

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



Contenido de antocianinas, actividad antioxidante y
fotoprotectora *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las
flores de *Brachyotum naudinii* Triana

Tesis para obtener el título profesional de Químico
Farmacéutica

Presentado por:
Bach. ORTIZ PEREZ, EYLEN ALMENDRA

Asesor:
Dr. ARONÉS JARA, MARCO ROLANDO

AYACUCHO – PERÚ

2023

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N° 285-2023-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER: Eylen Almendra ORTIZ PÉREZ

En la ciudad de Ayacucho siendo las cuatro de la tarde del día dos de marzo de dos mil veintitrés, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador de sustentación, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado "CONTENIDO DE ANTOCIANINAS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y FOTOPROTECTORA *IN VITRO* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS FLORES DE *Brachyotum naudinii* Triana". Trabajo presentado por la bachiller Eylen Almendra ORTIZ PÉREZ para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

El Jurado evaluador de sustentación está conformado por:

Presidente : Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica

Miembros : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo

: Prof. Edgar Cárdenas Landeo

Asesor : Prof. Marco Rolando Aronés Jara

Secretaria Docente: Liselly Elvira Chauca Retamozo

Con el quórum de reglamento se dio por inicio la sustentación de tesis, el presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a los documentos presentados por las recurrentes, y da algunas indicaciones a la sustentante.

Da inicio la exposición la Bachiller: Eylen Almendra ORTIZ PÉREZ, una vez concluida la sustentación, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas. Acto seguido, da pase al asesor de tesis profesor Marco R. Aronés Jara para que pueda realizar algunas aclaraciones y comentarios.

Concluida la ronda de preguntas, el presidente invita a la sustentante para abandonar el auditorio y se pueda proceder con la calificación.

RESULTADO DE LA EVALUACIÓN FINAL

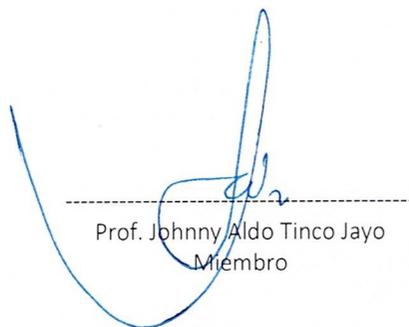
JURADOS	TEXTO	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	PROMEDIO
Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica	16	17	16	16
Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo	16	16	16	16
Prof. Edgar Cárdenas Landeo	17	17	17	17
Prof. Marco Rolando Aronés Jara	18	17	18	18
PROMEDIO FINAL: 17				

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller **Eylen Almendra ORTIZ PÉREZ**, quien obtuvo la nota final de Diecisiete (17) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente.

Siendo las 18:00 h del día, se da por concluido el presente acto académico.



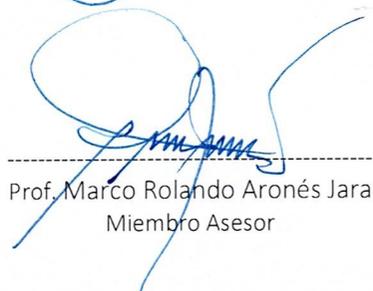
Prof. José Alejandro Yarlequé Mujica
Presidente



Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
Miembro



Prof. Edgar Cárdenas Landeo
Miembro



Prof. Marco Rolando Aronés Jara
Miembro Asesor



Prof. Liselly Elvira Chauca Retamozo
Secretaria Docente

DEDICATORIA

A mi madre Luzmila Pérez Palomino, a mi padre Raúl Ortiz Lerzundi, a mi hermana Freshsia Ortiz Pérez, por su incomparable compañía y apoyo, a mis abuelos Donatila, Gregorio, Felicitas y Silverio

AGRADECIMIENTOS

A la “Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga”, por haberme acogido durante los años de formación profesional.

A la “Facultad de Ciencias de la Salud”, en especial a la “Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica” y a todos los docentes por su invaluable contribución y dedicación en mi formación académica.

Al Dr. Marco Arones Jara, por el apoyo en el presente trabajo de investigación, compartiendo sus conocimientos y orientaciones que hicieron posible el desarrollo y culminación de esta investigación.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes del estudio	5
2.2. Redacción del marco teórico	8
2.2.1. <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.....	8
2.2.3. Relación estructura actividad de los metabolitos secundarios.....	14
2.3. Marco conceptual	16
2.4. Hipótesis.....	17
2.5. Variables.....	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación.....	19
3.2. Muestra.....	19
3.3. Procedimientos experimentales generales.....	19
3.3.1. Análisis del contenido de antocianinas	19
3.3.2. Análisis del potencial antioxidante	22
3.3.3. Evaluación in vitro del factor de protección solar	23
3.4. Tipo de investigación	24
3.5. Diseño de investigación	24
3.6. Análisis estadístico.....	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES.....	39
VII. RECOMENDACIONES	41
BIBLIOGRAFÍA	43
ANEXOS	49

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Estructuras de algunas de las antocianidinas naturales	10
Tabla 2. Ensayos químicos de coloración para la diferenciación de antocianinas y betacianinas.	20
Tabla 3. Relación en el efecto eritemogénico (EE) versus Intensidad de radiación (I) conforme a la longitud de onda (λ)	23
Tabla 4. Resultados del ensayo químico para la identificación de antocianinas y en las flores liofilizadas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	27
Tabla 5. Propuesta de identificación de los compuestos químicos de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana	29
Tabla 6. Contenido de compuesto fenólicos, antocianinas y actividad antioxidante del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana	32
Tabla 7. Efecto fotoprotector solar <i>in vitro</i> del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana	33

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana	8
Figura 2. Estructura base de las antocianidinas	10
Figura 3. Soluciones de extractos de flores que contienen pelargonidina, cianidina, delphinidina, apigeninidina y luteolinidina (de izquierda a derecha).	11
Figura 4. Una sección de las rutas biosintéticas generales de fenilpropanoides y flavonoides que conducen a las antocianinas y otros flavonoides que se encuentran en las flores.	13
Figura 5. Espectro de absorción para la identificación de antocianinas en las flores liofilizadas de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana	28
Figura 6. Posible estructura de antocianina presente en las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana (nuevo compuesto; Masa nominal del compuesto: 787)	30
Figura 7. Posible estructura de antocianina presente en las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana (nuevo compuesto; Masa nominal del compuesto: 831)	31

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1.	Identificación taxonómica de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana	51
Anexo 2.	Fotografía de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana del Bosque de Piedras de Huaraca	52
Anexo 3.	Flujograma del procedimiento experimental del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	53
Anexo 4.	Procedimiento de la obtención del extracto hidrolalcohólico por el método ASE de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	54
Anexo 5.	Procedimiento para la obtención de un polvo fino, por medio del secado por aspersion, del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	55
Anexo 6.	Flujograma del procedimiento experimental de la cuantificación de fenoles totales del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	56
Anexo 7.	Cuantificación de fenoles totales en el extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	57
Anexo 8.	Flujograma del procedimiento experimental de la cuantificación de antocianinas del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	58
Anexo 9.	Cuantificación de antocianinas del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	59
Anexo 10.	Flujograma del procedimiento experimental de la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	60

Anexo 11.	Flujograma del procedimiento experimental de la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	61
Anexo 12.	Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	62
Anexo 13.	Flujograma del procedimiento experimental de la evaluación <i>in vitro</i> del factor de protección solar del extracto hidrolalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.	63
Anexo 14.	Matriz de consistencia	64

**Contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro*
del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana**

Autora : Bach. EYLEN ALMENDRA ORTIZ PÉREZ

Asesor : Dr. MARCO ROLANDO ARONÉS JARA

RESUMEN

Brachyotum naudinii Triana es una especie vegetal abundante en los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Vinchos, cuyas flores presentan un importante contenido de compuestos fenólicos. Es por ello, que la presente investigación tiene como objetivo determinar su contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora. Se identificó la presencia antocianinas en las flores liofilizadas mediante pruebas de coloración a la gota, barrido espectral y por cromatografía líquida de ultra-alta performance acoplada a espectrometría de masas. El extracto hidroalcohólico seco se obtuvo por extracción acelerada con solventes utilizando como solvente etanol de 70° acidulado con ácido cítrico a pH 3,18 y mediante secado por aspersión. El contenido de antocianinas totales (TAC) en el extracto hidroalcohólico seco se determinó por el método de pH-diferencial y el contenido de fenoles totales (TFC) por el método de Folin Ciocalteu. La actividad antioxidante (AA) se determinó mediante el ensayo del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). El factor de protección solar (FPS) *in vitro* se determinó por el método de Mansur. Los resultados evidencian que las flores de *Brachyotum naudinii* presentan tres nuevos compuestos de antocianinas no identificadas. El TAC fue de $1148,6 \pm 59,9$ g/100 g y el TFC de $194,84 \pm 4,07$ mg GAE/g. La AA a la concentración de 100 µg/mL fue de $49,2 \pm 0,7\%$; la concentración media inhibitoria fue de $66,4 \pm 0,9$ µg/mL y el FPS *in vitro* fue 1,7. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* presenta antocianinas con importante actividad antioxidante, aunque escasa actividad fotoprotectora solar *in vitro*.

Palabras clave. Antocianinas, potencial antioxidante, factor de fotoprotección, *Brachyotum naudinii*.

I. INTRODUCCIÓN

Brachyotum naudinii, es una especie que pertenece a la familia Melastomataceae y crece en nuestro país en las zonas altoandinas entre 3000 – 4500 msnm, muchas veces en lugares inhóspitos y sometidos a heladas. *B. naudinii* presenta flores muy vistosas de color púrpura rojo púrpura,^{1,2} las cuales aparte de atraer a polinizadores, son una fuente potencial para la obtención de colorantes naturales.³ Actualmente, los colorantes naturales son una alternativa a los colorantes artificiales, tanto en la industria farmacéutica como alimentaria.⁴ Entre los colorantes naturales, las antocianinas se han convertido en alternativas bien conocidas a los tintes sintéticos.⁴

Las antocianinas son pigmentos responsables de los colores en las plantas, ya sea hojas, tallos, frutos, raíces y flores.⁴ Son pigmentos solubles en agua, lo que facilita su incorporación a un sistema alimentario acuoso; además que no son tóxicos.⁴ Así mismo, las antocianinas son beneficiosos para la salud y poseen propiedades antioxidantes.⁴

La familia Melastomataceae está considerada como la séptima familia de plantas con flores más grande. Los principales constituyentes químicos de esta familia pertenecen a terpenoides, fenólicos simples, quinonas, lignanos y sus glucósidos, así como a una amplia gama de taninos o polifenoles, principalmente oligómeros de taninos hidrolizables de pesos moleculares de hasta 4600 Da, y algunos flavonoides y antocianinas aciladas.⁵

Las antocianinas aisladas de plantas de la familia Melastomatáceas son la pelargonidina, la cianidina, la peonidina, la delfinidina y glicósidos de malvidina.⁶ En varias especies de esta familia se han reportado la presencia de derivados de malvidina en sus flores, tales como, en *Melastoma malabathricum*, *Tibouchina semicandra*, *Tibouchina granulosa* y *Tibouchina urvilleana*.⁵

El contenido de antocianinas aciladas en las flores de la familia Melastomataceae les da importancia económica como fuentes de colorantes alimentarios naturales.

Brachyotum microdom también es una especie de la familia Melastomataceae, que presenta flores de color púrpura, similares a las flores de *Brachyotum naudinii*. Se ha reportado, en las flores de *B. microdom*, la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, flavonas y/o flavonoles, antocianinas, antraquinonas, chalconas y quinonas.⁵

Asimismo, en un estudio preliminar se ha reportado que las flores de *Brachyotum naudinii* Triana está compuesto por flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, cardiotónicos, quinonas y saponinas.¹ Además, se ha determinado que las flores de *B. naudinii* presentan un apreciable contenido de compuestos fenólicos y potencial actividad antioxidante.¹

La biosíntesis de antocianinas es esencial para el desarrollo de las flores para muchas angiospermas, ya que proporcionan una de las principales influencias en la elección de polinizadores potenciales. Las antocianinas son uno de los pigmentos que dan color a las flores, son solubles y se encuentran en las vacuolas; además que son los responsables del color rosa, rojo, naranja, escarlata, púrpura, azul y azul-negro de las flores. Asimismo, las antocianinas protegen a la planta frente a la radiación ultravioleta, convirtiéndolos en candidatos para su aplicación como fotoprotectores solares.⁷

La radiación UV-B produce efectos adversos en la piel humana, que incluyen eritema, envejecimiento cutáneo acelerado e inducción de cáncer de piel.⁸ Estos efectos adversos se pueden prevenir usando compuestos químicos filtros solares.⁸ Algunas sustancias naturales extraídas de las plantas son recursos potenciales como protectores solares, debido a que absorben de rayos ultravioleta en la región UV y su poder antioxidante. Las plantas medicinales con capacidad antioxidante pueden brindar nuevas posibilidades para el tratamiento y la prevención de enfermedades mediadas por los rayos UV.⁹

Actualmente la demanda de consumidores de alimentos con colores provenientes de la naturaleza o de las personas, que desean tener pigmentos naturales en sus lociones o cosméticos, aumenta cada día. Y si se detectan actividades antioxidantes y/o fotoprotectoras en estos colorantes naturales, el interés en su uso aumentará, aún más la valorización de nuestros recursos naturales.¹⁰

En ese sentido, la presente investigación tuvo como objetivos los siguientes;

Objetivo general:

Determinar el contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana

Objetivos específicos:

- Evaluar el contenido de antocianinas en las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.
- Evaluar la actividad fotoprotectora solar *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Palomino,¹ en el 2018, determinó que el extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana está compuesto por flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, cardiotónicos, quinonas y saponinas. Así mismo, determinó que el extracto hidroalcohólico de las flores de *B. naudinii*, presenta actividad antioxidante, al calcular la concentración media inhibitoria, por los métodos de DPPH ($80,6 \pm 0,85 \mu\text{g/mL}$), ABTS ($244,6 \pm 3,93 \mu\text{g/mL}$) y FRAP ($64,8 \pm 3,09 \mu\text{g/mL}$), aunque estadísticamente diferentes al Trolox.

