



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

*EVALUACIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA
HOJA DE TEPOZÁN (*Buddleja cordata*) IN VIVO
DETERMINANDO SU FACTOR DE PROTECCIÓN
SOLAR*

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
JOSÉ LUIS CARRILLO HERNÁNDEZ

DIRECTOR:

BIOL. GABRIEL MARTÍNEZ CORTÉS



TLALNEPANTLA DE BAZ

MAYO 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

| | |
|--|----|
| ÍNDICE | 1 |
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| <i>Buddleja cordata</i> | 5 |
| Descripción Taxonómica | 8 |
| Etnobotánica | 9 |
| GENERALIDADES DE LA PIEL | 10 |
| FILTROS SOLARES | 14 |
| Evolución de los filtros solares | 14 |
| Los agentes preventivos de quemadura solar se definen como filtros solares | 15 |
| Las propiedades imprescindibles de un filtro solar según Wilkinson y Moore | 16 |
| <i>Factor de protección solar (FPS)</i> | 16 |
| Regulación para la producción y empleo de los filtros solares | 19 |
| FLAVONOIDES | 20 |
| Estructura química | 22 |
| Tipos y fuentes de flavonoides | 24 |
| Síntesis, absorción y metabolismo | 25 |
| Mecanismos antioxidantes de los flavonoides | 26 |
| RADICALES LIBRES | 28 |
| Reactividad de los radicales libres de oxígeno | 31 |
| Proteínas | 31 |
| Lípidos | 32 |
| Acidos nucleicos | 34 |
| Carbohidratos | 34 |
| ANTECEDENTES | 35 |
| JUSTIFICACIÓN | 39 |
| OBJETIVO GENERAL | 39 |
| OBJETIVOS PARTICULARES | 40 |
| METODOLOGÍA | 40 |
| Propagación de <i>Buddleja cordata</i> | 40 |
| Trabajo en laboratorio | 42 |
| Formulación del cosmético con extracto de <i>Buddleja cordata</i> | 42 |
| Fotoprotección en bacterias | 44 |
| Fotoprotección en animales | 44 |
| RESULTADOS | 45 |
| DISCUSIÓN | 52 |
| CONCLUSIONES | 54 |
| BIBLIOGRAFÍA | 56 |



INTRODUCCIÓN

Una de las situaciones más críticas que la humanidad está enfrentando actualmente es la alteración de los componentes de la atmósfera. El resultado de esta alteración se empezó a manifestar desde hace años, mediante cambios en las condiciones climatológicas del planeta, como son el incremento en la temperatura promedio, las irregularidades en el ciclo hidrológico, el aumento de la aridez de la tierra y el deterioro de la capa de ozono (O_3). La importancia de la capa de O_3 radica en su capacidad para absorber la radiación ultravioleta (UV). El O_3 varía de manera natural con la latitud y la época del año; sin embargo desde los años setentas se ha venido observando el empobrecimiento de sus concentraciones en la estratósfera antártica, y más recientemente en la ártica (Berrocal y Ruiz, 2001).

La evidencia experimental sugiere que el O_3 de la estratósfera pudo haber estado disminuyendo desde hace algunas décadas y se anticipan nuevas disminuciones debido a la liberación de compuestos clorofluorocarbonados elaborados por el hombre. La disminución de la concentración del O_3 de la estratósfera podría ocasionar un correspondiente aumento en la cantidad de radiación UV, particularmente en la región de UV-B. (Fitzpatrick, 1997).

Por lo que atañe a la salud humana la intensa radiación UV-B en la piel facilita la formación de radicales libres los cuales dañan reversible o irreversiblemente diversas biomoléculas alterando las formaciones celulares, también se ha relacionado con diversas enfermedades que van desde eritema hasta cáncer de piel (García, 1998).

El cáncer de piel se define como una irregularidad en las enzimas encargadas de replicar la información genética contenida en el ácido desoxirribonucleico (ADN) y de reparar el daño en el mismo, o en las proteínas encargadas de la distribución correcta de los cromosomas, en las células hijas, así como un defecto en los puntos de control del ciclo celular, llevando a la inestabilidad cromosómica y genética observada en las células cancerosas.



Dentro del proceso de transición epidemiológica en México, el cáncer ha llegado a ocupar la segunda causa de mortandad en la población, cuando hasta antes de 1940 no se ubicaba entre las 10 primeras causas de muerte (Carrillo, 2001).

El cáncer de piel constituye el tipo más común de neoplasias en los países con promedio de poblaciones caucásicas y niveles altos de radiación solar ambiental; resulta difícil obtener información precisa sobre su incidencia y la mortalidad que provoca, sin embargo, se considera que la incidencia de cáncer de piel no melanoma se ha incrementado desde los inicios del siglo XX, y han señalado que continúan en aumento, se cree que la mayoría de estos cánceres no melanomas son el resultado de la exposición de la epidermis a la radiación solar ultravioleta (Fitzpatrick, 1997).

Por otro lado las respuestas de las plantas a la radiación UV-B depende del grado de sensibilidad de éstas, la protección de tejidos vegetales se propicia por la producción de pigmentos flavonoides en la epidermis, que reducen o filtran la radiación UV-B, evitando que penetren en las células más internas, y con ello, proteger también los procesos fisiológicos (Berrocal y Ruiz, 2001).

En los climas áridos, semiáridos y regiones de gran altitud la incidencia de la luz UV es intensa por lo que se puede suponer que las especies dominantes de estos ambientes presentan compuestos muy eficientes tanto en la filtración de las radiaciones así como en los mecanismos antioxidantes (Larson, 1988).

Por lo anterior se comenzó a hacer un análisis general del tipo de plantas que presentan estas características (incluyendo distribución, época de floración, disponibilidad de las plantas, así como su importancia etnobotánica) y que estuviera a nuestro alcance.

Se encontró que *Buddleja cordata* que pertenece a la familia de las *Buddlejaceae* podría ser una buena opción, para obtener de ellas un filtro solar natural, debido al uso potencial en la medicina tradicional (Arteaga, 1994),



Buddleja cordata

donde cabe señalar que etnobotánicamente es utilizada para el tratamiento de heridas, quemadura, inflamación y toda clase de afecciones de la piel (Aguilar, et al., 1994).

Con respecto a los filtros solares han ido cobrando día a día una mayor importancia, ya que pueden proteger la piel de los efectos solares dañinos de la radiación solar. Bouzan, menciona que además de la importancia de los protectores solares en el cuidado de la piel, hay tres aspectos que debemos tomar en cuenta.

En primer lugar, un proyecto debe tener una importancia o trascendencia científica, ya sea como descubrimiento o innovación para la humanidad. En este contexto, una investigación se concreta y repercute de manera inmediata en atender las necesidades de la sociedad.

En segundo lugar se debe tomar en cuenta el potencial económico que un proyecto pueda atraer al llevarse a cabo, debe ser financiado de alguna manera y representar un beneficio económico. En el caso de los filtros solares naturales, podemos decir que su estudio trae tanto un beneficio directo para los seres humanos al proteger contra la radiación solar, como económico, importante para los inversionistas, empresarios y trabajadores que se dedican a la producción y distribución de estos, además de ingresos fiscales a los países en donde se comercializan.

Por último el acceso a la información relacionada con el tema de estudio limita o aumenta las posibilidades de éxito de un proyecto (Bouzan, 2003).

En este trabajo se pretende dar a conocer la importancia de los filtros solares naturales, para la protección de la piel, propiciando la conservación de los sistemas ecológicos y su importancia económica en la industria cosmética.



Buddleja cordata

El género *Buddleja* se consideraba dentro de la familia *LOGANIACEAE*, cuadro 1, de acuerdo con Hutchinson (1973), actualmente pertenece a la familia *BUDDLEJACEAE*; siendo uno de los géneros que tiene una amplia distribución; comprendiendo alrededor de 100 especies tanto en el hemisferio oriental como en el occidental como muestra la figura 1. Indicando que 50 son originarias del continente americano (Houghton, 1984).

Cuadro 1. Clasificación botánica de la especie *Buddleja cordata*

| |
|------------------------------------|
| Orden: <i>Gentianales</i> |
| Familia: <i>Loganiaceae</i> |
| Subclase: <i>Esterales</i> |
| Género: <i>Buddleja</i> |
| Especie: <i>B. cordata</i> |

Fuente: (Sánchez, 1969)

En México existen 20 especies de *Buddleja*, las cuales se distribuyen en todo el territorio nacional (Rzedowski, & Rzedowski 1985), desde Chihuahua, hasta el sur de Argentina (Norman, 1973).

Figura 1. Distribución del género *Buddleja cordata* a nivel mundial



Fuente: (Norman, 1973)



Buddleja cordata

Buddleja cordata H.B.K. es una especie arbustiva y arbórea con una amplia distribución en el Valle de México como elemento de la vegetación secundaria de bosques de pino encino, bosque de encinos, zacatonales matorrales xerófilos y áreas urbanas, localizadas en una altitud entre 2 200 y 3 000 msnm (Fig. 2). Coloniza con facilidad los sitios abiertos y perturbados gracias a que sus semillas son fácilmente dispersadas por el viento. (Mendoza, 2003). Conocida como Zayolizcán, Cayolizcán, Cayoluian, Cayolozán (Martínez, 1967). Valle de México: Palo de zorro prieto, Zompantle, Estado de México: ranhazha (Otomí), Puebla: Chkapungut, Kaneje, Kuxindaa, Kanda ku (popolaca), (Arteaga et al, 1994). Los indios Tarahumaras conocen esta planta con los nombres de “matowi” o “wasala” en el Valle de México es conocida como tepozán, tepoza, tepozán blanco (Martínez, 1991; Rzedowski, 1988).

Figura 2. Distribución del género *Buddleja cordata* en la República Mexicana



Fuente: (Norman, 1973)

Las plantas de dicho género se caracterizan por vivir en una amplia diversidad de hábitats, incluyendo zonas perturbadas por efecto de la urbanización. Las especies más comunes son *B. asiatica*, *B. officinalis*, *B. curviflora*, *B. davidii*, *B. americana*, *B. cordata*, *B. globosa* y *B. variabilis*, en su mayoría son utilizadas por la medicina tradicional (Houghton, 1984). Como se observa en el cuadro 2.



Buddleja cordata

Cuadro 2. Ejemplo de algunas especies del género *Buddleja* utilizadas en la medicina popular en diversas regiones del mundo.

| ESPECIE | LUGAR DE ORIGEN | USO POPULAR |
|---|--|--|
| <i>B. asiatica</i> | Norte de la India Sur de China Sur de Malasia Indonesia Nueva Guinea | Abortivo. Tratamiento de infecciones de la piel. Dolor de cabeza. Tratamiento de tumores. Tratamiento de la malaria. |
| <i>B. officinalis</i> | China Malasia | Tratamiento de hipertensión. Diabetes. Nefritis. Cáncer. Afecciones cutáneas. Enfermedades del hígado. Tratamiento de córnea, cataratas y fofobia. |
| <i>B. curviflora</i> | China Japón | Tratamiento del catarro. Tratamiento de malaria. Pesticida. |
| <i>B. davidii</i> <i>B. variabilis</i> | China Japón | Tratamiento de úlceras de piel. Tratamiento de la lepra. |
| <i>B. madagascariensis</i> | Madagascar Uruguay | Tratamiento de disentería. Remedio para el asma, la tos y la bronquitis. |
| <i>B. americana</i> | México Sur de Colombia Guatemala | Antiespasmódico. Eupéptico. Tratamiento de quemaduras. Antiséptico. Tratamiento de la cirrosis. Diurético. Tratamiento del asma. Dolor de cabeza. Antirreumático. Enfermedades hepáticas. Anti-inflamatorio. Antiséptico. |
| <i>B. saligna</i> | Perú Bolivia | Remedio para la tos. Purgante. |
| <i>B. globosa</i> | Sur de Chile Perú Bolivia | Tratamiento de quemaduras. Tratamiento de disentería crónica. Tratamiento de hemorroides, hepatitis y catarro. Antiséptico urogenital. |
| <i>B. humboltiana</i> | Chile Perú | Tratamiento de infecciones uterinas y reumatismo. |
| <i>B. quinquenaria</i> | Ecuador | Sedante. |
| <i>B. brasiliensis</i> | Brasil | Analgésico. Antiarrítmico. Anticatarral. |
| <i>B. perfoliata</i> | México Guatemala | Antisudorífico. Diurético. |
| <i>B. marrubiifolia</i> | Bolivia Chile Perú | Tratamiento del reumatismo. Diurético. |
| <i>B. incana</i> | Ecuador Perú Bolivia Chile | Tratamiento de quemaduras infectadas. Antirreumático. Tratamiento de neuralgia, catarro, gonorrea e infecciones genitales. |

Fuente: (Houghton, 1984).



Buddleja cordata

Descripción Taxonómica

Arbusto o árbol de uno a 20 m. de alto, dioico; tallos tetragonales y densamente tomentoso-estrellado en las ramas jóvenes; hojas con líneas estipuladas o en ocasiones con estípulas foliosas, peciolo de 1 a 7 cm de largo por 1.5 a 10.5 cm de ancho ápice agudo, acuminado o largamente acuminado, margen entero serrado, serrulado, irregularmente serrulado o en ocasiones dentado, base obtusa, cuneada, cordada, truncada o raramente atenuada u oblicua, venación muy prominente en el envés, textura algo corácea, pubescencia de pelos estrellados, muy densa en el envés, de color blanco brillante caduca con el tiempo; inflorescencia formada por grandes panículas terminales de (4) 14 a 25 (32) cm de largo, ramificadas por 2 a cuatro veces y con brácteas en cada ramificación; flores blancas o amarillentas, campanuladas; cáliz tomentoso, de 1.5 a 3 mm de largo, corola de 3 a 4 mm de largo con lóbulos más largo que el tubo, oblongos y extendidos, imbricados en el botón, pubescentes interna y externamente; estambres subsésiles o con filamentos cortos y fuertes, ovario ovoide, estilo conspicuo, estigma claviforme, muy ligeramente bilabiado; fruto ovoide-elipsoide, de 2.5 a 6 mm de largo por 1.5 a 4 mm de diámetro, con dehiscencia septicida y loculicida con numerosas semillas aladas, de 1 a 1.5 mm de largo por 0.2 a 0.4 mm de ancho, como se muestra en la figura 3. (Rzedowski y Rzedowski, 1985).



Figura 3. Árbol, hoja y fruto de *Buddleja cordata*

Fuente: www.arbolesdelaunam.mx



Etnobotánica

El árbol de tepozán es referido por el Padre Sahagún diciendo que tiene propiedades diuréticas y que sirve para regularizar la digestión y moderar el calor del cuerpo. Mencionando que en otros lugares las raíces mezcladas con las del **Tepexiloxochitlacotl** son buenas para detener las hemorragias nasales. El Padre Jiménez, al tratar esta planta, dice: “provoca la orina. Limpia el cuerpo aplicando las raíces, la corteza, o las hojas en forma de emplasto, deshacen los tumores, apostemas y cura las quemaduras” (Martínez, 1967).

Se utiliza en algunos estados del centro de México para madurar abscesos, mezclado con manteca de cerdo sobre heridas o magullones, también como antipirético, las hojas picadas y mezcladas con carbonato y manteca se usan para infecciones del estómago; en infecciones renales como diurético (Gallardo, 1994). Los indios Tarahumaras emplean las hojas y la corteza para curar las heridas e inflamación de la piel. De manera adicional, este grupo étnico utiliza las diferentes partes vegetales de la especie para la cura del “susto” y “alma perdida” (Bye, 1983; Cárdenas, 1993).

