

COMPUESTOS FENÓLICOS y ACTIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIELASTASA, ANTICOLAGENASA y FOTOPROTECTORA *IN VITRO* DE *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara)

Víctor Hugo Doroteo¹, Cecilia Terry², Camilo Díaz³,
Abraham Vaisberg³, Rosario Rojas^{1,3}

RESUMEN

Con miras a explorar el potencial de la tara (*Caesalpinia spinosa*) y el camu camu (*Myrciaria dubia*) para el desarrollo de bloqueadores solares naturales y productos antiedad, en el presente trabajo se evaluó sus actividades antioxidante, antielastasa, anticolagenasa y fotoprotectora *in vitro*. El extracto hidroalcohólico de tara mostró una buena actividad antioxidante en diferentes ensayos *in vitro* (DPPH, TEAC, radical hidroxilo, radical superóxido); asimismo, inhibe la enzima colagenasa con mayor potencia que el control positivo epigallocatequina galato ($EC_{50} = 162,78$ y $321,41$ $\mu\text{g/ml}$, respectivamente). El extracto hidroalcohólico de camu camu, a pesar de su alto contenido de ácido ascórbico, no mostró una actividad antioxidante relevante; pero en cambio, en un cultivo de fibroblastos 3T3 se determinó que ejerce un buen efecto protector *in vitro* (43,6%) contra la radiación UV-B. Se recomienda estudiar la asociación de ambos extractos como base para el desarrollo de un producto antiedad o de un bloqueador solar con mecanismo de acción dual.

Palabras clave: antioxidante, camu camu, compuestos fenólicos, fotoprotección, tara, UV-B.

PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT, ANTIELASTASE, ANTICOLLAGENASE AND PHOTOPROTECTIVE *IN VITRO* ACTIVITIES OF *Myrciaria dubia* (camu camu) AND *Caesalpinia spinosa* (tara)

ABSTRACT

In order to explore the potential of tara (*Caesalpinia spinosa*) and camu camu (*Myrciaria dubia*) to develop natural sunscreen and anti-aging products, the present study evaluated their antioxidant, anti-elastase, anti-collagenase and photoprotective activities *in vitro*. The hydroalcoholic extract of tara showed good antioxidant activity in different *in vitro* assays (DPPH, TEAC, hydroxyl radical, superoxide radical), and it also inhibits collagenase enzyme better than the positive control epigallocatechin gallate ($EC_{50} = 162.78$ and 321.41 $\mu\text{g/ml}$, respectively). The hydroalcoholic extract of camu camu, despite its high content of ascorbic acid, did not show a significant antioxidant activity, but instead, in a culture of 3T3 fibroblasts it exerted a good protective effect *in vitro* (43.6%) against UV-B radiation. It is recommended to study the association of both extracts as a basis for developing an anti-aging product or a sunscreen with a dual mechanism of action.

¹ Unidad de Investigación en Productos Naturales.

² 3QP SAC.

³ Laboratorios de Investigación y Desarrollo, Facultad de Ciencias y Filosofía. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, Lima 31, Perú. rosario.rojas@upch.pe

Key words: antioxidant, camu camu, phenolic compounds, photoprotection, tara, UV-B.

INTRODUCCIÓN

Los efectos dañinos de la radiación solar sobre la piel son causados principalmente por la radiación ultravioleta, la cual se divide en la región UV-A (320-400 nm), UV-B (290-320 nm) y UV-C (200-290 nm). La radiación UV-C es filtrada por la atmósfera antes de llegar a la tierra, la radiación UV-B no es completamente filtrada por la capa de ozono y es causante principalmente del eritema en piel, la radiación UV-A llega hasta capas profundas de la dermis provocando el fotoenvejecimiento de la piel.¹

La exposición de la piel a la luz solar genera la liberación de citoquinas pro-inflamatorias e inmunosupresoras. Asimismo, produce especies reactivas de oxígeno, las cuales reaccionan con el ADN, proteínas, ácidos grasos, causando envejecimiento prematuro de la piel caracterizado por hiper/hipopigmentación de la piel, pérdida de elasticidad, arrugas y riesgo de cáncer a la piel.²