Ibañez et al.,¹¹ en el 2016, reportaron los resultados del tamizaje fitoquímico y la evaluación del potencial fotoprotector de las flores de *Brachyotum microdom*. Esta especie tiene flores de color púrpura tal cual presenta *Brachyotum naudinii*. Realizaron ensayos preliminares en un extracto etanólico de las flores, en el que evidenciaron la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, flavonas y/o flavonoles, antocianinas, antraquinonas, chalconas y quinonas.¹¹ Estos resultados coinciden con lo encontrado en *Brachyotum naudinii*.¹

A continuación, se describen investigaciones de algunas especies de la familia Melastomataceae, con estudios de composición química en flores, las cuales pueden orientar al entendimiento de los resultados de la presente investigación.

Ocampo et al.,⁶ refieren que las flores de las especies de la familia Melastomataceae contienen antocianinas y que las antocianinas aisladas son la pelargonidina, la cianidina, la peonidina, la delfinidina y glicósidos de malvidina.⁶ Asimismo, refieren que en las flores de varias especies de esta familia se han reportado la presencia de derivados de malvidina, tales como, en *Melatoma malabathricum*, *Tibouchina semicandra*, *Tibouchina granulosa* y *Tibouchina urvilleana*.⁶ El contenido de antocianinas aciladas en las flores de la familia Melastomataceae les da importancia económica como fuentes de colorantes alimentarios naturales.

Manjunatha et al.,¹² refieren que las flores de *Melastoma malabathricum* son de color violeta y que presentan antocianinas, ácido elálgico, flavonoides como la quercetina y variedades de kaempferol. También refieren que se han investigado las actividades antimicrobianas, antibacterianas, antiparasitarias, antivirales, antioxidantes, anticoagulantes, activadoras de plaquetas y antiinflamatorias en el extracto de flores de *M. malabathricum*.¹²

Janna et al.,¹³ mencionan que *Tibouchina semidecandra* es un arbusto perteneciente a la familia Melastomataceae, que tiene hermosas flores de color púrpura oscuro durante todo el año y crece bien en áreas libres de heladas en todo el mundo. Informaron que esta planta se utiliza tradicionalmente con fines medicinales y alimentarios.¹³ Asimismo, refieren que la flor prístina de color púrpura la convierte en una valiosa planta ornamental y una fuente potencial para la extracción de colorantes naturales.¹³

Francis et al.,¹⁴ informaron sobre dos nuevas antocianinas de *Tibouchina granulosa*. Esta especie es conocida en Brasil como quaresmeira-roxa, es un árbol de tamaño mediano que crece ampliamente en áreas semitropicales por sus atractivas flores azules. Concluyeron que los dos pigmentos principales en *Tibouchina granulosa* son la malvidina-3-(di-p-cumaroil xilósido)-5-glucósido y malvidina-3-(p-cumaroil xilósido)-5-glucósido.¹⁴

Harborne,¹⁵ informó que el pigmento principal en *Tibouchina semidecandra* era malvidina-3-(p-cumaroil glucósido)-5-glucósido.

Bobbio et al.,¹⁶ reportaron la presencia de cuatro pigmentos en las flores de *Tibouchina grandiflora*, de los cuales dos fueron identificados como peonidina-3-soforósido y malvidina-3,5-diglucósido. Asimismo, informaron sobre otros dos pigmentos fueron identificados tentativamente como malvidina-3-(p-cumaroil)-sambubiosido-5-glucósido y peonidina-3-sambubiosido.¹⁶ También reportaron la presencia de tres pigmentos *T. grandiflora* pero en cantidades insuficientes para permitir la identificación.¹⁶

Los antecedentes descritos en este apartado refuerzan la hipótesis de nuestra investigación, ya que *B. naudinii* contiene antocianinas posiblemente derivados de malvidina y compuestos fenólicos con actividad antioxidante.

Respecto a la actividad fotoprotectora, el antecedente más cercano lo describe Ibañez et al.,¹¹ quienes reportaron resultados que evidencia el potencial fotoprotector de las flores de *Brachyotum microdom*. Para evaluar el potencial fotoprotector, realizaron un análisis UV en el extracto etanólico a una

concentración de 100 ppm, en el que se evidenció una importante absorción de luz en la región UV-B entre las longitudes de onda de 280 – 320 nm.¹¹ Esta evidencia del potencial fotoprotector de esta especie orienta el presente estudio y permite elaborar las discusiones.

Respecto al método de evaluación de efecto fotoprotector solar *in vitro*, se han reportado diversos estudios, en el que se utiliza el método de Mansur, en el que se calcula el factor de fotoprotección solar (FPS).

Maske et al.,⁸ evaluaron la actividad fotoprotectora *in vitro* y la estabilidad química del extracto de pétalo de *Rosa kordesii* en una formulación en gel. La estabilidad química fue evaluada a 5, 25 y 45°C durante 3 – 4 meses. El FPS se analizó por espectrofotometría ultravioleta (UV) usando la formulación irradiada con lámpara UVB. Determinaron que la formulación es estable durante al menos 3 a 4 meses almacenado a 5 y 25°C.⁸

Milani et al.,¹⁷ evaluaron el FPS *in vitro* de una formulación cosmética a base de extracto de *Psidium guajava*. El extracto fue estandarizado mediante cromatografía líquida de alta performance (HPLC) utilizando como marcador químico al ácido elágico. Evidenciaron que la formulación con el extracto y el filtro químico (metoxicinamato de etilhexilo) presentó efecto sinérgico, incrementando el FPS en un 17,99%. En razón a sus resultados concluyeron que el extracto de subproductos agroindustriales de la guayaba presenta potencial para ser reutilizado en el desarrollo de productos innovadores fotoprotectores para el cuidado.¹⁷

Catelan et al.¹⁸ evaluaron el “potencial fotoprotector *in vitro* del extracto etanólico de cuatro especies del género *Campomanesia*”. Evidenciaron que los extractos etanólicos de *C. guazumifolia* (CG), *C. sessiliflora* (CS), *C. xanthocarpa* (CX) y *C. adamantium* (CA) presentan absorción en las regiones UVA y UVB. A la concentración de 8%, todos los extractos presentaron valores de FPS superiores a 2 y a la concentración de 4% solo CA y CX. Asimismo, todos los extractos, solos o en combinación, incrementaron el FPS con la incorporación de metoxinamato de octilo (MO). Las formulaciones a base de extractos de CA y CX reportaron los valores más altos. Concluyeron que la formulación SSPFCX4CA4 presenta valores de FPS > 6, por lo tanto, son una fuente potencial para productos fotoprotectores o multifuncionales.

2.2. Redacción del marco teórico

2.2.1. *Brachyotum naudinii* Triana

B. naudinii, es una especie que pertenece a la familia Melastomataceae y crece en las zonas altoandinas entre 3000 – 4500 msnm, muchas veces en lugares inhóspitos y sometidos a heladas.^{1,2} “Es un arbusto de hasta 1,5 m de alto, con follaje ralo, usualmente con varios tallos generados desde la base. Sus **hojas** son simples y opuestas, de tamaño pequeño, posee tres nervios paralelos e impresos y pelos diminutos. Presenta **flores** solitarias o en pequeños grupos, pero muy vistosas de color rojo vivo hasta morado, con la corola grande y son péndulas y tubulares. Sus **frutos** son globosos, pequeños de color oscuro ha morado negruzco, con varias semillas diminutas”.²



Figura 1. Flores de *Brachyotum naudinii* Triana

Respecto a la **composición química** de las flores de *B. naudinii*, se determinó que contiene flavonoides, taninos, antocianinas, cumarinas, cardiotónicos, quinonas y saponinas.¹ Sin embargo, debido a las diversas tonalidades del color de las flores, todavía existe una duda respecto a que, si se trata de antocianinas o betalaínas, que esta investigación se encargó de determinar que son antocianinas los pigmentos presentes en las flores de esta especie.¹⁹

2.2.2. Producción de antocianinas en las flores

Los principales pigmentos que causan el color de las flores son los carotenoides, **flavonoides** y betalaínas. Los flavonoides son compuestos fenilpropanoides de gran variación en estructura y función, y los que intervienen en el color de las flores son solubles en agua y generalmente se encuentran en la vacuola, siendo las **antocianinas** las más comunes. Las antocianinas son la base de casi todas las flores de color rosa, rojo, naranja, escarlata, púrpura, azul y azul-negro.

Durante la **biosíntesis de los flavonoides** hay muchas ramificaciones que producen compuestos coloreados e incoloros con una diversidad de funciones biológicas. Como se mencionó, las antocianinas son los pigmentos flavonoides más importantes, con auronas, chalconas y algunos flavonoles que juegan un papel limitado en el color de las flores.

Las flavonas y los flavonoles generalmente incoloros (o débilmente coloreados) también tienen un papel en el color de las flores por su función como co-pigmentos. Estabilizan y mantienen las antocianinas en sus formas coloreadas, en un proceso de interacciones moleculares complejas conocido como copigmentación. Las flavonas y los flavonoles son fuertes absorbentes de la luz ultravioleta y también son la base de algunas guías de néctar de insectos florales. Respecto a la **vía biosintética** de las antocianinas en las flores, está bien definida a nivel genético y enzimático, con secuencias de genes disponibles para todos los pasos biosintéticos clave de las antocianinas primarias y también para muchas de las actividades de modificación secundaria.

Los pigmentos base son las **antocianidinas** (Figura 2), que luego se glicosilan para formar las antocianinas. En todos los ejemplos hasta la fecha, a excepción de un informe reciente de C-glicosilación, sólo O-glicosilación ocurre para las antocianinas en las plantas. El núcleo de la antocianidina es una estructura de 15 carbonos (C15) de dos anillos aromáticos (los anillos A y B) unidos por un tercer anillo de C₃O₁ (anillo C). El grado de oxidación del anillo C define los distintos tipos de flavonoides. Las antocianidinas tienen dos dobles enlaces en el anillo C y, por lo tanto, tienen una carga positiva.

La estructura central de la antocianidina se modifica mediante la adición de una amplia gama de grupos químicos, en particular a través de la hidroxilación, acilación y metilación. La hidroxilación y la metilación generalmente, pero no exclusivamente, ocurren en la antocianidina antes de modificaciones posteriores. Por lo tanto, hay un pequeño número de tipos de antocianidinas que se han identificado como la base del gran número posterior de antocianinas conocidas con diferentes patrones de glicosilación y acilación (Tabla 1).

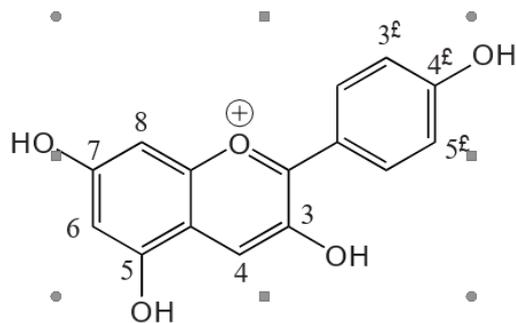


Figura 2. Estructura base de las antocianidinas

Tabla 1. Estructuras de algunas de las antocianidinas naturales.

	Patrón de sustitución en posición numerada						
	3	5	6	7	3'	4'	5'
Antocianidinas comunes							
Pelargonidina (Pg)	OH	OH	H	OH	H	OH	H
Cianidina (Cy)	OH	OH	H	OH	OH	OH	H
Delpinidina (Dp)	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH
Peonidina	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H
Petunidina	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH
Malvidina	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe
3-Desoxiantocianidinas							
Apigenidina	H	OH	H	OH	H	OH	H
Luteolinidina	H	OH	H	OH	OH	OH	H
Tricetinidin	H	OH	H	OH	OH	OH	OH

Me: radical metoxi

La numeración de los carbonos relevantes para la estructura de antocianidina base se muestra en la Figura 1

De particular relevancia tienen las seis antocianidinas comunes que tienen hidroxilación C-3,5,7 de los anillos A y C, ya que representan aproximadamente el 90% de las antocianinas identificadas y las 3-desoxiantocianidinas. Los patrones de hidroxilación de antocianinas son de suma importancia en el color de las flores, ya que tienen un efecto importante en el color resultante del pigmento. En la figura 3 se muestra una comparación de los colores de las 3-hidroxiantocianidinas comunes con dos de las 3-desoxiantocianidinas equivalentes.



Figura 3. Soluciones de extractos de flores que contienen pelargonidina, cianidina, delphinidina, apigeninidina y luteolinidina (de izquierda a derecha).

La **biosíntesis de las antocianinas** (Figura 4), como todo flavonoide, tiene sus precursores clave a la fenilalanina y la malonil-CoA. Los primeros flavonoides son las chalconas y proporcionan una coloración amarilla a los pétalos de algunas especies de plantas. Estos también pueden convertirse en auronas amarillas más brillantes. Las chalconas forman las flavanonas y dihidroflavonoles, las que a su vez pueden convertirse en flavonas y flavonoles, respectivamente y que se encuentran en cantidades superiores a las de las antocianinas. Las flavonas y los flavonoles generalmente tienen poco color en sí mismos, pero influyen en el color de las antocianinas a través de un proceso llamado copigmentación, y también son la base de algunas guías de néctar de insectos que absorben los rayos UV. Los dihidroflavonoles forman leucoantocianidinas y seguidamente producen la pelargonidina que es una antocianina que finalmente se glicosila.

En lo que podría verse como el paso final de la biosíntesis de antocianinas, éstas se transportan a su sitio de acumulación: la vacuola. Existe evidencia de una serie de sistemas de transporte intracelular alternativos para los flavonoides, siendo los mejor caracterizados para las antocianinas los relacionados con los procesos de desintoxicación de xenobióticos.