El tepozán, ha sido empleado en la medicina tradicional mexicana; por ejemplo, en el centro del país, la infusión de las hojas es utilizada para aliviar algunos desórdenes hepáticos; en tanto que el cataplasma de las hojas frescas se aplica localmente para el tratamiento de heridas, quemadura y toda clase de afecciones de la piel (Aguilar, *et al.*, 1994). Las hojas de la planta son valoradas por la cura de reumatismo, la diarrea, dolores de cabeza, así como para el alivio de las contracciones uterinas y la fiebre después del parto (Argueta, *et al.*, 1994). En otros casos las hojas suelen combinarse con otras especies medicinales. La decocción de la raíz y la corteza se emplea como diurético para el tratamiento de problemas renales (Argueta, *et al.*, 1994). Otros usos que se le atribuyen a la especie se resumen en el Cuadro 3. (Bye, 1983; Houghton, 1984).



Buddleja cordata

Cuadro 3. Propiedades medicinales atribuidas a *Buddleja cordata* H.B.K

| USOS POPULARES | PARTE DE LA PLANTA | VIA DE ADMINISTRACIÓN |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Enfermedades hepáticas | Hoja | Oral |
| Afecciones cutáneas | Hoja | Tópica |
| Dolores de cabeza | Hoja | Oral |
| Antileproso | Hoja | Tópica |
| Antiasmático | Hoja | Oral |
| Antitusivo | Hoja | Oral |
| Tratamiento de la bronquitis | Hoja | Oral |
| Eupéptico | Hoja | Oral |
| Antiséptico | Hoja | Oral |
| Analgésico | Hoja | Oral |
| Anti-inflamatorio | Hoja | Oral |
| Antidiarreico | Hojas, corteza y raíz | Oral |
| Antipirético | Hojas, corteza y raíz | Oral |
| Antitumoral | Hojas, corteza y raíz | Oral |
| Antipalúdico | Raíz | Oral |
| Hipnótico | Raíz | Oral |
| Contracciones uterinas | Toda la planta | Oral |
| Diurético | Toda la planta | Oral |
| Antiespasmódico | Toda la planta | Oral |
| Tratamiento de la cirrosis | Toda la planta | Oral |
| Tratamiento de disfunciones biliares | Toda la planta | Oral |

Fuente: (Bye, 1983; Houghton, 1984)

GENERALIDADES DE LA PIEL

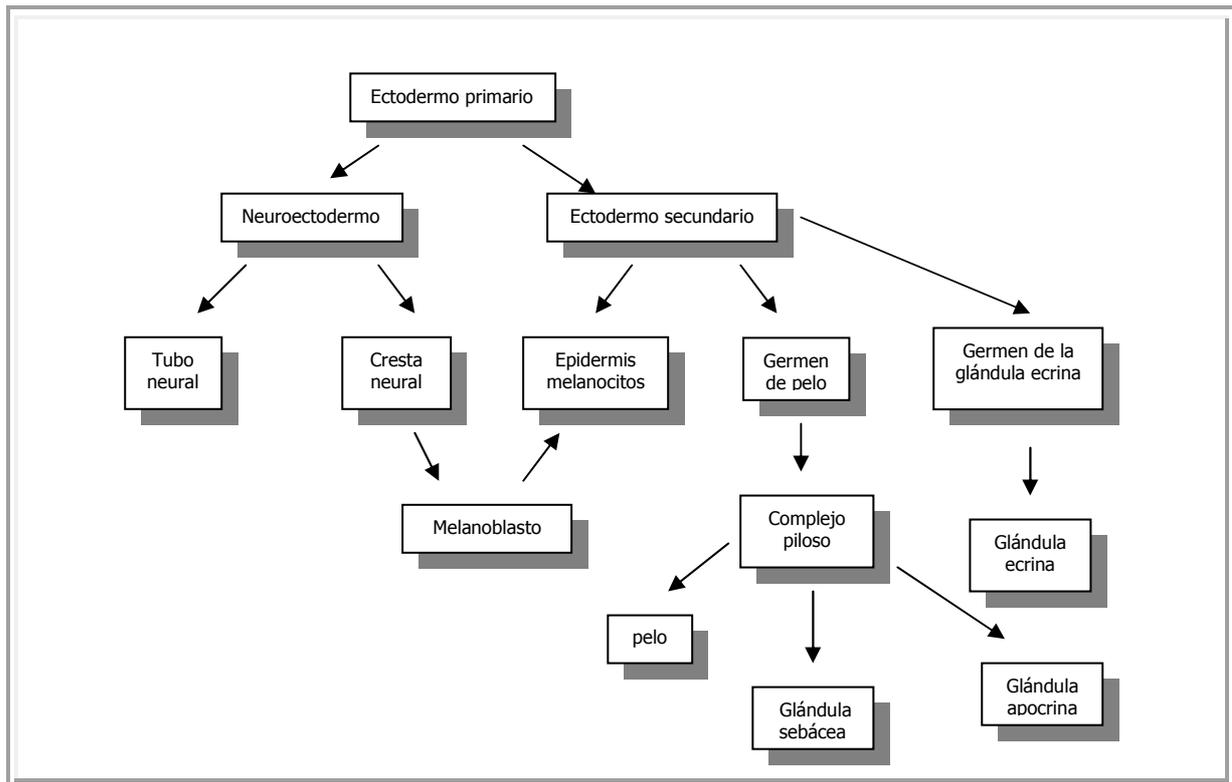
La piel es un órgano de vital importancia, de estructura compleja y de múltiples funciones, constituye el órgano más extenso de todos: su superficie total oscila entre 2500 cm² del adulto, con un peso aproximadamente de 4.8 kg en el hombre y 3.2 kg en la mujer (Wilkinson y Moore, 1996).

Todos los constituyentes de la piel derivan del ectodermo superficial, del mesodermo del dermatoma y la placa lateral del mesénquima (Fitzpatrick, T., 1997). Las estructuras epiteliales (epidermis, unidades pilosebáceas-apocrinas, glándulas sudoríparas ecrinas y uñas) derivan del ectodermo. Los melanocitos, nervios y receptores sensoriales especializados se originan en el neuroectodermo; los otros elementos de la piel: células de Langerhans, fibroblastos vasos sanguíneos, linfáticos, músculos y lipocitos nacen en el mesodermo (Cordero, A., 1996). Cuadro 4.



Buddleja cordata

Cuadro 4. Derivados ectodérmicos, embriología de la epidermis y sus anexos



Fuente: (Cordero, A., 1996).

Limita nuestro cuerpo del medio externo y desempeña varias funciones importantes, en especial de protección como se observa en el **cuadro 5**.

Cuadro 5. Funciones de la piel.

1. Actúa como **barrera** que se opone a la pérdida hidroproteínica, **manteniendo el medio interno**, y protege al organismo de las agresiones físicas, químicas y microbiológicas.
2. Es el principal elemento para **preservar la homeotermia corporal** (termorregulación); conserva el calor mediante vasoconstricción y su propia estructura anatómica aislante (especialmente la grasa hipodérmica), enfría por vasodilatación y evaporación del sudor.
3. Constituye una considerable protección contra la **penetración de los rayos ultravioleta** gracias a dos barreras: la melánica, fabricada por los melanocitos, y la proteína córnea (queratina) fabricada por los queratinocitos.
4. Interviene en el metabolismo de importantes moléculas, entre ellas, **la síntesis de vitamina D**, y participa en la **vigilancia inmunológica**.
5. Podría ser considerada como **órgano de expresión** por su capacidad de revelar estados anímicos muy diversos: rubor, roséola, púdicia, enrojecimiento, palidez, y sudor.
6. Es un órgano de **percepción** múltiple a través de las informaciones captadas por millares de terminaciones nerviosas distribuidas por su superficie*

*Cuando se destruye la capa externa de la piel (epidermis), como sucede en las quemaduras de tercer grado, se pierde su protección, y todo contacto es doloroso ya que en la epidermis están localizados los receptores sensitivos específicos para las cuatro sensaciones fundamentales: dolor, tacto, temperatura y presión (Pearce, 1981). Fuente: (Cordero, A., 1996).



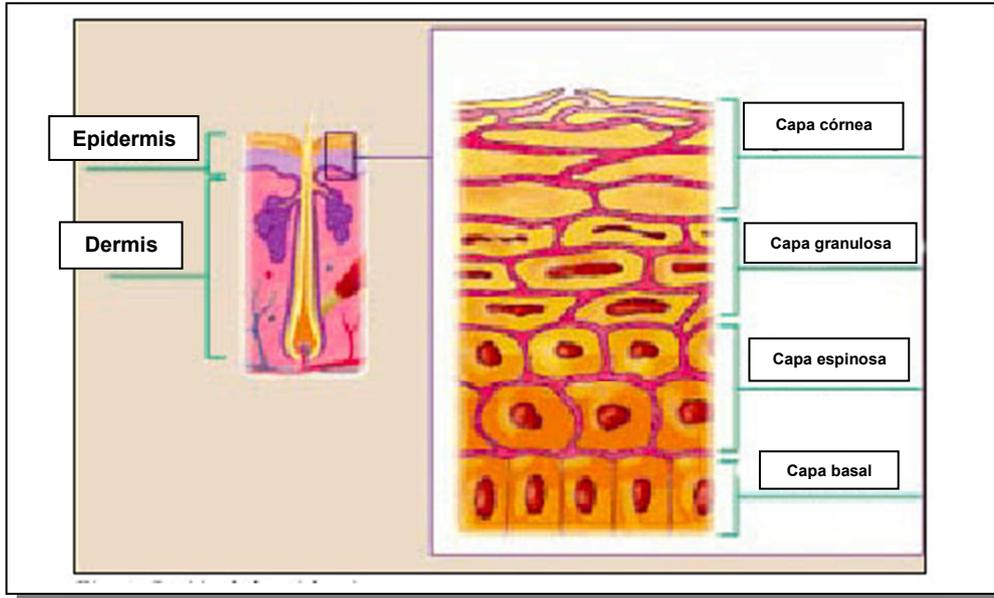
Buddleja cordata

Cada región de la piel depende del tejido circundante para la regulación y la modulación de la estructura y las funciones normales. Esto es válido en los niveles de organización tisular, celular y molecular (Fitzpatrick, T., 1997). Para cumplir este objetivo la piel ha evolucionado en una serie de envolturas complejas cada una con propiedades particulares (Ávila, *op. cit.*, 2003), como se mencionan a continuación:

La epidermis es una capa de epitelio estratificado, cuyas capas celulares corresponden a diversos estadios de diferenciación (Cordero, A., 1996). El queratinocito es la célula primordial, la cual se divide en cuatro capas, cuyos nombres derivan de su posición estructural (Fitzpatrick, T., 1997). (Fig. 4). Hay dos células dendríticas: el melanocito en la capa basal y las células de Langerhans un poco más arriba, las células de Mékel (neuroendocrina) se localiza en la capa basal y se vincula con una terminación nerviosa (Cordero, A., 1996). la epidermis está conectada al tejido conjuntivo (dermis), ésta se encuentra encima de una base de tejido adiposo que forma la hipodermis (Leeson *et al.*, 1989; Russel, 1992). (Fig. 5). Dando origen a estructuras derivadas (aparato pilosebáceos, uñas, y glándulas sudoríparas) tiene aproximadamente 0.4 a 1.5 mm de espesor en comparación con el espesor total de la piel de 1.5 a 4 mm aproximadamente, del 90 al 95% de las células de la epidermis son queratinocitos (Freinkel, 2001).

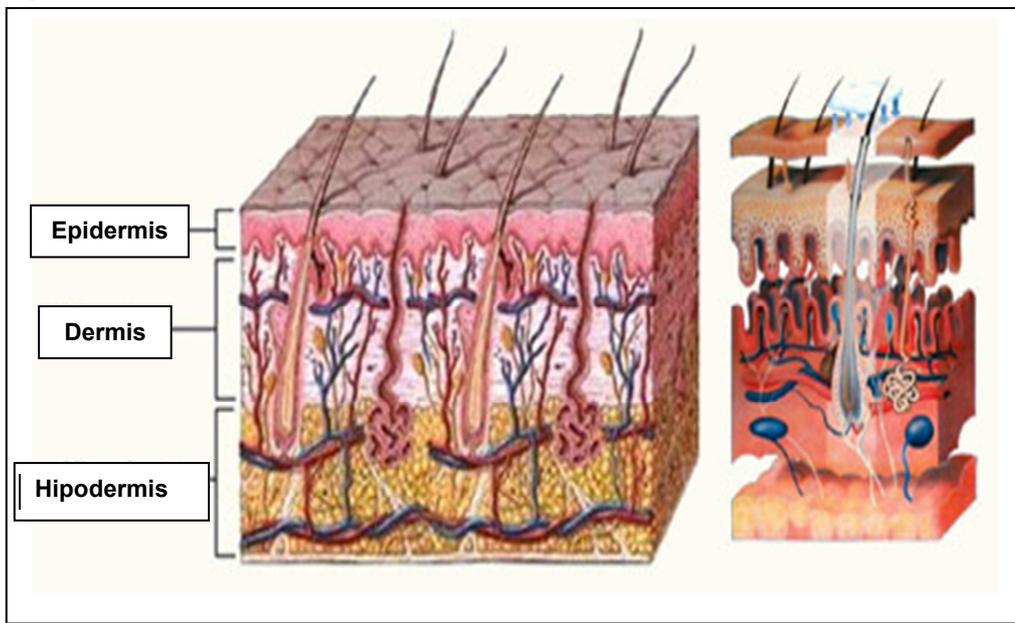


Figura 4. Estratificación del tejido epidérmico.



Fuente: dfarmacia.com

Figura 5. Capas de la piel



Fuente: drmime.blogspot.com



FILTROS SOLARES

Los filtros solares son sustancias que tienen la capacidad de absorber la energía UV dentro del rango comprendido entre los 100 y los 400 nm y convertirla en un nivel más bajo de energía irradiada, ya sea como fluorescencia o como calor, por su naturaleza y función, es de esperar que el isomerismo desempeñe un papel importante en la determinación de la capacidad absorbente del producto, ya que puede influir en la forma como absorba y emita la radiación o bien el intervalo de radiación que afectará (Wilkinson, y Moore, 1996).

Evolución de los filtros solares

El primer reporte del uso de los filtros solares en el mundo fue en 1928, en los EUA, con la introducción comercial de una emulsión que contenía dos filtros químicos, bencilsalicilato y bencilcinamato (Cancino, R., *Op. Cit.*, 1998).

A principios de los treinta un producto que contenía el 10% de salol (fenil salicilato) apareció en el mercado australiano y en Francia, en 1936, un químico llamado E. Schueller introdujo el primer filtro solar comercial; en los EUA lociones que contenían oleolato de quinina y bisulfato quinina aparecieron en 1935 (Kumber, W., 1987).

El ácido paraminobenzoico (PABA) fue el primero en patentarse en 1943, dejando el camino para la incorporación de algunos derivados (paminobenzoatos) en las formulaciones de los filtros solares. Durante la segunda guerra mundial, el petrolato rojo fue usado por los militares de EUA, el cual abriría paso al uso de los filtros UV físicos y químicos (Nakada, S., y Konishi, H., 1987).

En la actualidad existen dos tipos principales de filtros solares producidos comercialmente: preparaciones que contienen absorbentes UV orgánicos, químicos y aquellos que contienen una dispersión de partículas inorgánicas



finas e insolubles tales como el dióxido de titanio, y óxido de zinc, las cuales absorben y dispersan la radiación UV. (Geral, J. *et al.* 2002).

