

Las plantas como fuente de compuestos fotoprotectores frente al daño en el ADN producido por la radiación ultravioleta

Jorge Luis Fuentes Lorenzo

Laboratorio de Microbiología y Mutagénesis Ambiental, Grupo de Investigación en Microbiología y Genética, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias; Centro de Investigación en Biomoléculas, CIBIMOL, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

Artículo de posesión para el ingreso como miembro correspondiente a la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

Resumen

La fotoprotección es una estrategia preventiva y terapéutica frente al cáncer y el envejecimiento de la piel. En el presente trabajo se revisan los efectos biológicos adversos de la radiación ultravioleta, los conceptos básicos relevantes de la fotoprotección y los métodos para llevar a cabo su medición. Asimismo, se resumen los resultados obtenidos de la caracterización radiobiológica y genética del modelo experimental (SOS Chromotest) usado para la bioprospección de extractos y moléculas de origen vegetal con potencial en fotoprotección. Además, se presentan datos sobre la eficacia fotoprotectora y las estimaciones del efecto antigenotóxico de aceites esenciales y extractos obtenidos de especies de plantas, así como de los compuestos mayoritarios de los aceites y extractos promisorios analizados en este estudio. Por último, se postulan posibles mecanismos de acción de algunas moléculas relevantes. Los resultados se presentan y discuten destacando su potencial uso para el desarrollo de bloqueadores solares multifuncionales.

Palabras claves: Radiación ultravioleta; Fotoprotección; Antigenotoxicidad; Metabolitos secundarios de plantas.

Plants as a source of photoprotective compounds against ultraviolet radiation-induced DNA damage

Abstract

Photoprotection is a preventive and therapeutic strategy against skin cancer and photoaging. In the present work, we review the adverse biological effects of the ultraviolet radiation, the basic concepts with relevance in photoprotection, and the methods to carry out its measurement. Likewise, we summarized the main results obtained from the radiobiological and genetic characterization of the SOS Chromotest model, which we used for bioprospecting photoprotective activity of plant extracts and molecules. Besides, we showed photoprotective efficacy and/or antigenotoxicity estimates of plant essential oils and extracts, as well as of the major compounds of promissory oils and extracts analyzed in our study. Finally, action mechanisms of the relevant molecules are postulated. These results are presented and discussed considering their potential use to formulate multi-functional sunscreen.

Key words: Ultraviolet radiation; Photoprotection; Antigenotoxicity; Plant secondary metabolites.

La sobreexposición a la radiación solar en humanos constituye un problema de salud pública debido al efecto carcinógeno de la radiación ultravioleta (Linós, *et al.*, 2009). El rango espectral ultravioleta de la radiación solar comprende los rayos UVA de onda larga (315–400 nm), los rayos UVB de onda media (280–315 nm) y los rayos UVC de onda corta (100–280 nm). Los rayos UVC son totalmente absorbidos por la capa de ozono, en tanto que entre 1 y 10 % de los rayos UVB y entre 90 y 99 % de los rayos UVA alcanzan la superficie terrestre. Por esto, se considera que solo los rayos UVB y UVA tienen una real importancia biológica (Ganesan & Hanawalt, 2016).

Los efectos biológicos nocivos de la radiación ultravioleta dependen de su energía e incluyen desde daños leves en la piel, como el eritema, hasta otros más graves como quemaduras, (Narayanan, *et al.*, 2010). Tanto los rayos UVA como los UVB producen daños en el ADN, principalmente los dímeros de pirimidina ciclobutano (*cyclobutane pyrimidine dimer*, CPD) (Tewari, *et al.*, 2012),

Correspondencia:

Jorge Luis Fuentes Lorenzo; jfuentes@uis.edu.co

Recibido: 20 de febrero de 2019

Aceptado: 20 de julio de 2019

Editor: Luis Fernando Echeverri

los cuales causan mutaciones conocidas como huellas genéticas UV (**Brash, 2015**) que desencadenan procesos inflamatorios y causan inmunosupresión y cáncer de piel (**Vink & Roza, 2001**). Aunque en menor medida, los rayos UVB también producen niveles importantes de (6-4) pirimidina pirimidona (6-4PP) y los de UVA, bases oxidadas (8-oxo-7,8-dihidro-deoxiguanina, formamido-pirimidinas, roturas de cadena simples) (**Tewari, et al., 2012**).

Los CPD y la 6-4PP constituyen un obstáculo para la replicación del ADN y producen un bloqueo del ciclo celular (**Yeeles, et al., 2013**); dichos daños deben ser reparados para que la célula restaure la replicación de su genoma y sobreviva. En la mayoría de los seres vivos, los mecanismos de reparación del daño genético constituyen la primera barrera de defensa frente a los CPD y la 6-4PP, entre los cuales se destacan la fotorreactivación (**Kneutinger, et al., 2014**) y la reparación por escisión de nucleótidos (*Nucleotide Excision Repair*, NER) (**Schärer, 2013**).

Además, las células expuestas a la radiación ultravioleta pueden activar diferentes respuestas dirigidas a restaurar la división celular y, en últimas, a garantizar la sobrevivencia del organismo. En las bacterias la radiación ultravioleta induce la respuesta SOS, una respuesta de emergencia celular que controla funciones como la reparación del ADN, la mutagénesis SOS o síntesis de translesión de ADN, la formación del septo celular, y la restauración de la replicación del genoma bacteriano, entre otras (**Schlacher & Goodman, 2007**). Una respuesta similar inducible por la radiación ultravioleta se ha descrito en células de la piel de los mamíferos (**Eller, et al., 2008**); en ella, los melanocitos y los queratinocitos responden a los CPD o a la exposición a los oligonucleótidos del dinucleótido del ADN timidina (pTpT), los cuales mimetizan la señal del daño genético por UV en la célula activando la proteína supresora de tumores 53 (p53) (**Eller, et al., 1997**). Esta proteína funciona como un factor de transcripción o efector de diferentes vías de señalización celular y permite la producción de melanina y la restauración de funciones esenciales inhibidas por la radiación ultravioleta, como la división celular y la reparación del daño genético (Figura S1, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/view/841/2548>). La proteína p53 promueve la inducción de genes que incrementan la habilidad de la célula para sobrevivir al daño inducido por la radiación ultravioleta en futuras exposiciones a este agente (**Mayer, et al., 2001**). Entre estos genes se encuentran aquellos que codifican proteínas involucradas en la melanogénesis de la piel (tirosinasas, hormona estimuladora de melanocitos α), el control del ciclo celular (proteína efectora p21, antígeno nuclear de proliferación celular), la NER y la síntesis de translesión de ADN en humanos. Cuando esta respuesta de fotoprotección es inducida por oligonucleótidos de pTpT, reduce el número de melanomas inducido por la radiación ultravioleta en ratones (**Arad, et al., 2008**) y en humanos (**Arad, et al., 2007**). Por ello, el uso de oligonucleótidos de pTpT se ha propuesto como una estrategia preventiva

de fotoprotección (**Goukassian, et al., 2012**). Los CPD también inician estados de inflamación e inmunosupresión (Figura S1, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/view/841/2548>). En estos casos, a través de la vía de la señalización celular del factor de transcripción nuclear κ B, se activan los genes de las interleucinas 8 y 10 y del factor de necrosis tumoral α , los cuales desempeñan un papel central en la inflamación cutánea y la inmunosupresión inducida por la radiación ultravioleta (**Ullrich, 2005**).

En contraste con todo el conocimiento sobre los efectos adversos producidos por los CPD, los estudios disponibles sobre el papel de las bases oxidadas del ADN en el cáncer de piel son contradictorios (**Lund & Timmins, 2007**). En estudios recientes se ha evidenciado que las oxidasas mitocondriales participan en la producción de las especies reactivas de oxígeno (ERO) inducidas por los rayos UVA (**Schuch, et al., 2017**), las cuales oxidan enzimas que reparan el ADN dañado, lo que podría comprometer la remoción de daños inducidos por la radiación ultravioleta (**Brem, et al., 2017**). Además, dañan componentes estructurales de la piel como la actina y el colágeno afectando así la integridad de la dermis y la epidermis (**Yamaba, et al., 2016**), lo cual se ha relacionado con el envejecimiento de la piel (**Poon, et al., 2015**).

Estos hallazgos respaldan el papel fundamental de los CPD y las ERO en el efecto inducido por la radiación ultravioleta en el desarrollo del cáncer y el envejecimiento de la piel, respectivamente. Si el nivel de los CPD en la célula supera su capacidad para repararlos, y estos persisten durante la fase S del ciclo celular, una polimerasa propensa a error puede polimerizar estos fotoproductos (**Vaisman & Woodgate, 2017**) produciendo las ya mencionadas huellas genéticas UV (**Brash, 2015**). Cuando estas mutaciones se acompañan de la pérdida de la función de los genes supresores de tumores, como el de la proteína p53 (**Ziegler, et al., 1994**), la célula pierde la capacidad de reparar el daño (**Gatz & Wiesmuller, 2006**) y de producir melanina (**Cui, et al., 2007**), dando lugar a procesos de expansión clonal de las células mutantes involucradas en las fases iniciales del cáncer de piel (**Jonason, et al., 1996**). Se ha establecido que alrededor del 90 % de los pacientes con carcinomas de la piel presentan mutaciones en el gen p53 (**Ziegler, et al., 1994**).

El riesgo de padecer cáncer de piel debido a la sobreexposición a la radiación solar se ha evaluado principalmente mediante índices empíricos, tales como la dosis mínima de eritema (DME) (**Parrish, et al., 1982**). El eritema es un efecto inflamatorio agudo producido por los rayos UVB que se manifiesta como un proceso de enrojecimiento de la piel (**Vink & Roza, 2001**). **Young, et al.** (1998) evidenciaron la similitud en los patrones de CPD y del eritema para el rango espectral de 280 a 340 nm, lo que sugiere que los CPD son cromóforos del eritema (Figura S2, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/view/841/2549>). Con base en esta concordancia, los autores propusieron usar índices DME como un

sustituto de los componentes espectrales UVB (280–315 nm) y UVA^{II} (315–340 nm) causantes de daño en el ADN de los melanocitos y queratinocitos de la piel (Ikehata, *et al.*, 2013a).