En los últimos años se ha despertado en la población un gran interés por usar productos naturales botánicos para prevenir el daño inducido por la radiación UV. En tal sentido, las plantas más promisorias para prevenir los daños causados por la radiación solar son aquellas que posean actividad antiinflamatoria, inmunomoduladora y antioxidante.³

El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antioxidante, antielastasa, anticlagenasa y fotoprotectora *in vitro* de dos extractos de plantas peruanas, tara y camu camu, con miras a explorar su potencial para el desarrollo de bloqueadores solares naturales y productos antiedad.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipos. Espectrofotómetro Shimadzu UV/Vis 1240, lector de microplacas multifunción (Microplate reader CHAMELEON V).

Reactivos. 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH), reactivo Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio, hidróxido de sodio, ácido gálico, ácido ascórbico, ácido metafosfórico, 2,6-dicloroindofenol, galato de epigallocatequina (EGCG), NaCl, CaCl₂, etanol, ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), persulfato de sodio, Trolox, hexacianoferrato de potasio, ácido tricloroacético, cloruro férrico, nitroazul de tetrazolio (NBT), NADH, metosulfato de fenazina (PMS), fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico, desoxirribosa, peróxido de hidrógeno, EDTA, ácido tiobarbitúrico, ácido tricloroacético, manitol, elastasa pancreática porcina, enzima colagenasa de *Clostridium histolyticum*, N-(2-hidroxi-1,1-bis(hidroximetil)-etil)-glicina (Tricine), N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilida (AAPVN), N-[3-(2-furil) acriloil]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) y bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Fueron adquiridos de SIGMA.

Muestras vegetales. Se colectó frutos maduros de *Myrciaria dubia* (camu camu) y vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara). Las muestras vegetales fueron colectadas e identificadas por el biólogo Camilo Díaz. Las respectivas muestras botánicas fueron depositadas en el HEPLAME (Herbario de Plantas Medicinales, Sección de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia).

Preparación de extractos. Las muestras vegetales secas y molidas fueron extraídas con una mezcla de etanol y agua destilada (7:3) por 4 días a temperatura ambiente. Luego de la filtración, se procedió a evaporar el solvente en un rotaevaporador a temperatura menor de 40 °C. Los extractos hidroalcohólicos obtenidos fueron almacenados en la refrigeradora a temperatura menor de 4 °C hasta su uso.

Determinación de compuestos fenólicos: Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu descrito por García *et al.*⁴ Se preparó una curva de calibración de ácido gálico cuyo rango de concentración fue de 1-5 mg/L. Los extractos hidroalcohólicos de las 2 muestras vegetales fueron evaluados a una concentración de 0,1 mg/mL. A 100 µL de la muestra se le añadió 250 µL de la solución de Folin-Ciocalteu (diluído 1 en 2 con agua milli-Q), se sonicó por 5 min, luego se le añadió 1250 µL de carbonato de sodio al 20% y 400 µL de agua ultra pura. Se agitó vigorosamente, se cubrió de la luz y se le llevó a reposo por 90 minutos a temperatura ambiente. Las absorbancias respectivas fueron medidas a 760 nm en un espectrofotómetro. Las muestras fueron analizadas por triplicado y el contenido de compuestos fenólicos totales fue expresado en mg de ácido gálico/g de extracto hidroalcohólico.