Las variaciones en las modificaciones secundarias de las antocianinas, particularmente la glicosilación y la acilación, explican la enorme variedad de estructuras conocidas de antocianinas. La mayoría de estas estructuras de antocianinas caracterizadas contienen dos o más unidades de monosacáridos y al menos un grupo acilo.

Las seis antocianidinas comunes son la base de una amplia gama de colores de flores a base de antocianinas. Evidentemente, el patrón de hidroxilación del anillo B es un componente principal de la variación de color. En comparación, la metilación de los hidroxilos del anillo B tiene un efecto comparativamente menor sobre el color, provocando un pequeño cambio hacia el rojo. Sin embargo, una segunda contribución importante a la gama natural de colores de antocianina observada proviene de otras modificaciones secundarias de las antocianinas, debido al cambio resultante en la interacción de la antocianina con el ambiente vacuolar.

En soluciones acuosas, las antocianinas pueden sufrir cambios dependientes del pH en su forma química, que alteran la intensidad y el matiz del color e incluso pueden provocar la pérdida del color. Las antocianinas generalmente se presentan como el catión flavilio coloreado; sin embargo, las antocianinas también pueden adoptar varias formas de base quinonoidal, aducto de agua y chalcona, que se denominan estructuras secundarias de antocianina. En los pH levemente ácidos típicos de las vacuolas (pH 3–6), el catión flavilio es vulnerable a la hidratación, lo que desencadena una reacción que los convierte en formas incoloras de hemiacetal y (posteriormente) de chalcona. Las modificaciones secundarias de la antocianina influyen en estos cambios químicos, aunque alteran las interacciones intramoleculares o intermoleculares de las antocianinas, que a su vez afectan la formación de estructuras terciarias del pigmento que pueden impedir la hidratación y estabilizar la antocianina en forma coloreada. La estructura terciaria también influye en el color de la flor al causar cambios en la cantidad de luz y las longitudes de onda de luz específicas absorbidas por el pigmento. Muchos de los colores de flores azules brillantes estudiados se basan en pigmentos con estructuras terciarias complejas. Por lo tanto, es principalmente la interacción de la estructura y concentración de antocianinas, la estructura y concentración de copigmentos y el pH vacuolar lo que determina la pigmentación final.

No hay que olvidar que la pigmentación es una interacción con la luz, por lo que la luz debe atravesar al menos la pared celular epidérmica, interactuar con el pigmento y luego salir de la célula para ser percibida por el observador. Por lo tanto, los cambios en la estructura de la célula, por ejemplo, la formación de células de forma cónica, pueden alterar el color resultante de la flor.

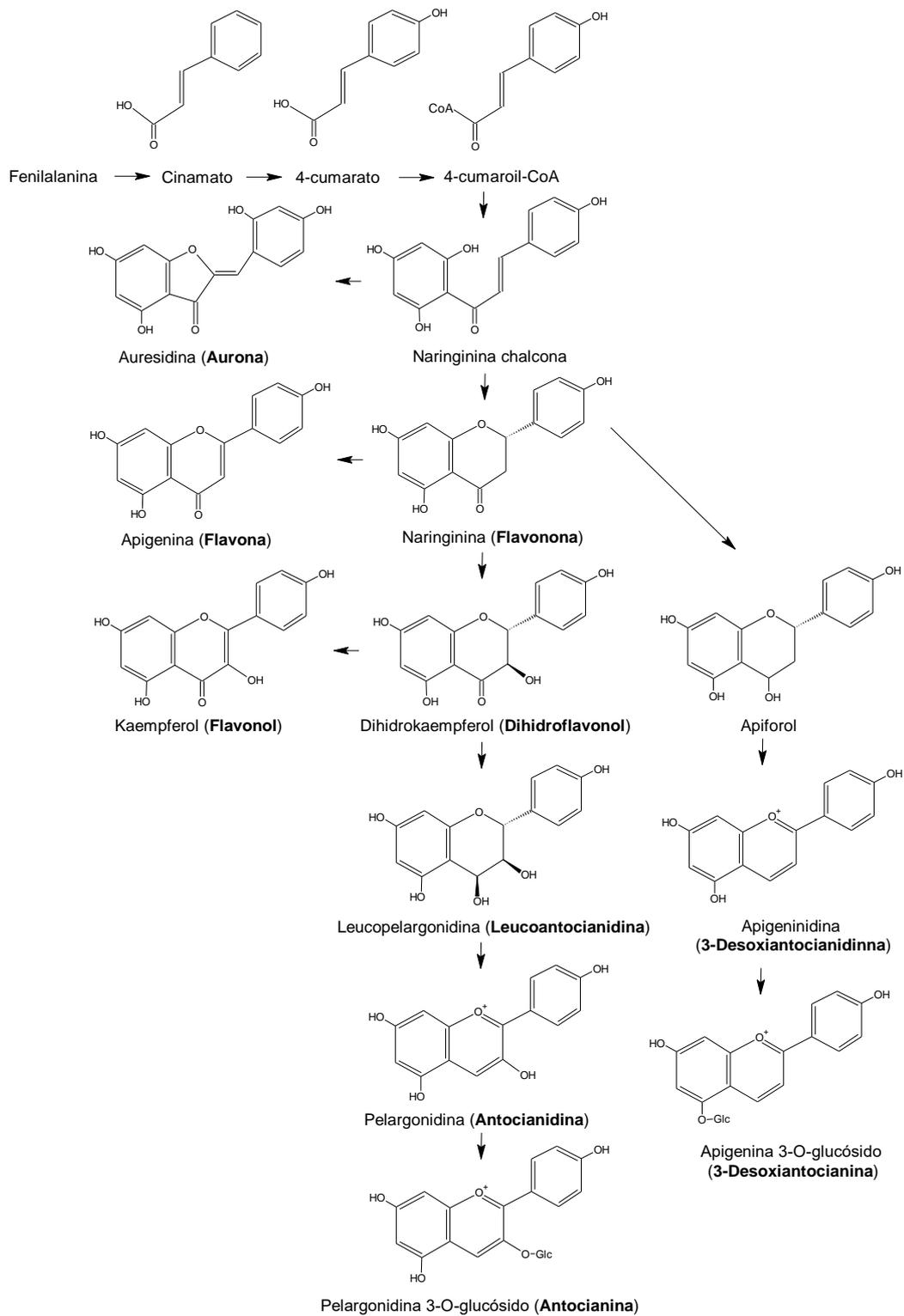


Figura 4. Rutas biosintéticas generales de antocianinas y otros flavonoides que se encuentran en las flores.

2.2.3. Relación estructura actividad de los metabolitos secundarios

Los **compuestos fenólicos** son fuente potencial antioxidante, ya que son muy sensibles de ser oxidados y además tienen la propiedad de impedir que los metales catalicen las reacciones de oxidación. “Los grupos hidróxilos al estar unidos a un anillo bencénico, presentan la posibilidad de que el doblete del átomo de oxígeno sea capaz de interactuar con los electrones del anillo, lo que hace que tenga características distintas al resto de los alcoholes”. Dado a su naturaleza aromática, muestran intensa absorción en la región UV de espectro, siendo este el método espectral especialmente importante para su identificación.²⁰

Los **polifenoles** poseen anillos bencénicos que absorben la radiación UVB, la cual es altamente energética y es la responsable de la formación de radicales libres, estos a su vez protegen a los componentes celulares contra el daño oxidativo a través de la eliminación de estos radicales libres. “La actividad antioxidante de los polifenoles se debe a su interacción con iones metálicos tanto in vitro como in vivo”. “Los iones metálicos son la causa principal de la generación de especies reactivas de oxígeno (EROS) y desempeñan un papel importante en la generación de estrés oxidativo, daños en el ADN y muerte celular”. “Las células responden a los polifenoles principalmente a través de interacción directa con receptores o enzimas involucradas en la transducción de señales, lo que puede modificar el estado redox de la célula y desencadenar una serie de reacciones dependientes de redox”.²¹

Los **flavonoides**, están formados por dos anillos aromáticos y un heterocíclico formando un sistema C₆-C₃-C₆. Los anillos son denominados como A y B para los aromáticos y C para el heterocíclico y varían de acuerdo con los sustituyentes que pueden ser hidróxilos o metóxilos.²² “La capacidad antioxidante de los flavonoides se atribuye a los sustituyentes dihidroxilados en posiciones C₃ y C₄ del anillo B; la evidencia del enlace doble entre los átomos de carbono C₂ y C₃, un grupo hidroxilo libre en C₃ y un grupo carbonilo en C₄ presentan interés biológico y farmacológico, como se presenta en la quercetina”. “La actividad antioxidante de los flavonoides se debe a sus propiedades quelantes de átomos de hierro y el secuestro de los radicales libres”. “Se indica que esta propiedad también está relacionada con una geometría plana, ya que ésta permite una deslocalización mayor de los electrones a través de los anillos”.²³

Los **flavonoides**, son pigmentos naturales presentes en los vegetales, semillas, frutas y tienen la capacidad de proteger contra agentes oxidantes producido por

la radiación UV y por otros factores ambientales. “Estos metabolitos secundarios son pigmentos no fotosintéticos debido a los efectos de fotoprotección que presentan en las plantas, por lo que van a actuar como filtros solares”. “Son capaces de proteger a las células de las plantas, también pueden brindar protección a las células de la piel de los seres humanos, su actividad fotoprotectora se da por la concentración de electrones deslocalizados que posee en los anillos bencénicos de su estructura química, facilitando de esta manera el traslado de la energía”. Los anillos bencénicos absorben la radiación UV-B, la cual es altamente energética y es la responsable de la formación de radicales libres.²⁴

2.2.4. Efectos de la luz UV sobre el organismo

La piel es uno de los órganos más importantes que pueden sufrir estrés oxidativo por la radiación ultravioleta (UV), esto proviene de la radiación ultravioleta solar y se clasifica por su longitud de onda: UVA, UVB y UVC. Es la radiación UV-B la que causa un mayor daño biológico a la piel causando estrés oxidativo, que ocurre por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) y su corrección está mediada por diferentes mecanismos, como la enzima endógena; El superóxido dismutasa (SOD), el glutatión peroxidasa (GPX), la catalasa y los sistemas exógenos no enzimáticos incluyen vitamina E, vitamina C. Los ROS causan daño oxidativo a las proteínas, el ADN y los lípidos, causando múltiples fenómenos inflamatorios, cáncer, inmunosupresión y estructuras. y dañar las células,²⁵

2.2.5. Mecanismos de fotoprotección

La fotoprotección se puede dar por mecanismos físicos, evitando que los rayos del sol penetren la misma. A modo de un espejo reflejan la radiación solar. “Las sustancias que se suelen usar son el óxido de zinc, el dióxido de titanio, el carbonato cálcico (mica) y los compuestos de magnesio”. En el mecanismo químico, las sustancias fotoprotectoras absorben la radiación transformándola en no dañina. “Las sustancias que se suelen usar son derivados del ácido p-amino benzoico (PABA,) salicilatos, cinamatos, benzofenonas, bencimidazoles, antralinatos y derivados terpénicos”. En el mecanismo biológico se contrarrestan los daños que causan en las células de la piel las radiaciones del sol. Los que más se usan son las vitaminas A y E.²⁶

2.2.6. Factor de protección solar

El Factor de Fotoprotección (FPS) es el cociente entre la dosis eritematológica mínima en una piel protegida por un producto de protección solar y la dosis

eritematogena mínima en la misma piel sin proteger. El FPS indica, por tanto, el tiempo que se puede permanecer expuesto al sol con la piel protegida en comparación con la piel sin protección, hasta la aparición del eritema.²⁶

Es el número que se usa para clasificar la “potencia” de los filtros solares. Este número nos dice cuántas veces más tiempo necesita la radiación solar para causar el enrojecimiento en la piel con respecto al que hace falta sin el fotoprotector. Por ejemplo, una crema con un FPS de 10, quiere decir que, si una persona tarda cinco minutos de exposición al sol para que su piel se ponga roja, si se aplica la crema con FPS 10 tendrán que pasar 50 minutos (5 minutos x 10 del FPS) de exposición solar para que se produzca el mismo enrojecimiento.²⁶

En Europa, y por lo tanto en España, para unificar la medición del FPS se ha creado un sistema que se llama COLIPA. Se trata de una agencia distinta e independiente de la del fabricante del producto que se encarga de medir todos los fotoprotectores. Hoy en día el máximo es 50+.²⁶

2.3. Marco conceptual

Actividad antioxidante. “Los antioxidantes protegen el organismo de los radicales libres, moléculas altamente reactivas que pueden dañar el organismo a nivel celular”.²⁷

Antocianina. “Son pigmentos vacuolares solubles en agua que, dependiendo de su pH, pueden aparecer de color rojo, morado, azul o negro”.⁷

Concentración eficiente antioxidante. “Es la concentración que reduce a un 50% la actividad del DPPH”.²⁸

Factor de fotoprotección. “Se denomina factor de protección solar (FPS) al número de veces que el fotoprotector aumenta la capacidad de defensa natural de la piel frente al eritema o enrojecimiento previo a la quemadura”.²⁹

Octilmetoximetilcinamato. “El octinoxato (OMC) es el filtro más usado en los protectores solares, con un pico de acción sobre longitudes de onda hasta 320 nm (UVB); la eficacia del OMC puede aumentar cuando es encapsulado en microesferas de polimetilmetacrilato”.³⁰

Radiación ultravioleta. “El sol emite radiación ultravioleta como parte del espectro electromagnético, que es un componente del amplio espectro solar; la longitud de onda de los rayos ultravioleta se encuentra entre los 200 nm y los 400 nm”.³⁰

2.4. Hipótesis

Hi: El extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana presenta actividad antioxidante y fotoprotectora.

Ho: El extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana no presenta actividad antioxidante ni fotoprotectora.

He:

$$\overline{AA}_{ext} \approx \overline{AA}_{tx}$$

Donde:

\overline{AA}_{ext} : Actividad antioxidante del extracto.