La fotoprotección y su medición

La fotoprotección es una estrategia preventiva y terapéutica frente al cáncer y al fotoenvejecimiento de la piel (Chhabra, *et al.*, 2017). La estrategia de protección más aceptada es el uso tópico de bloqueadores solares (cremas, lociones, emulsiones, barras, etc.). Estos bloqueadores solares contienen compuestos orgánicos o inorgánicos que actúan como filtros solares absorbiendo o refractando la radiación ultravioleta, con lo que se evita su absorción en el ADN (Jansen, *et al.*, 2013). Recientemente, se han revisado las propiedades más relevantes de los filtros solares comúnmente usados en los bloqueadores solares comerciales (Wang, *et al.*, 2017).

El factor de protección solar (FPS) *in vivo* (Sayre, *et al.*, 1979) fue el primer método para evaluar la efectividad de dicha protección al indicar cuánto aumenta la capacidad de la protección natural de la piel contra el eritema. Sin embargo, los métodos *in vivo* para evaluar la efectividad de la protección solar son laboriosos y controvertidos por razones éticas (Bendová, *et al.*, 2007). Por lo tanto, se han propuesto índices basados en los datos obtenidos *in vitro* sobre la absorción espectral de radiación ultravioleta y la radiación solar global productoras de eritema (Stanfield, *et al.*, 2010), entre los cuales se destacan los siguientes: i) factor de protección solar (FPS_{*in vitro*}), ii) factor de protección UVA (FP-UVA), iii) relación UVA/UVB (R), y

iv) longitud de onda crítica (λ). Algunos de estos índices se han incluido en las guías de la *European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association (Colipa, 2011)* y de la *Food and Drug Administration* de los Estados Unidos (FDA, 2011).

Infortunadamente, la prevención del eritema con bloqueadores solares no garantiza que no se generen fotoproductos del ADN epidérmico, ya que el efecto genotóxico de la radiación ultravioleta puede ocurrir con dosis más bajas que la DME (Young, *et al.*, 1998). Por ello, se ha sugerido reconsiderar la evaluación del riesgo por exposición a la radiación ultravioleta basada en el eritema (Ikehata, *et al.*, 2013a). Para superar estas limitaciones y mejorar el actual sistema de medición de la eficacia fotoprotectora de los bloqueadores solares, se han propuesto otros índices como el factor de protección inmunitario (Fourtanier, *et al.*, 2005), el factor de protección de la piel de radicales libres (Herrling, *et al.*, 2006), y el factor de protección genotóxico (Césarini & Demanneville, 2000). Este último permite medir la eficacia fotoprotectora directamente en el ADN (Schuch, *et al.*, 2014), y con ello diferenciar moléculas que funcionan como filtros solares de otras que estimulan la capacidad celular para reparar el daño genético, como ya se indicó anteriormente.

En tal sentido, recientemente nos hemos propuesto el uso del SOS Chromotest (Quillardet, *et al.*, 1982) para la bioprospección de plantas con potencial de fotoprotección (Fuentes, *et al.*, 2017). Este ensayo mide la respuesta SOS en *Escherichia coli*, la cual relaciona el daño genético, la replicación del ADN y la división celular (Figura 1).

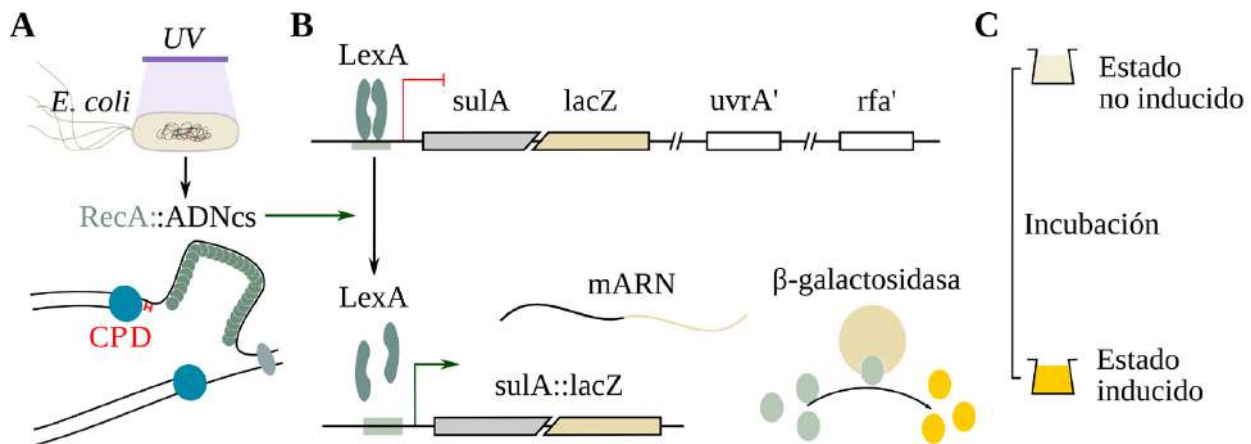


Figura 1. Fundamento del SOS Chromotest. El ensayo se fundamenta en la medición de un sistema inducible de emergencia celular (respuesta SOS), que relaciona la replicación del ADN y la división celular en *Escherichia coli*. Cuando las células de *E. coli* se exponen a agentes mutágenos que distorsionan el ADN (por ejemplo: los *DNA-protein crosslinks*, DPC), tal distorsión constituye un obstáculo para la replicación del cromosoma y, en consecuencia, se detiene la división celular. Con el fin de reparar los daños producidos en el ADN y restaurar la división celular, la célula induce la respuesta SOS. En la cepa *E. coli* PQ37, la inducción se inicia con la unión de la proteína RecA a regiones de ADN de cadena simple, próximas a la horquilla de replicación del ADN detenida por el daño (A). Esta forma activada de RecA promueve la auto-incisión del represor LexA que permite la transcripción de los genes SOS, incluida la fusión transcripcional *sulA::lacZ* (B). En presencia de un sustrato indicador, la enzima β -galactosidasa (producto del gen *lacZ*) produce color o fluorescencia que se mide utilizando un espectrofotómetro o fluorómetro, según sea el caso (C). La cantidad de color o fluorescencia producida es directamente proporcional a la cantidad de daño inducido.

Aunque el SOS Chromotest ha sido uno de los ensayos más usados para la evaluación genotóxica de sustancias químicas (Escobar, *et al.*, 2013), poco se conocía sobre su sensibilidad a la radiación ultravioleta (Quillardet & Hofnung, 1984). Comparado con otros modelos experimentales (dosímetros de ADN, ensayo enzimático con endonucleasa V del bacteriófago T4, ensayo del cometa), el SOS Chromotest es el ensayo más sensible a la radiación ultravioleta que se conoce, pues detecta daños en las siguientes dosis mínimas de radiación ultravioleta: UVC (0,02 J/m²), UVB (10 J/m²) y UVA (5000 J/m²). Utilizando cepas mutantes isogénicas de *E. coli* (Prada-Medina, *et al.*, 2016), se ha estudiado el efecto de diferentes deficiencias genéticas en la supervivencia y la inducción de la respuesta SOS frente a la radiación UVB en este modelo experimental. Se evidenció que cinco mutaciones (*uvrA* > *recB* > *recO* > *recJ* > *xonA*) afectaron de manera importante la supervivencia celular. Además, en las mutaciones *uvrA* y *recJ* se registró una elevada inducción de la respuesta SOS en comparación con la cepa salvaje, incluso 240 minutos después de la irradiación. Las cepas con las mutaciones *recO* o *recN* no indujeron la respuesta SOS en *E. coli*. Un hallazgo importante fue constatar que para la supervivencia celular los mecanismos de recombinación homóloga del ADN son tan importantes como la NER, lo cual sugiere que tienen un papel durante la eliminación de los fotoproductos inducidos por la radiación UVB en el ADN celular. Además, en nuestro estudio se proponen nuevas funciones para los productos génicos de *recO* o *recN* en los procesos de inducción de la respuesta SOS en *E. coli*. Usando algunas cepas de este microorganismo (PQ30, PQ37, IN250, IN400), se estudiaron las fases del proceso de reorganización del nucleóide bacteriano después de la irradiación (Estévez-Castro, *et al.*, 2018). El estudio postuló nuevas funciones para algunas proteínas de reparación del ADN (*UvrA*, *RecJ* y *RecN*) durante este proceso y estableció las bases experimentales para el uso de dichas cepas en estudios de fotoprotección. En resumen, los tres estudios mencionados permitieron consolidar el conocimiento básico que validó el uso eficaz de modelos experimentales *in vitro*, basados en una fusión transcripcional con genes SOS bacterianos en estudios de fotoprotección.

A continuación se señalan las razones que justifican el uso del ensayo SOS Chromotest para la bioprospección de compuestos fotoprotectores. Primero, se ha descrito en células de piel humana una respuesta fotoprotectora inducible por radiación ultravioleta similar a la respuesta SOS bacteriana que involucra la melanogénesis, la detención del ciclo celular, y la inducción de genes involucrados en la reparación del CPD y en la síntesis de translesión del ADN (Eller, *et al.*, 2008). Por lo tanto, el ensayo SOS Chromotest, muy sensible a la radiación ultravioleta (Fuentes, *et al.*, 2017), debe predecir adecuadamente la fotoprotección en células de piel humana. Segundo, ya se ha probado la utilidad del ensayo para la evaluación de la actividad antigenotóxica

de compuestos de origen vegetal (Vicuña, *et al.*, 2010; López, *et al.*, 2011; Quintero, *et al.*, 2012). Tercero, como ya se indicó, se han identificado genes críticos para la supervivencia celular frente a la radiación ultravioleta y la inducción de SOS en este modelo experimental (Prada-Medina, *et al.*, 2016; Estévez-Castro, *et al.*, 2018). El uso simultáneo de estas cepas proporcionó información preliminar sobre los mecanismos de protección por los cuales los elementos constitutivos de las plantas reducen el efecto genotóxico de la radiación ultravioleta. Cuarto, el SOS Chromotest es un ensayo validado para la detección de efectos genotóxicos (White & Rasmussen, 1996) que, en comparación con otros métodos, permite un escrutinio de amplia cobertura (White, *et al.*, 1996).

Las plantas como fuente de compuestos fotoprotectores

Las plantas son fuente de una gran diversidad de moléculas naturales útiles en la fotoprotección. Entre las más comunes se encuentran los terpenos, las flavonas, los carotenoides, las catequinas y las antocianinas. Algunas de estas moléculas naturales pueden actuar como filtros solares (Stevanato, *et al.*, 2014) mediante el modo de acción ya descrito para este tipo de compuestos.