Contenido de ácido ascórbico. El contenido de ácido ascórbico fue determinado de acuerdo al método descrito por Lung *et al.*⁵ Se extrajo 20 mg del extracto hidroalcohólico con 2 mL de ácido metafosfórico al 1% por 45 minutos a temperatura ambiente; al cabo de ese tiempo se filtró. Se tomó 100 µL de la solución anterior y se le agregó 900 µL de una solución de 2,6-dicloroindofenol (cuya absorbancia estaba entre 0,30 y 0,35 para asegurar que la lectura de la muestra se encuentre dentro del rango de las de los estándares), luego de 1 minuto se midió la absorbancia a 515 nm. El contenido de ácido ascórbico se determinó a partir de la recta de regresión obtenida con el ácido ascórbico estándar en las concentraciones de 1, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 µg/mL. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Actividad antioxidante en el test de DPPH. Se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos mediante el método de Mensor *et al.*⁶ Se preparó diluciones en etanol acuoso de los extractos hidroalcohólicos hasta obtener concentraciones de 0,0 a 150,0 µg/mL. Se mezcló 1,0 mL de cada una de las diluciones con 0,5 mL de una solución 0,3 mM de DPPH en etanol y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos, al término de los cuales se procedió a medir la absorbancia de la mezcla a 517 nm. Todas las pruebas se realizaron por cuadruplicado. Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante de cada muestra de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad antioxidante (\%)} = \left(\frac{AC - AM - AB}{AC} \right) \times 100$$

donde:

AM es la absorbancia de la muestra + DPPH

AB es la absorbancia del blanco (muestra + etanol)

AC es la absorbancia del blanco del reactivo (DPPH + etanol).

La concentración del extracto hidroalcohólico que neutraliza al 50 por ciento de los radicales de DPPH (EC₅₀, concentración efectiva media) se obtiene de la recta obtenida al graficar el porcentaje de actividad antioxidante versus la concentración de la muestra (µg/mL).

Actividad antioxidante total (TEAC). La capacidad antioxidante se determinó siguiendo el método descrito por Hazra *et al.*⁷ El radical ABTS⁺ fue generado al mezclar un volumen de solución 14 mM de ABTS con un volumen de la solución 4,9 mM de persulfato de sodio, seguido de incubación por 16 h en oscuridad. La solución del radical ABTS se diluyó con agua hasta obtener una absorbancia de 0,70 (± 0,2). Se mezcló 10 µL de los extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones (0,05 a 10 mg/mL) con 1,0 mL de la solución de radical ABTS y se leyó la absorbancia luego de 6 minutos a una longitud de onda de 734 nm.

Se procedió de igual manera para medir la actividad antioxidante del estándar Trolox. Todas las pruebas se realizaron por cuadruplicado.

Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante total (% AAT) mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ AAT} = (A_o - A_m) \times 100 / A_o$$

Donde:

% AAT= Porcentaje de Actividad antioxidante total

A_o = Absorbancia del control

A_m = Absorbancia de la muestra con ABTS – Absorbancia del blanco de la muestra

El blanco consistió de la mezcla de 10 μ L del extracto hidroalcohólico con 1,0 mL de agua destilada. El control consistió de la mezcla de 10 μ L de etanol con 1,0 mL de la solución de radical ABTS.

Se calculó el porcentaje de inhibición de la formación de radicales ABTS y se graficó como una función de la concentración. Finalmente, se determinó el TEAC (trolox equivalent antioxidant concentration) dividiendo la pendiente de la gráfica de la muestra (extracto hidroalcohólico) sobre la pendiente de la gráfica para el estándar Trolox.

Inhibición del radical-anión superóxido. La actividad inhibitoria se evaluó usando el método descrito por Gupta *et al.*⁸ Se mezcló 1 mL de nitroazul de tetrazolio (NBT) 156 μ M (en buffer fosfato 100 mM, pH 7,4) con 1 mL de NADH 468 μ M (en buffer fosfato 100 mM, pH 7,4) y 0,1 mL del extracto hidroalcohólico o quercetina (a diferentes concentraciones finales entre 20 a 200 μ g/mL), se mezcló y añadió 0,1 mL de metosulfato de fenazina (PMS) 60 μ M (en buffer fosfato 100 mM, pH 7,4) para iniciar la reacción. La mezcla se incubó a 25 °C por 5 minutos y se leyó su absorbancia a 560 nm. Se realizó de manera similar un control sin muestra y se utilizó la quercetina como compuesto de referencia. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

El porcentaje de inhibición del anión radical superóxido fue calculado como:

$$\% \text{ Inhibición} = (A_o - A_m) \times 100 / A_o$$

Donde:

A_o = Absorbancia del control (sin muestra)

A_m = Abs. de la mezcla reaccionante con PMS – Abs. de la mezcla reaccionante sin PMS

Las EC_{50} (Concentración efectiva media) se calcularon por análisis de regresión lineal, en donde la abscisa representa las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos y la ordenada el promedio de porcentaje de actividad antioxidante obtenido a partir de tres mediciones independientes.

