel Ángel Puertas Mejía<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Químico farmacéutico. Grupo de Investigación en Compuestos Funcionales, Instituto de Química, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Ph.D. Laboratorio de Biotecnología, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Ph.D. Grupo de Investigación en Compuestos Funcionales, Instituto de Química, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

### RESUMEN

En los organismos fotosintéticos el exceso de UVR causa daños en el aparato fotosintético en un proceso llamado foto-inhibición. En los seres humanos un alto índice de exposición a la UVR, produce diversas afecciones, como eritema, foto-envejecimiento, foto-carcinogénesis, entre otras. En el caso de las plantas, éstas han generado diversos mecanismos de foto-protección, uno de ellos es la síntesis de metabolitos secundarios tales como los carotenoides, micosporinas, y polifenoles, que les ha permitido usar la región visible del espectro electromagnético para la fotosíntesis y eliminar la radiación UV perjudicial. En el presente trabajo se revisarán diversos mecanismos de foto-protección de algunos organismos fotosintéticos y como éstos pueden ser considerados una potencial fuente de compuestos para la foto-protección en humanos.

**PALABRAS CLAVE:** *Cáncer de piel, compuestos bioactivos, cosmecéuticos, foto-protección, radiación ultravioleta.*

### ABSTRACT

Solar radiation is the main natural source of energy on Earth; however, high exposure to this radiation has dual effect on animals and plants. In photosynthetic organisms, ultraviolet radiation can cause photo-inhibition over the photosynthetic apparatus. In human beings, unprotected exposure to ultraviolet radiation produces a variety of disease such as skin photo-aging, photo-carcinogens, erythema, edema, and so on. In order to decrease the risk attributed to solar exposure, plants have generated photo-protection mechanism, for instance, synthesis of secondary metabolites such as carotenoids, mycosporine and polyphenols; these compounds can destroy the harmful ultraviolet radiation to photosynthetic process. The present paper discusses the different photo-protection mechanisms present in photosynthetic organisms and their potential use as a source of bioactives substance with applications on solar protection products, preferred by consumers.

**KEYWORDS:** *Antioxidant, skin cancer, sunscreen, photo-protection, ultraviolet radiation.*

### Introducción

La radiación emitida por el sol comprende longitudes de onda desde el ultravioleta, hasta el infrarrojo, pasando por el rango de luz visible. En el caso de la radiación ultravioleta (UVR, Ultraviolet Radiation), ésta se divide en tres regiones en función de la longitud de onda: UVC (100-290 nm), UVB (290-320 nm) y UVA (320-400 nm). Así mismo el UVA se subdivide en UVA<sub>2</sub> (320-340 nm) y UVA<sub>1</sub> (340-400 nm).<sup>1</sup> La radiación solar es la principal fuente natural de energía en la tierra, gracias a la actividad de los organismos fotosintéticos, sin embar-

go, la UVR, puede ser peligrosa cuando los seres vivos se exponen directamente a ellas y su exceso conduce a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, Reactive Oxygen Species). En los organismos fotosintéticos, el exceso de UVR causa daños en el aparato fotosintético mediante la foto-inhibición.<sup>2,3</sup> La foto-inhibición ocurre por un desequilibrio en el daño producido por la UVR en el fotosistema II (PSII, Photosystem II) y la tasa de reparación, debido a una supresión en la síntesis de proteínas de este sistema. En este sentido la foto-inhibición es inherente al proceso de fotosíntesis. En condiciones nor-

### CORRESPONDENCIA

Miguel Ángel Puertas Mejía ■ mpuertas@exactas.udea.edu.co

Grupo de Investigación en Compuestos Funcionales, Instituto de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. Calle 70 No. 52-21, Apartado Aéreo 1226, Medellín, Colombia.

males el sistema de reparación es rápido y efectivo, pero dicho sistema es bastante sensible a las ROS que se generan como resultado del transporte de electrones y la transferencia de energía en la fotosíntesis. En particular se disminuye la producción y reparación de la proteína D1 cuando aumenta la concentración de las ROS. Diversos estudios han demostrado que la exposición de las plantas a condiciones de estrés ambiental como, elevada UVR, condiciones de sequía y contaminación ambiental aumenta el nivel intracelular de ROS, que inhiben la traducción de los factores requeridos para la reparación de PSII.<sup>4-6</sup> Por otro lado, en los humanos la UVR juega un papel muy importante en la conversión de 7-deoxicolesterol a vitamina D, vital en el proceso de fijación de calcio en los huesos. Sin embargo al igual que en los organismos fotosintéticos, la exposición excesiva de UVR, ya sea proveniente del sol o de fuentes artificiales (lámparas de iluminación, cámaras bronceadoras) conlleva a un potencial riesgo para la salud humana.<sup>7</sup>

La radiación UVA constituye alrededor del 90-95% del total de la UVR, y en los seres humanos afecta básicamente la dermis, ya que altera su vascularización y produce cambios en el colágeno, con el consecuente envejecimiento prematuro. La UVA induce reacciones de foto-sensibilidad y deshidratación generando una piel seca y poco elástica, adicionalmente en el proceso de respiración celular se producen ROS, con la consecuente oxidación de proteínas celulares, lípidos y bases del ADN como la 8-dihidroxi-2-deoxiguanosina, altera genes de supresión tumoral como el p53 y por lo tanto puede producir cáncer y estudios recientes han señalado que la UVA produce más inmunosupresión que la UVB.<sup>8-10</sup> Por otro lado, la radiación UVB representa el 4-5% del total de la UVR, es más energética que la UVA, y por tanto tiene más poder de penetración en la piel y puede alterar el ADN celular, por la formación de dímeros de piridina ciclobutano y glicoles de timina, que causan principalmente foto-carcinogénesis y se le atribuyen efectos de inmunosupresión frente a la exposición prolongada a la UVR.<sup>11-13</sup> La radiación UVC por el contrario tiene poder germicida y eritematígeno, provoca descamación eliminando las capas protectoras ya melanizadas, sin embargo, esta radiación es filtrada casi en su totalidad por la atmósfera de la tierra, sin efectos nocivos sobre la salud de los organismos vivos en general.<sup>14</sup>

### Mecanismos de foto-protección convencionales en seres humanos

La piel, el órgano más grande del cuerpo en términos de superficie, es una barrera epitelial que interconecta el medio ambiente con el cuerpo y múltiples mecanismos la

protegen contra los efectos nocivos de la UVR. Por ejemplo, uno de ellos es el aumento del grosor de la capa córnea, que desvía aproximadamente el 5% de la UVR que incide sobre la piel.<sup>15</sup> A nivel epidérmico sustancias tales como el ácido urocánico, la melanina y el triptófano son los principales foto-protectores endógenos, siendo la melanina el factor de protección más importante debido a su alta capacidad de absorción de la UVR, y la responsable del bronceado de la piel. A nivel de la dermis, la hemoglobina sanguínea, la bilirrubina tisular y el  $\beta$ -caroteno generan un mecanismo de protección endógena por absorción de la UVR.<sup>16,17</sup> Otro mecanismo de defensa de la piel frente a las ROS, son las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y compuestos antioxidantes de bajo peso molecular como el glutatión y ubiquinona.<sup>18,19</sup>