Además, la mayoría tienen propiedades antioxidantes (Saewan & Jimtaisong, 2013). Las moléculas antioxidantes fueron inicialmente usadas como un complemento de los filtros solares para reducir el estrés oxidativo producido por la radiación ultravioleta (Chen, *et al.*, 2012). Hoy se sabe que los compuestos antioxidantes naturales pueden mitigar varios de los efectos biológicos adversos de la radiación ultravioleta que generan fotoenvejecimiento celular (Mukherjee, *et al.*, 2011) y cáncer de piel (Montes de Oca, *et al.*, 2017).

Dado que las plantas acumulan compuestos cuando están expuestas al componente UVB de la radiación solar (Zhang & Björn, 2009), pueden ser una fuente de compuestos fotoprotectores útiles para prevenir las mutaciones celulares involucradas en el cáncer de piel mediante la regulación de la mutabilidad inducida por los CPD (Afaq & Katiyar, 2011). Este tipo de compuestos se conocieron inicialmente como antimutágenos (Kada & Shimoi, 1987); hoy se conocen como agentes quimiopreventivos que pueden prevenir o retardar la acción de los factores carcinógenos (Montes de Oca, *et al.*, 2017).

Los efectos biológicos de la radiación ultravioleta susceptibles de ser modulados con el uso de esta clase de compuestos se resumen en la Figura S1. Así, los mecanismos de fotoprotección más comunes de estas moléculas son los siguientes: i) la actividad antioxidante frente a las ERO; ii) la absorción directa de fotones (filtros solares); iii) el bloqueo del ciclo celular o la estimulación de mecanismos de reparación del ADN, y iv) la estimulación de la melanogénesis, entre otros. La idea de desarrollar bloqueadores solares con base en compuestos naturales con propiedades

antimutagénicas, antígenotóxicas o quimiopreventivas frente a la radiación ultravioleta suscita un interés creciente, dado que el estado de fotoprotección se logra estabilizando la integridad genómica (Ganesan & Hanawalt, 2016).

Los estudios en Colombia sobre el potencial fotoprotector de su flora son escasos y miden la fotoprotección usando criterios diferentes. Por ejemplo, el grupo del Dr. Osorio-Durango (Universidad de Antioquia, Colombia) demostró que el extracto de frutas de *Passiflora tarminiana*, así como su fracción polifenólica (flavonoides y procianidinas), tiene actividad antioxidante y reduce la degradación de colágeno inducida por la radiación ultravioleta en fibroblastos humanos estimulando su síntesis (Bravo, et al., 2017). Sus resultados coincidieron con los de otros autores en cuanto al efecto fotoprotector de compuestos vegetales en las proteínas estructurales de la piel (Chua, et al., 2012; Chandra-Pal, et al., 2015; Chiang, et al., 2015; Adam, et al., 2016). El grupo del Dr. Osorio-Durango recomendó el uso de los extractos de *P. tarminiana* en la formulación de cosméticos contra el envejecimiento de la piel.

Por otra parte, usando índices basados en datos de absorción espectral *in vitro* (FPS_{in vitro}, FP-UVA, UVA/UVB, λ), el grupo del Dr. Puertas-Mejía (Universidad de Antioquia, Colombia) demostró que las especies de plantas de alta montaña *Baccharis antioquiensis*, *Morella parvifolia* y *Pentacalia pulchella* absorben la luz ultravioleta en los rangos UVA y UVB y por sus propiedades antioxidantes y fotoprotectoras recomendaron su uso como complemento de los bloqueadores solares comerciales (Mejía-Giraldo, et al., 2016ab; Puertas-Mejía, et al., 2018).

Con base en sus propiedades antígenotóxicas frente a la radiación ultravioleta, nuestro grupo evaluó el potencial

fotoprotector de aceites esenciales obtenidos de especies del género *Lippia* (Quintero-Ruiz, et al., 2017). En dicho estudio se evidenció que cuatro aceites esenciales obtenidos de las especies *Lippia alba* (COL 512272), *L. micromera* (COL 516924) y *L. organoides* (COL 512075 y COL 519799) tenían efecto antígenotóxico frente a la radiación ultravioleta (Tabla 1).

Un análisis de la composición química de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas permitió constatar sus compuestos mayoritarios. Se evaluó la antigenotoxicidad frente a la radiación ultravioleta de estos compuestos mayoritarios y con base en sus valores de mínima concentración inhibitoria significativa (CIG), su potencial antígenotóxico fue el siguiente: *p*-cimeno (89 µg/mL) > carvacrol (140 µg/mL) > timol (202 µg/mL) > citral (267 µg/mL). Estos resultados relacionan el efecto antígenotóxico de los aceites esenciales con sus compuestos mayoritarios. Además, al estudiar las mezclas de los compuestos mayoritarios de la especie *L. organoides*, se encontró sinergismo en las siguientes combinaciones: timol/carvacrol, timol/*p*-cimeno y carvacrol/*p*-cimeno, lo que indica que el efecto antígenotóxico detectado en los aceites esenciales, por lo menos en el de *L. organoides*, puede ser el resultado de efectos aditivos o sinérgicos entre sus compuestos mayoritarios.

En un segundo trabajo (Fuentes, et al., 2017), se reportaron nuevas especies de plantas potencialmente útiles como fuentes de compuestos fotoprotectores. Estos estudios mostraron que los extractos obtenidos de 11 especies de plantas colombianas mediante el método de extracción de fluidos (CO₂) supercrítico redujeron el daño producido en el ADN por la UVB con concentraciones biológicamente relevantes

Tabla 1. Efecto antígenotóxico de los aceites esenciales obtenidos de diferentes especies de *Lippia*. Se presentan los compuestos mayoritarios de cada aceite, la mínima concentración con inhibición significativa (p≤0,05) de la actividad fosfatasa alcalina constitutiva (CAPSI) y la mínima concentración con inhibición significativa (p≤0,05) de los efectos genotóxicos (CIG) inducidos por la radiación ultravioleta en la cepa PQ37 de *E. coli*. Solo los valores de CIG ≤ 1 % se consideraron como concentraciones antígenotóxicas biológicamente relevantes. Además, se consideraron como promisorios los aceites esenciales que no mostraron citotoxicidad en el modelo experimental.

Nombre de la especie (voucher del HNC)	Principales elementos constitutivos†	CAPSI (%)	(CIG) (% v/v)
<i>L. alba</i> (COL 480750)	Carvona (38 %)/limoneno (32 %)	1,7 ± 0,0	3,3 ± 0,0
<i>L. alba</i> (COL 512272)	Neral (19 %)/geranial (23 %)	NI	0,8 ± 0,0
<i>L. alba</i> (COL 560257)	Myrcenona (63 %)	1,7 ± 0,0	1,7 ± 0,0
<i>L. citriodora</i> (COL 555845)	Neral (16 %)/geranial (19 %)	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0
<i>L. dulcis</i> (COL 512079)	δ-cadineno (9 %)/ <i>trans</i> -β-cariofileno (10 %)	1,7 ± 0,0	NI
<i>L. graveolens</i> (COL 555839)	Timol (70 %)/ <i>p</i> -cimeno (9 %)	0,2 ± 0,0	0,4 ± 0,0
<i>L. micromera</i> (COL 516924)	Timol (29 %)/timol metil eter (15 %)/ <i>p</i> -cimeno (13 %)	NI	0,8 ± 0,0
<i>L. organoides</i> (COL 512075)	Carvacrol (46 %)/ <i>p</i> -cimeno (11 %)/γ-terpineno (12 %)	NI	0,4 ± 0,0
<i>L. organoides</i> (COL 519798)	α-felandreno (13 %)/ <i>p</i> -cimeno (11 %)/ <i>trans</i> -β-cariofileno (11 %)	1,7 ± 0,0	3,3 ± 0,0
<i>L. organoides</i> (COL 519799)	Timol (54 %)/ <i>p</i> -cimeno (10 %)	NI	0,4 ± 0,0

HNC: Herbario Nacional de Colombia, NI: sin inhibición

†: según Stashenko, et al. (2008)

Citral = Neral (19 %)/geranial (23 %). En letra negrilla se resaltan los datos o valores promisorios.

(CIG ≤ 125 µg/mL) (Cos, et al., 2006) con valores del porcentaje de inhibición significativa que oscilaron entre 52 y 100 % (Tabla 2).

De las 11 especies que mostraron efecto antígenotóxico frente a los rayos UVB, siete (7) tuvieron una eficacia fotoprotectora UVB consistentemente alta (FPS_{in vitro} ≥ 60,0). Esto sugiere que el 64 % de los compuestos mayoritarios de estos extractos funcionan como filtros solares que absorben o refractan la radiación ultravioleta. El extracto obtenido de la especie *Salvia aratocensis* registró un valor de λc de 370 nm, lo que indica que la mezcla de compuestos de este extracto permite una fotoprotección de amplio espectro. El modo de acción (filtros solares) de los compuestos mayoritarios de estos extractos es similar al que exhiben los “desmutágenos” (Kada & Shimoi, 1987), una categoría de compuestos que inactivan el mutágeno antes de que este dañe el ADN. Por otra parte, algunas especies de plantas (*Bacharis nitida*, *Hyptis suaveolens*, *Psidium sartorianum* y *Solanum crotonifolium*) mostraron una elevada actividad antígenotóxica frente a los rayos UVB, pero su eficacia fotoprotectora frente a los UVB fue limitada (Tabla 2). Esto sugiere que los compuestos mayoritarios de estos extractos reducen el nivel de daño genético de manera similar a los “bioantimutágenos” clásicos (Kada & Shimoi, 1987), estimulando o facilitando la reparación de los fotoproductos de la irradiación.