Según la intención de su aplicación los filtros solares se pueden clasificar de la siguiente manera:

Los agentes preventivos de quemadura solar se definen como filtros solares

1. **Agentes bronceadores al sol** se definen como filtros solares que absorben al menos 85% de la radiación UV dentro del intervalo de la longitud de onda de 290 a 320 nm y produce un ligero bronceado transitorio. Estos agentes producirán cierto eritema, pero sin dolor. Los filtros solares de estas dos categorías son filtros solares químicos o biológicos que absorben una zona específica de radiación UV. En algunas circunstancias, los mismos filtros solares se pueden emplear en ambos tipos de productos pero a concentraciones diferentes (menores en un producto bronceador solar).
2. **Agentes bloqueadores solares opacos**, cuyo fin es suministrar la máxima protección en forma de una barrera física, los productos utilizados con mayor frecuencia son el dióxido titanio (TiO_2) y el óxido de zinc (ZnO) que reflejan y dispersan prácticamente toda la radiación dentro de la zona ultravioleta y visible (290-320nm) evitando o minimizando tanto la quemadura solar como el bronceado (Wilkinson, J. y Moore, R., 1996).
3. **Agentes que absorben** el 95% o más de la radiación UV dentro del intervalo de longitudes de onda de 290 a 320 nm.



Las propiedades imprescindibles de un filtro solar según Wilkinson y Moore son:

- I. Absorber eficientemente la radiación eritemógena en el intervalo de 290-320 nm sin descomposición que pueda reducir su eficacia u originar compuestos tóxicos o irritantes.
- II. Permitir la transmisión total en el intervalo 300-400 nm para lograr el máximo efecto bronceante.
- III No deben ser volátiles, resistentes al agua y a la transpiración, previniendo una contaminación al medio ambiente.
- IV Tener características adecuadas de solubilidad para hacer posible la formulación del producto deseado con la cantidad requerida de filtro solar.
- V Ser inodoros o al menos tener un olor aceptable por el usuario y tener propiedades satisfactorias al tacto (no deben ser pegajosos).
- VI No deben ser tóxicos, irritantes o sensibilizantes.
- VII. Capaces de retener su propiedad protectora por varias horas, lo cual permita también un ahorro económico a largo plazo.
- VIII. Estables en las condiciones de uso.
- IX. No manchar la ropa.

Factor de protección solar (FPS)

Las fórmulas de los fotoprotectores, especialmente aquellos de amplio espectro (protección contra UVA así como UVB) y FPS alto (15, 15+) son protectores contra muchos de los efectos crónicos y agudos de la irradiación UV, incluyendo eritema, fotoenvejecimiento y cáncer de piel (John, J. y Prue, H., 1998).



No todos los individuos del mundo corren el mismo riesgo de que se produzca un cáncer de piel y alteraciones como fotoenvejecimiento, aunque las poblaciones de melanocitos en la piel humana presentan variaciones regionales, todos los seres humanos, independientemente del color de su piel, poseen aproximadamente la misma cantidad de melanocitos epidérmicos en un área anatómica dada. En consecuencia, las diferencias étnicas del color de la piel se deben principalmente al establecimiento y diferenciación de los melanosomas y no a la cantidad de melanocitos (Fitzpatrick, T., 1997); los melanosomas están agrupados en complejos de 4 a 8, rodeados por una membrana, si se trata de un sujeto blanco; en el negro por el contrario, están aislados y dispersos, siendo más grandes y ovals (Cordero, A., 1996).

Un análisis detallado de la reacción de cada individuo ante la exposición al sol (tendencia a la quemadura solar y capacidad de broncearse) permite categorizar a los individuos de todos los colores según sus propios fototipos de piel (FPS) (Fitzpatrick, T., 1997), **cuadro 6**.

Cuadro 6. Fototipo de piel humana y su reactividad a la luz solar

| Fototipo de piel | Color de la piel no expuesta | Rango de DEM mJ/cm ² | Sensibilidad a RUV | Antecedente de quemadura solar y bronceado * |
|------------------|------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|--|
| I | Blanca | 15-30 | Muy sensible | Siempre se quema con facilidad; no muestra OIP, nunca se broncea. |
| II | Blanca | 25-40 | Muy sensible | Siempre se quema con facilidad; vestigios de OIP, se broncea mínimamente y con dificultad. |
| III | Blanca | 30-50 | Sensible | Se quema mínimamente: OIP, se broncea de manera gradual y uniforme (marrón claro). |
| IV | Marrón clara | 40-60 | Moderadamente sensible | Se quema mínimamente: OIP, siempre se broncea bien (marrón moderado). |
| V | Marrón | 60-90 | Mínimamente sensible | Rara vez se queman: OIP, se broncea intensamente (marrón oscuro) |
| VI | Marrón oscura o negra | 90-150 | Insensible o mínimamente sensible | Nunca se quema: OIP, se broncea profundamente (negro), intensamente |

*basado en los primeros 45 a 65 minutos (alrededor de 3 DEM o 90-120 mJ/cm²) de exposición solar de piel no bronceada o sin exposición previa al sol. DEM: Dosis de Eritema Mínimo OIP: Oscurecimiento Inmediato del Pigmento Fuente: (Fitzpatrick, T., 1997).



“Plough Corporation desarrolló el sistema del “factor de protección solar” (SFP, Sun Protection Factor), para definir la eficacia relativa de agentes filtros solares para proteger la piel. Posteriormente fue recomendado por la FDA, encargado de la administración de alimentos y medicamentos de EEUU, como medio de identificar numéricamente la eficacia de varios productos filtros solares y proporcionar a los consumidores una guía de los productos adecuados para tipos particulares de piel. El FPS a sido definido como la relación mostrada en el cuadro 7.

Cuadro 7 Factor de protección solar

| | |
|--|--|
| Energía UV requerida para producir una Dosis de Eritema Mínima (MED) sobre piel protegida. | Energía UV requerida para producir un MED sobre piel no protegida. |
|--|--|

Fuente: (Wilkinson, J., y Moore, R., 1996).

Esto indica la relación entre la exposición a rayos ultravioleta requerida para producir un eritema mínimamente perceptible sobre la piel protegida y la exposición que producirá el mismo eritema sin protección.

$$\text{Valor de SPF} = \frac{\text{MED (PS)}}{\text{MED (US)}}$$

(SP, protected skin; US, unprotected skin)

Hay una aceptación general de los efectos protectores de la melanina epidérmica contra los efectos lesivos de la radiación ultravioleta como lo muestra el cuadro 8.

Cuadro 8. Valores de dosis de eritema mínimo para individuos de fototipos de piel I a VI y FPS recomendados de los protectores solares.

| Fototipo de piel | Color de piel no expuesta | Dosis de eritema mínimo | | FPS recomendado* |
|------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------|
| | | UVB mJ/cm ² | UVA J/cm ² | |
| I | Blanca | 15-30 | 20-35 | 15-30 |
| II | Blanca | 25-35 | 30-45 | 15-30 |
| III | Blanca | 30-50 | 40-55 | 15-30 |
| IV | Marrón clara | 45-60 | 50-80 | 10-15 |
| V | Marrón | 60-90 | 70-100 | 10-15 |
| VI | Marrón oscura o negra | 90-120 | =100 | 6-10 |

* los fotoprotectores que contienen sustancias químicas que absorben UVB y UVA y tienen un valor de FPS de 15 a 30 pueden suministrar FPS UVA de 2.7 a 4.7 y FPS UVB de 12.3 a 25.3 en consecuencia, el componente UVA de la irradiación solar no filtrada que incide en la piel puede ser adecuadamente disminuido.

NOTA: basados en casi 300 individuos estudiados, **Fuente: (Fitzpatrick, T., 1997).**



Buddleja cordata

Las denominaciones de categorías de productos recomendadas al consumidor para seleccionar los tipos de filtros solares que proporcionan varios FPS según (Bouzan, *op. cit.*, 2003) son los siguientes:

PCD: *product category designation.*

- **PCD1** Producto de mínima protección solar. Proporciona un valor FPS desde dos hasta cuatro y ofrece la menor protección, aunque permite el bronceado.
- **PCD2** Productos de moderada protección solar. Proporciona un valor FPS de cuatro a seis y ofrece una protección moderada a las quemaduras solares pero permite bronceado.
- **PCD3** Producto de extra protección solar. Proporciona un valor FPS entre seis y ocho ofreciendo extra protección a quemaduras solares. Permite un bronceado limitado.
- **PCD4** Producto de máxima protección solar. Proporciona un valor FPS desde ocho hasta quince y ofrece la máxima protección a las quemaduras solares, permitiendo un escaso o moderado bronceado.
- **PCD5** Producto de ultra protección solar. Proporciona un valor FPS a quince y superior y ofrece la máxima protección a las quemaduras solares, evitando el bronceado.

Regulación para la producción y empleo de los filtros solares

Cada país tiene su propia legislación sobre el uso de cosméticos, de esta manera un filtro UV puede estar autorizado para formar parte de una formulación en algunos países y en otros estar prohibido. Existe una gran variedad de filtros solares, sin embargo sólo hay nueve sustancias cuyo uso está autorizado en todos ellos:



Cuadro 9. Filtros solares autorizados mundialmente para su uso en la formulación de preparados solares

| | |
|---------------------------------|-----------------------------|
| Filtros Orgánicos | Benzofenona-3 |
| | Benzofenona-4 |
| | Butil metoxidibenzoilmetano |
| | Etilhexil metoxicinamato |
| | Etilhexil dimetil PABA |
| | Homosalato |
| | Octil salicilato |
| Pantallas Inorgánicas o Filtros | Oxido de titanio |
| | |
| | Oxido de zinc |

Fuente: **Cosmeticon**, en www.basf.com

La regulación para la producción y uso de filtros solares en Estados Unidos, se encuentra a cargo de la FDA; en Europa, es usada desde 1994 el factor de protección solar del comité de Liasion des Associations Européennes de l'Industrie et de la Parfumería (COLIPA) para evaluar el coeficiente de protección de un producto contra la radiación UV-B. Este método europeo es muy similar al método estadounidense, permitiendo así poder comparar los factores de protección de un producto en ambos lugares.

Tanto el método FDA como el COLIPA se basan en la medición de las propiedades de la radiación UV-B que produce un eritema en la piel, después de un tiempo de exposición al sol.

FLAVONOIDES

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, generalmente constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica (Aruoma, O. I., 2003; Valle H., 2008; Robledo, D., 2008), entre los cuales podemos encontrar a los flavonoides que son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental y las sustancias químicas presentes en los alimentos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas y verduras (Aherne, S. A., 2002), así como en el té negro, el café, la cocoa, la cerveza y el vino rojo (Van Acquire, S. A., 1996), también se encuentran en extractos de



Buddleja cordata

plantas como arándano, *Gingko biloba*, cardo mariano. Pueden encontrarse desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos altamente polimerizados con pesos moleculares mayores de 30,000 Da (Pérez T., *op cit.* 2001).

La finalidad o mecanismo de estos compuestos reside en su capacidad para captar los radicales libres que se pueden generar en las células del cuerpo humano y que son resultado de la combinación de muchos factores ambientales, incluida la contaminación atmosférica. Dichos radicales actúan sobre ácidos grasos poliinsaturados, colesterol, ADN y lípidos, siendo estos últimos los más susceptibles a la sustracción de un electrón por parte del radical que lo requiere para alcanzar su estabilidad electroquímica. Los antioxidantes actúan como fuentes de hidrógeno y se oxidan en lugar de cualquiera de los componentes anteriormente mencionados, protegiendo de esta manera las células contra el daño que causan los radicales libres (Echavarría, *op cit*, 2009).

Muchos flavonoides se encuentran en la naturaleza en forma de glucósidos, lo que contribuye a que haya más de 8000 descritos (Benavente, G. O., *et al.*, 2008), excepto las catequinas, el resto de flavonoides no aparecen en la forma aglicona (no glicosilada) en los vegetales; por ejemplo, los flavonoles y las flavonas de los alimentos generalmente son o- β -glicósidos (Aherne, 2002; Crozier, A., *et al.*, 2009).

Las flavanonas, flavonas y flavonoles son los flavonoides presentes en los cítricos. Estos compuestos han mostrado ser potentes antioxidantes, secuestrantes de radicales libres o agentes que contribuyen a la acción anticancerígena y cardioprotectora entre otras (Moreno, A., *et al.*, 2007).

Estos compuestos fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares (Singleton, V., 1981).

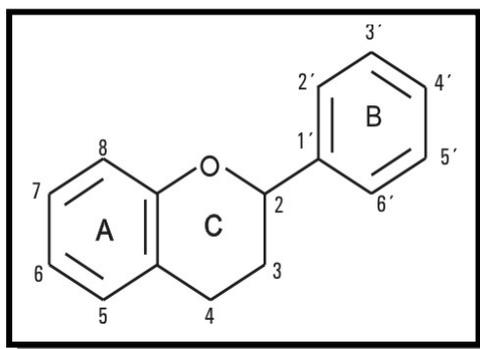


Estructura química

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante (Peres, W., 1994).

Químicamente, son compuestos de bajo peso molecular que se encuentran en plantas vasculares. Estructuralmente (Fig.6), pueden ser considerados como fenilbenzo-pironas (fenilcromonas) compuesto de dos anillos bencénicos (anillos A y B) unidos mediante un anillo heterocíclico de pirano o pirona (anillo C). De acuerdo a los sustituyentes presentes en estas tres estructuras cíclicas, se subdividen en función de la presencia o ausencia de un doble enlace entre los carbonos 4 y 5 del anillo C, de la presencia o ausencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3 del anillo C, y de la presencia de grupos hidroxilo en el anillo B. En función de sus sustituyentes químicos los flavonoides se clasifican en: (1) flavanoles, (2) antocianidinas, (3) flavonas, flavanonas y chalconas (Fig.7). Middleton, E., *et al.*, 2000.

Figura 6. Estructura básica de los flavonoides y sistema de numeración.