Inhibición del radical hidroxilo. La actividad fue determinada de acuerdo al método descrito por Özyürek *et al.*⁹ Se mezcló 100 μ L de buffer KH_2PO_4 -KOH (100 mM, pH 7,4), 100 μ L de desoxiribosa (15 mM), 50 μ L de ácido ascórbico (1 mM), 50 μ L de H_2O_2 (10 mM), 50 μ L de extracto hidroalcohólico (a las concentraciones finales de 5, 15, 25, 35 y 50 μ g/mL), 100 μ L de $FeCl_3$ (500 μ M) y 50 μ L de EDTA (1mM). La mezcla de reacción fue incubada a 37 °C por 1 hora. Al final de dicho periodo de incubación se agregó 500 μ L de ácido tiobarbitúrico (TBA, 1% w/v) seguido de la adición de 500 μ L de ácido tricloroacético (TCA, 2,8% w/v). Las

soluciones se pusieron en un baño de agua a 80 °C por 20 minutos para que desarrolle el color rosado del aducto malondialdehído-ácido tiobarbitúrico y luego la absorbancia se midió a 532 nm. Se realizó un control sin muestra y se utilizó al manitol como compuesto de referencia. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se calculó el porcentaje de inhibición de formación de radical hidroxilo de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = 100 \times (A_0 - A_m) / A_0$$

donde:

A_0 = Absorbancia del control (sin muestra)

A_m = Abs. de la muestra con desoxiribosa – Abs. de la muestra sin desoxiribosa

Las EC_{50} (Concentración efectiva media) se calculó por análisis de regresión lineal, en donde la abscisa representa las concentraciones de los extractos hidroalcohólicos y la ordenada el promedio de porcentaje de actividad antioxidante obtenido a partir de tres mediciones independientes.

Inhibición de enzima elastasa: El ensayo se llevó a cabo usando el método descrito por Thring *et al.*¹⁰ y consistió en incubar 25 μ L de muestra (a las concentraciones finales de 5, 65, 125, 180 y 250 μ g/mL) con 100 μ L de la enzima elastasa pancreática porcina (PE, 2.5 μ g/mL en agua HPLC) por 15 minutos y luego agregar 125 μ L del sustrato N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide (AAAPVN, 1,6 mM en buffer THAM, Sigma 7-9[®], pH 8,0) para que la reacción se inicie. Luego de 11 minutos se midió la absorbancia a 410 nm usando una lectora de placas multifunción CHAMELEON V. Se realizó un control sin muestra y se utilizó galato de epigallocatequina (EGCG) como compuesto de referencia. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

El porcentaje de inhibición de la enzima elastasa se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición elastasa} = (Abs_0 - Abs_m) \times 100 / Abs_0$$

donde:

Abs_0 = Absorbancia del control (sin muestra)

Abs_m = Abs. de la mezcla con sustrato – Abs. de la mezcla sin sustrato

Las EC_{50} (Concentración efectiva media) se calcularon por análisis de regresión lineal, en donde la abscisa está representada por las concentraciones de los extractos y la ordenada por el promedio de porcentaje de actividad antioxidante obtenido a partir de tres mediciones independientes.