En diferentes estudios se ha evidenciado que las plantas contienen compuestos que reducen el daño genético inducido por la radiación ultravioleta, ya sea evitando su formación o

estimulando su eliminación. Por ejemplo, se ha señalado que los aceites esenciales de *Calophyllum inophyllum* (Said, et al., 2007) y de *Bauhinia microstachya* (Reis-Mansur, et al., 2016), así como los extractos de *Jatropha curcas* (Sundari, et al., 2013), *Sechium edule* (Metral, et al., 2018) y de las plantas antárticas *Colobanthus quitensis*, *Deschampsia antártica* y *Polytrichum juniperinum* (Pereira, et al., 2009), reducen el estrés oxidativo producido por la radiación ultravioleta evitando los daños en el ADN. Asimismo, una fracción flavonoide de *Araucaria angustifolia* (Yamaguchi, et al., 2009) y una de antocianina de *Fragaria ananassa* (Giampieri, et al., 2012) evitan la formación de los CPD producida por la radiación ultravioleta. Por otra parte, se encontró que la fracción de antocianina de *Vitis vinifera* (Vaid, et al., 2010) y la fracción polifenólica de *Phyllanthus orbicularis* (Vernhes, et al., 2013) promueven la remoción de los CPD producida por la radiación ultravioleta al modular la NER en humanos.

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos al estudiar las formas puras de los compuestos mayoritarios de extractos promisorios previamente identificados por Stashenko, et al. (2013).

La estimación del efecto antígenotóxico (CIG) de estos compuestos indica que los diferentes flavonoides estudiados, la curcumina y el GEGC fueron más activos que los compuestos terpenos, con valores de CIG más bajos (apigenina > pinocembrina > quercetina > curcumina > naringenina > GEGC > β-cariofileno >> timol > carvacrol > p-cimeno). Varios de los compuestos con elevado potencial

Tabla 2. Estimación del efecto antígenotóxico y la eficacia fotoprotectora de extractos de plantas promisorios. Los extractos se obtuvieron mediante el método de extracción con fluido (CO₂) supercrítico. Se presenta la concentración mínima que produce inhibición significativa (p ≤ 0.05) del efecto genotóxico (CIG) y el porcentaje de inhibición de dicho efecto (%IG) de cada extracto. Solo los valores de CIG ≤ 125 µg/mL se consideraron como concentraciones antígenotóxicas biológicamente relevantes (Cos, et al., 2006). Se presentan, además, los valores de la eficacia fotoprotectora basados en los índices de fotoprotección *in vitro* SPF_{in vitro} y λc.

Nombre de la especie (voucher del HNC)	Localidad (provincia)	CIG ‡ (µg/mL)	%IG ‡	FPS _{in vitro} †	λc †
<i>Achyrocline satureioides</i> (COL 579420)	Zapatoca (Santander)	125 ± 0	63 ± 5	192 ± 2	343 ± 0
<i>Baccharis nitida</i> (COL) 559436)	Villanueva (Santander)	16 ± 0	78 ± 4	17 ± 0	360 ± 0
<i>Chromolaena pellia</i> (COL) 559437)	Los Santos (Santander)	125 ± 0	58 ± 6	352 ± 16	367 ± 0
<i>Tagetes caracasana</i> (COL) 559441)	Zapatoca (Santander)	125 ± 0	52 ± 5	146 ± 1	360 ± 0
<i>Hyptis suaveolens</i> (COL) 560241)	Umpalá (Santander)	31 ± 0	67 ± 8	2 ± 0	340 ± 0
<i>Salvia aratocensis</i> (COL) 560246)	Los Santos (Santander)	125 ± 0	89 ± 5	173 ± 1	370 ± 0
<i>Persea caerulea</i> (COL) 560247)	Charalá (Santander)	31 ± 0	99 ± 1	165 ± 1	360 ± 0
<i>Psidium sartorianum</i> (COL) 578359)	Zapatoca (Santander)	125 ± 0	54 ± 6	3 ± 0	350 ± 0
<i>Piper eriopodon</i> (COL) 578364)	Zapatoca (Santander)	125 ± 0	55 ± 9	101 ± 1	350 ± 0
<i>Solanum crotonifolium</i> (COL) 560253)	Umpalá (Santander)	16 ± 0	72 ± 4	11 ± 0	360 ± 0
<i>Lippia origanoides</i> (COL) 560259)	Los Santos (Santander)	62 ± 0	100 ± 0	299 ± 3	350 ± 0

HNC: Herbario Nacional de Colombia. ‡ Valores de concentración mínima inhibitoria (CIG) del efecto genotóxico inducida por UVB previamente obtenida por Fuentes, et al. (2017). † La eficacia fotoprotectora (FPS_{in vitro} y λc) se calculó según lo indicado en García-Forero, et al. (2019). Diferentes categorías establecidas por la Food and Drugs Administration (FDA) de los Estados Unidos y por la European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association (COLIPA) para el índice FPS_{in vitro}: protección baja (6,0 ≤ FPS_{in vitro} ≤ 14,9), protección media (15,0 ≤ FPS_{in vitro} ≤ 29,9), protección alta (30,0 ≤ FPS_{in vitro} ≤ 59,9) y protección muy alta (FPS_{in vitro} ≥ 60,0). Las pautas de la FDA y COLIPA indican que un λc ≥ 370 nm define la protección de amplio espectro. En letra negrilla se resaltan los datos o valores promisorios.

Tabla 3. Constituyentes de aceites esenciales y extractos promisorios con propiedades fotoprotectoras contra el daño genético producido por la radiación UV. Se presentan los correspondientes valores de la concentración mínima que produce inhibición significativa ($p \leq 0,05$) del efecto genotóxico (CIG) y la actividad antioxidante medida mediante el método ORAC (Huang, *et al.*, 2002). Se presentan los valores de absorptividad molar (ϵ) y los índices *in vitro* de fotoprotección $\text{SPF}_{in vitro}$ y λ_c de cada compuesto.

Compuestos	CIG (μM)	Valor ORAC ($\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$ /g sustancia)	$\epsilon_{295/315\text{nm}}$ ($\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	$\text{FPS}_{in vitro}$	λ_c
Apigenina	7 ± 0	24500 ± 615	2270 ± 13 / 2430 ± 13	38,3 ± 24.3	370,0 ± 0,0
Carvacrol	25414 ± 0	3410 ± 50	17 ± 0 / 1 ± 0	1,0 ± 0,0	280,0 ± 0,0
β -xariofileno	1911 ± 0	2800 ± 109	127 ± 0 / 121 ± 0	17,0 ± 0,2	380,0 ± 0,0
Curcumina	33 ± 0	4350 ± 77	19644 ± 11 / 18659 ± 12	5,9 ± 0,1	390,0 ± 0,0
<i>p</i> -cimeno	104151 ± 0	219 ± 2	1 ± 0 / 1 ± 0	0,2 ± 0,0	320,0 ± 0,0
GEGC	108 ± 0	13200 ± 531	6825 ± 3.15 / 1913 ± 2	5,0 ± 0,0	300,0 ± 0,0
Naringenina	38 ± 0	27600 ± 429	2764 ± 1 / 1473 ± 3	0,3 ± 0,0	320,0 ± 0,0
Pinocebrina	15 ± 0	20500 ± 128	13475 ± 11 / 5447 ± 4	14,8 ± 0,1	310,0 ± 0,0
Quercetina	26 ± 0	34000 ± 1531	2739 ± 8 / 2583 ± 8	2,4 ± 0,0	380,0 ± 0,0
Timol	8373 ± 0	2900 ± 103	32 ± 1 / 2 ± 0	1,0 ± 0,0	280,0 ± 0,0

NI: sin inhibición. NE: No evaluado. Diferentes categorías establecidas por la *Food and Drugs Administration* (FDA) de los Estados Unidos y por la *European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association* (COLIPA) para el índice $\text{FPS}_{in vitro}$: protección baja ($6,0 \leq \text{FPS}_{in vitro} \leq 14,9$), protección media ($15,0 \leq \text{FPS}_{in vitro} \leq 29,9$), protección alta ($30,0 \leq \text{FPS}_{in vitro} \leq 59,9$) y protección muy alta ($\text{FPS}_{in vitro} \geq 60,0$). Las pautas de la FDA y COLIPA indican que un $\lambda_c \geq 370$ nm define la protección de amplio espectro. En letra negrilla se resaltan los datos o valores promisorios.

antigenotóxico contra la radiación ultravioleta (por ejemplo, apigenina, GEGC, naringenina, pinocebrina y quercetina) presentan, además, una elevada actividad antioxidante según el método ORAC (Tabla 3). Sin embargo, un análisis de correlación indicó que la actividad antigenotóxica de todos estos compuestos se correlacionaba negativamente con su actividad antioxidante ($R = -0,55$ y $p < 0,009$ en una prueba de correlación producto-momento), lo que sugiere que existen modos de acción diferentes para estos dos tipos de bioactividad (Fuentes, *et al.*, 2017).

En la Tabla 3, se presentan, además, los datos de absorptividad molar (ϵ) de los compuestos estudiados en longitudes de ondas relevantes en términos de fotoprotección: $\lambda = 295$ nm (Figura S2) y $\lambda = 315$ nm (Ikehata, *et al.*, 2013b). Los valores de ϵ de cada compuesto fueron como sigue: curcumina > pinocebrina > GEGC > quercetina > naringenina > apigenina > β -cariofileno > timol > carvacrol > *p*-cimeno. En correspondencia con sus espectros de absorbancia (Figura S3, <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/view/841/2550>), la curcumina, la quercetina y la apigenina presentaron valores de ϵ muy similares a $\lambda = 295$ nm y $\lambda = 315$ nm. Por el contrario, la pinocebrina, la GEGC y la naringenina registraron valores de ϵ superiores a $\lambda = 295$ nm que a $\lambda = 315$ nm. Los valores de ϵ calculados coincidieron con los reportados previamente para algunos de estos compuestos (Stevanato, *et al.*, 2014).

Con base en los valores del índice $\text{FPS}_{in vitro}$, la eficacia fotoprotectora frente a los rayos UVB de los compuestos fue la siguiente: apigenina (alta) > β -cariofileno (medio) > pinocebrina (bajo). Por su parte, el índice λ_c indicó que la apigenina, el β -cariofileno, la curcumina y la quercetina

son fotoprotectores de amplio espectro ($\lambda_c \geq 370$ nm). El hecho de que estos compuestos con actividad antigenotóxica frente a los rayos UVB actúen como filtros solares respalda la hipótesis de que el efecto antigenotóxico de algunos de estos compuestos, detectado con el SOS Chromotest, está vinculado a su capacidad de absorción de radiación ultravioleta, lo que resulta en la inhibición de la formación de los CPD y, por ende, en la no inducción de la respuesta SOS (Figura 1). Esta hipótesis se vio respaldada, además, por el hecho de que la cepa microbiana usada en el SOS Chromotest (*E. coli* PQ37) es altamente sensible a la radiación ultravioleta (Prada-Medina, *et al.*, 2016), dado que carece de la NER (*uvrA*) y porque esta no restaura la división celular después del tratamiento con radiación ultravioleta (Estévez-Castro, *et al.*, 2018).