De forma exógena los seres humanos han usado dos mecanismos para protegerse de los rayos ultravioleta perjudiciales; uno es el uso de barreras físicas como la ropa, gafas de sol, sombreros y ventanas con vidrios protectores, éstas aunque son las formas más efectivas, no son las más cómodas y adecuadas. La segunda opción es mediante el empleo de productos cosméticos que contienen compuestos activos (cosmecéuticos) inorgánicos y/o orgánicos que actúan como filtros físicos y químicos respectivamente. En cuanto al uso de sustancias inorgánicas, se cuenta con el dióxido de titanio y el óxido de zinc que reflejan y dispersan la radiación UV. Estos compuestos aunque tienen un amplio rango de protección UV, presentan dificultades en el producto final, ya que el tamaño de partícula (entre 10-100 nanómetros) es clave para brindar una adecuada "pantalla" de protección, y este mismo tamaño es una limitante en los procesos de fabricación de fórmulas con dispersiones homogéneas.<sup>20</sup> Por otro lado, el uso de altas concentraciones de filtros inorgánicos genera una apariencia blanquizca en la aplicación y promueven comedogénesis.<sup>21</sup> Por su parte, los compuestos orgánicos presentan en su estructura grupos cromóforos que absorben la UVR, y su efectividad depende en gran medida de su amplio espectro de absorción de la UVR y de la estabilidad a largos periodos de exposición; sin embargo, algunos filtros UV son foto-inestables, promoviendo la formación de foto-productos que alteran su espectro de absorbancia y por ende, se reduce su efecto foto-protector.<sup>22-24</sup> También se ha encontrado que estos filtros orgánicos y sus productos de fotólisis generan dermatitis de contacto y foto-contacto respectivamente.<sup>25-28</sup> En la actualidad, los productos químicos de protección solar son la causa más común de dermatitis de contacto fotoalérgica en el Reino Unido. En los 90's la benzofenona-3 fue el filtro solar foto-alérgico

más común y el isopropil-dibenzoilmetano fue retirado del mercado en 1993, después de haber sido identificado como la causa más común de dermatitis de contacto fotoalérgica en la década de 1980 a 1990.<sup>29</sup> Además de los inconvenientes mencionados, diversos estudios han mostrado evidencia suficiente sobre algunos filtros solares orgánicos, usados en formulaciones tradicionales, que atraviesan las capas profundas de la piel presentando absorción sistémica, con las consiguientes consecuencias de pérdida de eficacia (menor Factor de protección solar, FPS) y posibles efectos tóxicos locales y sistémicos.<sup>30</sup>

Por lo anterior, se hace necesario mejorar la eficacia de los protectores solares a través de nuevas fuentes de compuestos foto-protectores que puedan reemplazar o disminuir las concentraciones de los filtros usados tradicionalmente. Dado que muchos de los compuestos que protegen a las células de plantas también protegen a las células humanas, se han dirigido diversas aproximaciones y estudios a grupos de metabolitos secundarios, con el fin de evaluar sus posibles propiedades foto-protectoras. En este sentido, se han explorado nuevas fuentes de materias primas de origen natural con el fin de obtener protección solar con resultados promisorios.

### Mecanismos de foto-protección en plantas

De la misma forma que en los humanos, la radiación solar tiene un efecto dual sobre las plantas, a su vez puede ser benéfico y perjudicial. Por tal razón las condiciones ambientales tienen una gran influencia sobre la morfología y fisiología de las plantas, ya que características como tamaño y forma son modificadas por la luz, temperatura y sequía, entre otros. Estas condiciones ambientales también modifican su metabolismo, llevando a una disminución o aumento de metabolitos secundarios. Bajo condiciones normales de temperatura, luz y agua, la planta mantiene sus procesos biológicos, por lo tanto su ciclo de vida no se ve alterado, pero cuando estas condiciones son modificadas, las plantas sometidas a condiciones de estrés, deben generar mecanismos de defensa para mantener la homeostasis.<sup>31</sup>

Las plantas, durante el proceso de fotosíntesis usan la porción visible del espectro electromagnético (400-700 nm), conocido también como radiación fotosintéticamente activa (PAR, *Photosynthetic Active Radiation*). Sin embargo, el rango completo de la radiación solar que llega a la corteza terrestre (280 nm hasta 1000 nm aproximadamente) conocido como rango fotobiológico, también comprende longitudes de onda fuera del rango PAR y son de importancia en otros procesos fito-biológicos diferentes de la fotosíntesis. Luego, ya que la UVR tiene efectos nocivos

en las plantas, éstas han generado diversos mecanismos de defensa frente al aumento de la UVR, ya sea de manera natural o por condiciones antropogénicas (destrucción de la capa de ozono). Es por ello que el aprovechamiento de la energía solar por la fotosíntesis depende de una válvula de seguridad que elimina eficazmente el exceso de energía peligrosa y previene el daño oxidativo a las células de la planta.<sup>32</sup>

Por ejemplo, se ha observado que para disminuir la absorción de la UVR las plantas aumentan la pubescencia foliar y las ceras en la cutícula, cambian la inclinación de sus hojas o se enrollan.<sup>33,34</sup> Por otro lado, el complejo captador de luz pigmento-proteína del fotosistema II (LHCII, Light Harvesting Center II), además de colectar la energía en forma de fotones, se encarga de regular la cantidad de energía necesaria para la fotosíntesis y el exceso que conduce al daño oxidativo. Zubik *et al.*,<sup>35</sup> demostraron que la irradiación del LHCII aislado, lleva a la isomerización de la neoxantina unida a la proteína, de la conformación 9'-*cis* a las formas 9',13- y 9',13'-*dicis*, por lo cual propusieron dicha isomerización como un nuevo mecanismo de disipación del exceso energético. Al mismo tiempo se observó una rápida inhibición de la excitación producida por la luz, que se manifiesta por una disminución en la intensidad de fluorescencia de clorofila A y por los tiempos de vida más cortos de fluorescencia. Adicionalmente, los autores encontraron que ambos procesos, la isomerización de neoxantina y la inhibición de la excitación de la clorofila, son reversibles con la disminución de la luz, lo que respalda la hipótesis de que estos dos mecanismos median la disipación de la energía en exceso. Por otro lado, pigmentos xantófilos como luteína y zeaxantina, protegen el sistema de fotosíntesis en condiciones de estrés oxidativo. Dichos compuestos usan un mecanismo de protección en las plantas que consiste en eliminar la mayoría de la luz solar absorbida, disipándola en forma de calor. Es por esto, que cuando se necesita la luz para la fotosíntesis, la zeaxantina que normalmente actúa como disipador de energía se convierte en un pigmento no-disipador, la violaxantina, vía anteraxantina, y cuando hay un exceso de luz este proceso se invierte rápidamente (Figura 1).