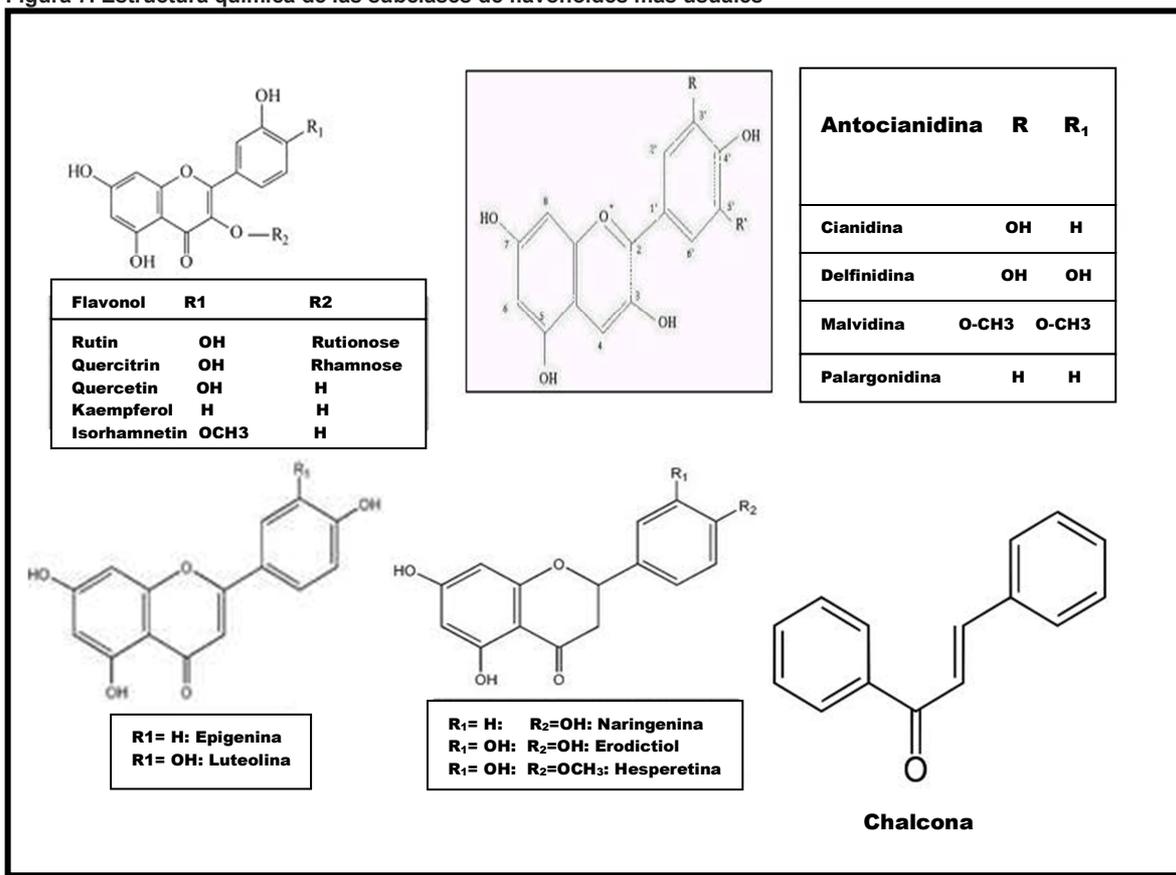
Fuente: Rev. Cubana Invest. Biomed. 2003

Estos compuestos tienen efectos muy importantes en la bioquímica y fisiología de las plantas, en donde actúan como antioxidantes, inhibidores enzimáticos, precursores de sustancias tóxicas, así como en la formación de pigmentos y



filtros solares. También estos compuestos están involucrados en mecanismos de fotosensibilización y de transferencia de energía, regulando así las reacciones de crecimiento, de control de la respiración, la fotosíntesis, la morfogénesis, la determinación sexual y la defensa contra infecciones (Tenorio, L., *op. cit.*, 2006).

Figura 7. Estructura química de las subclases de flavonoides más usuales



Se ha reconocido que en el hombre, los flavonoides poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antivirales y anticarcinogénicas. Al ser considerados también como compuestos fenólicos, pueden actuar como potentes quelantes de metales, como “scavengers” de radicales libres y como antioxidantes rompedores de cadena, es decir, finalizan la cadena de formación de especies pro-oxidantes mediante la donación o aceptación tanto de un átomo de hidrógeno como un electrón (Tenorio, L., *op. cit.*, 2006).



Buddleja cordata

Tipos y fuentes de flavonoides

Desempeñan un papel importante en la biología vegetal; así, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Otras funciones incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre (Formica, J. V., *et al.*, 1995). Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo. Una excepción son los tubérculos de cebolla, que contienen una gran cantidad de quercitina 4'-D-glucósidos (Hertog, M., *et al.*, 1996). El vino tiene un alto contenido en compuestos polifenólicos, aproximadamente se conocen unos 500, la mayoría de los cuales provienen de la uva y del proceso fermentativo. En la uva estas moléculas se localizan en la piel, especialmente en las células epidérmicas, y en las pepitas. Su cantidad y tipo depende principalmente de la variedad de la vid, del clima, del terreno y de las prácticas de cultivo. La cerveza también contiene importantes cantidades de flavonoides entre los que destacan los polihidroflavanos (catequina y epicatequina), los antocianógenos (leucocianidina o leucopelargonidina) y los flavonoles (grupo de quercitinas: kaempferol o mirecitina). Se han identificado más de 5,000 flavonoides, entre los que se pueden destacar:

1. Citroflavonoides: quercitina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno. La quercitina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócoles, cerezas, uvas o repollo rojo. La hesperidina se encuentra en los hollejos de las naranjas y limones. La naranjina da el sabor amargo a frutas como la naranja, limón y toronja, y el limoneno se ha aislado del limón y la lima.
2. Flavonoides de la soja o isoflavonoides: están presentes en los alimentos con soja tales como porotos, tofu, tempeh, leche, proteína vegetal texturizada, harina. Los dos más conocidos son la genisteína y la daidzeina.



3. Proantocianidinas se localizan en las semillas de uva, vino tinto y extracto de corteza del pino marino.
4. Antocianidinas: son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo-azulado de las cerezas.
5. Ácido elágico: es un flavonoide que se encuentra en frutas como la uva y en verduras.
6. Catequina: el té verde y negro son buenas fuentes.
7. Kaemferol: aparece en puerros, brócolis, rábano y remolacha roja (Martínez, F. *op. cit.*, 2002).

Síntesis, absorción y metabolismo

Los flavonoides se sintetizan en las plantas y participan en la fase dependiente de luz de la fotosíntesis, durante la cual catalizan el transporte de electrones, Su formación tiene lugar a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina y también de unidades de acetato. La fenilalanina y la tirosina dan lugar al ácido cinámico y al ácido parahidroxicinámico, que al condensarse con unidades de acetato, originan la estructura cinamol de los flavonoides, posteriormente se forman los derivados glicosilados o sulfatados (Middleton, E., *et al.*, 2000), el metabolismo de los flavonoides es intenso y una parte importante se excretan por la orina. La transformación de los flavonoides tiene lugar en dos localizaciones: en primer lugar en el hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase I en las que se introducen o exponen grupos polares; en segundo lugar en el colon mediante reacciones de biotransformación de fase II, en las que los microorganismos degradan los flavonoides no absorbidos. La conjugación con el ácido glucurónico, sulfatos, o glicina, parecen tener lugar tanto para los flavonoides como para sus metabolitos procedentes del colon. Los conjugados, solubles en agua, pueden excretarse por la orina (Martínez, F. *op. cit.*, 2002).



Mecanismos antioxidantes de los flavonoides

La oxidación puede iniciarse por procesos físicos o químicos y continúa indefinidamente en presencia de un sustrato apropiado hasta que un mecanismo de defensa bloquee el proceso. Las sustancias objetivo son los ácidos grasos poliinsaturados, el colesterol y el DNA, pero los lípidos como constituyentes de la membrana celular son los más susceptibles debido a la velocidad de progreso de las reacciones destructivas en cadena (Ochoa, M., *op. cit.*, 2004).

Los antioxidantes actúan como fuentes de hidrógeno y se oxidan en lugar del ácido graso protegiendo las células contra el daño de los radicales libres. Los antioxidantes naturales más conocidos son las vitaminas C y E (α-tocoferol) y los carotenoides, sin embargo, se ha demostrado que los flavonoides también actúan como antioxidantes, dependiendo de su estructura molecular y de la cantidad y posición de sus grupos hidroxilos. Se han encontrado flavonoides que tienen 20 veces más poder antioxidante que la vitamina C y 50 veces más que la vitamina E, las antocianinas tienen una estructura química única que las hace 3 ó 4 veces más potentes que la vitamina C y ofrecen tanta protección como la vitamina E contra los daños oxidativos, adicionalmente, se cree que los efectos protectores de los flavonoides están asociados con la actividad antioxidante de la vitamina C y el b-caroteno. Los flavonoides cítricos y las proantocianidinas extraídas de las semillas de la uva mejoran la absorción de la vitamina C, protegen la molécula de vitamina C de la oxidación y mejoran y prolongan su funcionamiento. Por lo tanto, están involucrados en la conservación del colágeno que mantiene las células juntas formando los tejidos, previniendo el daño por radicales libres, inhibiendo la actividad enzimática y previniendo la síntesis y liberación de agentes inflamatorios que son funciones de la vitamina C. En el cuerpo humano, la contribución de los flavonoides al sistema de defensa antioxidante puede ser sustancial ya que el consumo diario de flavonoides puede estar entre 50 y 800 mg; este consumo es alto comparado con el promedio del consumo de vitamina C (70 mg), vitamina E (10 mg) o carotenoides (2 mg). Los flavonoides con mayor poder



antioxidante son: catequina, quercetina, isoxanthohumol, genisteina, naringenina y el glucósido de cianidina C3G (presente especialmente en el vino tinto y las cerezas) (Ochoa, M., *op. cit.*, 2004).

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus excelentes propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (RL) 2,8112319920a, sí como de la inhibición de oxidasas tales como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (COI), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO). Otros mecanismos podrían incluir la inhibición de enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, este es el caso de la fosfolipasa A2 (FLA2) y la estimulación de otras con reconocidas propiedades antioxidantes como la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD). De esta forma los flavonoides pueden interferir no sólo en las reacciones de propagación de RL sino también con la formación del radical en sí (Pérez, T., *et al.*, 2001).

Otras actividades que merecen ser destacadas son sus acciones antivirales y antialérgicas, así como sus propiedades antitrombótica y antiinflamatoria, los flavonoides retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células. Sus efectos fotoprotectores son, por ejemplo, bien patentes en fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales cultivados en presencia de sulfoxina-butionina, un inhibidor irreversible de la glutatión sintetasa. Diversos flavonoides han mostrado su eficiencia para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los glóbulos rojos o la autooxidación de los homogenizados de cerebro. Los flavonoides protoantocianídicos pueden ser absorbidos por las membranas celulares y protegerlas de la acción de los radicales libres. Tienen la ventaja de ser liposolubles e hidrosolubles: es decir, se disuelven en lípidos o en agua. Por eso, en contraste con otros antioxidantes que no poseen esa doble cualidad, son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica y pueden proteger a las



células cerebrales, que son muy sensibles a las lesiones producidas por los radicales libres. Además combaten la inflamación, las alergias y aumentan la efectividad de las células natural killer del sistema inmunológico (Martínez, F., *op. cit.*, 2002).

RADICALES LIBRES

Un radical libre (RL) es una especie química que contiene uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos. Un compuesto puede convertirse en RL captando o perdiendo un electrón. Asimismo, también puede formarse un RL cuando un enlace covalente se rompe y cada electrón de la pareja compartida permanece en un átomo (fisión homolítica). Como consecuencia de poseer electrones desapareados, estas especies químicas son extremadamente reactivas, tienen por tanto una vida corta y su concentración en el estado estacionario es baja (Mulero, A., 2004).

Desde el punto de vista biológico principalmente se está interesado en dos radicales libres, el radical hidroxilo (-OH) y el radical superóxido que consisten en dos átomos de oxígeno unidos (O_2) con un solo electrón desapareado (Youngson, R., 2003).

La presencia de moléculas de oxígeno (O_2) dentro de las células de la piel, a nivel de la epidermis es el primer blanco de la luz UV, la cual penetra en ella por la exposición a la luz solar (Huntington, J., 2003). Los productos de degradación fotoquímicamente formados, como consecuencia de la irradiación se considera que desencadenan una serie de reacciones que conducen a la formación de radicales libres y sustancias biológicamente activas (Wilkinson, J., Moore, R., 1996), estas intervienen en procesos oxidativos en los tejidos, además, existen factores endógenos en las células que generan radicales relacionados con diversas enfermedades (García, B., *op cit.*, 1998).



El oxígeno molecular (dioxígeno) puede dar lugar con facilidad a compuestos parcialmente reducidos, que son a su vez oxidantes muy reactivos y, consecuentemente, muy peligrosos. Estos compuestos son:

Cuando un único electrón reduce la molécula de oxígeno se produce el ión radical superóxido (O_2^-). Ésta es una especie química muy reactiva pero inestable en soluciones acuosas, ya que reacciona consigo misma mediante una reacción de dismutación (Cadenas, 1989; Fridovich, 1983).

Así se dispone entonces de una definición de un RL “es cualquier átomo o grupo de átomos capaz de existir independientemente y que contiene al menos un electrón desapareado”. No todos los radicales libres son pequeños como los radicales hidrógeno o hidroxilo. El radical metilo tiene un átomo de carbono y tres átomos de hidrógeno; el radical etilo tiene dos carbonos y cinco hidrógenos. Algunos son grandes y complejos conteniendo anillos de átomos de carbono (anillos bencénicos) y varias cadenas laterales. Todos, sin embargo, tienen un electrón aislado, sin pareja en alguna parte (Fig. 8).



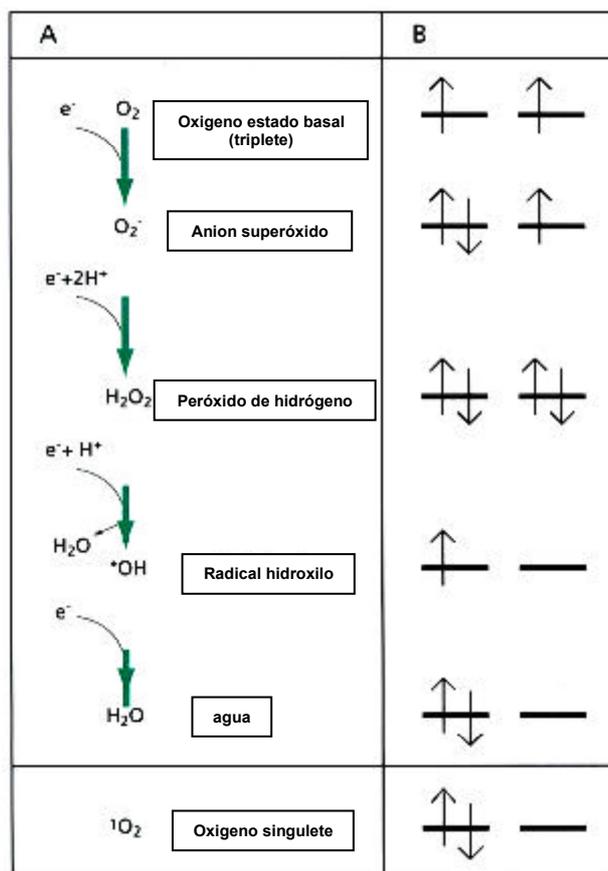


Figura 8. Diferentes transformaciones sucesivas del oxígeno molecular por adición de electrones.

Si son dos electrones los que se incorporan a la molécula de oxígeno se forma el ión peróxido (O_2^{-2}), cuya forma protonada es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Este compuesto es peligroso para las células porque es un potente oxidante que atraviesa fácilmente las membranas biológicas y del que se puede originar el radical hidroxilo ($\cdot OH$) (Pryor y Church, 1991). La reducción del oxígeno molecular por tres electrones da lugar al citado radical hidroxilo. Esta especie es una de las más reactivas que se conocen y, por tanto, presenta una semivida y un radio de acción muy cortos (microsegundos y angstroms, respectivamente). Así, un radical hidroxilo formado en la mitocondria será improbable que, por sí mismo, tenga un efecto directo en otras partes de la célula (Pryor, 1986). Una fuente importante de radicales hidroxilo es la reacción de Haber-Weiss que es, a su vez, el balance de dos reacciones (Halliwell, 1992), Figura 9. Finalmente, la reducción tetravalente del oxígeno molecular origina una molécula de agua.



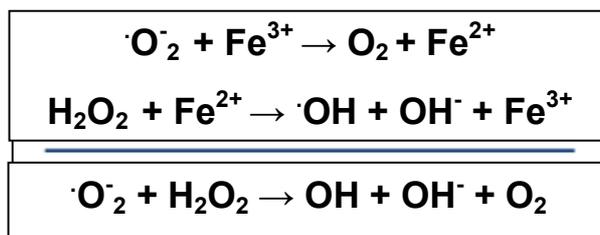


Figura 9. Reacción de Haber-Weiss mediante la cual se generan radicales hidroxilo.