La hipótesis de que los componentes mayoritarios del tipo flavonoide actúan inhibiendo la formación de fotoproductos se confirmó en un estudio *in vitro* usando el ensayo del cometa en células humanas (García-Forero, *et al.*, 2019). En este estudio se usó una variante enzimática del ensayo del cometa que permitió la detección de los CPD en células tratadas con radiación ultravioleta y facilitó el estudio del efecto antigenotóxico de algunos compuestos flavonoides. En el estudio se determinó que los flavonoides apigenina, naringenina y pinocebrina, especialmente el primero y el último, reducían la formación de los CPD en células humanas tal como lo hicieron en bacterias. Este hallazgo, conjuntamente con los datos de la eficacia fotoprotectora, indica que actúan como filtros UV como se ha establecido en estudios previos (Saewan & Jimtaisong, 2013; Stevanato, *et al.*, 2014). Con base en estos resulta-

dos, se puede concluir que la pinocembrina podría ser útil en la fotoprotección contra la radiación UVB, mientras que la apigenina podría considerarse un fotoprotector de amplio espectro.

Aunque el hallazgo en torno a la presencia de los compuestos flavonoides apigenina y pinocembrina en plantas colombianas y su actividad fotoprotectora no constituyen un nuevo descubrimiento para la ciencia, nuestros estudios aportan información sobre el potencial de la flora colombiana como una fuente de estos compuestos (Stashenko, *et al.*, 2013; Stashenko & Martínez, 2018), en especial para el desarrollo de bloqueadores solares. Nuestros resultados sobre la prospección del potencial de fotoprotección de la flora colombiana son comparables con los obtenidos en Brasil (Velasco, *et al.*, 2008; Nunes, *et al.*, 2018), en India (Korać & Khambholja, 2011) y en Polonia (Jarzycka, *et al.*, 2013).

Como se deduce de la Figura S1, los compuestos fotoprotectores pueden modular diferentes funciones celulares mediante múltiples mecanismos de acción. Un patrón similar se evidenció en los extractos de algunas especies de plantas que resultaron promisorias en nuestro estudio. El mejor ejemplo, fue la especie *Lippia origanoides*, la cual tiene actividad antioxidante (Stashenko, *et al.*, 2008), antiviral (Meneses, *et al.*, 2009), antibacteriana (Bueno-Sánchez, *et al.*, 2009), antiprotozoaria (Escobar, *et al.*, 2010), antigenotóxica (Vicuña, *et al.*, 2010; López, *et al.*, 2011), fotoprotectora (Fuentes, *et al.*, 2017; Quintero-Ruiz, *et al.*, 2017) y antitumoral (Raman, *et al.*, 2017, 2018). En un trabajo reciente (García-Bores, *et al.*, 2017) se demostró que *Lippia graveolens*, una especie mexicana sinónimo de *L. origanoides* (Santamaría-Acevedo, *et al.*, 2018) con alto contenido de pinocembrina, inhibió el desarrollo de tumores en ratón inducido por la radiación UVB. En su conjunto, estos estudios respaldan el uso de este quimiotipo de la especie *L. origanoides* en quimiopreención de la fotocarcinogénesis.

Futuros desarrollos

En resumen, los datos descritos aquí indican que varias plantas en Colombia contienen compuestos con potencial para el desarrollo de bloqueadores solares. Estos compuestos pueden presentar una variedad de efectos al actuar como filtros solares y poseer propiedades antioxidantes, antigenotóxicas, fotoprotectoras y antitumorales, las cuales son útiles en la fotoprotección. Sin embargo, antes de poder usarlas en la preparación de bloqueadores solares será necesario atender los siguientes temas.

Primero, se conoce poco sobre su toxicidad y efecto genotóxico. Por lo tanto, se deben desarrollar estudios de toxicidad crónica y subcrónica, de mutagenicidad, de irritabilidad usando diferentes ensayos efectivos para tales fines (Pfuhler, *et al.*, 2014) y siguiendo los estándares internacionales para esta clase de productos (Eastmond, *et al.*, 2009). Ya se ha probado la utilidad del ensayo SOS Chromotest desarrollado en formato de microplacas de 96 pozos para la

evaluación de plantas medicinales (Sánchez-Lamar, *et al.*, 2002, 2008; Fuentes, *et al.*, 2006ab) y moléculas puras (Díaz-Durán, *et al.*, 2015). Sin embargo, se requieren ensayos de evaluación genotóxica que midan el daño genético en diferentes niveles de expresión (por ejemplo, el del cometa, el de micronúcleo, las aberraciones cromosómicas). En este sentido, ya nuestro grupo de investigación probó la utilidad del ensayo del cometa para la evaluación genotóxica de biopesticidas (Valencia, *et al.*, 2011; Meza-Joya, *et al.*, 2013, 2017), pero será necesario desarrollar nuevas plataformas con este ensayo que permitan una mejor capacidad de escrutinio (Sykora, *et al.*, 2018) y sean de utilidad en el marco de proyectos de bioprospección.

Segundo, algunos de los compuestos caracterizados en este estudio como promisorios en fotoprotección (por ejemplo, apigenina, *trans*- β -cariofileno, curcumina, pinocembrina y quercetina) son costosos en su forma pura. Por ello, el uso de fracciones vegetales enriquecidas con dichos compuestos puede ser una opción más factible y viable para el desarrollo de bloqueadores solares. Con ese propósito, se requerirá trabajar en la optimización de los métodos disponibles para la micropropagación de especies de plantas promisorias (Herrera-Moreno, *et al.*, 2013; Naranjo-Gómez, *et al.*, 2018), con el fin de asegurar una fuente permanente de materia prima para la producción de bloqueadores solares.

Tercero, con la excepción de la especie *L. origanoides*, se conoce muy poco sobre el modo de acción de las moléculas que componen los extractos de plantas promisorias en fotoprotección. En tal sentido, se requerirá profundizar en el estudio de la composición química de estas plantas y en el modo de acción de sus componentes químicos.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por Colciencias a través del “Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas” (N° RC-0572–2012); por los Ministerios de Educación y de Comercio y Turismo, el ICETEX-Colombia Científica, el Fondo José de Caldas (subvención N° RC-FP44842-212-2018) y por la Universidad Industrial de Santander (proyectos VIE-5154, VIE-5176, BPP-UIS-1281). El autor agradece a las doctoras Elena E. Stashenko y Martha P. Ramírez por sus útiles comentarios sobre el manuscrito. Mis agradecimientos van también a todos los estudiantes de la Escuela de Biología de la UIS que desarrollaron sus trabajos de tesis de pregrado y posgrado en el marco de los proyectos mencionados y que son citados a lo largo del manuscrito: Gloria Carolina Vicuña Giraldo, Adriana García Forero, Natalia Olivar Rincón, Molkary Andrea López de la Torre, Nathalia Quintero Ruiz, Leidy Tatiana Díaz Duran, Diana Milena Basto Lozano, Edison Rodrigo Sánchez Ortiz, Elke Tatjana Aristizabal Tessmer, Juan Gabriel Quecho Sarmiento, Lady Johanna Cely Coronado, Rowens Andreick Cristancho Gómez, Natalia Rey Castellano, Diego

Alberto Contreras García, Liliana Santamaría Acebedo, Carlos Felipe Estévez Castro, Diego Armando Villamizar Mantilla, Dairo Arley Franco Niño y Silvia Juliana Florez González, especialmente a mis estudiantes César Augusto Prada Medina y Jhon Alexander Suescún Sepúlveda, por su colaboración en la preparación de las figuras contenidas en el manuscrito.

Material suplementario

Figura S1. Efectos adversos producidos por la radiación ultravioleta en la piel humana. Se presentan aquellos compuestos antioxidantes que han sido reconocidos en la literatura científica por su utilidad en fotoprotección. Para cada compuesto, se especifican los efectos biológicos adversos que pueden modular. Ácido cafeico (5), ácido *p*-cumárico (1) y ácido felúrico (1), apigenina (2, 3, 4, 7 y 8), cianidina-3-O-glucósido (5), curcumina (2, 3, 4 y 7), delphinidina (2, 4 y 7), 5,7-dimetoxiflavona (2 y 5), GEGC (2, 3, 4, 5, 7, 8 y 9), fisetina (2 y 4), genisteína (2, 4 y 5) honokiol (3, 4 y 7) quercetina (2 y 4), licopeno (3, 4, 5 y 7) luteolina (4) pomegranato (2, 4, 5, 7 y 9), proantocianidina (2, 3 y 5), resveratrol (2, 3, 4, 5, 7 y 9), silimarina (1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 y 9), sulforafano (3, 4 y 5), vitamina A (4), vitamina C (2, 4 y 5), vitamina E (2, 4 y 7). Las abreviaciones usadas en la figura no citadas previamente son las siguientes: cinasas dependientes de ciclinas (QDC), hormona estimuladora de melanocitos α (HEM- α), factor de transcripción nuclear kB (FN-kB), proteína efectora del control del ciclo celular (p21), antígeno nuclear de proliferación celular (ANPC), interleucinas (IL), proopiomelanocortina (POMC), factor de necrosis tumoral α (FNT- α), factor de crecimiento transformante (FCT- β), proteína activadora 1 (PA-1), metalopeptidasas de matriz (MPM), mieloperoxidasa (MPO), glutatión (GSH), glutatión peroxidasa (GPX), catalasa (CAT), superóxido dimutasa (SOD) y transductor de señal y activador de la transcripción 3 (TSAT3). En la elaboración de la figura se consideró la información contenida en los siguientes trabajos de revisión: **Adhami, et al.** (2008), **Chen, et al.** (2012), **Chhabra, et al.** (2017), **Monte de Oca, et al.** (2017). Vea la figura S1 en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/view/841/2548>

Figura S2. Comparación de los espectros de acción de inflamación (eritema), frecuencia de mutación y daño genético (DPC) producidos por la radiación UV en piel humana. La figura fue modificada a partir de los datos publicados por **Ikehata, et al.** (2013a). Vea la figura S2 en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/view/841/2549>

Figure S3. Espectro de absorbancia UV (200–400 nm) de los compuestos **A.** Apigenina, **B.** naringenina, **C.** pinocembrina, **D.** curcumina, **E.** quercetina, **F.** GEGC, **G.** carvacrol/timol, **H.** β -cariofileno, **I.** *p*-cimeno, a las diferentes concentraciones evaluadas en cada caso. Nótese que el compuesto *p*-cimeno absorbe solo en la zona UVC (100–280 nm) del espectro UV, y los compuestos naringenina, pinocembrina, GEGC y carvacrol en las zonas UVC y UVB (315–280 nm), mientras que los restantes compuestos (apigenina, curcumina, quercetina y β -cariofileno), lo hacen a lo largo de todo el rango UV estudiado (200–400 nm). Vea la figura S3 en: <https://www.racefyn.co/index.php/racefyn/article/view/841/2550>

Conflicto de intereses

El autor declara que no tiene conflicto de intereses.