La zeaxantina y anteraxantina son necesarios no sólo para la disipación térmica inmediata, sino también para disipar la energía térmica persistente en plantas bajo estrés ambiental a largo plazo, proceso mediante el cual el ciclo de xantófila se detiene en forma de zeaxantina y anteraxantina. Asimismo, se ha observado que los carotenoides pueden facilitar diversos procesos de defensa de respaldo, incluyendo la captura de residuos de clorofila

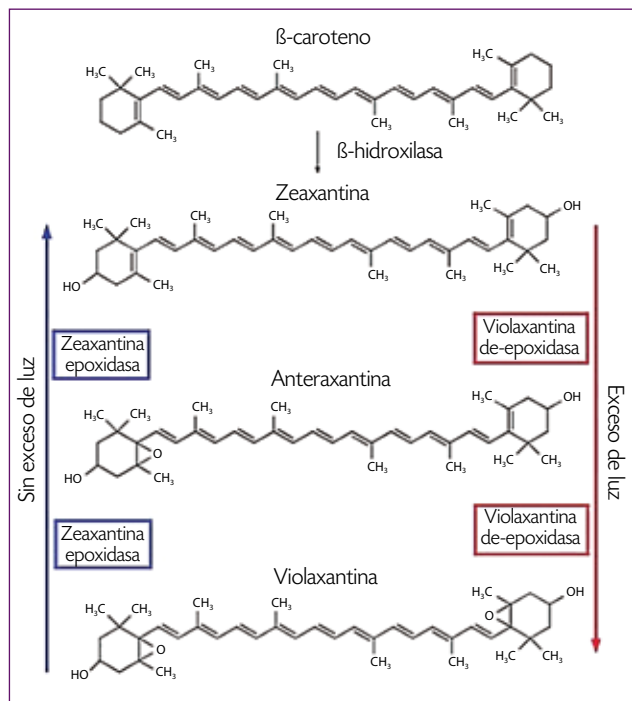


Figura 1.

triplete y de oxígeno singlete. Por otro lado, se ha encontrado que frente a una deficiencia del mecanismo de disipación de energía térmica hay un aumento en los niveles de vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol y  $\gamma$ -tocoferol), que también tiene la capacidad para eliminar el oxígeno singlete e inhibir la oxidación de lípidos.<sup>36</sup>

Uno de los mecanismos de defensa identificados frente a la UVR, es la producción de compuestos polifenólicos, dentro de los cuales el grupo más caracterizado son los flavonoides, que cuentan con numerosos estudios que han ayudado a entender su biosíntesis y control molecular.<sup>37,38</sup> También se han realizado diversas investigaciones que correlacionan el aumento de la producción de flavonoides cuando la planta está bajo condiciones de estrés ambiental.<sup>39</sup> Luego, la UVR, las temperaturas bajas, la contaminación y las sequías pueden inducir estrés oxidativo, con la consecuente generación de procesos de señalización de alarma en las plantas, pues éstas modifican el metabolismo y la expresión génica, de manera que la planta puede responder a las condiciones ambientales adversas.

Los polifenoles además de sus propiedades antioxidantes, algunos también tienen la capacidad de absorber la UVR, y éstos se acumulan preferencialmente en las células de la epidermis absorbiendo la radiación UVB nociva, sin interferir con la absorción de la radiación fotosintéticamente activa (PAR). Estudios con mutantes de *Arabidopsis thaliana uvt1*, que se les indujo la síntesis de flavonoides,

mostraron un aumento en la capacidad de bloquear la radiación UVR, y por lo tanto se aumentó la tolerancia a altos niveles de radiación. También se observó que los mutantes *Arabidopsis tt5* y *fab1* no fueron capaces de sintetizar flavonoides y presentaron sensibilidad a la radiación UVB.<sup>40</sup> Los flavonoides orto di-hidroxisustituidos tales como la quercetina y la luteolina son buenos captadores de radicales libres comparados con sus homólogos mono hidroxisustituidos. Lo anterior sugiere que los flavonoides pueden proporcionar una protección doble frente a los efectos nocivos de la UVR, actuando como especies captadoras de radicales libres y como filtros solares capaces de absorber UVR.

La presencia de antocianinas en coleótilos de varias especies de gramíneas, incluyendo centeno, sugiere que la protección UVB durante el desarrollo precoz de las hojas es una función importante de este órgano. Además diversas investigaciones han evidenciado la correlación existente entre el aumento de la UVR, la radiación visible e infrarrojo lejano y la producción de antocianinas (foto-inducción).<sup>41,42</sup> Las antocianinas como mecanismo de defensa en las plantas, pueden desempeñar una doble función, primero, actúan como foto-protectoras absorbiendo longitudes de onda UV nocivas para la planta y segundo, como reguladoras osmóticas, debido a su buena solubilidad en agua acumulándose en las vacuolas; y como reguladoras osmóticas disminuyen dos condiciones de estrés, la nucleación del hielo bajo condiciones de congelación y la pérdida de agua en la sequía, cuando el potencial hídrico en la epidermis se reduce.<sup>43</sup>

Adicionalmente, las plantas tienen un arsenal de protección enzimático y no enzimático contra las ROS derivadas de la alta exposición a UVR y demás condiciones ambientales que generan el estrés oxidativo. Las enzimas involucradas en la inactivación de las ROS, incluyen la superóxido dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1), catalasa (CAT, EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidasa (APX, EC 1.11.1.11), monodehidroascorbato reductasa (MDHAR, EC 1.6.5.4), dehidroascorbato reductasa (DHAR, EC 1.8.5.4), y glutatión reductasa (GR, EC 1.6.4.2), además dentro de los compuestos no enzimáticos se encuentran el ascorbato (ASA), glutatión (GSH),  $\alpha$ -tocoferol y los carotenoides. Debido a que la mayoría de procesos biológicos de protección frente a la UVR en las células vegetales, se pueden extrapolar a las células animales, muchos compuestos que protegen las plantas podrían proteger a los humanos. Desde este punto de vista, se puede contextualizar el uso de algunos metabolitos secundarios de las plantas, como protectores solares en productos de consumo humano, con sus diversos mecanismos de acción.<sup>44</sup>