\overline{AA}_{tx} : Actividad antioxidante del trolox.

$$\overline{FPS}_{ext+mx} \neq \overline{FPS}_{mx}$$

Donde:

\overline{FPS}_{ext} : Factor de fotoprotección del extracto hidroalcohólico.

\overline{FPS}_{mx} : Factor de fotoprotección del metoxicinamato.

2.5. Variables

Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de las flores de *B. naudinii*

Indicador:

Concentración del extracto

Variables dependientes

Contenido de antocianinas

Contenido de compuestos fenólicos

Actividad antioxidante

Efecto fotoprotector

Indicador:

Concentración de antocianinas en g/100 g

Actividad antioxidante (%) y concentración media inhibitoria ($\mu\text{g/mL}$)

Índice del factor de protección solar (FPS)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Muestra

Flores de *Brachyotum naudinii* Triana recolectadas en el Bosque de Piedras de Huaraca (13°18'58.9" latitud sur, 74°26'55.8" longitud oeste y una altitud de 3627 msnm), distrito de Vinchos, provincia de Huamanga en la región de Ayacucho en el mes de abril de 2022. La especie fue identificada el 2017 en el Herbarium Huamangensis de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por la Bióloga Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

3.3. Procedimientos experimentales generales

3.3.1. Análisis del contenido de antocianinas

3.3.1.1. Preparación de la muestra

Las flores de *B. naudinii* fueron secadas por liofilización en un liofilizador LABOTEC operado a -42°C y 0,013 mbar durante 72 horas³¹, luego se trituraron en un mortero de porcelana y se almacenaron en envases de aluminio con cierre hermético.

3.3.1.2. Análisis cualitativo de antocianinas

El análisis de diferenciación de antocianinas y betacianinas según lo descrito por Lock de Ugaz³², mediante pruebas de coloración a la gota (Tabla 1). Para ello, se obtuvo un extracto metanólico de color fucsia, a partir de 30 mg de flores liofilizadas de *B. naudini*, mezcladas por ultrasonido y filtradas en filtro nylon de 0,45 µm. Con el extracto metanólico también se realizó un barrido espectral a las

longitudes de onda de 190 a 800 nm utilizando un espectrofotómetro GENESYS 150 UV-Vis.

Tabla 2. Ensayos químicos de coloración para la diferenciación de antocianinas y betacianinas.¹⁹

N°	Ensayo	Antocianina	Betacianina
01	Adición de álcali.	Decoloración lenta de violeta, vía azul y verde, a amarillo.	Decoloración rápida a amarillo.
02	Reacidificación de la solución alcalina después de unos minutos.	El color rojo puede ser regenerado con la acidificación.	El color rojo no es regenerado con la acidificación (podría regenerarse parcialmente si hay una inmediata reacidificación).
03	Adición de amoníaco	Igual comportamiento que con los otros álcalis	El color permanece violeta por algún tiempo, en frío.
04	Adición de acetato de plomo a pH 7,0.	Precipitado azul verdoso o azul grisáceo. La solución decolora lentamente.	Precipitado rojo marrón. La solución permanece violeta.
05	Distribución entre agua y alcohol amílico	La fase alcohol amílico adquiere color rojo a pH ácido.	La fase alcohol amílico no adquiere el color rojo.
06	Extracción del material seco:		
	a) Con etanol absoluto.	Se extrae algo de color rojo.	No se extrae el color rojo.
	b) Con agua destilada.	Se extrae algo del color, siendo el extracto de color verdoso, que se vuelve rojo con acidificación	El color rojo es extraído rápidamente.

3.3.1.3. Análisis por espectrometría de masas (LC-MSMS)

El contenido de antocianinas presentes en las flores liofilizadas de *B. naudinii* fueron confirmadas por cromatografía líquida de ultra-alta performance acoplada a Espectrometría de Masas (LC-MSMS). Para ello, se usó un cromatógrafo líquido Dionex Ultimate 3000 UHPLC system (Thermo Scientific) acoplado a un espectrómetro de masas Q Exactive Plus (Thermo Scientific). Los parámetros

cromatográficos fueron: Columna Luna® Omega C18 100 Å, Phenomenex (150x 2,1 mm, 1,6 µm); temperatura de columna: 40 °C; la fase móvil: H₂O 0,1% HCOOH B: ACN 0,1% HCOOH; gradiente: 90% A y 10% B (0 minutos), 90% A y 10% B (1 minuto), 100% B (16 minutos), 100% B (18 minutos), 90% A y 10% B (20 minutos); el flujo: 0,3 ml/min; volumen de inyección: 3 µL. Los parámetros de scan Full MS: rango de 120 - 1500 m/z; resolución de 70 000; Microscans 1; AGC target: 1 x 10⁶ y máximo IT de 100 ms. Los parámetros MS2 fueron: resolución de 17 500; AGC target de 2 x 10⁶ y máximo IT de 50 ms. Los parámetros de fuente de ionización: fuente y modo de ionización ESI (negativo/positivo); voltaje de spray de 2,5 / 3,0; temperatura de capilar de 280 °C; el gas carrier fue N₂ (flujo de gas envolvente: 40, flujo de gas auxiliar: 10); la temperatura de calentamiento de gas fue 400 °C; S-lens RF level de 100 y Energía de colisión normalizada: 20,40,60.

Para el análisis se pesaron 50 mg de flores liofilizadas en un vial limpio y seco, y se adicionó 10 mL de solución metanol-agua (9:1). La mezcla se colocó en baño de ultrasonido durante 10 min. Luego, la solución se llevó a pH 2 con 50 µL de ácido acético concentrado. La mezcla se pasó a través de un filtro de disco de 0,25 µm PVDF hacia un vial HPLC y se procedió a la lectura en el instrumento.

3.3.1.4. Contenido de compuestos fenólicos y antocianinas

a) Preparación del extracto. El extracto se obtuvo por extracción acelerada con solventes (ASE). Se pesó un gramo de flores liofilizadas y se mezcló con 0,5 g de tierra de diatomeas, la mezcla posteriormente se acondicionó en una celda de extracción de acero inoxidable de 66 mL (provista de un filtro de celulosa de 27 mm) en el Extractor Acelerado de Solventes Dionex™ ASE 150. Los parámetros de extracción del método fueron: temperatura 80° C; tiempo estático de 5 minutos; volumen de enjuague de 60%; tiempo de purga de 120 segundos; 3 ciclos estáticos³³. La extracción se realizó con etanol de 70° acidulado con ácido cítrico a pH 3,18 y el extracto fue concentrado en un rotavapor Buchi R-3000 a 50 °C. El extracto seco se obtuvo mediante secado por aspersión utilizando el Mini Spray Dryer B-290 a una temperatura de entrada de 120°C, porcentaje de bomba 5% y 100% de porcentaje de aspiración³⁴.

b) Contenido de fenoles totales. La cuantificación de fenoles totales en el extracto se realizó usando el reactivo Folin-Ciocalteu (RFC) según lo descrito por Sousa et al.¹⁷. Se preparó una solución del extracto a una concentración de 320 µg/mL en etanol de 50°. Se midió 100 µL de la solución anterior y se adicionó 500 µL de reactivo de Folin (1:10) y 400 µL de Na₂CO₃ al 7,5%. La mezcla reposó por

30 minutos y luego se midió la absorbancia a 765 nm. La concentración de fenoles totales se calculó a partir de la curva patrón de ácido gálico ($y = 0,010 \cdot x + 0,013$) y se expresó en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg GAE/g).

c) Contenido de antocianinas. La cuantificación de antocianinas (TAC) se realizó por el método de pH-diferencial, descrito por Del Carpio Jiménez et al. (2009). Se preparó una solución de extracto de 10 mg/mL en etanol 70°, a partir del cual se prepararon dos soluciones, una solución de 1 mg/mL en buffer pH 1,0 y otra en buffer pH 4,5 por triplicado. Se midió la absorbancia a 520 nm y 720 nm, usando como blanco las soluciones buffer respectivas. Se calculó el TAC (mg/100 g), según la ecuación:

$$\text{Antocianinas totales (mg/100 g)} = \left(\frac{A^* \times PM}{\epsilon \times l} \times FD \times \frac{V_{mp(mL)}}{W_{mp(g)}} \right) \times 100$$

donde, A*: diferencia de absorbancias en las dos longitudes de onda; PM: peso molecular para cianidina-3-glicósido (449,2 g/mol); FD: factor de dilución; ϵ : coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glicósido ($26900 \text{ L}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$); l: longitud de paso de celda (1 cm).

3.3.2. Análisis del potencial antioxidante

3.3.2.1. Ensayo de DPPH

La evaluación del potencial antioxidante mediante el ensayo del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) se realizó según lo descrito por Sousa et al.³⁵ Se prepararon soluciones del extracto liofilizado y Trolox (control positivo) a concentraciones de 25 a 250 $\mu\text{g/mL}$ en etanol de 50°, a partir de una solución de 500 $\mu\text{g/mL}$. Se tomaron alícuotas de 300 μL de cada solución y se adicionó 2,7 mL de solución de DPPH (40 $\mu\text{g/mL}$). Después de 30 minutos se midió la absorbancia a 515 nm calibrando el espectrofotómetro con el blanco (300 μL de agua y 2,7 mL de DPPH). Los porcentajes de DPPH remanente ($\%DPPH_{REM}$) se calcularon a partir de la curva de calibración de la variación de la absorbancia en función de la concentración de DPPH ($y = 0,029 - 0,014 \cdot x$; $R = 0,9983$), de acuerdo con la ecuación:

$$\%DPPH_{REM} = \frac{[DPPH]_C (\mu\text{g/mL})}{[DPPH]_{C=0}} \times 100$$

Donde $[DPPH]_C (\mu\text{g/mL})$ corresponde a la concentración de DPPH después de la reacción con el extracto y el Trolox a concentraciones de 25 a 250 $\mu\text{g/mL}$; $[DPPH]_{C=0}$ es la concentración inicial de DPPH.

La concentración eficiente, cantidad de antioxidante necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH en 50% (CI₅₀), fue determinada utilizando el software OriginPro 8, a partir de una curva exponencial ($y = y_0 + Ae^{R_0x}$) obtenida de los valores del porcentaje de DPPH remanente en función de la concentración del extracto y del Trolox.

El porcentaje de actividad antioxidante (%AA) se calculó por la ecuación:

$$AA(\%) = \left[\frac{A_{\text{control}} - (A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}})}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

Donde A_{control} es la absorbancia inicial de la solución metanólica de DPPH; A_{muestra} es la absorbancia de la mezcla de reacción (DPPH + muestra) y A_{blanco} es la absorbancia del blanco. La comparación del %AA se realizó con los valores obtenidos a la concentración 100 µg/mL.

3.3.3. Evaluación in vitro del factor de protección solar

El factor de Protección Solar (FPS) del extracto liofilizado de las flores de *B. naudinii*, se determinó en base al método espectrofotométrico *in vitro* descrito por Mansur et al.^{24,36}. Este ensayo se realizó diluyendo el extracto en alcohol de 70° hasta obtener una concentración de 10; 20; 100 y 200 µg/mL. La medición de las absorbancias se realizó por triplicado mediante un barrido espectral de 290 a 320 nm. El FPS se calculó de acuerdo con la ecuación desarrollada por Mansur et al.

$$FPS = FC \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times A(\lambda)$$

Donde: FPS es el Factor de Protección Solar; FC el Factor de corrección; EE (λ) es el efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda λ ; I (λ) es la intensidad de sol en la longitud de onda λ y A (λ) es la absorbancia de la solución en la longitud de onda λ .

La relación entre el efecto eritemogénico y la intensidad de la radiación de cada longitud de onda ($EE(\lambda) \times I(\lambda)$) es una constante determinada por Sayre et al.³⁷. (Tabla 2).

Tabla 3. Relación en el efecto eritemogénico (EE) versus Intensidad de radiación (I) conforme a la longitud de onda (λ)

Longitud de onda λ (nm)	Efecto eritemogénico (EE) x (I)
290	0,0150
295	0,0817

300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

Fuente: Sayre en 1979^{24,36}.

3.4. Tipo de investigación

La evaluación del perfil químico de las flores de *B. naudinii* es una investigación básica y la evaluación de su actividad antioxidante y fotoprotectora es una investigación de tipo aplicada³⁸.

3.5. Diseño de investigación

La evaluación de la actividad antioxidante y efecto fotoprotector se realizó a través de un diseño no experimental transeccional descriptivo. El efecto fotoprotector fue comparado con un estándar de referencia (metoxicinamato)³⁸.

G_{exp}	O_1
G_{cont}	O_1

Donde: G_{exp} es el grupo experimental (extracto); G_{cont} es el grupo control (metoxicinamato); y O_1 es la observación (actividad antioxidante y factor de fotoprotección).

3.6. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel y fueron expresados en promedios, representados en figuras y se realizó el análisis de varianza para identificar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) de la actividad antioxidante y factor de fotoprotección de los diferentes tratamientos, aplicándose ANOVA y comparaciones múltiples con la prueba de Tukey³⁹ empleando el programa SPSS.

IV. RESULTADOS

Tabla 4. Resultados del ensayo químico para la identificación de antocianinas y en las flores liofilizadas de *Brachyotum naudinii* Triana.