Reactividad de los radicales libres de oxígeno

La mayoría de los radicales libres de interés biológico suelen ser extremadamente reactivos e inestables, no obstante, cuando un radical libre reacciona con un compuesto no radical pueden formarse otros radicales libres, de manera que es posible que se creen reacciones en cadena y den lugar a efectos biológicos lejos del sistema que originó el primer radical. Un ejemplo lo constituye la peroxidación de lípidos (Harman, 1992; Webster y Nunn, 1988).

Las proteínas, los lípidos insaturados, los ácidos nucleicos y los carbohidratos son los blancos fundamentales de las reacciones de los radicales libres. A continuación, se describen los daños que pueden sufrir estas moléculas debido a los radicales libres.

Proteínas

Las proteínas son modificadas de diferente manera por las especies reactivas de oxígeno. Los RL de oxígeno, por ejemplo, pueden reaccionar directamente con el ligando metálico de muchas metaloproteínas. Se ha comprobado que el hierro de la oxihemoglobina puede reaccionar con el radical superóxido o el peróxido de hidrógeno para formar metahemoglobina (Freeman y Grapo, 1982). Otra importante hemoproteína citoplasmática, la catalasa, es inhibida por el O_2^- , que la convierte en sus formas inactivas ferroxi y ferrilo (Kono y Fridovich, 1982). Por último, el peróxido de hidrógeno producto de la dismutación del O_2^- , también



puede reducir el Cu^{2+} de la superóxido dismutasa CuZn a Cu^{1+} , reaccionando después con él y generando radical hidroxilo. A su vez, este radical hidroxilo ataca un residuo adyacente de histidina del centro activo de la enzima, necesario para la actividad catalítica (Hodgson y Fridovich, 1975).

Debido a la reactividad de los RL con las moléculas insaturadas o que contienen azufre, las proteínas con proporciones elevadas de triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína pueden sufrir modificaciones de sus aminoácidos mediadas por RL. En este sentido, se ha observado que enzimas tales como la papaína, la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa e incluso la superóxido dismutasa, que dependen todas ellas de dichos aminoácidos para desarrollar su actividad, sufren también alteraciones en su estructura proteínica, que dan lugar a entrecruzamientos y fenómenos de agregación, que se ven favorecidos por la formación de puentes disulfuro intra e intermoleculares (Freeman y Grapo, 1982; Webster y Nunn, 1988).

Los enlaces peptídicos también son susceptibles de ser atacados por los radicales libres. Estos enlaces pueden romperse tras la oxidación de residuos de prolina por radicales hidroxilo o superóxido (Wolff y Dean, 1986).

Finalmente, la reacción de los radicales libres con las proteínas también puede generar subproductos que amplificarían el daño inicial. Un ejemplo lo constituye la oxidación del triptófano hasta H_2O_2 y N-formil kinurenina (Freeman y Grapo, 1982; Nielsen, 1981).

Lípidos

Los RL hidroxilo e hidroperoxilo y el oxígeno singulete pueden reaccionar con los ácidos grasos de los fosfolípidos y otros componentes lipídicos de las membranas para formar hidroperóxidos lipídicos. (Aikens y Dix, 1991). Este proceso de peroxidación lipídica comienza cuando el RL quita un átomo de hidrógeno de uno de los carbonos metilenos de la cadena carbonada para formar un RL lipídico (L.).



Buddleja cordata

Los ácidos grasos poliinsaturados de membrana son especialmente susceptibles de ser atacados por RL, puesto que contienen grupos metilenos separados por dobles enlaces que debilitan el enlace C-H metileno. Cuando el radical lipídico se origina, sufre inmediatamente un reajuste molecular, produciéndose un dieno conjugado que puede reaccionar con el O₂ y formar un radical hidropéroxilo. Este RL da lugar a endoperóxidos, o bien puede tomar un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de otro ácido graso poliinsaturado adyacente para formar, de nuevo, un RL lipídico y un hidropéroxido.

El radical lipídico se combina con otra molécula de oxígeno y así se establece una cadena de propagación del daño oxidativo. Por su parte, el hidropéroxido, que es un compuesto estable, si entra en contacto con iones metálicos de transición, producirá más RL que iniciarán y propagarán otras reacciones en cadena.

Así, las membranas resultan seriamente dañadas y, por tanto, su funcionalidad se ve alterada (Rice-Evans y Burdon, 1993).

Los productos finales del proceso de peroxidación lipídica, entre los que se incluyen hidrocarburos volátiles, alcoholes o aldehídos, pueden difundir lejos del lugar donde se originaron y causar edema e influir en la permeabilidad vascular, inflamación y quimiotaxis (Pryor y Church, 1991). Estos productos pueden también alterar la actividad fosfolipasa e inducir la liberación de ácido araquidónico y la subsiguiente formación de prostaglandinas y distintos endoperóxidos (Sevanian et al., 1981).

El malondialdehído, que es otro producto final de la peroxidación de ácidos grasos con tres o más dobles enlaces, puede causar entrecruzamientos y polimerización de distintos componentes de la membrana (Nielsen, 1981; Valenzuela, 1991).



Ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos también pueden ser atacados por los radicales libres. Realmente la citotoxicidad de estas especies químicas, en gran parte, es una consecuencia de las aberraciones cromosómicas producidas por las modificaciones químicas que sufren las bases y los azúcares del DNA al reaccionar con los radicales libres, especialmente con el OH. (Harman, 1992; Randerath et al., 1992; Higuchi y Linn, 1995). Las modificaciones químicas de los nucleótidos provocan, en muchos casos, la ruptura de hebras del DNA. Si el daño que se origina es tan grande que no puede ser reparado, se produce una mutación, o bien la célula muere (Cerutti, 1985; Davies et al., 1990; Demple, 1990).

Carbohidratos

Los carbohidratos son dañados por los radicales libres en menor proporción que otras moléculas. Azúcares tales como la glucosa, el manitol o ciertos desoxiazúcares pueden reaccionar con el radical OH, para producir sustancias reactivas (Blake et al., 1987). Asimismo, los polisacáridos pueden sufrir el ataque de los radicales libres, en este caso fragmentándose a unidades más sencillas. Greenwald y Moy (1980) han demostrado que el ácido hialurónico se despolimeriza en presencia de concentraciones elevadas de radicales hidroxilo, provocando un descenso de la viscosidad del líquido sinovial de las articulaciones. A pesar de que los radicales libres son especies extremadamente reactivas, las células disponen de sistemas de protección frente a ellos. De hecho los radicales libres se están produciendo continuamente en el organismo (Freeman y Grapo, 1982), el problema sólo surge cuando hay una sobreproducción o cuando los sistemas antioxidantes, que comentaremos con posterioridad, están debilitados.



ANTECEDENTES

El género *Buddleja* es conocido mundialmente por sus características medicinales, en particular la especie de *Buddleja cordata* conocida como tepozán, tepoza, tepozán blanco (Rzedowski Rzedowski, 1988; Martínez, 1991). Es conocida y usada en varios estados del centro del país, en especial la hoja, para dar baños a las mujeres que acaban de dar a luz y así evitar el resfrío. Además, con el cocimiento de las hojas se hacen lavados o se aplican cataplasmas en lesiones de la piel como heridas, llagas, úlceras o para madurar abscesos y granos, Cuando hay fiebres se colocan como plantillas en los pies las hojas con carbonato, se machacan, revuelven con manteca y se ponen sobre el estómago hasta que la temperatura baje a lo normal. En infecciones renales se les emplea como diurético, en este caso se bebe el cocimiento de la corteza (Arteaga, *et al.*, 1994).

Con respecto a investigaciones que se llevaron acabo con el género *B. cordata* se mencionan las siguientes:

Ordaz. (1996), evaluó in vitro la actividad amebicida, realizando bioensayos con los extractos tanto acuoso como metanólico y algunos compuestos puros (linarina y ácido vainillínico acetilado) de la corteza de raíz de *B. cordata* en cepas de *Acanthamoeba*, *Hartmanmella*, y *Vahlkampfia*, donde observó que los extractos no fueron significativos sobre las cepas probadas, en cambio los compuestos mostraron un efecto amebostático como es el caso de la linarina y amebicida con respecto a el ácido vainillínico acetilado.

Ortiz. (1996), demostró la actividad antibacteriana del extracto metanólico de la corteza de raíz de *B. cordata* en cepas bacterianas de *Shigella boydii* y *Vibrio cholerae*.

Martínez et al., (1996) y Arciniegas et al., (1997), demostraron las propiedades analgésicas, anti-inflamatorias y antiperícticas del extracto acuoso



Buddleja cordata

obtenido de la hoja de *B. cordata*; y los estudios químicos que realizaron permitieron el aislamiento de la flavona glicosídica, linarina.

Martínez. (1999), realizó el estudio químico del extracto metanólico de la corteza de *B. cordata* logrando aislar y caracterizar un compuesto del tipo C₆-C₁ el cual caracterizó como el éster metílico del ácido 4,6-dihidroxi-2, 5-dimetil benzoico, un esteroide caracterizado como β -sitosterol y diez compuestos de tipo fenil etanoide.

Ávila et al., (1999), evaluaron el modo de acción del verbascósido obtenido del extracto metanólico de la hoja de *B. cordata* en cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, obteniendo que esta molécula inhibe la incorporación de leucina, concluyendo que la vía metabólica que daña es la síntesis de proteínas.

En relación a estudios químicos realizados a la fecha sobre *B. cordata* y especies relacionadas, han permitido el aislamiento y caracterización de los metabolitos secundarios que se presentan en el cuadro 10.



Cuadro 10 Estudios químicos realizados a la fecha sobre *Buddleja cordata* y especies relacionadas.

| ESPECIE | COMPUESTO | REFERENCIA |
|--|--|---|
| FLAVONOIDES | | |
| <i>B. cordata</i> <i>B. officinalis</i> <i>B. asiatica</i> <i>B. curviflora</i> <i>B. davidii</i> <i>B. americana</i> <i>B. verticillata</i> <i>B. globosa</i> <i>B. perfoliata</i> <i>B. scordioides</i> | Linarina | Houghton, 1984 Martínez <i>et al.</i> , 1996 Arciniegas <i>et al.</i> , 1997 Avila, 2003 |
| <i>B. davidii</i> | Acacetina | Houghton, 1984 |
| <i>B. coriacea</i> | budlenoide A R= H budlenoide B R= OMe | Kubo <i>et al.</i> , 1992 |
| <i>B. parviflora</i> <i>B. cordata</i> | Eriodictiol glucohesperetina piracontosido | Arciniegas <i>et al.</i> , 1997 |
| <i>B. globosa</i> <i>B. asiatica</i> | Quercetina | Houghton, 1984 |
| <i>B. globosa</i> | Luteolina 6-hidroxiluteolina 7-O-glucosido de la apigenina 7-O-rutinósido de la quercetina escutelearina | Houghton, 1984 |
| <i>B. macristachya</i> | Pectolinarigenina salvigenina | Houghton, 1984 |
| DITERPENOIDES | | |
| <i>B. albiflora</i> <i>B. globosa</i> | Budlejona | Houghton <i>et al.</i> , 1996 |
| SEQUI TERPENOIDES | | |
| <i>B. albiflora</i> <i>B. globosa</i> | isocapnel-9-en-8-ona | Romo de Vivar <i>et al.</i> , 1995 |
| <i>B. cordata</i> | 6- α -hidroxi-isocapnel-9-en-8-ona | Romo de Vivar <i>et al.</i> , 1995 |
| SEQUI TERPENOIDES | | |
| <i>B. davidii</i> <i>B. curviflora</i> | budledina A budledina B budledina C | Yoshida <i>et al.</i> , 1976 y 1978 Houghton, 1984 |
| <i>B. davidii</i> | budledina D budledina E | Yoshida <i>et al.</i> , 1976 y 1978 Houghton, 1984 |
| ESTEROLES | | |
| <i>B. cordata</i> <i>B. asiatica</i> <i>B. madagascarensis</i> | Estigmasterol | Houghton, 1984 Romo de Vivar <i>et al.</i> , 1995 |
| <i>B. cordata</i> <i>B. asiatica</i> <i>B. madagascarensis</i> | β -sitosterol | Houghton, 1984 Romo de Vivar <i>et al.</i> , 1995 |
| TRITERPENOIDES | | |
| <i>B. officinalis</i> <i>B. madagascarensis</i> | mimengosido A | Ding <i>et al.</i> , 1992 |
| <i>B. officinalis</i> <i>B. madagascarensis</i> | mimengosido B | Ding <i>et al.</i> , 1992 |



Buddleja cordata

Cuadro 10 continuación de estudios químicos realizados a la fecha sobre *Buddleja cordata* y especies relacionadas.

| ESPECIE | COMPUESTO | REFERENCIA |
|---|---|---|
| <i>B. japonica</i> | budlejasaponina 1 budlejasaponina 2 budlejasaponina 3 budlejasaponina 4 saicosaponina | Yamamoto <i>et al.</i> , 1991 |
| <i>B. japonica</i> | saicogenina A | Yamamoto <i>et al.</i> , 1991 |
| <i>B. davidii</i> | aldehido coniferilico | Houghton, 1985 |
| <i>B. davidii</i> | ácido cafeico ácido ferúlico | Houghton, 1985 |
| IRIDOIDES | | |
| <i>B. cordata</i> <i>B. sessiliflora</i> <i>B. asiatica</i> <i>B. parviflora</i> <i>B. davidii</i> <i>B. globosa</i> <i>B. alternifolia</i> <i>B. auriculata</i> <i>B. B. braasiliensis</i> <i>B. curviflora</i> | Aucubina | Houghton, 1984 |
| <i>B. parviflora</i> | vanilil ajugol | Arciniegas., <i>et al.</i> , 1997 |
| <i>B. cordata</i> <i>B. davidii</i> <i>B. globosa</i> | Catalpol metil catalpol | Arciniegas., <i>et al.</i> , 1997 |
| NEOLIGNANOS Y LIGNANOS | | |
| <i>B. davidii</i> | budlenon A budlenon B | Houghton, 1985 |
| <i>B. davidii</i> | siringarresinol | Houghton, 1985 |
| <i>B. davidii</i> | budlenol C budlenol D budlenol E budlenol F | Houghton, 1985 |
| <i>B. davidii</i> | balanofonina | Houghton, 1985 |
| FENILETANOIDES | | |
| <i>B. davidii</i> <i>B. perfoliata</i> <i>B. scordioides</i> | sitanosido verbascosido | Houghton, 1985 Arciniegas, <i>et al.</i> , 1997 Avila, 2003 |
| FENILETENOIDES | | |
| <i>B. davidii</i> | plantainósido A plantainósido B acteósido epiacteósido leucosceptósido martinósido isomartinósido jionósido D angorósido C leucosceptósido B | Yamamoto, <i>et al.</i> , 1993 |



Buddleja cordata

JUSTIFICACIÓN

El incremento de los clorofluorcarbonados entre otros contaminantes en la atmósfera contribuye al efecto de invernadero y a la destrucción de la capa de O₃, por lo tanto algunas alteraciones como la tasa de precipitación pueden ocurrir en un ambiente con alta incidencia de radiación UV, las cuales pueden ser perjudiciales para los distintos componentes de la piel humana.

La utilización de filtros solares físicos y químicos en los fotoprotectores ha sido una combinación utilizada hasta el momento para combatir los efectos negativos de los rayos solares y con productos en su mayoría sintéticos, aunque en épocas más recientes los filtros biológicos han demostrado su eficiencia contra las radiaciones UV, por ser altamente biodegradables entre otros atributos.

Por esto es necesario ampliar sus estudios tanto ecológicos como fotoquímicos para encontrar nuevos productos que pudieran ser aprovechados por el hombre, y al mismo tiempo conservar un ambiente sano.