### Bioactivos con potencial uso en foto-protección

Un protector solar ideal debe proteger la piel contra los rayos UVB y UVA, eliminar los radicales libres, y si es posible, contener enzimas u otros ingredientes activos que estimulen los sistemas de reparación del ADN; asimismo, estos productos deben ser seguros y estables. Los fabricantes de productos con protección solar para consumo humano, han adoptado como estrategia para mejorar el desempeño de sus productos, la adición de sustancias antioxidantes, tales como las vitaminas C y E que pueden aumentar la defensa natural del cuerpo humano frente a las ROS y el estrés oxidativo.<sup>45</sup> Sin embargo, en los últimos años la innovación en protectores solares se ha enfocado más en el uso de antioxidantes de origen botánico, con propiedades benéficas tales como la regulación de procesos inflamatorios e inmunoregulación.<sup>46</sup> También, se ha demostrado que los compuestos bioactivos pueden atenuar los daños producidos por la UVR. Estos compuestos tienen un espectro de actividad contra los efectos nocivos de la UVR, a través de tres mecanismos: 1) disminuyen las quemaduras solares (eritema) y la inflamación inducidas por la UVR; 2) capturan los radicales libres y las ROS; y 3) modulan las vías de señalización alteradas como consecuencia de la exposición a la UVR.

Por lo tanto, dichos compuestos bioactivos pueden ser usados en productos tópicos como coadyuvantes en protección solar y adicionalmente como suplementos dietarios, que han demostrado generar una importante protección contra el estrés oxidativo y la inflamación. La administración oral de estos bioactivos tiene la ventaja de no ser afectada por los lavados, la transpiración o la frotación. Zhou *et al.*,<sup>42</sup> concluyeron que niveles altos de luz provocan un exceso de energía de excitación y un aumento en la producción de ROS en las plantas de lechuga y como consecuencia, éstas desarrollaron un mayor potencial antioxidante. Los autores también concluyeron que los mecanismos de foto-protección en las plantas se pueden usar para aumentar la cantidad de compuestos antioxidantes y así mejorar la calidad nutricional de las hortalizas como la lechuga, mediante la aplicación de elicitores (e.g. exceso de luz) en los cultivos que crecen bajo un medio ambiente controlado. Por lo tanto, es de gran importancia el uso de metabolitos secundarios en diversos productos de consumo humano, por ejemplo, en la producción de alimentos funcionales y desde este punto de vista, también es de gran interés la generación de cosméticos funcionales (cosmecéticos) a partir de compuestos bioactivos.

### Carotenoides

Los carotenoides comprenden una clase de pigmentos liposolubles que se encuentran en numerosas frutas y verduras y junto con los polifenoles, son los antioxidantes de origen natural más conocidos.<sup>47,48</sup> Numerosos estudios han correlacionado el efecto foto-protector de  $\beta$ -caroteno y mezcla de carotenoides ( $\beta$ -caroteno, luteína y licopeno) con una reducción de la intensidad de eritema en igual proporción tanto para el  $\beta$ -caroteno como para la mezcla y se llegó a la conclusión que la ingesta de 24 mg de una mezcla de carotenoides o de 24 mg de  $\beta$ -caroteno, durante 12 semanas presentaba mejoría del eritema inducido por radiación UV en los seres humanos.<sup>49,50</sup> Sin embargo, investigaciones adicionales han demostrado que los efectos foto-protectores son altamente dependientes de la dosis diaria, la duración del tratamiento y el tipo de carotenoide usado.<sup>51</sup> Estos compuestos bioactivos se denominan “protectores solares orales” y su efecto protector esta mediado por sus propiedades antioxidantes. La vitamina A, es uno de los carotenoides ampliamente conocido, absorbe en el rango UV entre 300-350 nm, lo cual podría sugerir su relevancia como filtro solar, siendo un compuesto bioactivo usado como aditivo con efectos nutritivos, hidratantes y antioxidantes en productos de uso tópico de cuidado personal.<sup>52</sup> Sin embargo, se ha comprobado que la vitamina A genera foto-productos tóxicos cuando se expone a la radiación UV y la FDA (Food and Drug Administration) incluyó el palmitato de vitamina A en el Programa Nacional de Toxicología (NTP, National Toxicology Program) como compuesto de alta prioridad para los estudios de foto-toxicidad y foto-carcinogenicidad.<sup>53</sup>

### Micosporinas

Son metabolitos secundarios fúngicos que absorben UVR entre 310-320 nm, formados por un anillo ciclohexanona conjugado con un sustituyente de nitrógeno de un aminoácido o aminoalcohol (Figura 2). Otro tipo de compuestos que se clasifican dentro del mismo grupo, y que también absorben en el rango UV, son los aminoácidos tipo-micosporinas (MAA, Mycosporine-like Amino Acids). Estos últimos se encuentran presentes, principalmente en organismos marinos y por lo general consisten de un derivado de imina de micosporina que contiene un cromóforo aminociclohexenimina con un máximo de absorción entre 310 y 360 nm (Figura 2).<sup>54,55</sup> Los compuestos micosporínicos se encuentran principalmente en hongos, cianobacterias y organismos marinos como algas y esponjas, aunque también se han detectado algunos en líquenes.<sup>56-58</sup>

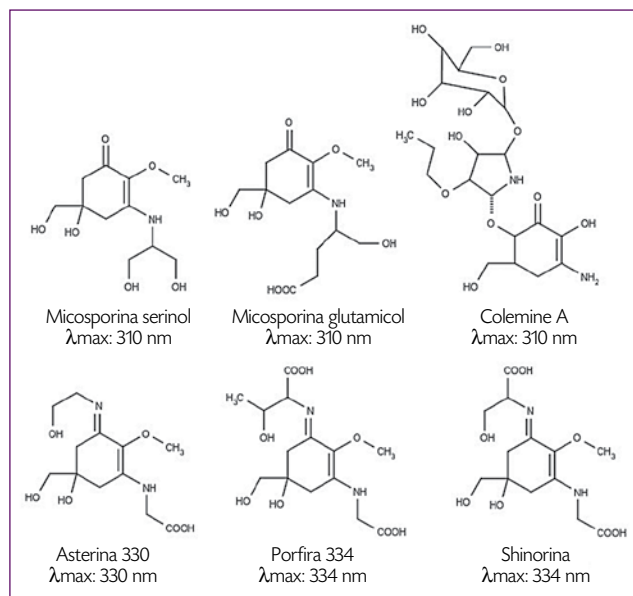


Figura 2.