Inhibición de enzima colagenasa: El ensayo se llevó a cabo usando el método descrito por Thring *et al.*¹⁰ y consistió en incubar 100 μ L de muestra (a las concentraciones finales de 80, 160 y 250 μ g/mL) con 260 μ L de la enzima colagenasa de *Clostridium histolyticum* (ChC, 1,54 unidades/mL en buffer pH 7,5 de Tricine (*N*-[Tris(hidroximetil)metil]glicina) 50 mM con 400 mM NaCl y 10 mM $CaCl_2$) por 15 minutos y luego se agregó 240 μ L del sustrato N-[3-(2-furil) acriloil]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA, 2 mM en buffer pH 7,5 de Tricine 50 mM con 400 mM NaCl y 10 mM $CaCl_2$) para que la reacción se inicie. Luego de 5 minutos se midió la absorbancia a 348 nm usando un espectrofotómetro UV-Visible. Se realizó un control sin muestra y se utilizó galato de epigallocatequina (EGCG) como compuesto de referencia. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

El porcentaje de inhibición se calculó:

$$\% \text{ Inhibición de colagenasa} = (\text{Abs}_0 - \text{Abs}_m) \times 100 / \text{Abs}_0$$

donde:

Abs_0 = Absorbancia del control (sin muestra)

Abs_m = Abs. de la mezcla con sustrato – Abs. de la mezcla sin sustrato

Las EC_{50} (Concentración efectiva media) se calcularon por análisis de regresión lineal, en donde la abscisa está representada por las concentraciones de los extractos y la ordenada por el promedio de porcentaje de actividad antioxidante obtenido a partir de tres mediciones independientes.

Inhibición de daño celular por radiación ultravioleta. Los fibroblastos BALB/c 3T3 fueron cultivados en medio de crecimiento Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) conteniendo 10% de suero fetal bovino (FBS), 2 mmol/L glutamina, 100 U/ml penicilina y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ estreptomycinina a 37 °C bajo atmósfera húmeda con 5% CO_2 . Los fibroblastos fueron cultivados hasta llegar a un nivel de confluencia de 90-95% en placas de 24 pozos. El medio de crecimiento fue reemplazado 24 horas antes de agregar los extractos por DMEM conteniendo 0,1% FBS, 2 mmol/L glutamina, 100 U/mL penicilina y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ estreptomycinina. Para el experimento se utilizó una lámpara de luz UV-B de longitud de onda máxima = 312 nm (sin emisión UV-A ni UV-C). Las células fueron pre-tratadas con el extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones por espacio de 4 horas, al cabo de las cuales fueron irradiadas con la luz UV-B por espacio de 90 segundos y con la lámpara UV a una altura de 20 cm. Justo antes de exponer las células a la radiación UV, las monocapas fueron lavadas con solución buffer fosfato salino (PBS) y expuestas en presencia de PBS. Luego de la irradiación, el PBS fue reemplazado por DMEM conteniendo 1 % FBS, 2 mmol/L glutamina, 100 U/mL penicilina y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ estreptomycinina. Las células fueron incubadas nuevamente por 24 horas al término de las cuales se cuantificó la viabilidad de las células por medio del cambio de color del reactivo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio), medido a la longitud de onda = 570 nm.¹¹

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se puede observar que el extracto hidroalcohólico de tara ($\text{EC}_{50} = 4,97 \mu\text{g}/\text{ml}$) posee buena actividad antioxidante en el ensayo de DPPH, la cual es inclusive mayor a la del control positivo, el flavonoide rutina ($\text{EC}_{50} = 6,43 \pm 0,22 \mu\text{g}/\text{ml}$). Asimismo, el extracto de tara tiene una capacidad antioxidante total (TEAC, Trolox equivalent antioxidant concentration) similar a la del control positivo Trolox (94 versus 100%, respectivamente).

En el test de inhibición del radical superóxido, el extracto de tara presentó una actividad similar a la del control positivo quercitina ($\text{EC}_{50} = 41,77$ y $41,24 \mu\text{g}/\text{ml}$, respectivamente). Sin embargo, dicho extracto no inhibe al radical hidroxilo ($\text{EC}_{50} > 200 \mu\text{g}/\text{ml}$).