Por lo anterior, una especie como *Buddleja cordata* que es predominante en diversos climas podría ser un buen candidato para obtener a partir de sus hojas un filtro solar con propiedades antioxidantes, las cuales nos permiten una protección contra los efectos perjudiciales del sol a través de un filtro solar así mismo hacemos una propuesta ecológica para la industria cosmética.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el extracto metanólico de la hoja de tepozán (*Buddleja cordata*) como un probable fotoprotector *in vivo*, *determinando su factor de protección solar (FPS)*.



Buddleja cordata

OBJETIVOS PARTICULARES

Colectar e identificar la planta con la que se trabajó.

Realizar la propagación por el método de estacado para *B. cordata*.

Obtener el extracto de la hoja de *B. cordata* para su uso como fotoprotector.

Elaborar una formulación cosmética e incluir el extracto de la hoja de *B. cordata*, para su evaluación *in vitro*.

METODOLOGÍA

La zona de colecta se realizó en la comunidad de San José, localizada en la cabecera municipal de Santa Ana, Jilotzingo, del municipio de Jilotzingo, Naucalpan, Estado de México, en donde se presenta una altitud de 2730 msnm.

Se colectó el material biológico en los primeros días del mes de mayo, tomando las partes aéreas (hojas) maduras de árboles que se encontraron en buen estado, valorando a simple vista, enfermedades o plagas; de la colecta realizada se tomó un ejemplar que se encontró en las mejores condiciones, el cual fue prensado y transportado al herbario de la FES- Iztacala; éste tenía que presentar inflorescencia, hojas en buen estado, así como una ficha de colecta, para su identificación.

Propagación de *Buddleja cordata*

En el sitio de colecta se cortaron las varas requeridas, las cuales se dimensionaron inmediatamente a los tamaños adecuados para realizar la



Buddleja cordata

propagación, generalmente 20 cm de largo, se emplearon estacas duras y semiduras; a las estacas se les eliminaron las hojas en el momento.

Las estacas obtenidas y preparadas, se empacaron dentro de bolsas de plástico, que estaban envueltas con anterioridad en papel periódico previamente humedecido, para transportarlas al invernadero de la FES-Iztacala, cuando se requirió almacenarlas, se les guardó en refrigeración a temperatura de 5°C, en todo caso se cuidó de no perder la orientación de la parte superior de las estacas.

La propagación con enraizador comercial en polvo (Ácido Indol-3-Butírico) se realizó de la siguiente manera: las estacas se dividieron en dos grupos, un experimental y un testigo. Las estacas que fungieron como experimental se sumergieron de forma individual en una pequeña cama del polvo enraizador hasta 1.0 cm de profundidad, después se sacudieron ligeramente para eliminar el exceso, a diferencia de las testigo, a las cuales no se les aplicó enraizador fueron plantadas sin ninguna aplicación del mismo, plantándose en bolsas forestales que previamente fueron llenadas con una mezcla de tierras (tierra negra, arena de río y tierra de hoja) con una proporción de 2:1:1, las estacas se plantaron de manera inclinada para evitar una deshidratación excesiva, posteriormente se les aplicó azufre en las partes dimensionadas que quedaron expuestas para evitar infecciones, tanto a las experimentales como a las testigo, como primer paso para su climatización en el invernadero, para realizar una comparación de crecimiento entre los dos grupos.

Las estacas tuvieron un cronograma de riego de dos veces por semana, esto dependiendo del grado de deshidratación que llegaron a tener, este procedimiento se repitió durante ocho semanas, después de cumplido el lapso, se transportaron al vivero, cambiando las condiciones de riego, en este caso fueron una vez por semana durante tres meses, en los cuales se observó la tasa de crecimiento y sobrevivencia, al mismo tiempo que se obtuvieron las primeras hojas.



Las hojas que se colectaron fueron introducidas en bolsas de papel estraza, mismas que se transportaron a los laboratorios de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la FES-Iztacala, se dejaron secar al aire libre, expuestas en su totalidad al ambiente, el mayor tiempo posible para su desecación y posteriormente realizar la extracción.

Trabajo en laboratorio

Las hojas se trituraron para ser pesadas en una báscula granataria y obtener el peso seco total de la colecta.

Del peso total de la misma se tomaron 500 g para la extracción en metanol mediante reflujo durante 3 horas en 2.5 L, la solución obtenida se concentró a presión reducida en un rotavapor hasta sequedad. Los sólidos fueron pesados en una báscula semianalítica para determinar rendimiento; y a continuación se determinó su absorbancia en un espectrofotómetro lambda 25 UV/VIS, con un barrido de 200 a 400 nm (26 µg de sólidos/ml).

Formulación del cosmético con extracto de *Buddleja cordata*

Para la creación del cosmético con protección solar, se realizaron varios pasos para el desarrollo de la fórmula.

En este caso, se realizó un gel el cual fue utilizado en el ensayo basado en la siguiente fórmula:

| | |
|----------------------------|---------------|
| Polímero | 0.1 % |
| Metil parabeno | 0.2 g |
| Trietanolamina | 1.0 g |
| Extracto de tepozán | 0.5 g |
| Agua desionizada | 97.3 g |



Buddleja cordata

Fase I

1.-En un vaso de precipitado de 200 ml se agregaron 0.2 g de metil parabeno por 60 ml de agua desionizada, que fueron fusionados por medio de una parrilla de agitación continua y una barra magnética, en el tiempo estimado para poder elevar la temperatura hasta 70° C.

2.- Se agregaron 37.3 g de agua desionizada en un segundo vaso de precipitado de 200 ml para disolver 1 g de polímero (carbopol 940) por medio de una parrilla de agitación continua y una barra magnética.

3.- Ya diluido el polímero, se añadió al vaso de precipitado que contenía 0.2 g de metil parabeno elevando nuevamente la temperatura hasta 70°C. Para poderlos mezclar.

4.- Se empezó el ciclo de enfriamiento lento, el cual se pone en agitación moderada.

5.- Cuando la temperatura llegó a 50°C aproximadamente se añadió 1 g de trietanolamina y se dejó en agitación durante 1 minuto.

6.- Se continuó con el enfriamiento y aproximadamente a 35° se agregó lo que es el extracto de la hoja de tepozán previamente diluido en glicerina, junto con el agua desionizada agitando por un minuto.

7.- El producto se dejó enfriar, para introducirse en un envase de vidrio de 100 ml.



Fotoprotección en bacterias

Se realizó un cultivo con 18 horas de incubación de la bacteria *Escherichia coli* (ATCC 25922) con una concentración de 1×10^8 bacterias/ml, que se diluyó 1:10 en medio agar. Cuando el crecimiento poblacional alcanzó una densidad óptica (a 550nm) de 0.3 se centrifugó (6000rpm, 10'). Posteriormente las bacterias se resuspendieron en 10 ml de Ringer PBS (Ph= 7.0) y se colocaron en cubetas de cuarzo estériles Pye Unicam (B538751 A de 1 mm de espesor). Los filtros solares se disolvieron en metanol al 90%, se depositaron en cubetas de cuarzo y posteriormente se colocaron junto a los tubos que contenían la bacteria. Finalmente se irradiaron ($1 \text{ Joule m}^{-2} / \text{seg.}$) con una lámpara de luz UV-B (312 NM Spectroline Eb- 280 C) a una distancia de 15 cm. (intensidad de campo de 130 Watt/m^2) y a diferentes tiempos. El control positivo fue etil-hexil metoxicinamato (escalol, ISP VAN DIK) junto con el control negativo etanol al 90%, bibliográficamente ya establecidos, Se realizó el conteo del número de sobrevivientes de acuerdo al método de Eisenstadt (1994).

Fotoprotección en animales

Los ensayos se realizaron utilizando cuyos albinos adultos con un peso promedio de 600 g del mismo sexo, en este caso hembras. Se asignaron 5 individuos por cada ensayo, para que los resultados sean estadísticamente significativos.

Los animales se prepararon 16 horas antes del experimento, se les cortó el pelo al ras de la piel en su parte dorsal utilizando una rasuradora eléctrica. Después del rasurado para que la parte dorsal quedara completamente descubierta se depiló con crema Valvinette (Wella Laboratorios), finalmente se lavó y secó la zona tratada.



A los organismos se les asignaron cuadrantes para la exposición a la irradiación a razón de 2 cm² por sustancia a evaluar de acuerdo al método estadístico de doble asignación. Las sustancias problema (extracto de la hoja de tepozán y cosmético con extracto), se colocaron en cada cuadrante hasta alcanzar una concentración de 2 mg/cm², el control positivo (escalol), y el control negativo (etanol al 90%) fueron bibliográficamente ya establecidos. Los suyos se colocaron en sujetadores de plástico, en donde se les cubrieron los ojos, y colocaron las camisas que tuvieron 6 ventanas, que representan los cuadrantes, tres por cada lado, sucesivamente y se irradiaron con lámpara de luz UV-B (312nm, spectroline Eb-280 C) a una distancia de 15 cm (intensidad de campo de 130 Watts/m²) durante 20 minutos por cuadrante, respectivamente se iban cerrando.

Después de la irradiación, se observó y evaluó la piel; el siguiente paso fue el sacrificio de los suyos para tomar biopsias de aproximadamente 2 mm² que se preservaron en formol al 10%, se procesaron de acuerdo a la técnica histológica estándar de eosina y hematoxilina realizando posteriormente la interpretación morfomicroscópica del tejido, por medio de un microscopio electrónico bajo el apoyo del doctor Benítez Flores un especialista en el área de histología, debido a la complejidad del presente trabajo.

RESULTADOS

El ejemplar que fue trasladado al herbario de la FES-I, para ser identificado se montó y se cotejó, de acuerdo a las características e instrucciones del especialista en el área, obteniendo el número de registro 41636 perteneciente a la especie de *Buddleja cordata* HBK correspondiente a la familia de las *Loganiaceae*, llamada en la zona de colecta como tepozán.

Conforme a la colecta se obtuvieron 120 estacas en su totalidad, de las cuales 60 fueron propagadas con enraizador (Ácido Indol-3-Butírico) obteniendo los siguientes porcentajes: el 40% dio un enraizamiento viable del total del grupo



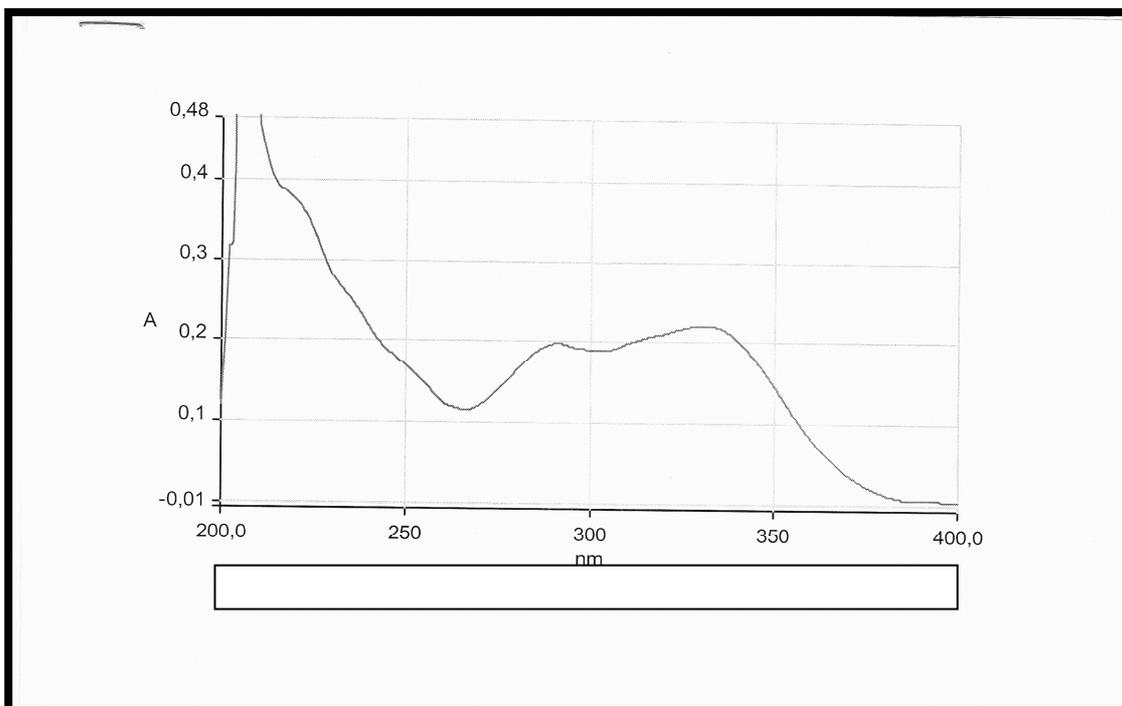
Buddleja cordata

experimental, en comparación, el grupo testigo tuvo una tasa de incidencia no mayor al 8%.

Comparando la fronda de las estacas del grupo experimental se obtuvo una talla mayor, con referencia a las estacas del grupo testigo, en general, las estacas que obtuvieron la mayor talla se trasladaron del invernadero de la FES Iztacala a una zona de aclimatación donde fueron trasplantadas para su futura utilización en la reforestación de sitios rocosos y erosionados.

Respecto al trabajo en laboratorio, el peso seco obtenido de la colecta fue un total de 1.45 kg de hoja, del cual se obtuvieron 31.48 g de concentrado metanólico.

Referente al estudio espectrofotométrico de UV presenta una absorvancia de 311 nm como se muestra en la gráfica 1.



GRÁFICA 1 *Buddleja cordata* Espectrofotómetro Lambda 25 UV/VIS

La actividad fotoprotectora en la prueba *in vitro* del extracto metanólico de *Buddleja cordata* y la formulación cosmética mostraron los siguientes resultados:



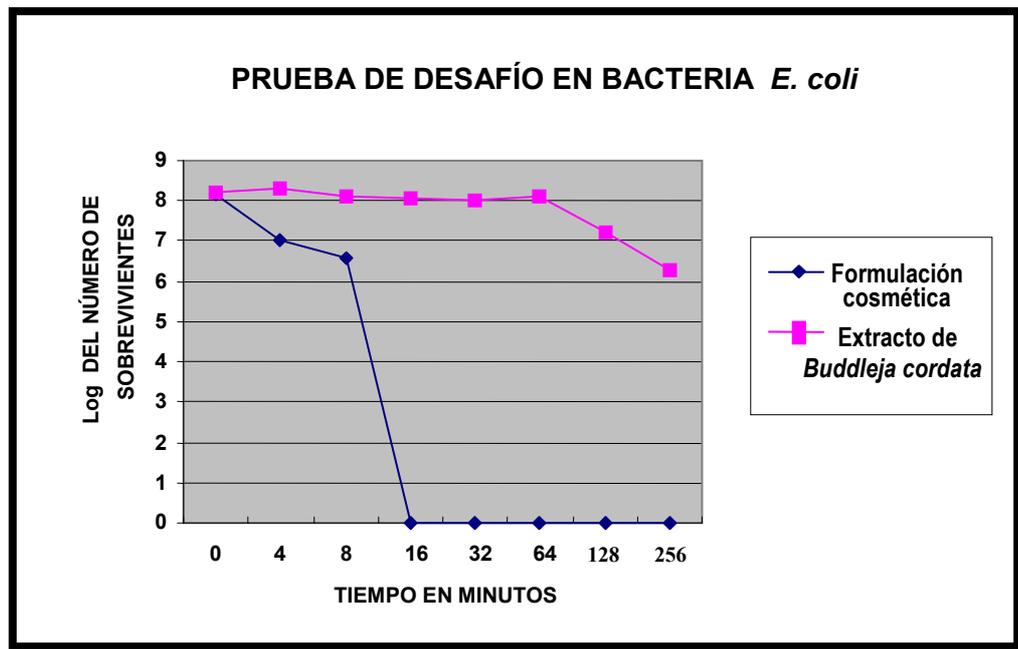
Buddleja cordata

José Luis Carrillo Hernández

Para demostrar la fotoprotección, se aplicó en un sistema biológico, en este caso fueron poblaciones de un número similar de individuos de bacteria *Escherichia coli*, se obtuvieron resultados al observar la muerte celular provocada por la exposición a lámparas de luz ultravioleta. Se realizó el conteo del número de sobrevivientes de acuerdo al método de Eisenstadt, 1994.