Algunas algas marinas, fitoplancton y cianobacterias pueden sintetizar MAA que absorben la UVR más nociva (310-360 nm) y han presentado foto-estabilidad significativa sin degradarse y con capacidad antioxidante.<sup>59,60</sup> Sinha et al.,<sup>61</sup> demostraron que la biosíntesis de MAA en *Scytonema sp.*, se puede inducir mediante la exposición controlada a la radiación solar. En conclusión, las cianobacterias tienen el potencial de elevar el contenido de MAA como respuesta a la exposición a la radiación UVB y por ende, pueden adaptarse a las fluctuaciones diarias de la radiación solar en condiciones naturales. No obstante, aunque se tiene suficiente evidencia científica sobre las propiedades foto-protectoras de estos compuestos, son necesarios estudios adicionales para demostrar la eficacia y la seguridad del uso de estos potenciales filtros solares en humanos.

### Polifenoles

En la actualidad, dentro del área de cosmecéuticos, hay un creciente número de estudios que evalúan los efectos antioxidantes de extractos de plantas con el fin de ser incorporados en productos de uso tópico. Los flavonoides se han denominado pigmentos no-fotosintéticos por sus efectos foto-protectores en plantas actuando como filtros solares por absorción de la UVR y disipando el exceso de energía, poseen efectos antioxidantes, protegiendo así a las plantas contra el estrés oxidativo inducido por la UVR.<sup>62</sup> Adicionalmente, existe una amplia evidencia en la literatura acerca de los beneficios coadyuvantes en formulaciones foto-protectoras de uso tópico. Las principales

ventajas que presentan los flavonoides al ser usados como bioactivos foto-protectores, son su amplia distribución en las plantas, permitiendo su fácil disponibilidad y su potencial antioxidante. Los flavonoides ofrecen protección a los tejidos fotosintéticos de las plantas frente a la UVR y dicho mecanismo podría ser extrapolado a la foto-protección en humanos. La biosíntesis de flavonoides inducida por la UVR, sugiere que la absorción de estas radiaciones nocivas puede ser una característica foto-protectora aprovechable de estos compuestos bioactivos.<sup>63-65</sup>

### Algunas fuentes principales de flavonoides

#### Té verde

El té es una de las bebidas más populares alrededor del mundo y se obtiene de las hojas de la planta *Camellia sinesis* de la familia Theaceae. Durante el proceso de obtención del té verde se preserva el 90% de los polifenoles, de los cuales las catequinas alcanzan a estar presentes en un 16-30% del peso seco. Las principales catequinas presentes en el té verde son la (-)-epigalocatequina (EGC), (-)-epicatequina (EC) y los ésteres de ácido galico, (-)-galato de epigalocatequina (EGCG) y (-)-galato de epicatequina (EGC). Las catequinas del té han demostrado poseer propiedades antimutagénicas y anticancerígenas.<sup>66</sup> Katiyar et al.,<sup>67</sup> demostraron que la 3-galato-epigalocatequina, principal flavonoide del té verde, inhibe la respuesta inflamatoria en piel humana mediada por radiación UVB, disminuyendo el eritema y los daños tisulares. Los autores también observaron que la aplicación tópica de galato de epigalocatequina, con una posterior exposición de 4 dosis mínima de eritema (DME), disminuyó la aparición de eritema frente al control, disminuyendo al mismo tiempo la respuesta inmune mediada por la ciclooxigenasa (COX) y las prostaglandinas (PG), previniendo la muerte celular. Estudios adicionales han demostrado que los polifenoles del té verde pueden ser compuestos quimiopreventivos promisorios, usados como estrategia para reducir el riesgo de cáncer de piel inducido por la UVR en humanos.<sup>68</sup>

#### Granada (Pomegranate)

El extracto del fruto de granada (*Punica granatum*) es rico en taninos hidrolizables (punicalina, pedunculagina, punicalagina y ésteres elágico de glucosa) y flavonoides (antocianinas, catequinas, y otros flavonoides complejos) con propiedades antioxidantes y efectos anti-inflamatorios. El extracto de granada protege la piel contra los efectos nocivos de la radiación UVB y UVA. Estudios *ex-vivo* en tejido de piel humana reconstituida, pre-tratada con un extracto de granada y posterior irradiación con UVB, de-

mostró que inhibe la formación de dímeros de pirimidina ciclobutano, 8-dihidroxi-2-deoxiguanosina, así como la oxidación de proteínas y la proliferación celular.<sup>69</sup>

### Silimarina

La silimarina es un extracto de la semilla o del fruto de la planta *Silybum marianum*, perteneciente a la familia de las Asteraceae. La silimarina es una mezcla de flavonoides, principalmente de silibinina, silidianina y silicristina. Cuando se administra de manera oral o tópica presenta propiedades antioxidantes, antiinflamatorias e inmunoregulatorias, mostrando protección contra el cáncer de piel (foto-carcinogenesis) causado por la radiación UVB en modelos animales. La silimarina ha demostrado que disminuye una serie de efectos agudos y crónicos de la UVR en ratones, lo que conlleva principalmente a una protección frente al eritema, protección del ADN y disminución de la inmunosupresión inducida por la radiación. Aunque el mecanismo del efecto anticancerígeno de la silimarina es desconocido, se ha observado que la administración tópica de la silimarina inhibe la formación de dímeros de pirimidina inducida por la exposición a la radiación UVB en un modelo de ratones sin pelo. Adicionalmente, en los linfocitos humanos, dicho extracto ha protegido el ADN frente al daño inducido por el peróxido de hidrógeno.<sup>69</sup>

### Quercetina

La quercetina es un flavonoide con potentes propiedades antioxidantes y efecto protector hacia los sistemas enzimáticos antioxidantes endógenos. Se encuentra presente en algunas frutas (manzanas, uvas, olivas, limones, tomates), vegetales (cebollas, brócoli) y bebidas (té, vino tinto). Velasco et al.<sup>11</sup>, evaluaron formulaciones con rutina 0,1%, en extracto seco de *Passiflora incarnata L.* (equivalente a 0,1% de rutina) y extracto hidroglicólico de *Plantago lanceolata* (equivalente a 0,1% de rutina), etilhexilmetoxicinamato (EHMC), benzofenona-3 (BZP-3) y dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) en diversas combinaciones. Los autores encontraron sinergia, con un alto FPS en las formulaciones que contenían los filtros tradicionales en combinación con rutina (FPS: 27,574 ± 2,055) y extracto hidroglicólico de *Plantago lanceolata* (FPS: 28,064 ± 2,429). Además se observó que la rutina y el extracto seco de *Passiflora incarnata L.*, aumentaban la protección contra los rayos UVA.