Tabla 1. Actividad antioxidante de tara y camu camu

Extractos	DPPH	TEAC	Radical superóxido	Radical hidroxilo
	EC ₅₀ (µg extracto/mL)		EC ₅₀ (µg extracto/mL)	EC ₅₀ (µg extracto/mL)
Tara	4,97 ± 0,03	0,94 ± 0,05	41,77 ± 1,17	244,05 ± 2,44
Camu camu	>100,00	< 0,01	> 200,00	>500,00

A pesar de su alto contenido en ácido ascórbico (> 6%), el extracto de camu camu no presentó actividad antioxidante en los cuatro ensayos evaluados (tablas 1 y 2). Al parecer, la buena actividad antioxidante mostrada por el extracto de tara dependería en mayor medida de la concentración y tipo de compuestos fenólicos

Tabla 2. Contenido de fenólicos y ácido ascórbico en tara y camu camu

Extractos	Contenido de fenólicos (mg ácido gálico/g extracto)	Contenido de ácido ascórbico (mg/100 g)
Tara	29,5 ± 0,11	132,63 ± 4,13
Camu camu	11,7 ± 0,05	6153,06 ± 170,34

La enzima elastasa es una proteasa que degrada la proteína elastina, la cual es sumamente importante para darle elasticidad a las arterias, pulmones, ligamentos y piel. La actividad de la enzima elastasa aumenta con el paso de los años, especialmente en personas mayores de 40 años de edad, lo cual conlleva a la disminución de la elasticidad de la piel y aparición de arrugas.¹²

El 80% del peso seco de la piel está constituido por la proteína colágeno, la cual es responsable del tono de la piel. La enzima colagenasa se encarga de romper los enlaces peptídicos del colágeno y se estima que sustancias que inhiban dicha enzima podrían ser usados como agentes preventivos de la aparición de arrugas.¹⁰

Se ha reportado estudios sobre la actividad de diversos extractos de plantas y aceites esenciales con actividad anticlagenasa y antielastasa,¹²⁻¹⁴ aunque hasta el momento ninguno de ellos fue realizado con plantas peruanas. En el presente trabajo de investigación se encontró que tanto la tara como el camu camu no poseen actividad antielastasa *in vitro*; sin embargo, el extracto de tara sí mostró una buena actividad anticlagenasa, inclusive mayor que la del control positivo EGCG (EC₅₀ = 162,78 y 321,41 µg/mL, respectivamente) (tabla 3).

Tabla 3. Inhibición de enzimas elastasa y colagenasa por extractos hidroalcohólicos de tara y camu cam

Muestra	IC ₅₀ (µg/mL)	
	Elastasa	Colagenasa
EGCG	10,3 ± 0,7	321,4 ± 10,7
Tara	> 250,0	162,8 ± 1,1
Camu camu	> 250,0	> 500,0

La radiación ultravioleta puede causar respuesta inflamatoria de la piel, daño del ADN, fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis. En los últimos años se ha venido incrementando el uso de extractos de plantas que puedan contrarrestar los efectos dañinos de la radiación ultravioleta. El efecto protector de las plantas contra la radiación UV se debería principalmente a su propiedad antiinflamatoria y antioxidante.¹¹

El efecto protector del extracto hidroalcohólico de tara contra la irradiación UV-B fue evaluada a una concentración máxima de 10 µg/mL, ya que a concentraciones mayores producía mortalidad de los fibroblastos 3T3. A dicha concentración el extracto presenta sólo un efecto protector leve (8%).

El extracto de camu camu resultó ser menos tóxico contra los fibroblastos 3T3, por lo que pudo ser evaluado a concentraciones de hasta 200 µg/mL. A esta concentración, el camu camu presentó un efecto protector contra los rayos UV-B de hasta 43,6% (tabla 4).

Tabla 4. Efecto protector *in vitro* de extractos de tara y camu camu contra la irradiación UV-B

Extracto	Concentración	
	(µg/mL)	% Protección
Camu camu	200,0	43,6
	100,0	17,1
	10,0	8,1
Tara	5,0	0,0

Muchos autores coinciden en que los extractos de plantas y las sustancias naturales aisladas de ellas podrían ser usados como ingredientes para bloqueadores solares debido a sus propiedades antioxidantes y a su capacidad de absorber la luz ultravioleta.¹⁵ En nuestro estudio hemos encontrado 2 extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales peruanas, uno preparado a partir de las vainas de la tara el cual a bajas dosis posee muy buena actividad antioxidante *in vitro* y otro a partir de los frutos maduros del camu camu, capaz de inhibir el efecto dañino de la radiación ultravioleta sobre los fibroblastos. Se recomienda investigar si la asociación de ambos extractos actúa en forma sinérgica, con miras a desarrollar un bloqueador solar natural con mecanismo de acción dual.