N°	Ensayo	Observación	Resultado
01	Adición de álcali (KOH)	Cambio de color de fucsia a color azul y amarillo	Positivo antocianinas
02	Reacidificación de la solución alcalina	El color fucsia se regenera	Positivo antocianinas
03	Adición de amoníaco	Color rojizo	Positivo antocianinas
04	Adición de acetato de plomo a pH 7,0	Cambio de color de fucsia a color azul y amarillo	Positivo antocianinas
05	Distribución entre agua y alcohol amílico	La fase amílica de color fucsia	Positivo antocianinas
06	Extracción del material seco:		
	a) Con etanol absoluto	Color guindo	Positivo antocianinas
	b) Con agua destilada	Color guindo que se torna de color rojo al adicionar HCl (c)	Positivo antocianinas

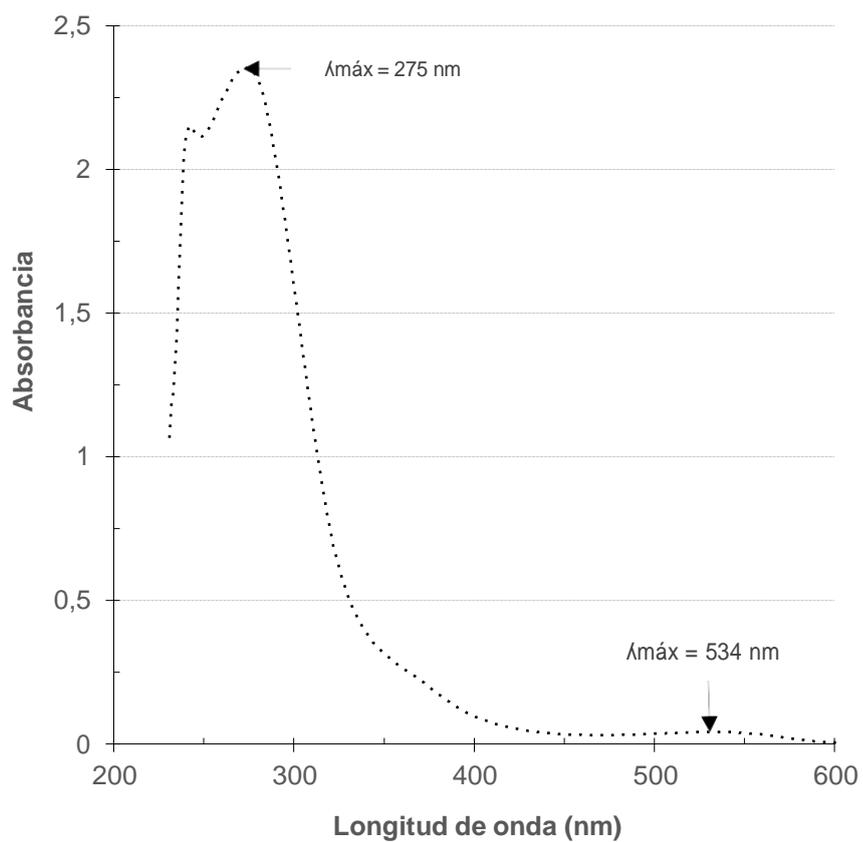


Figura 5. Espectro de absorbancia para la identificación de antocianinas en las flores liofilizadas de *Brachyotum naudinii* Triana.

Tabla 5. Propuesta de identificación de los compuestos químicos de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana

N°	T _R (min)	MS-ESI ⁻	MS ²	Error (ppm)	MS-ESI ⁺	MS ²	Error (ppm)	Masa nominal del compuesto	Fórmula molecular	Estructura tentativa
20	10,83	787,2094	665,1670	-0,26	771,2130 [M-H ₂ O+H] ⁺	639,1700	-0,18	787	C ₃₇ H ₃₄₁ O ₁₉ ⁺	Antocianina desconocida (nuevo compuesto)
			501,1039			463,1227				
			479,1196			331,0810				
			347,0773			315,0494				
			329,0666			299,0546				
			314,0434			287,0547				
			261,0770			270,0517				
			193,0137			242,0571				
			165,0187							
			149,0237							
137,0236										
21	11,0	829,2201	637,1564	1,52	813,2230 [M-H ₂ O+H] ⁺	639,1701	-0,70	861	C ₃₉ H ₄₂ O ₂₀ ⁺	Antocianina desconocida (nuevo compuesto)
			521,1302			505,1329				
			501,1040			331,0810				
			347,0773			315,0495				
			329,0668			287,0547				
			314,0432			270,0518				
			299,0198			242,0571				
			193,0138							
			165,0187							
			149,0237							
137,0236										
123,0079										
23	11,31	859,2302	667,1663	1,19	843,2331 [M-H ₂ O+H] ⁺	669,1804	-1,34	861	C ₄₀ H ₄₅ O ₂₁ ⁺	Antocianina desconocida (nuevo compuesto)
			521,1302			505,1294				
			347,0771			331,0810				
			329,0668			315,0496				
			314,0434							
			299,0199							
			193,0138							
			165,0187							
			149,0237							

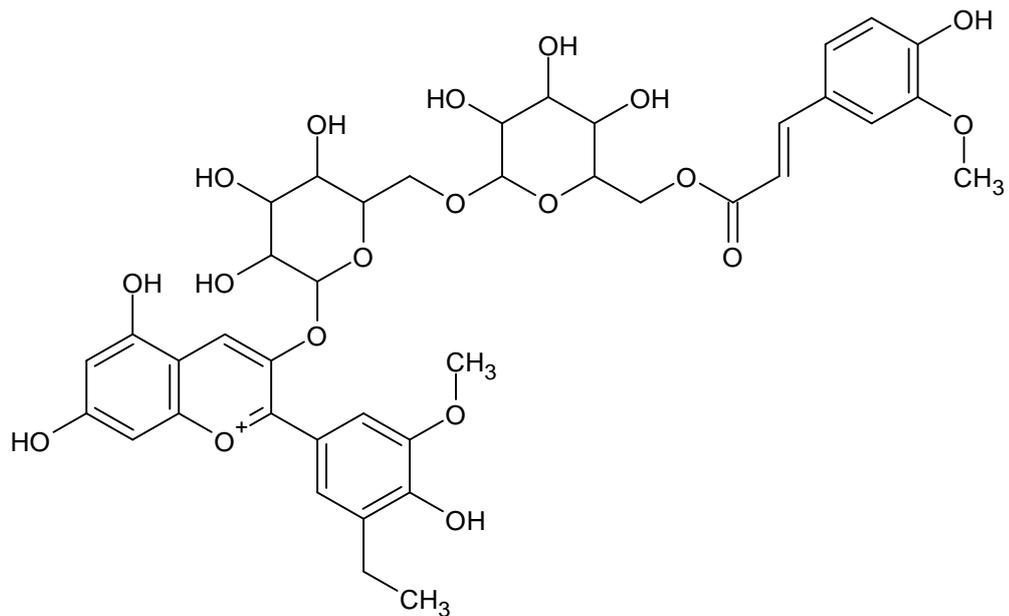


Figura 7. Posible estructura de antocianina presente en las flores de *Brachyotum naudinii* Triana (nuevo compuesto; Masa nominal del compuesto: 831)

Tabla 6. Contenido de compuesto fenólicos, antocianinas y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana

Muestra	TPC	TAC	DPPH	
	[mg GAE/g]	[g/100 g]	AA (%)	Cl ₅₀ [µg/mL]
<i>B. naudinii</i>	194,84 ± 4,07	1148,6 ± 59,9	49,2 ± 0,7*	66,37 ± 0,9*
Trolox	-	-	93,5 ± 0,2*	31,9 ± 0,1*

La comparación de la actividad antioxidante se realizó a 100 µg/mL

Tabla 7. Efecto fotoprotector solar *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana

λ (nm)	EE x I (normalizado)	Extracto hidroalcohólico acidulado de flores de <i>B. naudinii</i> (20 $\mu\text{g/mL}$)		Octilmetoxicinamato (20 $\mu\text{g/mL}$)	
		Absorbancia	SPF	Absorbancia	SPF
290	0,015	0,16058	0,0024	3,95	0,0593
295	0,0817	0,15799	0,0129	4,21	0,3437
300	0,2874	0,15839	0,0455	3,98	1,1424
305	0,3278	0,1587	0,0520	3,75	1,2296
310	0,1864	0,16004	0,0298	3,71	0,6919
315	0,0839	0,16457	0,0138	3,60	0,3017
320	0,018	0,17502	0,0032	3,43	0,0617
	1,0002		0,1596		3,8303
			1,6603*		39,835*

V. DISCUSIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el contenido de antocianinas del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana; así como, su actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro*.

En primer término, se realizó la confirmación del tipo de pigmento presente en las flores de *B. naudinii*. Así, en la Tabla 4 se muestra los resultados del ensayo químico para la identificación de antocianinas en las flores liofilizadas de *B. naudinii*. Esta prueba se realizó para confirmar la presencia de antocianinas y descartar la sospecha de presencia de betacianinas en las flores de *B. naudinii*, debido a que se observó que las flores presentan un color púrpura y azulados cuando crecen bajo la sombra, mientras que las que crecen expuestas al sol presentan un color rojo púrpura (Anexo 2). Al respecto, Lock de Ugaz¹⁹, refiere que la diferenciación entre betacianinas y antocianinas puede realizarse por electroforesis o ensayos simples de coloración. Los resultados permiten concluir que el pigmento presente en las flores de *B. naudinii* corresponden a antocianinas. Los resultados presentados en el Tabla 4, concuerdan con lo reportado por Palomino¹, quien identificó mediante pruebas de coloración, la presencia de antocianinas en un extracto atomizado de las flores de *B. naudinii*.

En la línea de determinar la presencia de antocianinas, la Figura 5 muestra el espectro de absorción para la identificación de antocianinas en las flores liofilizadas de *B. naudinii*. En ella, se evidencia dos longitudes de onda máxima absorción, a 275 nm y 534 nm. Lock de Ugaz¹⁹, respecto a la identificación de antocianinas, refiere que las antocianinas simples en solución ácida tienen dos máximos de absorción principales, uno en la región visible entre 465 y 550 nm y otro más pequeño en el UV, alrededor de los 275 nm. Según las propiedades de las antocianinas más comunes, la longitud de onda de máxima absorción de las flores de *B. naudinii* coinciden con las antocianinas derivadas de la malvidina como la malvidina-3-glicósido, malvidina-3-galactósido y malvidina-3,5-diglucósidos, las

cuales presentan una absorción máxima a 534 nm¹⁹. El espectro de absorción del extracto de las flores de *B. naudinii*, confirman la presencia de antocianinas.

Para determinar las antocianinas presentes en las flores de *B. naudinii* se obtuvo el perfil químico de metabolitos de un extracto metanólico de las flores liofilizadas, perfil que fue obtenido mediante análisis espectrométrico no dirigido, empleando un sistema de cromatografía líquida (LC) acoplado a un espectrómetro de masas híbrido cuadrupolo-orbitrap.

Del análisis químico de las flores de *B. naudinii* se reporta tres compuestos no identificados por la base de datos espectral, los cuales aparentemente corresponderían a antocianinas (Tabla 5, Figura 6 y 7). Al respecto, reportes previos han identificado la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y triterpenos en el género *Brachyotum*^{10,11} y en la familia Melastomataceae^{40,41}.

Ampliando el análisis de los resultados, la identificación de antocianinas por espectrometría de masas generalmente se realiza en modo positivo, debido a que estas moléculas son fácilmente protonables a pH ácido^{42,43}; sin embargo, es difícil distinguir las antocianinas de los glicósidos de flavonoles en matrices vegetales complejas usando el modo de ionización positivo, debido a que ambos tienen similares iones moleculares y patrones de fragmentación⁴³. En contraste a ello, en modo negativo las antocianinas describen un patrón de ionización y fragmentación característico^{42,43}. Debido a ello se trabajó tanto en modo positivo como en modo negativo. El ion fragmento característico de la aglicona cianidina es 287 en modo positivo⁴¹⁻⁴³. Este ion fragmento en modo positivo ha sido detectado en los 3 compuestos que no han podido ser identificados por la base de datos (compuestos 20, 21 y 23), debido a ello, consideramos que estos 3 compuestos corresponden a antocianinas, hecho que deberá ser confirmado por un análisis posterior mediante análisis por resonancia magnética nuclear (RMN). Esta hipótesis está sustentada también por la detección de antocianinas en los ensayos previos de screening fitoquímico realizado por este grupo de trabajo y la presencia de estas moléculas en el género *Brachyotum* y en la familia Melastomataceae reportados por otros autores.

A la evidencia de los resultados, podemos mencionar que las plantas constituyen un reservorio inagotable de moléculas bioactivas de enorme variabilidad estructural y actividad biológica. Asimismo, la exquisita especialización de la maquinaria biosintética de las plantas ha sido moldeada a través de millones de

años de evolución para desarrollar los mecanismos moleculares necesarios para la síntesis de metabolitos activos que son usados como armas químicas de defensa frente a los depredadores; es esta misma maquinaria la que usan para sintetizar moléculas como respuesta al stress abiótico del medio en el que viven para adaptarse y sobrevivir.

Es así como las plantas han llegado a un grado tal de sofisticación, que cada parte de esta tiene su propia huella de metabolitos. En el género *Brachyotum* se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas con actividad antioxidante y fotoprotectora¹¹, así como triterpenos, ácido corosólico y ácido ursólico con actividad frente a *Plasmodium*¹⁰. La familia Melastomataceae biosintetiza una gran variedad de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, taninos y triterpenos, con actividad antioxidante, antimicrobiana y antitumoral^{10,11,40}.

Los compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas son sintetizados como mecanismo de defensa frente a depredadores y al stress abiótico generado por la sequía, salinidad, cambios de pH y radiación ultravioleta^{44,45}. El elevado porcentaje de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas hallados en flores de *B. naudinii*, la actividad antioxidante y fotoprotectora reportada en trabajos previos¹¹, y la adaptación de esta especie a climas con alta radiación, soportan la hipótesis de que esta especie biosintetiza estos compuestos como mecanismo de defensa frente a la radiación UV.

De la evaluación del contenido de fenoles totales (TFC) y antocianinas (TAC), en la Tabla 6, se observa que las flores de *B. naudinii* presentan un TFC de $194,84 \pm 4,07$ mg GAE/g y un TAC de $1148,6 \pm 59,9$ g/100. El TFC concuerda en cierta medida con lo reportado por Palomino¹, quien evaluó el TFC en un extracto atomizado de flores de *B. naudinii* utilizando etanol de 70° acidulado con ácido cítrico a pH 3,18 reportando un TFC de $216,0 \pm 1,6$ mg GAE/g; aunque no concuerda con el TAC ya que obtuvo un valor de $75,5 \pm 2,1$ g/100. El contenido de antocianinas está relacionado con su acumulación, la cual requiere luz y generalmente coincide con períodos de alta presión de excitación y mayor potencial de daño fotooxidativo debido a un desequilibrio entre la captura de luz, asimilación de CO₂ y utilización de carbohidratos⁴⁶. Por lo que se sugiere comparar el contenido de antocianinas en flores expuesta a sombra y con exposición solar directa, ya que se evidenció cambios en la coloración de púrpura a rojo púrpura respectivamente.