### Genisteína

La genisteína (4',5,7-trihydroxyisoflavona), es una isoflavona en forma de glucósido (genistina) encontrada en algunas plantas de la familia Leguminosae. La genisteína

es la principal isoflavona de la soya y además se ha detectado en el trébol rojo, el ginkgo biloba, el orégano griego y salvia griega. Esta isoflavona ha demostrado actividad antioxidante y anticancerígena. Los glucósidos de la genisteína no son estrogénicamente activos, pero pueden tener efectos benéficos para uso tópico. Estudios realizados en ratones demostraron que la genisteína inhibe de manera eficiente el foto-envejecimiento de la piel y la carcinogénesis cutánea inducida por los rayos UV, disminuye la inflamación y protege contra la inmunosupresión inducida por la radiación UV. Una característica importante de este isoflavonoide es que su efecto foto-protector permanece hasta cuatro horas después de la aplicación. Los mecanismos de acción involucrados están relacionados con capacidad antioxidante, protección del daño oxidativo y fotodinámico del ADN, así como la modulación de la señal de la cascada de transducción generada por los rayos UVB.<sup>46</sup>

### Apigenina

La apigenina es un flavonoide, que se encuentra presente en las hojas y tallos de plantas vasculares como escarola y clavos; frutas como manzanas, cerezas y uvas; verduras como apio, brócoli, tomates, cebolla, puerro, cebada y perejil, y bebidas como el té y el vino. La apigenina tiene propiedades como captador de radicales libres, antiinflamatorias y anticancerígenas. La aplicación tópica ha demostrado que impide foto-carcinogénesis en estudios con ratones. Dicho efecto anticancerígeno es en parte, mediado por la inhibición de la expresión de la COX-2 inducida por la radiación UVB. La apigenina también mejora apoptosis inducida por la radiación UVB.<sup>14,44</sup>

## Polifenoles no flavonoides

### Curcumina

La curcumina es un pigmento amarillo cuyo principio activo es el diferuloimetano (polifenol) que se extrae del rizoma de la *Curcuma longa*. El rizoma de la cúrcuma, se usa como especia en el subcontinente indio, además es ampliamente utilizado en la medicina tradicional para el tratamiento de muchas enfermedades inflamatorias. La curcumina se usa en algunos cosméticos comercializados en muchos lugares del mundo, pero principalmente en la India. La curcumina puede secuestrar ROS, incluyendo radicales anión superóxido, radicales hidroxilo y radicales de óxido de nitrógeno. La curcumina posee además, propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas y antimicrobianas y también puede inhibir el edema inducido por el ácido araquidónico en un modelo

animal (ratones) y en estudios *in-vitro* puede inhibir la actividad de la COX-2 y la lipooxigenasa. La aplicación tópica de curcumina en piel de ratón, aumenta el contenido de glutatión y la actividad de la glutatión transferasa, e inhibe la peroxidación lipídica.<sup>69</sup>

### Resveratrol

El resveratrol (*trans*-3,4',5-trihidroxiestilbeno) es una fitoalexina polifenólica identificada en aproximadamente 70 especies de plantas. Se ha encontrado principalmente en las semillas y la piel de uvas, diversas frutas, nueces, moras y vino tinto, presentando una amplia gama de propiedades biológicas y farmacológicas. Este polifenol ha mostrado un potencial efecto antioxidante, propiedades antimutagénicas, antiinflamatorias y antiproliferativo; también se puede comportar como un inductor de las enzimas de la fase II del metabolismo de fármacos, inhibe la COX-2 y la hidropoxidasa. Investigaciones en modelos animales han mostrado que el uso tópico disminuye el engrosamiento, el edema y la inflamación de la piel, así mismo inhibe la generación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la infiltración de leucocitos y la peroxidación lipídica.<sup>70</sup> Sin embargo, hasta la fecha, los estudios en humanos no han generado resultados concluyentes con evidencia científica que avalen sus efectos benéficos.<sup>71,72</sup>

### Conclusiones

Son claros los efectos perjudiciales generados por el exceso de la exposición de los organismos vivos a la radiación solar, de los cuales el más preponderante en los humanos es el riesgo de foto-carcinogenesis debido a la UVR. También se ha encontrado que en los organismos fotosintéticos, la radiación solar tiene efectos nocivos sobre algunas macromoléculas (proteínas y material genético). Sin embargo estos organismos necesitan ciertas regiones del espectro electromagnético para realizar muchos de sus procesos biológicos. Por lo anterior, dichos organismos deben generar un mecanismo de protección tan eficiente que los proteja de los rayos UVB, pero a su vez que permita captar la PAR, necesaria para el proceso de fotosíntesis. Muchos metabolitos secundarios presentes en las plantas y en otros organismos fotosintéticos usados como mecanismos de foto-protección, pueden ser compuestos promisorios para la foto-protección en humanos. Es así como a través de los diversos mecanismos tales como capacidad antioxidante, propiedades antimutagénica, anticancerígena, inmunoreguladora, antiinflamatorias y capacidad de filtro solar, se puede inferir que los polifenoles, las micospirinas y los MAA, son compuestos promisorios que podrían incluirse en las nuevas estrate-

gias de foto-protección como compuestos bioactivos en productos tópicos, ya sea de manera exclusiva o en combinación con los filtros solares convencionales. Sin embargo se hace necesario profundizar más en el estudio de estos bioactivos en relación con la capacidad que puedan tener estas sustancias para absorber la UVR y su efectividad como filtros solares.

### Agradecimientos

Los autores agradecen la beca doctoral de Mejía-Giraldo J.C. otorgada por Colciencias. Vicerrectoría de Investigación, Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI), Universidad de Antioquia (proyecto IN632CE).

### REFERENCIAS

1. COLIPA "Guidelines". *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*; 2006.
2. Giacometti GM, Morosinotto T. "Photoinhibition and Photoprotection in Plants, Algae, and Cyanobacteria." In: Lennarz WJ, Lane M, eds. *London Waltham: Academic Press*; 2013:482-487.
3. Krause GH, Schmude C, Garden H, Koroleva OY, Winter K. "Effects of Solar Ultraviolet Radiation on the Potential Efficiency of Photosystem II in Leaves of Tropical Plants." *Plant Physiol* 1999;121(4):1349-1358.
4. Murata N, Takahashi S, Nishiyama Y, Allakhverdiev SI. "Photoinhibition of photosystem II under environmental stress." *Biochim Biophys Acta Bioenerg* 2007;1767(6):414-421.
5. Nishiyama Y, Allakhverdiev SI, Murata N. "A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II." *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* 2006;1757(7):742-749.
6. Takahashi S, Murata N. "How do environmental stresses accelerate photoinhibition?" *Trends Plant Sci* 2008;13(4):178-182.
7. Gallagher RP, Lee TK. "Adverse effects of ultraviolet radiation: A brief review." *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92(1):119-131.
8. Kullavanijaya P, Lim HW. "Photoprotection." *J Am Acad Dermatol* 2005; 52(6):937-958.
9. Seité S, Moyal D, Verdier M-P, Hourseau C, Fourtanier A. "Accumulated p53 protein and UVA protection level of sunscreens." *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2000;16(1):3-9.
10. Vielhaber G, Grether-Beck S, Koch O, Johncock W, Krutmann J. "Sunscreens with an absorption maximum of [greater-than-or-equal] 360 nm provide optimal protection against UVA1-induced expression of matrix metalloproteinase-1, interleukin-1, and interleukin-6 in human dermal fibroblasts." *Photochem Photobiol Sci* 2006;5(3):275-282.
11. Velasco MVR, Sarruf FD, Salgado-Santos IMN, Haroutiounian-Filho CA, Kaneko TM, Baby AR. "Broad spectrum bioactive sunscreens." *Int J Pharm* 2008;363(1-2):50-57.
12. Halliday GM, Byrne SN, Kuchel JM, Poon TSC, Barnetson RSC. "The suppression of immunity by ultraviolet radiation: UVA, nitric oxide and DNA damage." *Photochem Photobiol Sci* 2004;3(8):736-740.
13. Pinnell SR. "Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection." *J Am Acad Dermatol* 2003;48(1):1-19.
14. Zaid MA, Afaq F, Syed DN, Mukhtar H. "Chapter 8 - Botanical Antioxidants for Protection Against Damage from Sunlight." In: Tabor A, Blair RMBT-NC, eds. *Personal Care & Cosmetic Technology*. Boston: William Andrew Publishing; 2009:161-183.
15. Wulf HC, Sandby-Møller J, Kobayasi T, Gniadecki R. "Skin aging and natural photoprotection." *Micron* 2004;35(3):185-191.