Referencias

- Adams DH, Shou Q, Wohlmuth H, Cowin AJ.** (2016). Data on keratin expression in human cells cultured with Australian native plant extracts. *Data in Brief.* **7:** 848-867.
- Adhami, V.M., Syed, D.N., Khan, N., Afaq, F.** (2008). Phytochemicals for prevention of solar ultraviolet radiation-induced damages. *Photochem. Photobiol.* **84:** 489-500.
- Afaq, F. & Katiyar, S.K.** (2011). Polyphenols: Skin Photoprotection and Inhibition of Photocarcinogenesis. *Mini Rev. Med. Chem.* **11:** 1200-1215.
- Arad, S., Konnikov, N., Goukassian, D.A., Gilchrest, B.A.** (2007). Quantification of inducible SOS-like photoprotective responses in human skin. *J. Invest. Dermatol.* **127:** 2629-2636
- Arad, S., Zattra, E., Hebert, J., Epstein, E.H., Goukassian, D.A., Gilchrest, B.A.** (2008). Topical thymidine dinucleotide treatment reduces development of ultraviolet-induced basal cell carcinoma in Ptch-1^{+/-} mice. *Am. J. Pathol.* **172:** 1248-1255.
- Bendová, H., Akerman, J., Krejčí, A., Kubáč, L., Jírová, D., Kejlová, K., Kolářová, H., Brabec, M., Malý, M.** (2007). In vitro approaches to evaluation of Sun Protection Factor. *Toxicology in Vitro.* **21:** 1268-1275.
- Brash, D.E.** (2015). UV signature mutations. *Photochem. Photobiol.* **91:** 15-26.
- Brem, R., Guven, M., Karran, P.** (2017). Oxidatively-generated damage to DNA and proteins mediated by photosensitized UVA. *Free Radic. Biol. Med.* **107:** 101-109.
- Bravo, K., Duque, L., Ferreres, F., Moreno, D.A., Osorio, E.** (2017). *Passiflora tarminiana* fruits reduce UVB-induced photoaging in human skin fibroblasts. *J. Photochem. Photobiol. B* **168:** 78-88.
- Bueno-Sánchez, J.G., Martínez-Morales, J.R., Stashenko, E.E., Ribón, W.** (2009). Anti-tubercular activity of eleven aromatic and medicinal plants occurring in Colombia. *Biomédica.* **29:** 51-60.
- Césarini, J.P. & Demanneville, S.** (2000). Toward a genotoxic protection factor. *Radiat. Prot. Dosim.* **91:** 89-91.
- Chandra-Pal, H., Athar, M., Elmets, C.A., Afaq, F.** (2015). Fisetin inhibits UVB-induced cutaneous inflammation and activation of PI3K/AKT/NF κ B signaling pathways in SKH-1 hairless mice. *Photochem. Photobiol.* **91:** 225-234.
- Chen, L., Hu, J.Y., Wang, S.Q.** (2012). The role of antioxidants in photoprotection: A critical review. *J. Am. Acad. Dermatol.* **67:** 1013-1024.
- Chhabra, G., Ndiaye, M.A., García-Peterson, L.M., Ahmad, N.** (2017). Melanoma chemoprevention: Current status and future prospects. *Photochem. Photobiol.* **93:** 975-989.
- Chiang, H.M., Chan, S.Y., Chu, Y., Wen, K.C.** (2015). Fisetin ameliorated photodamage by suppressing the mitogen-activated protein kinase/matrix metalloproteinase pathway and nuclear factor- κ B pathways. *J. Agric. Food Chem.* **63:** 4551-4560.
- Chua, L.S., Lee, S.Y., Abdullah, N., Sarmini, M.R.** (2012). Review on *Labisia pumila* (Kacip Fatimah): bioactive phytochemicals and skin collagen synthesis promoting herb. *Fitoterapia.* **83:** 1322-1335.

- Cos, P., Vlietinck, A.J., Vanden-Berghe, D., Maes, L. (2006). Antiinfective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *J. Ethnopharmacol.* **106**: 290-302.
- Cui, R., Widlund, H.R., Feige, E., Lin, J.Y., Wilensky, D.L., Igras, V.E., D'Orazio, J., Fung, C.Y., Schanbacher, C.F., Granter, S.R., Fisher, D.E. (2007). Central role of p53 in the suntan response and pathologic hyperpigmentation. *Cell.* **128**: 853-864.
- Díaz-Durán, L.T., Olivar-Rincón, N., Puerto-Galvis, C.E., Kouznetsov, V., Fuentes, J.L. (2015). Genotoxicity risk assessment of substituted quinolines using the SOS chromotest. *Environmental Toxicology.* **30**: 278-292.
- Eastmond, D.A., Hartwig, A., Anderson, D., Anwar, W.A., Cimino, M.C., Dobrev, I., Douglas, G.R., Nohmi, T., Phillips, D.H., Vickers, C. (2009). Mutagenicity testing for chemical risk assessment: update of the WHO/IPCS harmonized scheme. *Mutagenesis* **24**: 341-349.
- Eller, M.S., Yaar, M., Gilchrest, B.A. (1997). Enhancement of DNA repair in human skin cells by thymidine dinucleotides: Evidence for a p53-mediated mammalian SOS response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **94**: 12627-12632.
- Eller, M.S., Asarch, A., Gilchrest, B.A. (2008). Photoprotection in human skin- A multifaceted SOS response. *Photochem. Photobiol.* **84**: 339-349.
- Elmets, C.A., Singh, D., Tubesing, K., Matsui, M., Katiyar, S., Mukhtar, H. (2001). Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. *J. Am. Acad. Dermatol.* **44**: 425-432.
- Escobar, P., Leal, S.M., Herrera, L.V., Martínez, J.R., Stashenko, E.E. (2010). Chemical composition and anti-protozoal activities of Colombian *Lippia* spp essential oils and their major components. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **105**: 184-190.
- Escobar, P.A., Kemper, R.A., Tarca, J., Nicolette, J., Kenyon, M., Glowienke, S., Sawant, S.G., Christensen, J., Johnson, T.E., McKnight, C., Ward, G., Galloway, S.M., Custer, L., Gocke, E., O'Donovan, M.R., Braun, K., Snyder, R.D., Mahadevan, B. (2013). Bacterial mutagenicity screening in the pharmaceutical industry. *Mutat. Res.* **752**: 99-118.
- Estévez-Castro, C.F., Serment-Guerrero, J.H., Fuentes, J.L. (2018). Influence of the *uvrA*, *recJ* and *recN* gene mutations on the nucleoid reorganization in UV-treated *Escherichia coli* cells. *FEMS Microbiology Letters* **365**: fny110.
- European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association (COLIPA). (2011). Method for *In Vitro* Determination of UVA Protection. *In vitro* method for the determination of the UVA protection factor and "critical wavelength" values of sunscreen products. Guidelines March 2011.
- Food and Drug Administration. (2011). Department of Health and Human Services. 21 CFR Parts 201 and 310. [Docket No. FDA-1978-N-0018-0698]. Labeling and Effectiveness Testing; Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter Human Use. Final Rule. *Fed. Regist.* **76**: 35620-35665.
- Fourtanier, A., Moyal, D., Maccario, J., Compan, D., Wolf, P., Quehenberger, F., Cooper, K., Baron, E., Halliday, G., Poon, T., Seed, P., Walker, S.L., Young, A.R. (2005). Measurement of Sunscreen Immune Protection Factors in Humans: A Consensus Paper. *J. Invest. Dermatol.* **125**: 403-409.
- Fuentes, J.L., Vernhe, M., Cuetara, E.B., Sánchez-Lamar, A., Santana, J.L., Llagostera, M. (2006a). Tannins from barks of *Pinus caribaeae* Morelet protect *Escherichia coli* cells against DNA damage induced by γ -rays. *Fitoterapia.* **77**: 116-120.
- Fuentes, J.L., Alonso, A., Cuétara, E., Vernhe, M., Álvarez, N., Sánchez-Lamar, A., Llagostera, M. (2006b). Usefulness of SOS Chromotest in the study of medicinal plant as radioprotectors. *Int. J. Radiat. Biol.* **82**: 323-329.
- Fuentes, J.L., García-Forero, A., Quintero-Ruiz, N., Prada-Medina, C.A., Rey-Castellanos, N., Franco-Niño, D.A., Contreras-García, D.A., Córdoba-Campo, Y., Stashenko EE. (2017). The SOS Chromotest applied for screening plant antigenotoxic agents against ultraviolet radiation. *Photochem. Photobiol. Sci.* **16**: 1424-1434.
- Ganesan, A. & Hanawalt P. (2016). Photobiological origins of the field of genomic maintenance. *Photochem. Photobiol.* **92**: 52-60.
- García-Bores, A.M., Espinosa-González, A.M., Reyna-Campos, A., Cruz-Toscano, S., Benítez-Flores, J.C., Hernández-Delgado, C.T., Flores-Maya, S., Urzúa-Meza, M., Peñalosa-Castro, I., Céspedes-Acuña, C.L., Ávila-Acevedo, J.G. (2017). *Lippia graveolens* photochemopreventive effect against UVB radiation-induced skin carcinogenesis. *J. Photochem. Photobiol. B* **167**: 72-81.
- García-Forero, A., Villamizar-Mantilla, D.A., Núñez, L.A., Ocazionez, R.E., Stashenko, E.E., Fuentes, J.L. (2019). Photoprotective and antigenotoxic effects of the flavonoids apigenin, naringenin, and pinocembrin. *Photochem. Photobiol.* **95**: 1010-1018. Doi: 10.1111/php.13085.
- Gatz, S.A. & Wiesmuller, L. (2006). p53 in recombination and repair. *Cell Death Differ.* **13**: 1003-1016.
- Giampieri, F., Álvarez-Suárez, J.M., Tulipani, S., Gonzàles-Paramàs, A.M., Santos-Buelga, C., Bompadre, S., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Battino, M. (2012). Photoprotective potential of strawberry (*Fragaria* × *Ananassa*) extract against UV-A irradiation damage on human fibroblasts. *J. Agric. Food Chem.* **60**: 2322-2327.
- Goukassian, D.A., Sharov, A., Rhodes, J., Coleman, C., Eller, M.S., Sharova, T., Bhawan, J., Gilchrest, B.A. (2012). Topical application of thymidine dinucleotide to newborn mice reduces and delays development of UV-induced melanomas. *J. Invest. Dermatol.* **132**: 2664-2666.
- Herrera-Moreno, A.M., Carranza, C.E., Chacón-Sánchez, M.I. (2013). Establishment of propagation methods for growing promising aromatic plant species of the *Lippia* (Verbenaceae) and *Tagetes* (Asteraceae) genera in Colombia. *Agronomía Colombiana.* **31**: 27-37.
- Herrling, T., Jung, K., Chatelain, E., Langenauer, M. (2006). Radical Skin/Sun Protection Factor RSF –Protection against UV-induced Free Radicals in Skin. *SÖFW-Journal.* **132**: 24-30.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Prior, R.L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 4437-4444.
- Huisman, O. & D'Ari, R. (1981). An inducible DNA replication-cell division coupling mechanism in *Escherichia coli*. *Nature.* **290**: 797-799.