En la gráfica 2 se muestra la población de bacterias protegidas con la formulación cosmética, que murieron con una dosis de 16 segundos de irradiación; en cambio, las bacterias protegidas con el extracto de *Buddleja cordata* mostraron una protección hasta 256 segundos, retardando la muerte bacteriana 16 veces más tiempo de exposición, con respecto a la formulación cosmética, por lo tanto se puede considerar que el compuesto activo sí protege a las bacterias de la radiación continua.

Gráfica 2. Evaluación fotoprotectora del extracto de *Buddleja cordata* y la formulación cosmética.



Para determinar la fotoprotección en animales se procedió de la siguiente manera:



Buddleja cordata

Observación macroscópica

Las partes de la piel de los cuyos no expuesta a radiación UV presentaban una piel fina, lisa y sin ninguna inflamación, como se observa en la Fig. 10



Figura 10. Aspecto macroscópico de la piel de cuyo no expuesta a radiación UV.

Los animales expuestos a radiación UV protegidos con el extracto de *Buddleja cordata* presentaban eritema en la piel del lomo tras la exposición que desapareció con rapidez en los cuadrantes que fueron expuestos de 40 a 80 min (2 y 4 DEM respectivamente), los cuadrantes que fueron expuestos a 160 y 320 min (8 y 16 DEM), la desaparición del eritema fue con mayor lentitud, con lo que respecta los 640 min (32 DEM), no se llegó al término de la misma por notarse una inflamación severa en la piel como se muestra en la Fig. 11



Figura 11. Cuyos expuestos a radiación UV (2,4,8,16 y 32, DEM), respectivamente.



Los cuadrantes que fueron expuestos a radiación UV protegidos con la formulación cosmética presentaron un eritema más agudo con respecto a los protegidos con el extracto de *Buddleja cordata* el cual tardó más tiempo en desaparecer desde los 40 minutos. (2 DEM) (Fig.12).

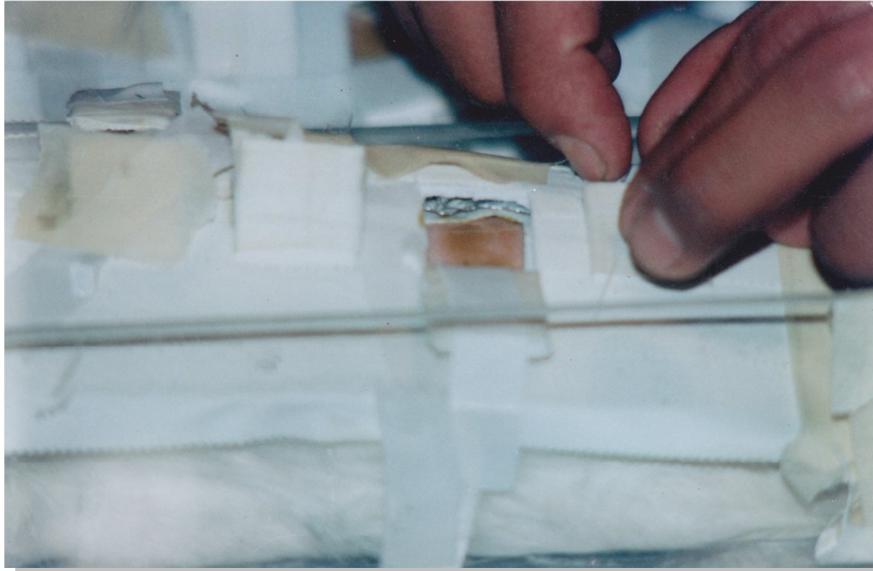


Figura 12. Cuyos expuestos a radiación UV, protegidos con la formulación cosmética.

Estudio microscópico.

En los cuadrantes que fueron expuestos a radiación UV protegidos con extracto de *Buddleja cordata*, a un tiempo de 40 minutos se observó una dermis y epidermis estables en general, cambios ortoqueratósicos en patrón de queratinización en folículo piloso, como engrosamiento epitelial moderado, no mostrando eritema (Figura 13).



Buddleja cordata

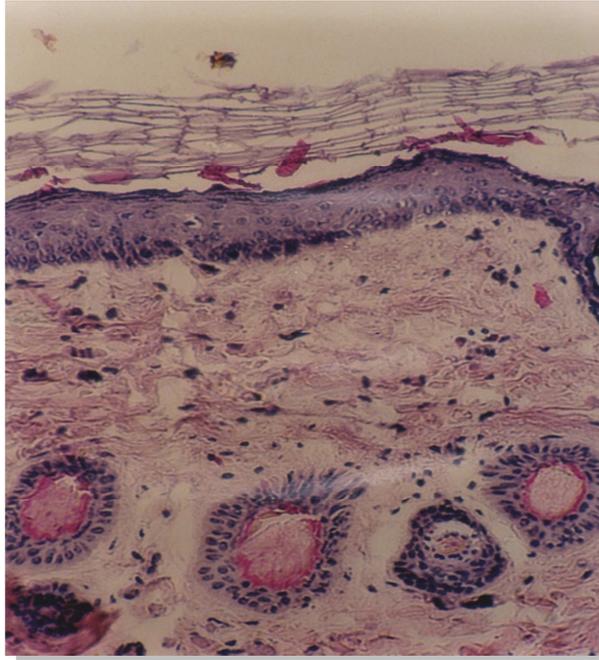


Figura 13. Cuadrante expuesto a luz UV protegido con extracto de *Buddleja cordata* a 4 DEM.

De los cuadrantes expuestos a luz UV y protegidos con el extracto de *Buddleja cordata* a un tiempo de 320 minutos se encontró con una dermatitis inflamatoria aguda, mayor engrosamiento y desorganización del epitelio, atrofia de células folículo piloso, así como infiltrado inflamatorio agudo en dermis (Fig.14).

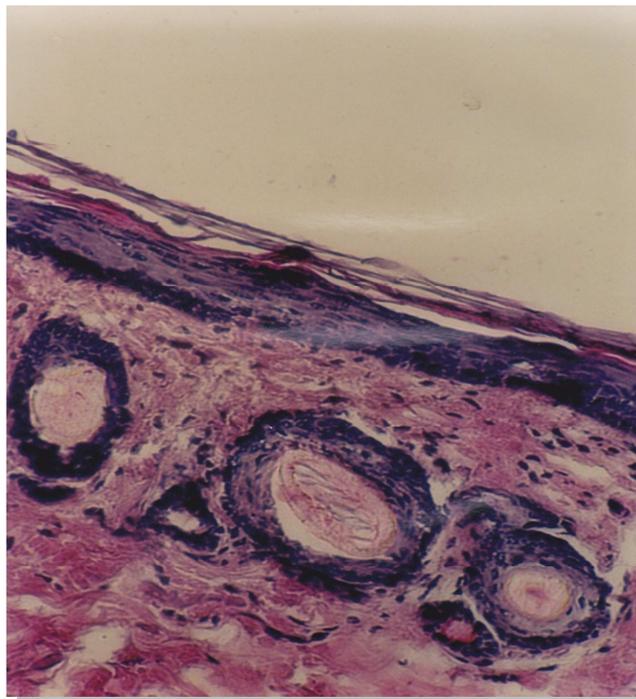


Figura 14. Cuadrante expuesto a luz UV protegido con extracto de *Buddleja cordata* a 16 DEM.



Buddleja cordata

José Luis Carrillo Hernández

Con respecto a los cuadrantes que fueron expuestos a radiación UV, protegidos con la formulación cosmética a un tiempo de 40 minutos se pudo observar degeneración y necrosis de estrato espinoso y germinativo focales, dermatitis de leve a severa, queratinización de folículo piloso anormal (Fig. 15).

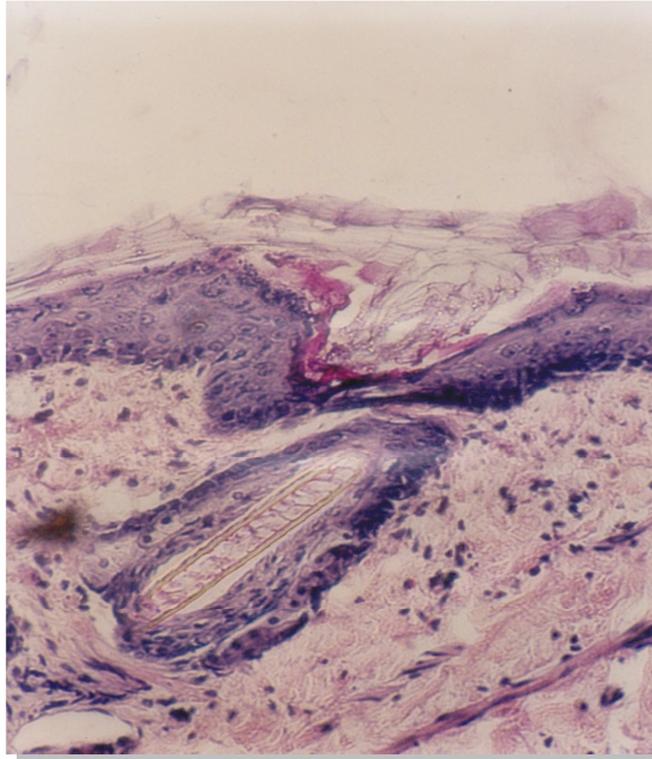


Figura 15. Cuadrante expuesto a luz UV protegido con formulación cosmética a 40 minutos.

Los cuadrantes expuestos a radiación UV, protegidos con la formulación cosmética a un tiempo de 160 minutos presentaron los siguientes cambios; en la mayoría de los estratos se observa necrosis (muerte celular) coriorexis (núcleos fragmentados de células muertas), atrofia de epidermis (proceso inflamatorio con un índice elevado de infiltrados de neutrófilos, macrófagos, y vasófilos), aumento de pigmentación por alto número de melanocitos, en algunas zonas desaparece el estrato germinativo, folículo piloso pierde epitelio, se observa una severa radiación mostrando muerte de fibroblastos en dermis (Figura 16).



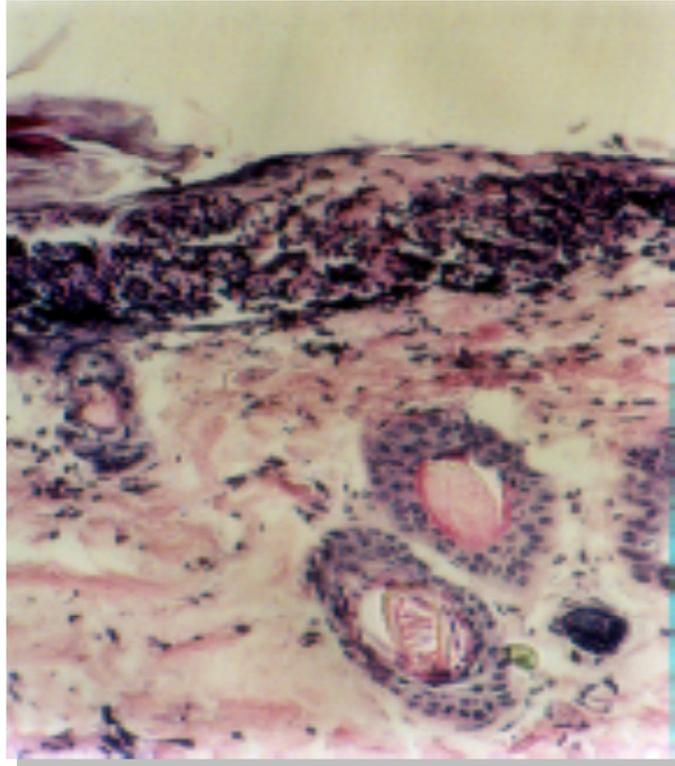


Figura 16. Cuadrante expuesto a luz UV protegido con formulación cosmética a 160 minutos.

DISCUSIÓN

Podemos mencionar en primer término, las diferencias notables que demostraron los resultados de la propagación de la misma especie, la función descubierta por las auxinas que estimulan la división celular, constituyendo la primera aplicación práctica de los reguladores de crecimiento, en este caso las auxinas, tienen propiedades semejantes a las hormonas, son más favorables para la iniciación de raíces adventicias, por ello tienen un mayor efecto sobre la formación de raíz en las estacas; por lo cual el ácido indol-3-butírico tiene una considerable acción de auxina fomentando la formación de raíces adventicias, (Weaver, 1980), también podemos mencionar que la propagación de plantas, ya sea por semilla o vegetativa puede afectarse por la presencia de organismos patógenos, como hongos, bacterias, insectos y ácaros.

Del concentrado metanólico, se obtuvieron 31.48 g de la hoja de *Buddleja cordata*, dando un rendimiento del 8.53% del compuesto.



Se observó que puede ser disuelto en glicerina como en propilen glicol a temperatura media, la coloración que mostró fue de un verde intenso, con un olor dulce.

La coloración que presentó no es muy favorable cuando se tiene que introducir en una base cosmética en este caso se realizó una formulación en gel, debido a que el color que presenta es muy intenso, y mostrando muy poca absorbancia para los fines requeridos.

Los sólidos obtenidos de la extracción con metanol, presentaron un pico máximo de absorción a 311 nm. En la región de UV-B (290-320 nm), también se muestra un pico en la región de UV-C (200-280 nm), pero sin absorber en UV-A, pudiendo presentar con estos resultados capacidad como filtro solar (Madhukar A., 1992).

Por lo que respecta a la evaluación fotoprotectora en bacterias de la formulación cosmética se observa que la protección oscilaba cerca de los 16 segundos decayendo posteriormente, ya que se observa muerte de la bacteria *Escherichia coli*, en el caso del extracto de *Buddleja cordata* fue mayor la protección que corresponde a 256 segundos mostrando el decaimiento de la población hasta extinguirse totalmente.

La primera determinación que se realizó fue la dosis en la que se irradiarían los animales de experimentación para el desafío y en donde presentaban eritema perceptible al cual se denominó dosis de eritema mínima (DEM), la cual fue determinada ya bibliográficamente a los 20 minutos de tiempo de exposición a la luz UV-B.

Se evaluó tanto la formulación cosmética como el extracto de *Buddleja cordata*, y tomando como referencia bibliográfica la del control positivo escalol (etil-exil parametoxicinamato), con lo que respecta a la prueba de desafío con extracto de *Buddleja cordata*, se puede determinar un FPS de 16, en lo que



corresponde a las pruebas de desafío con la formulación cosmética se determinó un FPS de 8.

Con los resultados obtenidos en las pruebas de desafío utilizando bacterias se estableció una comparación con los resultados de los cortes histológicos, realizando una extrapolación de los tiempos que se obtuvieron con bacterias que mostraron una muerte celular con el extracto de *Buddleja cordata* a 256 segundos, estos se dividen con los 16 DEM obtenidos como el FPS de los cortes histológicos de las pruebas *in vivo* para obtener el DEM en segundos en las pruebas de desafío *in vitro*, obteniendo como resultado que un DEM correspondería a 16 segundos, estableciendo que la formulación cosmética que se utilizó en bacterias solo llegó a alcanzar 1 DEM.