16. De Fine Olivarius F, Wulf HC, Crosby J, Norval M. "Isomerization of urocanic acid after ultraviolet radiation is influenced by skin pigmentation." *J Photochem Photobiol B Biol* 1999;48(1):42-47.
17. Duro Mota E, Campillos Páez MT, Causín Serrano S. "El sol y los filtros solares." *Medifam* 2003;13 :39-45.
18. Stahl W, Sies H. "Chapter 29 Protection against solar radiation – protective properties of antioxidants." En: *Photosciences PUGBT-CS*, ed. *Sun Protection in Man*. Vol Volume 3. Elsevier; 2001:561-572.
19. Steenvoorden DPT, Beijersbergen van Henegouwen GMJ. "The use of endogenous antioxidants to improve photoprotection." *J Photochem Photobiol B Biol* 1997;41(1-2):1-10.
20. Morabito K, Shapley NC, Steeley KG, Tripathi A. "Review of sunscreen and the emergence of non-conventional absorbers and their applications in ultraviolet protection." *Int J Cosmet Sci* 2011; 33(5):385-390.
21. Palm MD, O'Donoghue MN. "Update on photoprotection." *Dermatol Ther* 2007;20(5):360-376.
22. Gaspar LR, Maia Campos PMBG. "Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen." *Int J Pharm* 2006; 307(2):123-128.
23. Gaspar LR, Campos PMBGM. "Photostability and efficacy studies of topical formulations containing UV-filters combination and vitamins A, C and E." *Int J Pharm* 2007;343(1-2):181-189.
24. Karlsson I, Hillerström L, Stenfeldt A-L, Mårtensson J, Börje A. "Photo-degradation of Dibenzoylmethanes: Potential Cause of Photocontact Allergy to Sunscreens." *Chem Res Toxicol* 2009;22(11):1881-1892.
25. Bryden AM, Moseley H, Ibbotson SH, et al. "Photopatch testing of 1155 patients: results of the U.K. multicentre photopatch study group." *Br J Dermatol* 2006;155(4):737-747.
26. Gaspar LR, Tharmann J, Maia Campos PMBG, Liebsch M. "Skin phototoxicity of cosmetic formulations containing photounstable and photostable UV-filters and vitamin A palmitate." *Toxicol Vitro* 2013; 27(1):418-425.
27. Lee PA, Freeman S. "Photosensitivity: The 9-year experience at a Sydney contact dermatitis clinic." *Australas J Dermatol* 2002;43(4): 289-292.
28. Victor FC, Cohen DE, Soter NA. "A 20-year analysis of previous and emerging allergens that elicit photoallergic contact dermatitis." *J Am Acad Dermatol* 2010;62(4):605-610.
29. Wong T, Orton D. "Sunscreen allergy and its investigation." *Clin Dermatol* 2011;29(3):306-310.
30. Sarveiya V, Risk S, Benson HAE. "Liquid chromatographic assay for common sunscreen agents: application to in vivo assessment of skin penetration and systemic absorption in human volunteers." *J Chromatogr B* 2004;803(2):225-231.
31. Carrasco-Rios L. "Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas." *Ide-sia (Arica)* 2009;27:59-76.
32. Demmig-Adams B, Adams WW. "Antioxidants in Photosynthesis and Human Nutrition." *Sci* 2002;298 (5601):2149-2153.
33. Camarero JJ, Olano JM, Arroyo Alfaro SJ, Fernández-Marín B, Becerril JM, García-Plazaola JI. "Photoprotection mechanisms in *Quercus ilex* under contrasting climatic conditions." *Flora - Morphol Distrib Funct Ecol Plants* 2012;207(8):557-564.
34. Takahashi S, Badger MR. "Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage." *Trends Plant Sci* 2011;16(1):53-60.
35. Zubik M, Luchowski R, Grudzinski W, et al. "Light-induced isomerization of the LHClI-bound xanthophyll neoxanthin: Possible implications for photoprotection in plants." *Biochim Biophys Acta - Bioenerg* 2011; 1807(9):1237-1243.
36. Havaux M, Bonfils J-P, Lütz C, Niyogi KK. "Photodamage of the Photosynthetic Apparatus and Its Dependence on the Leaf Developmental Stage in the npq1 Arabidopsis Mutant Deficient in the Xanthophyll Cycle Enzyme Violaxanthin De-epoxidase." *Plant Physiol* 2000;124(1): 273-284.
37. Quattrocchio F, Baudry A, Lepiniec L, Grotewold E. "The Regulation of Flavonoid Biosynthesis." In: Grotewold E, ed. *The Science of Flavonoids SE - 4*. Springer New York; 2006:97-122.
38. Winkel-Shirley B. "Biosynthesis of flavonoids and effects of stress." *Curr Opin Plant Biol* 2002;5(3):218-223.
39. Agati G, Tattini M. "Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection." *New Phytol* 2010;186(4):786-793.
40. Bieza K, Lois R. "An Arabidopsis Mutant Tolerant to Lethal Ultraviolet-B Levels Shows Constitutively Elevated Accumulation of Flavonoids and Other Phenolics." *Plant Physiol* 2001;126 (3 ):1105-1115.
41. Chalker-Scott L. "Environmental Significance of Anthocyanins in Plant Stress Responses." *Photochem Photobiol* 1999;70(1):1-9.
42. Zhou Y-H, Zhang Y-Y, Zhao X, Yu H-J, Shi K, Yu J-Q. "Impact of Light Variation on Development of Photoprotection, Antioxidants, and Nutritional Value in *Lactuca sativa* L." *J Agric Food Chem* 2009;57(12): 5494-5500.
43. Morales LO, Tegelberg R, Brosché M, Lindfors A, Siipola S, Aphalo PJ. "Temporal variation in epidermal flavonoids due to altered solar UV radiation is moderated by the leaf position in *Betula pendula*." *Physiol Plant* 2011;143(3):261-270.
44. F'guyer S, Afaq F, Mukhtar H. "Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents." *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2003; 19(2):56-72.
45. Wang SQ, Osterwalder U, Jung K. "Ex vivo evaluation of radical sun protection factor in popular sunscreens with antioxidants." *J Am Acad Dermatol* 2011;65(3):525-530.
46. Gilaberte Y, González S. "Novedades en fotoprotección." *Actas Dermosifiliogr* 2010;101(08):659-672.
47. Stahl W, Sies H. "Bioactivity and protective effects of natural carotenoids." *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* 2005;1740(2):101-107.
48. Anunciato TP, da Rocha Filho PA. "Carotenoids and polyphenols in nutricosmetics, nutraceuticals, and cosmeceuticals." *J Cosmet Dermatol* 2012;11(1):51-54.
49. Heinrich U, Gärtner C, Wiebusch M, et al. "Supplementation with  $\beta$ -Carotene or a Similar Amount of Mixed Carotenoids Protects Humans from UV-Induced Erythema." *J Nutr* 2003;133 (1 ):98-101.
50. Stahl W, Heinrich U, Jungmann H, Sies H, Tronnier H. "Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans." *Am J Clin Nutr* 2000;71 (3 ):795-798.
51. Verschooten L, Claerhout S, Van Laethem A, Agostinis P, Garmyn M. "New Strategies of Photoprotection." *Photochem Photobiol* 2006; 82(4):1016-1023.
52. Antille C, Tran C, Sorg O, Carraux P, Didierjean L, Saurat J-H. "Vitamin A Exerts a Photoprotective Action in Skin by Absorbing Ultraviolet B Radiation." *J Invest Dermatol* 2003;121(5):1163-1167.
53. Tolleson WH, Cherng S-H, Xia Q, et al. "Photodecomposition and Phototoxicity of Natural Retinoids." *Int J Environ Res Public Health* 2005;2(1):147-155.
54. Cockell CS, Knowland J. "Ultraviolet radiation screening compounds." *Biol Rev* 1999;74(3):311-345.
55. Conde FR, Churio MS, Previtali CM. "The photoprotector mechanism of mycosporine-like amino acids. Excited-state properties and photostability of porphyrin-334 in aqueous solution." *J Photochem Photobiol B Biol* 2000;56(2-3):139-144.
56. Roullier C, Chollet-Krugler M, Bernard A, Boustie J. "Multiple dual-mode centrifugal partition chromatography as an efficient method for the purification of a mycosporine from a crude methanolic extract of *Lichina pygmaea*." *J Chromatogr B* 2009;877(22):2067-2073.
57. Roullier C, Chollet-Krugler M, Pferschy-Wenzig E-M, et al. "Characterization and identification of mycosporines-like compounds in cyanolichens. Isolation of mycosporine hydroxyglutamylol from *Nephroma laevigatum* Ach." *Phytochemistry* 2011;72(11-12):1348-1357.
58. Volkman M, Gorbushina AA. "A broadly applicable method for extraction and characterization of mycosporines and mycosporine-like