- Ikehata, H., Higashi, S., Nakamura, S., Daigaku, Y., Furusawa, Y., Kamei, Y., Watanabe, M., Yamamoto, K., Hieda, K., Munakata, N., Ono, T.** (2013). Action spectrum analysis of UVR genotoxicity for skin: The border wavelengths between UVA and UVB can bring serious mutation loads to skin. *J. Invest. Dermatol.* **133**: 1850-1856.
- Jansen, R., Osterwalder, U., Wang, S.Q., Burnett, M., Lim, H.W.** (2013). Photoprotection: Part II. Sunscreen: development, efficacy, and controversies. *J. Am. Acad. Dermatol.* **69**: 867.e1-14.
- Jarzycka, A., Lewińska, A., Gancarz, R., Wilk, K.A.** (2013). Assessment of extracts of *Helichrysum arenarium*, *Crataegus monogyna*, *Sambucus nigra* in photoprotective UVA and UVB; photostability in cosmetic emulsions. *J. Photochem. Photobiol. B* **128**: 50-57.
- Jonason, A.S., Kunala, S., Price, G.J., Restifo, R.J., Spinell, H.M., Persing, J.A., Leffell, D.J., Tarone, R.E., Brash, D.E.** (1996). Frequent clones of p53-mutated keratinocytes in normal human skin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**: 14025-14029.
- Kada, T. & Shimoi K.** (1987). Desmutagens and bio-antimutagens - Their modes of action. *BioEssays.* **7**: 113-116.
- Kneuttinger, A.C., Kashiwazaki, G., Prill, S., Heil, K., Müller, M., Carell, T.** (2014). Formation and direct repair of UV-induced dimeric DNA pyrimidine lesions. *Photochem. Photobiol.* **90**: 1-14.
- Korać, R.R. & Khambholja, K.M.** (2011). Potential of herbs in skin protection from ultraviolet radiation. *Pharmacognosy Reviews.* **5**: 164-173.
- Linos, E., Swetter, S.M., Cockburn, M.G., Colditz, G.A., Clarke, C.A.** (2009). Increasing burden of melanoma in the United States. *J. Invest. Dermatol.* **129**: 1666-1674.
- López, M.A., Stashenko, E.E., Fuentes, J.L.** (2011). Chemical composition and antigenotoxic properties of the *Lippia alba* essential oils. *Genet. Mol. Biol.* **34**: 479-488.
- Lund, L.P. & Timmins, G.S.** (2007). Melanoma, long wavelength ultraviolet and sunscreens: Controversies and potential resolutions. *Pharmacol. Ther.* **114**: 198-207.
- Mayer, S., Eller, M.S., Gilchrist, B.A.** (2001). The SOS response in human skin. *Curr. Probl. Dermatol.* **13**: 153-158.
- Mejía-Giraldo, J.C., Henao-Zuluaga, K., Gallardo, C., Atehortúa, L., Puertas-Mejía, M.A.** (2016a). Novel *in vitro* antioxidant and photoprotection capacity of plants from high altitude ecosystems of Colombia. *Photochem. Photobiol.* **92**: 150-157.
- Mejía-Giraldo, J.C., Winkler, R., Gallardo, C., Sánchez-Zapata, A.M., Puertas-Mejía, M.A.** (2016b). Photoprotective potential of *Baccharis antioquiensis* (Asteraceae) as natural sunscreen. *Photochem. Photobiol.* **92**: 742-752.
- Meneses, R., Ocazonez, R.E., Martínez, J.R., Stashenko, E.E.** (2009). Inhibitory effect of essential oils obtained from plants grown in Colombia on yellow fever virus replication *in vitro*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **8**: 8.
- Metral, E., Rachidi, W., Damour, O., Demarne, F., Bechetoille, N.** (2018). Long-term genoprotection effect of *Sechium edule* fruit extract against UVA irradiation in keratinocytes. *Photochem. Photobiol.* **94**: 343-350.
- Meza-Joya, F.L., Ramírez-Pinilla, M.P., Fuentes, J.L.** (2017). The direct-developing frog *Eleutherodactylus johnstonei* (Eleutherodactylidae) as biological model for the study of toxic, cytotoxic, and genotoxic effects of agrochemicals. In: Ecotoxicological and Genotoxicological Non-traditional Terrestrial Models, Issues in Toxicology 32, Marcelo L. Larramendy (editors), Chapter 10, Royal Society of Chemistry (RSC) Publishers, Cambridge, United Kingdom, p. 211-227.
- Mesa, F.L., Ramírez, M.P., Fuentes, J.L.** (2013). Toxic, cytotoxic and genotoxic effects of a glyphosate formulation (Roundup®SL-Cosmoflux®411F) in the direct developing frog *Eleutherodactylus johnstonei*. *Environ. Mol. Mutagen.* **54**: 362-373.
- Montes de Oca, M.K., Pearlman, R.L., McClees, S.F., Strickland, R., Afaq, F.** (2017). Phytochemicals for the prevention of photocarcinogenesis. *Photochem. Photobiol.* **93**: 956-974.
- Mukherjee, P.K., Maity, N., Nema, N.K., Sarkar, B.K.** (2011). Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine.* **19**: 64-73.
- Naranjo-Gómez, E.J., Puertas-Mejía, M.A., Mejía-Giraldo, J.C., Amaya-Nieto, A.Z., Atehortúa, L.** (2018). Micro-propagation of *Baccharis antioquiensis* (Asteraceae) and photoinduction of polyphenols by UV radiation. *Rev. Biol. Trop.* **66**: 754-764.
- Narayanan, D.L., Saladi, R.N., Fox, J.L.** (2010). Ultraviolet radiation and skin cancer. *Int. J. Dermatol.* **49**: 978-986.
- Nunes, A.R., Rodrigues, A.L.M., Brito de Queiroz, D., Vieira, I.G.P., Neto, J.F.C., Calixto Junior, J.T., Tintino, S.R., Maia de Morais, S., Coutinho, H.D.M.** (2018). Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. *J. Photochem. Photobiol. B* **189**: 119-123.
- Parrish, J., Jaenicke, K.F., Anderson, R.R.** (1982). Erythema and melanogenesis action spectra of normal human skin. *Photochem. Photobiol.* **36**: 187-191.
- Pereira, B.K., Rosa, R.M., da Silva, J., Guecheva, T.N., de Oliveira, I.M., Ianisteki, M., Benvegnú, V.C., Furtado, G.V., Ferraz, A., Richter, M.F., Schroder, N., Pereira, A.B., Henriques, J.A.P.** (2009). Protective effects of three extracts from Antarctic plants against ultraviolet radiation in several biological models. *J. Photochem. Photobiol. B* **96**: 117-129.
- Poon, F., Kang, S., Chien, A.L.** (2015). Mechanisms and treatments of photoaging. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **31**: 65-74.
- Prada-Medina, C.A., Aristizábal-Tessmer, E.T., Quintero-Ruiz, N., Serment-Guerrero, J., Fuentes, J.L.** (2016). Survival and SOS response induction in ultraviolet B irradiated *Escherichia coli* cells with defective repair mechanisms. *Int. J. Radiat. Biol.* **92**: 321-328.
- Puertas-Mejía, M.A., Gutiérrez-Villegas, M.A., Mejía-Giraldo, J.C., Winkler, R., Rojano, B.** (2018). *In vitro* UV absorption properties and radical scavenging capacity of *Morella parvifolia* (Benth.) Parra-Os. extracts. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* **54**: e17498.
- Pfuhler, S., Fautz, R., Ouedraogo, G., Latil, A., Kenny, J., Moore, C., Diembeck, W., Hewitt, N.J., Reisinger, K., Barroso, J.** (2014). The Cosmetics Europe strategy for animal-free genotoxicity testing: Project status up-date. *Toxicology in Vitro.* **28**: 18-23.
- Quillardet, P., Huisman, O., D'Ari, R., Hofnung, M.** (1982). SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **79**: 5971-5975.