CONCLUSIONES

Finalmente podemos concluir los siguientes puntos:

1. La propagación por medio de auxinas fue viable con referencia a los grupos testigo, pero se recomienda que se utilicen otros enraizadores para eficientar su propagación. Así mismo probar diferentes tipos de propagación.
2. El rendimiento de los sólidos fitoquímicamente hablando fueron favorables, como muestra el 8.53% obtenido.
3. Se demostró la capacidad natural fotoprotectora del extracto de *Buddleja cordata*, logrando con esto el objetivo general de la tesis.
4. La formulación cosmética elaborada en esta investigación presentó una fotoprotección muy baja.



5. Los experimentos realizados fueron exitosos cumpliendo sus objetivos, tanto *in vivo* e *in vitro* del extracto obtenido de *Buddleja cordata* determinando un FPS de 16, expresando una similitud entre ambas.
6. Con base en lo anterior no se pueden hacer extrapolaciones, la recomendación es que se realice directamente con humanos, porque la piel es determinante para este análisis.
7. Se sugiere que los proyectos de investigación se perfilen más a estudios *in vitro*, retomando los datos de esta tesis y de otros trabajos, para evitar el sacrificio de animales de laboratorio.



BIBLIOGRAFÍA.

Aikens, J., Dix, TA., 1991, "Perhydroxyl radical (HOO.) initiated lipid peroxidation: the role of fatty acid hydroperoxides", J., Biol., Chem., 266:15091-15098.

Aguilar, A., Camacho, J. R., Chino, S., Jáquez, P., y López, M. E., 1994, "Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social, Información Etnobotánica", México D.F., IMSS, pp.253.

Aherne S. A. y O'Brien N. M., 2002 "Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism", Nutrition, 18:75-81.

Argueta, A. V., Cano, A. L., Rodarte, M., 1994, "Atlas de las plantas, medicina tradicional mexicana III", Instituto Nacional Indígena, México, p 1329-1330, 1331-1332.

Aruoma, O. I., Bahorun, T. & Jen L. S., 2003, "Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts". Mutat. Res.; 544 (23): 203-215.

Avila, J. G., Liverant. J., Martínez, A., Martínez, G., Muñoz, J. L., Arciniegas, A., Romo de Vivar, A., 1999 "Mode de action of *Buddleja cordata* verbascoside against *Staphylococcus aureus*" Journal of Ethnopharmacology, 66:75-78

Bankova V. S., Castro S. L., Marcucci M. C., 2000, "Propolis: recent advances in chemistry and plant origin", Apidologie 31: 3-15.

Benavente, G. O., Castillo, J., 2008, "Update on uses and properties of citrus flavonoids: new finding in anticancer, cardiovascular, and antiinflammatory activity", J Agric Food Chemical; 56(15):6185-205

Berrocal, I. S., Ruiz, P. L., 2001 "La radiación ultravioleta y la fisiología vegetal" Ciencia y Desarrollo, XXVII (158): 12-19.

Blake, DR., Rallen, RE., Lunec, J., 1987, "Free radicals in biological systems a review orientated to inflammatory processes", Br. Med. Bull. 45:371-385.



Buddleja cordata

Bors, W., Heller, W. M., Michel C. & Saran M., 1990, "Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies", *Methods Enzymol*, 186:343-355.

Bouzan, R. R., 2003, "Filtros solares y sus innovaciones y perspectiva económica", Tesis de Ingeniero Químico, Fac. de Química, UNAM, México.

Cadenas, E., 1989, "Biochemistry of oxygen toxicity"; *Ann. Rev. Biochem.* 51:79-110.

Cansino, R., 1998, "Efecto de la radiación solar sobre la piel", Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, México.

Carrillo A. J. L., 2001 "Cáncer no es sinónimo de muerte" *Ciencia y Desarrollo*, XX VII, (158): 78-81.

Cerutti, P.A., 1985, "Prooxidant states and tumor promotion", *Science*, 227:375-381.

Cordero, A. A., 1996, "Biología de la piel", Ed. Médica Pamericana, Buenos Aires, Argentina.

Cross, E., Hallwell, B., Borish, E., Pryor, W., Ames, B., Saul, R., Mc Cord, J., and Harman, D., "Los radicales de oxígeno en las patologías humanas", Conferencia Davis. Davis and Berkeley, EUA, 1-16.

Crozier, A., Jaganath, I. B., Clifford, M. N., 2009, "Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health", *Nat Prod Rep*; 26(8):1001-43.

Echavarría Z. B., Franco S. A., Martínez M. A., 2009, "Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano", *Vitae*, 16(1):6-10 Medellín.



Esquivel, R., A., E., 1989, "Contribución al conocimiento de la flora medicinal de Santa Catarina del Monte, municipio de Texcoco, Estado de México", Tesis de Licenciatura en Biología, Fac. de Ciencias, UNAM, México.

Formica, J. V. y Regelson, W., 1995, "Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids", *Food Chem Toxicol*, 33:1061-1080.

Freinkel, K. R., 2001, "the biology of the skin", New York, Pathenon Fitzpatrick. T. B., 1997, "Dermatología en medicina general " 3^{er} edición, Ed Médica Panamericana, Madrid España, p 1169.

Freeman, BA., Grapo, JD., 1982, "Biology of disease. Free radicals and tissue injury". *Lab Invest*, 47:412-426.

Fridovich, I., 1983,"Superoxide radical: an endogenous toxicant", *Ann Rev. Pharmacol & Toxicol*; 23:239-57.

Gabriel, S. P., 2000, "Validación de efectos antiinflamatorios de flavonoides presentes en la hoja de aguacate (*Persea americana mill*) utilizado en el poblado de Santo Domingo Xagacia, Oaxaca", Tesis de Licenciatura en Biología, FES- Iztacala, UNAM, México.

García, B. A. M., 1998, "Evaluación de un filtro solar de *Yucca filifera*", Licenciatura en Biología, FES-Iztacala, UNAM, México.

Gerald, J. S., Ian, J. M., John, F. C., y Brian, L. D., 2002, "The effect of UV absorbing sunscreens of the reflectance and the consequent protection of skin", *Photochemistry and Photobiology*, 75(2): 122-125.

García, M., Quinterio, R., López, A., 2000, "Biotecnología alimentaria", México: Limusa.

Greenwald, RW., Moy, WW., 1980, "Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid", *Arthritis Rheum*, 23:455-463.



Buddleja cordata

Halliwell, B., Gutteridge, JMC., 1992, "Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation", FEBS Lett, 307:108-12.

Ham, D., 1988, "Histología de Ham" Editorial Mexicana, México, D.F. p 892.

Harman, D., 1992, "Role of the free radicals in aging and disease". Ann N Y Acad. Sci. USA, 673:126-141.

Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H., Putte Van, de B., 1996, "Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea, infusions, wines, and fruit juices", J Agric Food Chem, 41:1242-1246.

Hertog, M G., Feskens, E., J., Hollman, P. C., Katan, M B., Kromhout, D., 1993, "Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease", the Zutphen Elderly Study. Lancet. 342:1007-1011.

Hodgson, EK., Fridovich, I., 1975, "The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide: inactivation of the enzyme", Biochemistry; 14:5294-5303.

Houghton, P. J., 1984, "Ethnopharmacology of some *Buddleja* sp.", J. Ehtnopharmacol, 11:293-308.

Houghton, P. J., 1989, "Phenolic fatty acid esters from *Buddleja globosa stembaris*", Phytochem, 28 (10) : 2693-2695.

Hutchinson, J., 1973. "The families of flowering plants", 3th Ed., Oxford University Press, London England, 463.

Huntington, J. M., 2003, "UV light cancer and photo-aging: nutritional antioxidant protection" Dynamic Chiropractic, 21(8):28-30.



John, J., Prue, H., 1998, "Photoprotection: sunscreens and the immunomodulatory effects of UV irradiation" *Mutation Research* 422: 155-159.

Kumber, W. D., 1987, "Action of sunscreen compounds", *Perfumer Essential oil Rev.* 12:427.

Kono, Y. & Fridovich, I., 1982, "Superoxide radical inhibits catalase", *J. Biol. Chem.*, 257: 5751-5761.

Larson, R., 1988, "The antioxidant of higher plants", *Phytochemistry*, 27 (49):969-978.

Ley General de Salud, última reforma aplicada 04/06/2002, nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 7 de febrero de 1984.

Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 29 de diciembre de 1976.

López, J., Sierra, J., Vegazo, M. E. and Cortés, M., 1979, "Chemical constituents of *Buddleja globosa Lam.*", *Fitoterapia*, (50):195-198.

Lozoya, L. X., 1986, "Plantas medicinales y medicina en México: La existencia de un conflicto cultural subyacente" en: *La herbolaria en México. Cuadernos de extensión académica* 36, UNAM, México, D.F., p 46-57.

Madhukar, A., 1992 "sunscreens: principles of photoprotection". In: *Pharmacology of the skin. CRC Press series in pharmacology and toxicology.* 230-247.

Marin, G., Gimenez, M., Cortes, F., Pardo, F., Núñez, J. y Naranjo, J., 1997, "Estudio fitoquímico de *Buddleia globosa*, Lam. *Buddlejaceae*", *Rev., Latinoamericana, Quim.* 10: 19-22, Santiago, Chile.



Buddleja cordata

Martínez, M., 1996, "Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas Mexicanas", de: Fondo de Cultura Económica, México, D.F., p 1220.

Martínez, F. S., González, G. J., Culebras, J. M., Tuñón, Ma. J., 2002, "Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes Nutr. Hosp. XVII (6) 271-278, Madrid, España.

Martínez, M., 1967, "Las plantas Medicinales de México", sexta edición, Ed. Botas S.A de C.V. pp. 309-313.

Mendoza. H., 2003 "El tepozán", Ciencias, Facultad de Ciencias UNAM, 70: 32-33 México D.F.

Merck, S.A., 2000, Industrias Químicas: Bioflavonoides: Quercetina y Rutina. Informe a Profesionales.

Middleton, E., Kandaswami, C., 2000, "Theoharides TC: The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer", Pharmacol Rev; 52: 673-751.

Moreno, A. M. J., Isabel, G. C., Belén, C. D. R., García, P. D. y Medina, M. C. A., 2007, "Efecto de los extractos de flavonoides de harinas de cáscaras y semillas de pomelos sobre la estabilidad de aceite de soja", Grasas y Aceites, 58 (4) 351-358. Canoabo, Venezuela.

Mulero, A. M., 2004, "Efecto de la radiación ultravioleta (RUV) sobre los procesos de estrés oxidativo e inmunodepresión cutánea. Efecto protector de los filtros solares", Tesis doctoral, Facultad de Medicina Universidad "Rovira i Virgili", Reus

Nacada, S., and Konishi, H., 1987, "Sun protection effect of non organic materials", Fragrance Journal, 15: 226.



Newsholme, E. A. y Leech, A., R., 1987, "Bioquímica Médica", Ed. Interamericana S.A, de C.V., México D.F., p 127-129.

Nielsen, H., 1981, "Covalent binding of peroxidized phospholipid to protein III", Reaction of individual phospholipids with different proteins, 16:215-222

Norman, E. M. 1973, "The genus *Buddleja* in North America", Gentes Herbarium, 10: 47-114.

Ochoa, M. C. I. y Ayala, A. A. A., 2004, "Los Flavonoides: Apuntes Generales y su Aplicación en la Industria de Alimentos", 6 (2):96-97, Cali, Colombia.

Ordaz, P. C., 1996, "Evaluación in vitro de la actividad amebicida de compuestos obtenidos de *Buddleia cordata* sobre varias especies de *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, y *Vahlkampfia*", Tesis de licenciatura en Biología, FES- Iztacala, UNAM, México.

Ortiz, Z. D., 1996, "Actividad antibacteriana de la raíz de *Buddleia cordata*", Tesis de Licenciatura en Biología, ENEP-Iztacala, UNAM, México.

Pérez, T. G., 2003, "Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes", Rev. Cubana Invest. Biomed. 22(1).

Pérez, T. G. y Martínez, S. G., 2001 "Los Flavonoides como Antioxidantes Naturales", Acta Farm. Bonaerense 20 (4): 297-306, Abana Cuba.

Peres, W., 1994, "Radicais Livres em níveis biológicos", Ed. Universidade Católica de Pelotas, Brasil, p 49-81.

Pryor, WA., Church, DP., 1991, "Aldehydes, hydrogen peroxide, and organic radical as mediators of oxygen toxicity", Free Rad. Biol., Chem;11:41-46.



Pryor, WA., 1986, "Oxy-radicals and related species: Their formation, life-times, and reactions", *Ann. Rev. Physiol.*, 48:657-67.

Reyes, M. A., 1990, "Convalidación de la información etnobotánica de algunas plantas usadas popularmente en México para la disenteria, sobre cultivos axénicos de *Entamoeba histolytica* CEPA-H-1-IMSS", Tesis, de Licenciatura en Biología, ENEP-Iztacala, UNAM, México.

Rice-Evans, C, Burdon, R., 1993, "Free radical lipid interactions and their pathological consequences", *Prog. Lipid. Res.*, 37:37-110.

Robledo D, Freile-Pelegrin Y, Chan-Bacab Mj, & Ortega BO., 2008 "Antileishmanial properties of tropical marine algae extracts". *Fitoterapia*. 79(5): 374 - 377.

Rzedowski, J. y Rzedowski, G., 1985, "Flora Fanerogámica del Valle de México", II: Dicotyledoneae, Ed. E.N.C.B. México, D.F., p 212-213.

Rzedowski, J., 1988, "Vegetación de México", Ed. Limusa, México. pp. 432.

Sevanian, A., Stein, R., Mead, JF., 1981, "Metabolism of epoxidized phosphatidylcholine by phospholipase A2 and epoxide hydrolase", 16:781-788.

Singleton, V. L., 1981, "Flavonoids. In: Childester CO, Mrak EM, Stewart Gf (eds.)" *Advances in Food Research*. New York: Academic Press, 149-242.

Tenorio, L. F. A., Del Valle, M. L., Pastelín H. G., 2006 "Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica?" *Archivos de Cardiología de México*, 76 (4):S4, 33-45

Valle H, Ospina S, Galeano E, Martínez A, Márquez M, López J., 2008 Componentes de la fracción antimicótica del extracto etanólico de la macroalga *Digenia simplex*. *Vitae*. 15 (1): 141-149.



Valenzuela, A., 1991, "The biological significance of malondialdehyde determination in the assesment of tissue oxidative stress", 48:301-309.

Van Acquire, S.A., D.J. Van den Berg, M.N. Tromp, D.H. Griffioen, W.P. Van Bennekom, W.J., 1996, "van der Vijgh & A. Bast" *Free Radic. Biol. Med.* **20**: 331-42

Yoshida, T., Nobuhara, J., Fiji, N., and Okuda, T., 1978, "2-studies on the constituents of *Buddleja* sp. Li Buddleja C, D and E, new sesquiterpenes from *Buddleja daviddi franch*", *Chem. Pharmacol. Bull.* 26(8): 2543-2549.

Ysimoto de la Mora, N., " Evaluación de filtros solares en cosmética y desarrollo de una crema protectora solar a prueba de agua", Tesis Química Farmacéutica Biólogo, Facultad de Química UNAM.

Webster, NR. & Nuun, JP., 1988, "Molecular structure of free radicals and their importance in biological reactions", *Br. J. Anaesth*, 60:98-108.

Wilkinson, J. B. & Moore, R. J., 1996, "Cosmetología de Harry" Ed. Díaz de Santos, Madrid España, p 1039.

Wolff, Sp., Dean RT., 1986, "Fragmentation of protein by free radicals and its effect on their susceptibility to enzymic hydrolysis", *Biochem. J.* 2234:399-403.