CONCLUSIONES

El extracto hidroalcohólico de tara mostró una buena actividad antioxidante en diferentes ensayos *in vitro* (DPPH, TEAC, radical hidroxilo, radical superóxido); asimismo, inhibe la enzima colagenasa con mayor potencia que el control positivo epigallocatequina galato. El extracto hidroalcohólico de camu camu, a pesar de su alto contenido de ácido ascórbico, no mostró una actividad antioxidante relevante; sin embargo, ejerce un buen efecto fotoprotector *in vitro* contra la radiación UV-B.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de investigación fue llevado a cabo gracias al auspicio del FIDECOM-Innovate Perú (Proyecto 148-FINCYT-FIDECOM-PIPEI-2010: Desarrollo y validación científica de ingredientes naturales basados en plantas medicinales y/o alimenticias de la biodiversidad peruana para la industria cosmética).

BIBLIOGRAFÍA

1. F'guyer, S., Afaq, F., Mukhtar, H. Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **2003**; *19*, 56.
2. Chanchal, D., Swarnlata, S. Herbal photoprotective formulations and their evaluation. *Open Nat. Prod. J.* **2009**; *2*, 71.
3. Saraf, S., Kaur, C.D. Phytoconstituents as photoprotective novel cosmetic formulations. *Phcog. Rev.* **2010**; *4*, 1.
4. García Nava M.J. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_IUAQGarciaNava.pdf (último acceso 8 de octubre del 2012).
5. Lung, M-Y., Chang, Y-C. Antioxidant properties of the edible Basidiomycete *Armillaria mellea* in submerged cultures. *Int. J. Mol. Sci.* **2011**; *12*, 6367.
6. Mensor, L., Menezes, F., Leitao, G., Reis, A., Santos, T., Coube, C., Leitao, S. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.* **2001**; *15*, 127.
7. Hazra, B., Biswas, S., Mandal, N. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC Complement. Altern. Med.* **2008**; *8*, 63.
8. Gupta, M., Kanti Mazumdar, U., Gomathi, P., Sambath Kumar, R. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Ervatamia coronaria* Stapf. leaves. *Iran. J. Pharm. Res.* **2004**; *3*, 119.
9. Özyürek, M., Bektapođlu, B., Güçlü, K., Apak, Re°at. Hydroxyl radical scavenging assay of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method using catalase for hydrogen peroxide degradation. *Anal. Chim. Acta* **2008**; *616*, 196.
10. Thring, T.S.A., Hili, P., Naughton, D.P. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of 21 plants. *BMC Complement. Altern. Med.* **2009**; *9*, 27.
11. Bae, J-Y., Choi, J-S., Kang, S-W., Lee, Y-J., Park, J., Kang, Y-H. Dietary compound ellagic acid alleviates skin wrinkle and inflammation induced by UV-B irradiation. *Exp. Dermatol.* **2010**; *19*, e182.
12. Mori, M., Ikeda, N., Kato, Y., Minamino, M., Watabe, K. Inhibition of elastase activity by essential oils *in vitro*. *J. Cosmet. Dermatol.* **2002**; *1*, 183.
13. Moon, J-Y., Yim, E-Y., Song, G., Lee, N.H., Hyun, C-G. Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju island plants. *EurAsia J. BioSci.* **2010**; *4*, 41.

14. Thring, T.S.A., Hili, P., Naughton, D.P. Antioxidant and potential anti-inflammatory activity of extracts and formulations of white tea, rose, and witch hazel on primary human dermal fibroblasts cells. *J. Inflamm.* **2011**; 8, 27.
15. Rancan, F., Rosan, S., Boehm, K., Fernandez, E., Hidalgo, M.E., Quihot, W., et al. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. *J. Photochem. Photobiol. B.* **2002**; 68, 133.