- amino acids of terrestrial, marine and freshwater origin." *FEMS Microbiol Lett* 2006;255(2):286-295.
59. M. Bandaranayake W. "Mycosporines: are they nature's sunscreens?" *Nat Prod Rep* 1998;15(2):159-172.
  60. Whitehead K, Hedges JI. "Photodegradation and photosensitization of mycosporine-like amino acids." *J Photochem Photobiol B Biol* 2005; 80(2):115-121.
  61. Sinha RP, Klisch M, Walter Helbling E, Häder D-P. "Induction of mycosporine-like amino acids (MAAs) in cyanobacteria by solar ultraviolet-B radiation." *J Photochem Photobiol B Biol* 2001;60(2-3):129-135.
  62. Edreva A. "The importance of non-photosynthetic pigments and cinnamic acid derivatives in photoprotection." *Agric Ecosyst Environ* 2005; 106(2-3):135-146.
  63. Agati G, Galardi C, Gravano E, Romani A, Tattini M. "Flavonoid Distribution in Tissues of *Phillyrea latifolia* L. Leaves as Estimated by Microspectrofluorometry and Multispectral Fluorescence Microimaging." *Photochem Photobiol* 2002;76(3):350-360.
  64. Harborne JB, Williams CA. "Advances in flavonoid research since 1992." *Phytochemistry* 2000;55(6):481-504.
  65. Kotilainen T, Tegelberg R, Julkunen-Tiitto R, Lindfors A, Aphalo PJ. "Metabolite specific effects of solar UV-A and UV-B on alder and birch leaf phenolics." *Glob Chang Biol* 2008;14(6):1294-1304.
  66. Katiyar S, Elmetts CA, Katiyar SK. "Green tea and skin cancer: photoimmunology, angiogenesis and DNA repair." *J Nutr Biochem* 2007; 18(5):287-296.
  67. Katiyar SK, Matsui MS, Elmetts CA, Mukhtar H. "Polyphenolic Antioxidant (-)-Epigallocatechin-3-Gallate from Green Tea Reduces UVB-Induced Inflammatory Responses and Infiltration of Leukocytes in Human Skin." *Photochem Photobiol* 1999;69(2):148-153.
  68. Katiyar SK, Perez A, Mukhtar H. "Green Tea Polyphenol Treatment to Human Skin Prevents Formation of Ultraviolet Light B-induced Pyrimidine Dimers in DNA." *Clin Cancer Res* 2000;6 (10 ):3864-3869.
  69. Afaq F. "Natural agents: Cellular and molecular mechanisms of photoprotection." *Arch Biochem Biophys* 2011;508(2):144-151.
  70. Masaki H. "Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects." *J Dermatol Sci* 2010;58(2):85-90.
  71. Tome-Carneiro J, Larrosa M, Gonzalez-Sarrias A, A. Tomas-Barberan F, Teresa Garcia-Conesa M, Carlos Espin J. "Resveratrol and Clinical Trials: The Crossroad from In Vitro Studies to Human Evidence." *Curr Pharm Des* 2013;19(34):6064-6093.
  72. Vang O. "What is new for resveratrol? Is a new set of recommendations necessary?" *Ann N Y Acad Sci* 2013;1290(1):1-11.