- Quillardet, P. & Hofnung, M.** (1984). Induction by UV light of the SOS function *sfhA* in *Escherichia coli* strains deficient or proficient in excision repair. *J. Bacteriol.* **157**: 35-38.
- Quintero, N., Stashenko, E.E., Fuentes, J.L.** (2012). The influence of organic solvents on genotoxicity and antigenotoxicity estimates in the SOS Chromotest. *Genet. Mol. Biol.* **35**: 503-514.
- Quintero-Ruiz, N., Córdoba-Campo, Y., Stashenko, E.E., Fuentes, J.L.** (2017). Antigenotoxicity effect against ultraviolet radiation-induced DNA damage of the essential oils from *Lippia* species. *Photochem. Photobiol.* **93**: 1063-1072.
- Raman, V., Fuentes, J.L., Stashenko, E.E., Levy, M., Levy, M.M., Camarillo, I.G.** (2017). A *Lippia organoides* extract induces cell cycle arrest, apoptosis and suppresses NF- κ B signaling in MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells. *Int. J. Oncol.* **51**: 1801-1808.
- Raman, V., Aryal, U.K., Hedrick, V., Mohallem-Ferreira, R., Fuentes, J.L., Stashenko, E.E., Levy, M., Levy, M.M., Camarillo, I.G.** (2018). Proteomic analysis reveals an extract of the plant *Lippia organoides* suppresses mitochondrial metabolism in triple-negative breast cancer cells. *J. Proteome Res.* **17**: 3370-3383.
- Reis Mansur, M.C.P.P., Guimarães Leitão, S., Cerqueira-Couthino, C., Vermelho, A.B., Silva, R.S., Presgrave, O.A.F., Leitão, A.A.C., Leitão, G.G., Ricci-Junior, E., Santos, E.P.** (2016). *In vitro* and *in vivo* evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulation containing antioxidant extracts. *Rev. Bras. Farmacogn.* **26**: 251-258.
- Saewan, N. & Jimtaisong, A.** (2013). Photoprotection of natural flavonoids. *J. Appl. Pharm. Sci.* **3**: 129-141.
- Said, T., Dutot, M., Martin, C., Beaudeau, J.L., Boucher, C., Enee, E., Baudouin, C., Warnet, J.M., Rat, P.** (2007). Cytoprotective effect against UV-induced DNA damage and oxidative stress: Role of new biological UV filter. *Eur. J. Pharm. Sci.* **30**: 203-210.
- Sánchez-Lamar, A., Fonseca, G., Fuentes, J.L., Cozzi, R., Cundari, E., Fiore, M., Ricordy, R., Perticone, P., Degrassi, F., De Salvia, R.** (2008). Assessment of the genotoxic risk of *Punica granatum* L. (Punicaceae) whole fruit extracts. *J. Ethnopharmacol.* **115**: 416-422.
- Sánchez-Lamar, A., Fuentes, J.L., Fonseca, G., Alonso, A., Cápiro, N., Ferrer, M., Baluja, L., Fiore, M., De Salvia, R., Cozzi, R., Llagostera, M.** (2002). Assessment of the potential genotoxic risk of *Phyllanthus orbicularis* HBK aqueous extract using *in vitro* and *in vivo* assays. *Toxicol. Lett.* **136**: 87-96.
- Santamaría-Acebedo, L., Prada-Medina, C.A., Rondón-González, F., Stashenko, E.E., Martínez-Pérez, F.J., Levy, M., Levy, M.M., Fuentes, J.L.** (2018). Interspecific variation and genetic relationships among Colombian *Lippia* species based on Small Ribosomal Subunit (SRS) gene sequence analysis. *J. Herbs Spices Med. Plants.* **24**: 99-108.
- Sayre, R.M., Agin, P.P., LeeVee, G.J., Morlowe, E.** (1979). A comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas. *Photochem. Photobiol.* **29**: 559-566.
- Schärer, O.D.** (2013). Nucleotide excision repair in eukaryotes. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* **5**: a012609.
- Schlacher, K. & Goodman MF.** (2007). Lessons from 50 years of SOS DNA-damage-induced mutagenesis. *Nature Reviews.* **8**: 587-594.
- Schuch, A.P., Moraes, M.C.S., Yagura, T., Menck, C.F.M.** (2014). Highly sensitive biological assay for determining the photoprotective efficacy of sunscreen. *Environ. Sci. Technol.* **48**: 11584-11590.
- Schuch, A.P., Moreno, N.C., Schuch, N.J., Menck, C.F.M., García, C.C.M.** (2017). Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. *Free Radic. Biol. Med.* **107**: 110-124.
- Stashenko, E.E., Ruiz, C., Muñoz, A., Castañeda, M., Martínez, J.** (2008). Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia organoides* HBK grown in Colombia. *Nat. Prod. Commun.* **3**: 563-566.
- Stashenko, E.E., Martínez, J.R., Cala, M.P., Durán, D.C., Caballero, D.** (2013). Chromatographic and mass spectrometric characterization of essential oils and extracts from *Lippia* (Verbenaceae) aromatic plants. *J. Sep. Sci.* **36**: 192-202.
- Stashenko, E.E. & Martínez, J.R.** (2018). The expression of biodiversity in the secondary metabolites of aromatic plants and flowers growing in Colombia. In: Potential of essential oils, Hany A. El-Shemy (Ed.), Chapter 4, Intechopen, pp: 59-86. Doi: 10.5772/intechopen.78001.
- Stanfield, J., Osterwalder, U., Herzog, B.** (2010). *In vitro* measurements of sunscreen protection. *Photochem. Photobiol. Sci.* **9**: 489-494.
- Stevanato, R., Bertelle, M., Fabris, S.** (2014). Photoprotective characteristics of natural antioxidant polyphenols. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **69**: 71-77.
- Sundari, J., Selvaraj, R., Rajendra-Prasad, N., Elumalai, R.** (2013). *Jatropha curcas*, leaf and bark fractions protect against ultraviolet radiation-B induced DNA damage in human peripheral blood lymphocytes. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **36**: 875-882.
- Sykora, P., Witt, K.L., Revanna, P., Smith-Roe, S.L., Dismukes, J., Lloyd, D.G., Engelward, B.P., Sobol, R.W.** (2018). Next generation high throughput DNA damage detection platform for genotoxic compound screening. *Scientific Reports.* **8**: 2771.
- Tewari, A., Sarkany, R.P., Young, A.R.** (2012). UVA¹ induces cyclobutane pyrimidine dimers but not 6-4 photoproducts in human skin *in vivo*. *J. Invest. Dermatol.* **132**: 394-400.
- Ullrich, S.E.** (2005). Mechanisms underlying UV-induced immune suppression. *Mutat. Res.* **571**: 185-205.
- Vaid, M., Sharma, S.D., Katiyar, S.K.** (2010). Proanthocyanidins inhibit photocarcinogenesis through enhancement of DNA repair and Xeroderma Pigmentosum group A-dependent mechanism. *Cancer Prev. Res.* **3**: 1621-1619.
- Vaisman, A. & Woodgate, R.** (2017). Translesion DNA polymerases in eukaryotes: what makes them tick?. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **52**: 274-303.
- Valencia, L., García, A., Ramírez, M.P., Fuentes, J.L.** (2011). Estimates of DNA damage by the comet assay in the direct-developing frog *Eleutherodactylus johnstonei* (Anura: Eleutherodactylidae). *Genet. Mol. Biol.* **34**: 681-688.
- Velasco, M.V.R., Sarruf, F.D., Salgado-Santos, I.M.N., Haroutiounian-Filho, C.A., Kaneko, T.M., Baby, A.R.** (2008). Broad spectrum bioactive sunscreens. *Int. J. Pharm.* **363**: 50-57.
- Vernhes, M., González-Pumariiega, M., Andrade, L., Schuch, A.P., de Lima-Bessa, K.M., Menck, C.F.M., Sánchez-**

- Lamar, A.** (2013). Protective effect of a *Phyllanthus orbicularis*, aqueous extract against UVB light in human cells. *Pharm. Biol.* **51**: 1-7.
- Vicuña, G.C., Stashenko, E.E., Fuentes, J.L.** (2010). Chemical composition of the *Lippia origanoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. *Fitoterapia.* **81**: 343-349.
- Vink, A.A. & Roza, L.** (2001). Biological consequences of cyclobutane pyrimidine dimers. *J. Photochem. Photobiol. B.* **65**: 101-104.
- Wang, S.Q., Xu, H., Stanfield, J.W., Osterwalder, U., Herzog, B.** (2017). Comparison of ultraviolet A light protection standards in the United States and European Union through in vitro measurements of commercial sunscreens. *J. Am. Acad. Dermatol.* **77**: 42-47.
- White, P.A. & Rasmussen, J.B.** (1996). SOS Chromotest results in a broader context: Empirical relationships between genotoxic potency, mutagenic potency, and carcinogenic potency. *Environ. Mol. Mutagen.* **27**: 270-305.
- White, P.A., Rasmussen, J.B., Blaise, C.** (1996). A semiautomated, microplate version of the SOS Chromotest for the analysis of complex environmental extracts. *Mutat. Res.* **360**: 51-74.
- Yamaba, H., Haba, M., Kunita, M., Sakaida, T., Tanaka, H., Yashiro, Y., Nakata, S.** (2016). Morphological change of skin fibroblasts induced by UV Irradiation is involved in photoaging. *Exp. Dermatol.* **25** (Suppl 3): 45-51.
- Yamaguchi, L.F., Kato, M.J., Di Mascio, P.** (2009). Biflavonoids from *Araucaria angustifolia* protect against DNA UV induced damage. *Phytochemistry.* **70**: 615-620.
- Yeeles, J.T.P., Poli, J., Mariani, K.J., Pasero, P.** (2013). Rescuing Stalled or Damaged Replication Forks. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **5**: a012815.
- Young, A.R., Chadwick, C.A., Harrison, G.I., Nikaido, O., Ramsden, J., Potten, C.S.** (1998). The similarity of action spectra for thymine dimers in human epidermis and erythema suggests that DNA is the chromophore for erythema. *J. Invest. Dermatol.* **111**: 982-988.
- Zaidi, M.R., Day, C.P., Merlino, G.** (2008). From UVs to metastases: modeling melanoma initiation and progression in the mouse. *J. Invest. Dermatol.* **128**: 2381-2391.
- Zeiger, E.** (2007). What is needed for an acceptable antimutagenicity manuscript? *Mutat. Res.* **626**: 1-3.
- Zhang, W.J. & Björn, L.O.** (2009). The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia.* **80**: 207-218.
- Ziegler, A., Jonason, A.S., Leffell, D.J., Simon, J.A., Sharma, H.W., Kimmelman, J., Remington, L., Jacks, T., Brash, D.E.** (1994). Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature.* **372**: 773-776.