La actividad antioxidante del extracto de flores de *B. naudinii*, evaluada por el método de DPPH, reporta un valor de $49,2 \pm 0,7$, valor estadísticamente menor ($p < 0,05$) al Trolox que reporta un valor de $93,5 \pm 0,2\%$ (Tabla 6). Cabe mencionar que los valores de actividad antioxidante fueron comparados a una concentración del extracto y/o Trolox de $100 \mu\text{g/mL}$. Así mismo, para una mejor comparación la Tabla 5, también presenta los valores de concentración media inhibitoria de la actividad antioxidante (CI_{50}), con valores de $66,4 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ para el extracto y de $31,9 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$, siendo estadísticamente diferentes. Cabe mencionar que a menor CI_{50} mayor es la actividad antioxidante. Las flores de *B. naudinii*, no solo presentan antocianinas, sino también presenta otros compuestos fenólicos como los flavonoides, fenoles y/o taninos, cumarinas¹, los cuales son responsables de la actividad antioxidante. Estos resultados sugieren indagar e identificar que compuestos fenólicos y otras están presentes en las flores de *B. naudinii*, por lo que se recomienda continuar estudiando la composición química de esta especie vegetal.

Aunque se ha sugerido que las antocianinas pueden actuar como antioxidantes, la asociación entre las antocianinas y el estrés oxidativo parece relacionarse con la capacidad de las antocianinas para reducir la presión de excitación y, por lo tanto, el potencial de daño oxidativo⁴⁶.

Respecto al efecto fotoprotector, el extracto de las flores de *B. naudinii*, presenta un valor de Factor de Fotoprotección Solar (FPS) de 1,7 a una concentración de $20 \mu\text{g/mL}$ y el octilmetoxicinamato presentó un valor de FPS de 39,8 ($p < 0,05$) (Tabla 7). La literatura refiere que al evaluar el FPS *in vitro*, valores de FPS superiores a 14 constituyen potenciales materias primas a ser incorporadas en formulaciones junto a filtros químicos⁴⁷. Por lo que se concluye que el extracto de flores de *B. naudinii*, presentan escaso efecto fotoprotector solar *in vitro*.

El contenido de fenoles totales y su respectiva actividad antioxidante sugieren evaluar otras actividades biológicas. Si bien es cierto, no existe evidencia etnofarmacológica del uso medicinal de las flores de esta especie; sin embargo, se podría evaluar la actividad biológica teniendo como fundamento información etnofarmacológica e investigaciones en especies del mismo género. El hallazgo del contenido de antocianinas y de compuestos fenólicos en las flores de *B. naudinii*, lo convierte en un potencial terapéutico, en la industria alimentaria y cosmética y se recomienda continuar los estudios químicos y biológicos.

VI. CONCLUSIONES

- 1) Se determinó el contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.
- 2) Las flores de *Brachyotum naudinii* Triana presentan tres nuevos compuestos correspondiente a antocianinas no identificadas.
- 3) El contenido de antocianinas de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana es de $1148,6 \pm 59,9$ g/100 g de extracto; asimismo presenta un contenido de fenoles totales de $194,84 \pm 4,07$ mg GAE/g.
- 3) La actividad antioxidante *in vitro* por el método DPPH del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana a la concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ es de $49,2 \pm 0,7\%$ y su concentración media inhibitoria es de $66,4 \pm 0,9$ $\mu\text{g/mL}$.
- 4) El extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana presenta escasa actividad fotoprotectora solar *in vitro*.

VII. RECOMENDACIONES

- 1) Los compuestos de antocianinas presentes en las flores de *Brachyotum naudinii* Triana deben ser aislados y analizados mediante técnicas espectroscópicas con la finalidad de determinar las estructuras correctas.
- 2) El hallazgo del contenido de antocianinas y de compuestos fenólicos en las flores de *B. naudinii*, lo convierte en un potencial terapéutico, en la industria alimentaria y cosmética y se recomienda continuar los estudios químicos y biológicos.
- 3) Realizar estudios de la actividad antioxidante a nivel enzimático y molecular de los pigmentos y compuestos fenólicos presentes en las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Palomino R. Contenido de fenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana [Tesis pregrado]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2018.
2. Paz R. Guía de identificación de plantas comunes del derecho de vía del ducto de Perú LNG [Internet]. Lima; 2012 [cited 2021 Sep 22]. Available from: <https://bit.ly/3zCY19M>
3. Harborne JB, Grayer RJ. Flavonoids and insects. In: *The flavonoids*. Routledge; 2017. p. 589–618.
4. Janna OA, Khairul A, Maziah M, Mohd Y. Flower pigment analysis of *Melastoma malabathricum*. *Afr J Biotechnol*. 2006;5(2):170–4.
5. Ibáñez SL, Loayza KE, Yapu EL, Lizarazu J, Zeballos R, Solares T. A screening for natural colorants in the Zongo Valley with probable antioxidant and/or photo-protector activities. *Investigación & Desarrollo*. 2016;1(16):5–24.
6. Ocampo Serna D, Isaza Martínez JH. Phenolics and Polyphenolics from *Melastomataceae* Species. *Molecules*. 2015 Sep 25;20(10):17818–47.
7. Gould K, Davies KM, Winefield C. *Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications*. New Yprk: Springer; 2009.
8. Maske PP, Lokapure SG, Nimbalkar D, Malavi S, D'souza JI. 1. Maske PP, Lokapure SG, Nimbalkar D, Malavi S, D'souza JI. In vitro determination of sun protection factor and chemical stability of *Rosa kordesii* extract gel. *J Pharm Res*. 2013 Jun 1;7(6):520–4. In vitro determination of sun protection factor and chemi. *J Pharm Res*. 2013 Jun 1;7(6):520–4.
9. F'guyer S, Afaq F, Mukhtar H. Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2003;19(2):56–72.
10. Ibáñez-Calero S, Jullian V, Chevalley-Maurel S, Michel L, Bravo J, Gimenez A, et al. Application of ferriprotoporphyrin biocrystallization inhibition test to find antiplasmodial compounds in the flora of the “Zongo valley” – Bolivia. *Revista Boliviana de Química*. 2012;29(1):71–9.
11. Ibáñez-Calero SL, Loayza Afonso KE, Yapu Tapia EL, Lizarazu J, Zeballos Espinoza R, Solares Gironda T. A screening for natural colorants in the

- Zongo valley with probable antioxidant and/or photo-protector activities. INVESTIGACION & DESARROLLO. 2016;16(1):5–24.
12. Krishnaprabha M, Pattabi M. Melastoma Malabathricum Flower Extract Mediated Rapid Synthesis of Spherical Gold Nanoparticles. Mater Today Proc. 2019;9:133–41.
 13. Janna OA, Khairul AK, Maziah M. Anthocyanin stability studies in Tibouchina semidecandra L. Food Chem. 2007;101(4):1640–6.
 14. Francis FJ, Draetta I, Baldini V, Iadaroza M. New Anthocyanins from Tibouchina granulosa1. Journal of the American Society for Horticultural Science. 1982;107(5):789–91.
 15. Harborne JB. Plant polyphenols—XI.: The structure of acylated anthocyanins. Phytochemistry. 1964;3(2):151–60.
 16. Bobbio FO, Bobbio PA, Degáspari CH. Anthocyanins from Tibouchina grandiflora. Food Chem. 1985;18(2):153–9.
 17. Milani LPG, Garcia NOS, Morais MC, Dias ALS, Oliveira NL, Conceição EC. Extract from by product Psidium guajava standardized in ellagic acid: additivation of the in vitro photoprotective efficacy of a cosmetic formulation. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2018;28(6):692–6.
 18. Catelan TBS, Gaiola L, Duarte BF, Cardoso CAL. Evaluation of the in vitro photoprotective potential of ethanolic extracts of four species of the genus Campomanesia. J Photochem Photobiol B [Internet]. 2019;197(November 2018):111500. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.04.009>
 19. Lock de Ugaz O. Colorantes naturales. 1ra ed. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, editor. Lima; 1997. 1–356 p.
 20. Peñarrieta JM, Tejada L, Mollinedo P, Vila JL, Bravo JA. Phenolic compounds in food [Internet]. Vol. 31, Bolivian Journal of Chemistry. 2014 [cited 2021 Oct 3]. Available from: <https://bit.ly/3l9mpvu>
 21. Saric S, Sivamani RK. Molecular Sciences Polyphenols and Sunburn. Available from: www.mdpi.com/journal/ijms
 22. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutr Hosp. 2012;27(1):76–89.
 23. Medina KD, Echaiz M de los M. Actividad antioxidante y fotoprotectora UVB in vitro de una crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso

- lío-filizado del tubérculo de Dioscorea trifida L.f. (sacha papa morada) [Internet] [Tesis pregrado]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019 [cited 2021 Oct 3]. Available from: <https://bit.ly/3lcVhvT>
24. Santamaría Tapia SA, Vinuesa D. Evaluación de la actividad Fotoprotectora In Vitro de extractos de Passiflora manicata (Juss.) Pers [Internet] [Tesis pregrado]. Vol. Bachelor. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2016 [cited 2021 Oct 3]. Available from: <https://bit.ly/3iyexIE>
 25. Olarte S M, Sánchez R SH, Aréchiga F CF, Bañuelos V R, Ramírez A ED, López L A. Daño y respuesta celular en piel por exposición prolongada a radiación UV/Cell response and skin damage by prolonged exposure to UV radiation. Rev ANACEM [Internet]. 2015 [cited 2021 Oct 3];9(1):44–51. Available from: <https://bit.ly/3izWqvL>
 26. Garrote A. Fotoprotección. 2008 [cited 2021 Oct 3];27. Available from: <https://bit.ly/3lamv6h>
 27. Martínez S, González J, Culebras JM, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. 2002;17(6):271–8.
 28. Sousa CM de M, Rocha e Silva H, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, da Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quim Nova. 2007;30(2):351–5.
 29. Moreno MI, Moreno LH. Fotoprotección. Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica. 2010;18(1):31–9.
 30. Moreno MI, Moreno LH. Fotoprotección. Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica. 2010;18:31-39.
 31. Barros F, Dykes L, Awika JM, Rooney LW. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds from sorghum brans. J Cereal Sci. 2013 Sep 1;58(2):305–12.
 32. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Lima-Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica el Perú; 1994.
 33. Sarker SD, Nahar L. Methods in Molecular Biology. 3a ed. Humana Press, editor. London; 2012. 552 p.
 34. Kanojia G, ten Have R, Brugmans D, Soema PC, Frijlink HW, Amorij JP, et al. The effect of formulation on spray dried Sabin inactivated polio vaccine. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2018;129:21–9.

35. Sousa CM de M, Silva HR e, Vieira GM, Ayres MCC, da Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova*. 2007;30(2):351–5.
36. Almeida WA da S, Antunes A dos S, Penido RG, Correa HS da G, Nascimento AM do, Andrade ÂL, et al. Photoprotective activity and increase of SPF in sunscreen formulation using lyophilized red propolis extracts from Alagoas. *Revista Brasileira de Farmacognosia [Internet]*. 2019;29(3):373–80. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.02.003>
37. Sayre RM, Agin PP, LeVee GJ, Marlowe E. A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens. *Photochem Photobiol*. 1979 Mar;29(3):559–66.
38. Hernández R, Fernández C, Baptista P. *Metodología de la investigación*. 5a ed. México: McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. DE C.V.; 2010.
39. Daniel WW. *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 3a ed. México: EDITORIAL LIMUSA. S.A de C.V.; 1991.
40. Ocampo D, Isaza J. Phenolics and Polyphenolics from Melastomataceae Species. *Molecules*. 2015;20(10):17818–47.
41. Solarte N, Cejudo-Bastante MJ, Hurtado N, Heredia FJ. First accurate profiling of antioxidant anthocyanins and flavonols of *Tibouchina urvilleana* and *Tibouchina mollis* edible flowers aided by fractionation with Amberlite XAD-7. *Int J Food Sci Technol*. 2022;57(4):2416–23.
42. Mansour KA, Moustafa SF, Abdelkhalik SM. High-Resolution UPLC-MS Profiling of Anthocyanins and Flavonols of Red Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra DC.) Cultivated in Egypt and Evaluation of Their Biological Activity. *Molecules*. 2021 Dec 14;26(24):7567.
43. Sun J, Lin L ze, Chen P. Study of the mass spectrometric behaviors of anthocyanins in negative ionization mode and its applications for characterization of anthocyanins and non-anthocyanin polyphenols. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2012 May 15;26(9):1123–33.
44. Kiani R, Arzani A, Mirmohammady Maibody SAM. Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Activity Involved in Salt Tolerance in Wheat, *Aegilops cylindrica* and Their Amphidiploids. *Front Plant Sci*. 2021 Mar 25;12.
45. Berland H, Albert NW, Stavland A, Jordheim M, McGhie TK, Zhou Y, et al. Auronidins are a previously unreported class of flavonoid pigments that

challenges when anthocyanin biosynthesis evolved in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2019 Oct 16;116(40):20232–9.

46. Steyn WJ, Wand SJE, Holcroft DM, Jacobs G. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. *New Phytologist*. 2002 Sep 20;155(3):349–61.
47. Maske PP, Lokapure SG, Nimbalkar D, Malavi S, D'souza JI. In vitro determination of sun protection factor and chemical stability of *Rosa kordesii* extract gel. *J Pharm Res*. 2013 Jun;7(6):520–4.

ANEXOS

Anexo 1. Identificación taxonómica de *Brachyotum naudinii* Triana



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

C E R T I F I C A

Que, el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos "Marco A. Garrido Malo", ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	MYRTALES
FAMILIA	:	MELASTOMATACEAE
GENERO	:	Brachyotum
ESPECIE	:	<i>Brachyotum naudinii</i> Triana.
N.V.	:	"qihwncha"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 2 de Junio del 2017

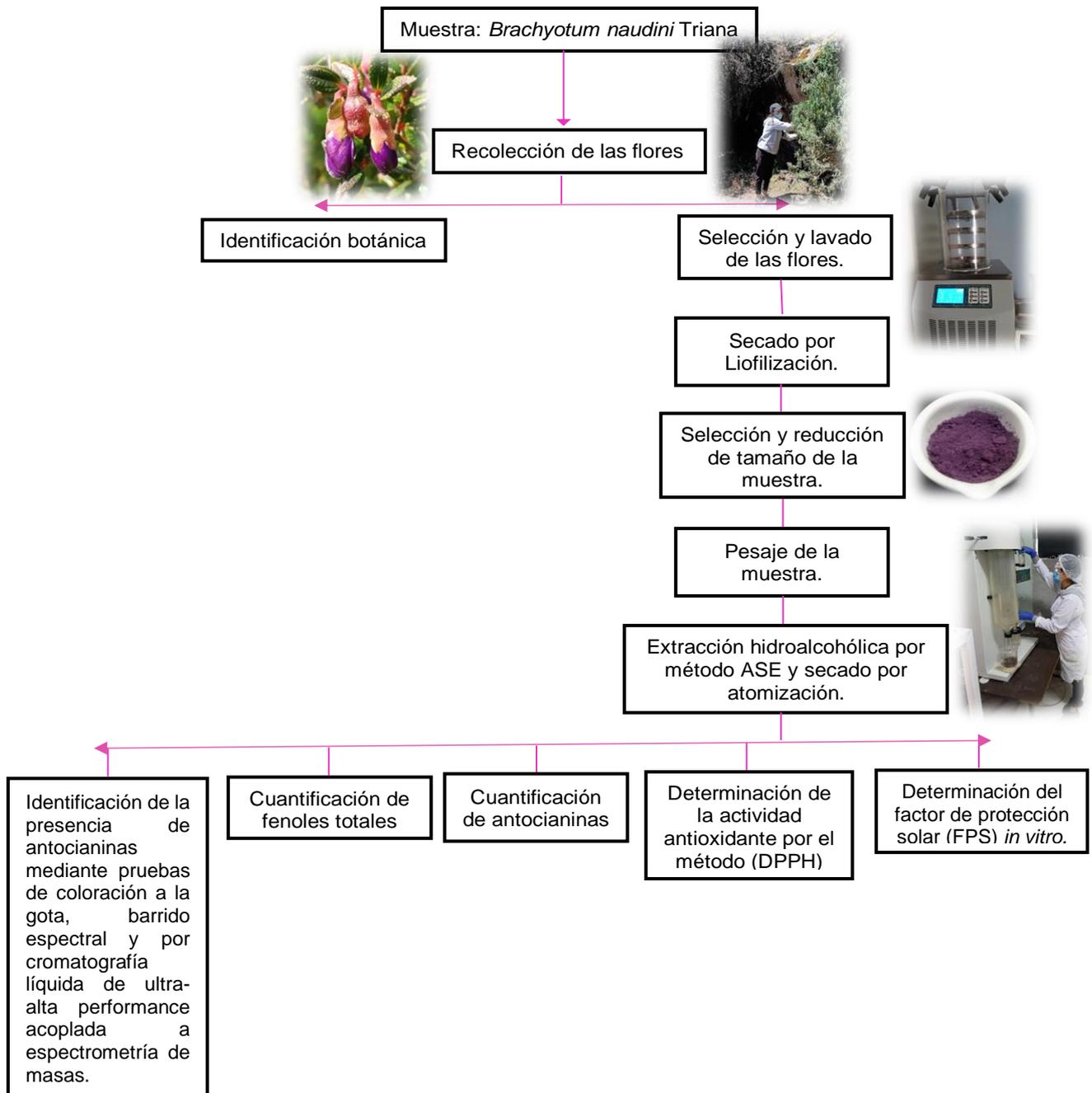
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

JEFE

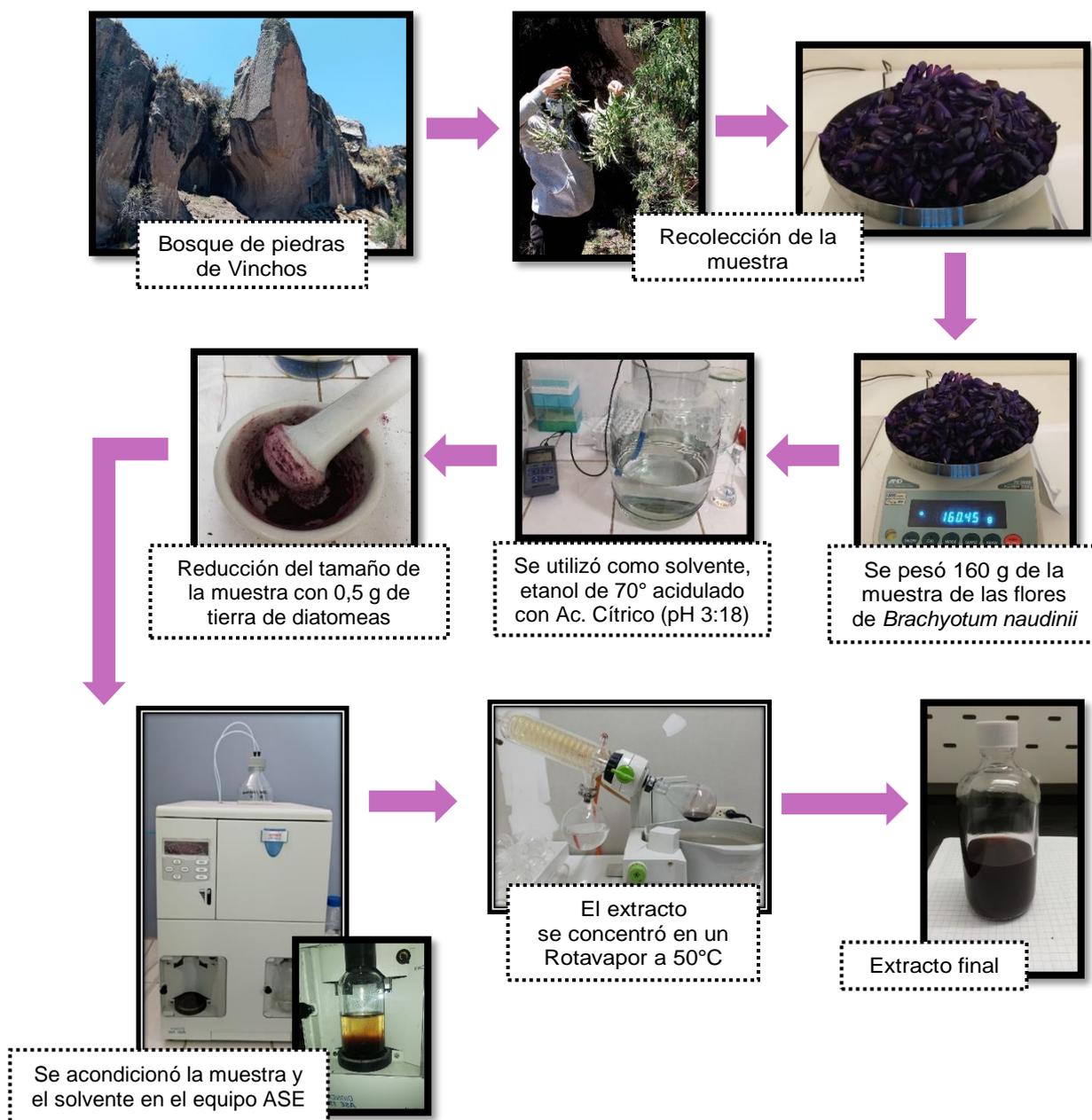
Anexo 2. Fotografía de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana del Bosque de Piedras de Huaraca



Anexo 3. Flujograma del procedimiento experimental del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.



Anexo 4. Procedimiento de la obtención del extracto hidrolalcohólico por el método ASE de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.



Anexo 5. Procedimiento para la obtención de un polvo fino, por medio del secado por aspersión del extracto hidrolalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.



Equipo: atomizador BUCHI Mini Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo y Análisis y control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos.



Dependiendo de la muestra y el método la T° se puede manipular a 120°C.



El extracto atomizado se almacena en sobres con cierre hermético.

- Almacenar en un desecador para su posterior uso debido a su alta higroscopicidad.

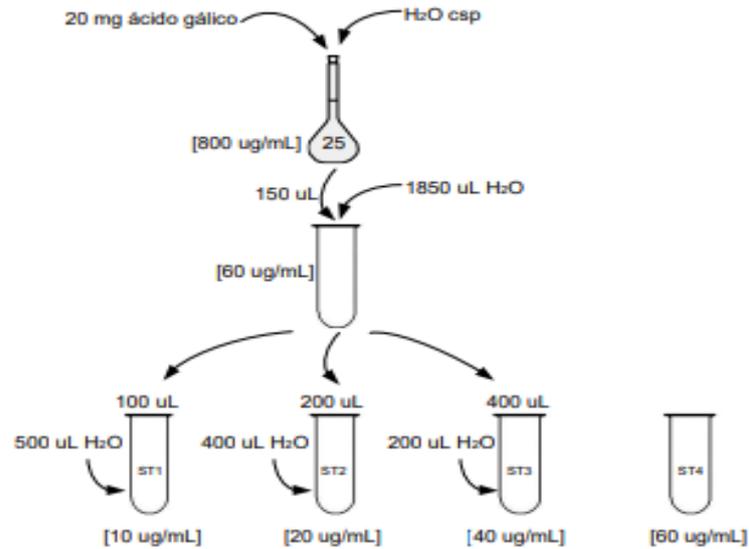


La muestra se atomizo por una hora y media aproximadamente, y así se obtiene un polvo fino de la muestra.

Anexo 6. Flujograma del procedimiento experimental de la cuantificación de fenoles totales del extracto hidrolalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES

1. Preparación de la solución stock de ácido gálico (Stock Ac'gal.)

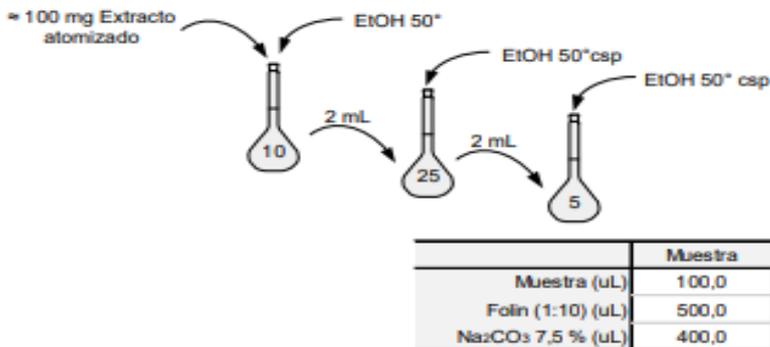


2. Preparación de la curva de calibración de ácido gálico

	ST1 [10 ug/mL]	ST2 [20 ug/mL]	ST3 [40 ug/mL]	ST4 [10 ug/mL]	Blanco
Stock Ac'gal. (uL)	100,0	100,0	100,0	100,0	-
Folin (1:10) (uL)	500,0	500,0	500,0	500,0	500,0
Na ₂ CO ₃ 7,5 % (uL)	400,0	400,0	400,0	400,0	400,0
H ₂ O (d) (uL)	-	-	-	-	100,0

Reposar 30 minutos y leer la Absorbancia a 765 nm.

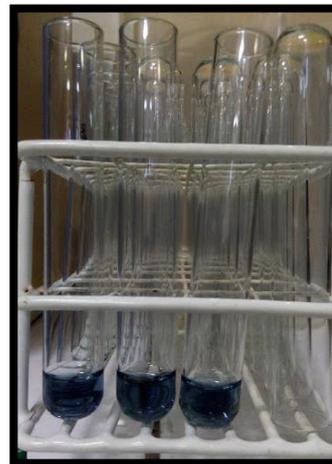
3. Preparación de la muestra



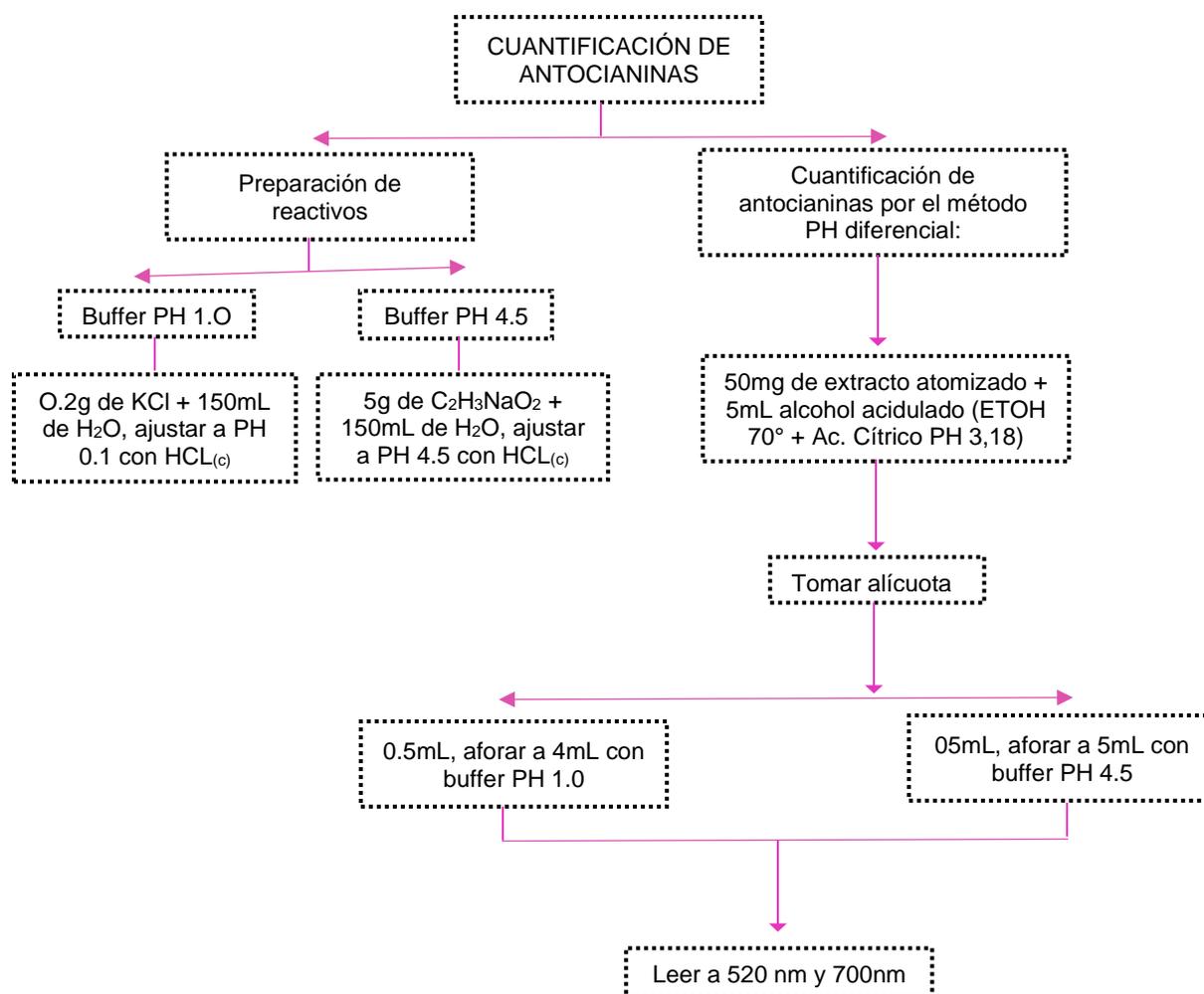
Reposar 30 minutos y leer la Absorbancia a 765 nm.

Fuente: Centro de desarrollo, Análisis y control de Calidad de Medicamentos y Fitimedamentos (CEDACMEF).

Anexo 7. Cuantificación de fenoles totales en el extracto hidrolalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

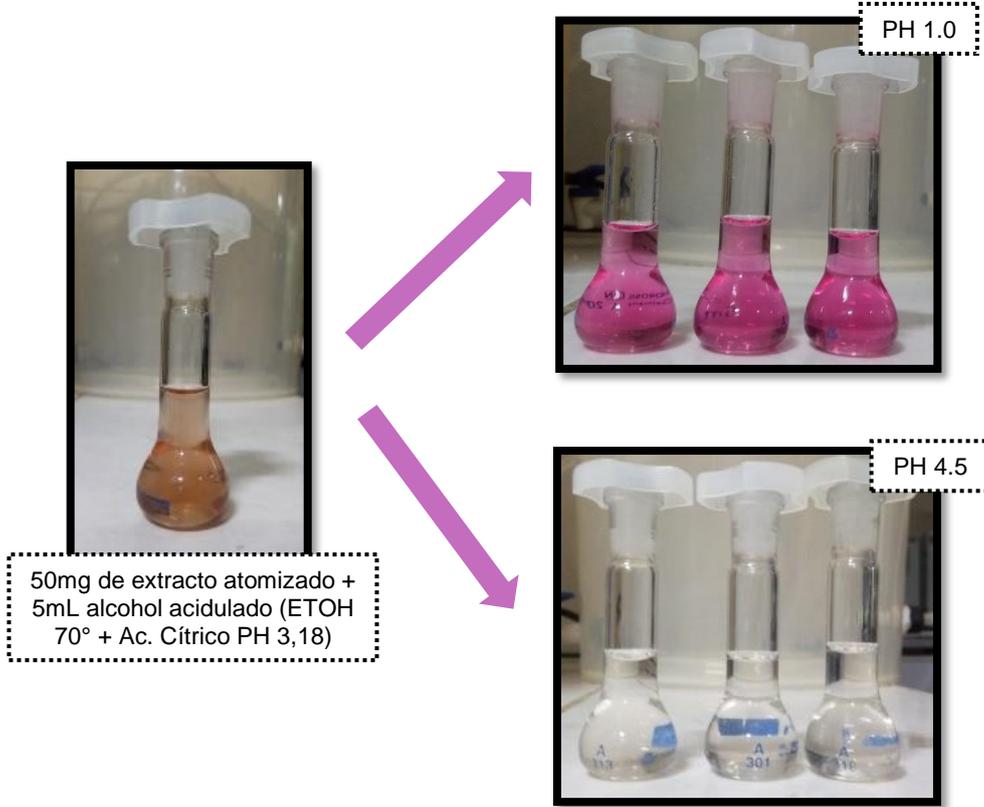


Anexo 8. Flujograma del procedimiento experimental de la cuantificación de antocianinas del extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana. Ayacucho 2022



- Blanco: con el buffer preparado para cada PH.
- La absorbancia se realizará por triplicado.

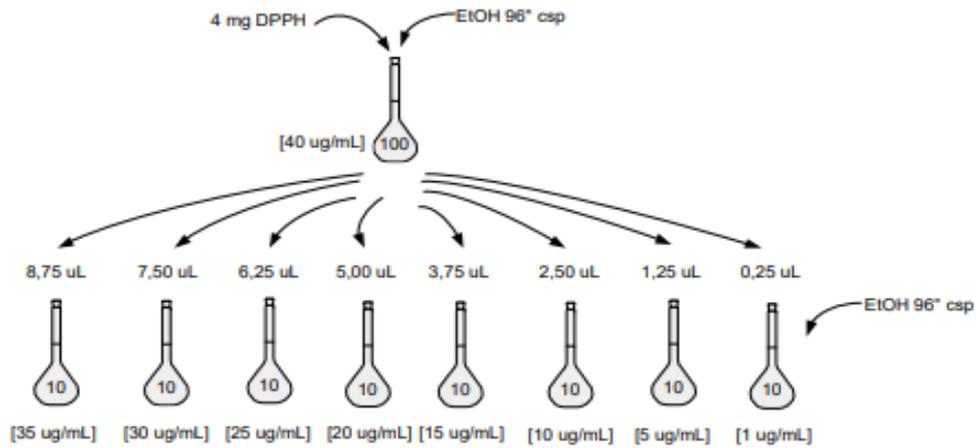
Anexo 9. Cuantificación de antocianinas del extracto hidrolalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.



Anexo 10. Flujograma del procedimiento experimental de la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidrolalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE - DPPH

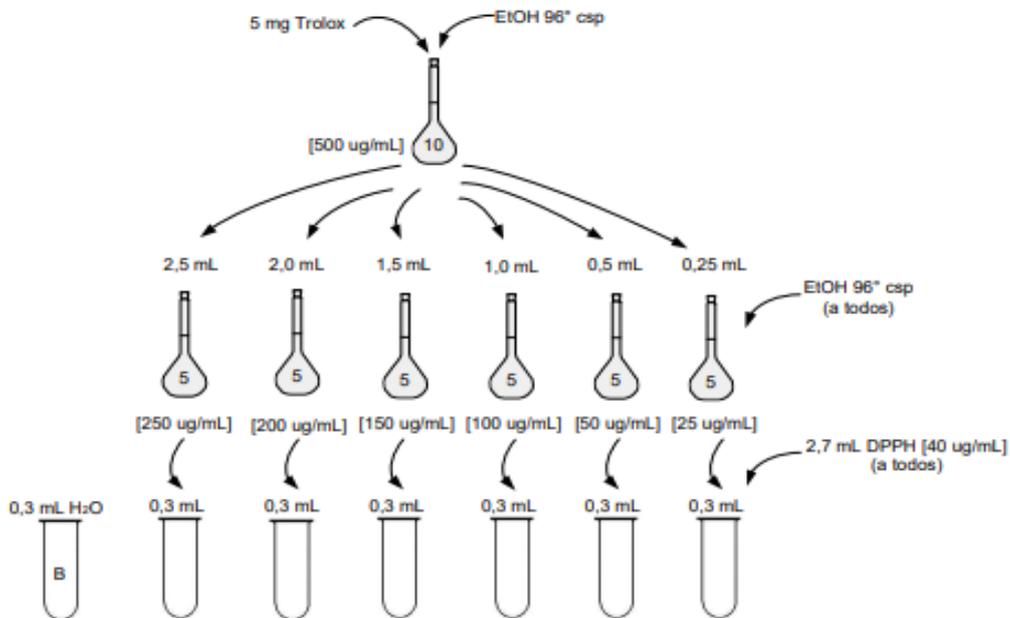
1. Preparación de la curva de calibración de DPPH



Reposar 30 min y leer la Absorbancia a 515 nm, calibrando al espectrofotómetro con el blanco (EtOH 96*)*

*El blanco se debe preparar para cada concentración

2. Determinación de la actividad antioxidante del estándar (Trolox)

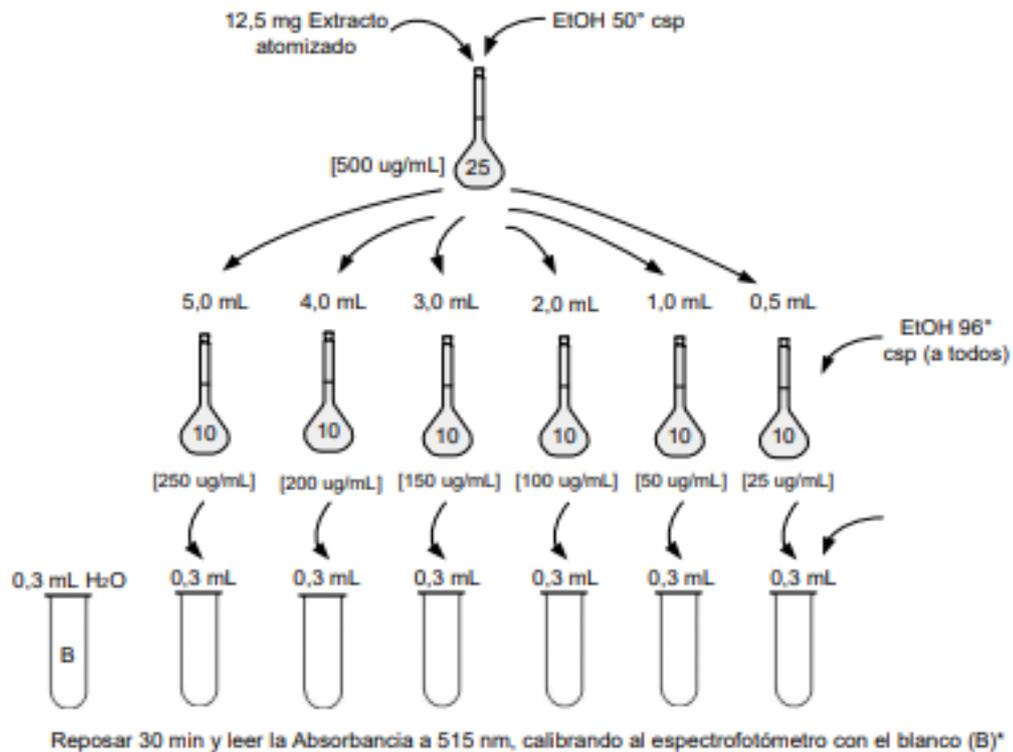


Reposar 30 min y leer la Absorbancia a 515 nm, calibrando al espectrofotómetro con el blanco (B)*

Fuente: Centro de desarrollo, Análisis y control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF).

Anexo 11. Flujograma del procedimiento experimental de la determinación de la actividad antioxidante del extracto hidrolalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

3. Determinación de la actividad antioxidante de la muestra problema

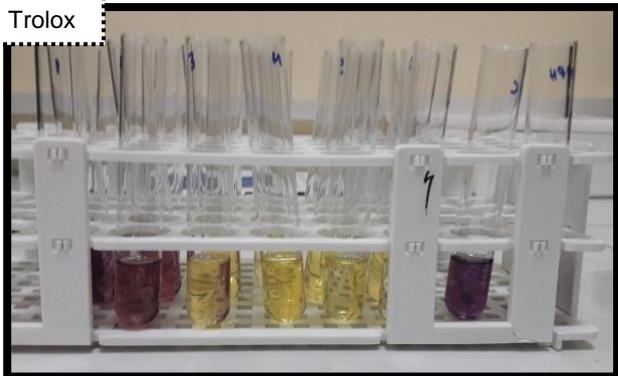


Para el blanco: 0,3mL H₂O + 2,7mL de DPPH.
El blanco se prepara para cada concentración.

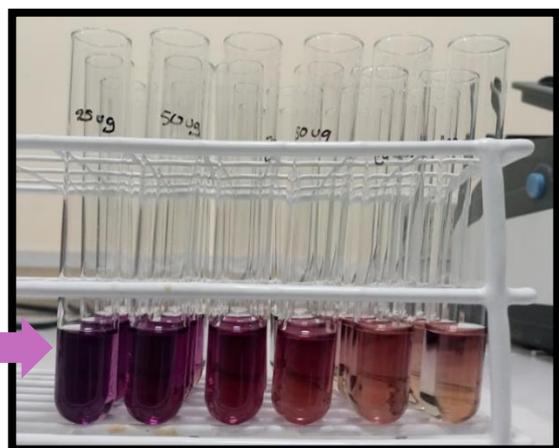
Fuente: Centro de desarrollo, Análisis y control de Calidad de Medicamentos y Fitimedamentos (CEDACMEF).

Anexo 12. Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidrolalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

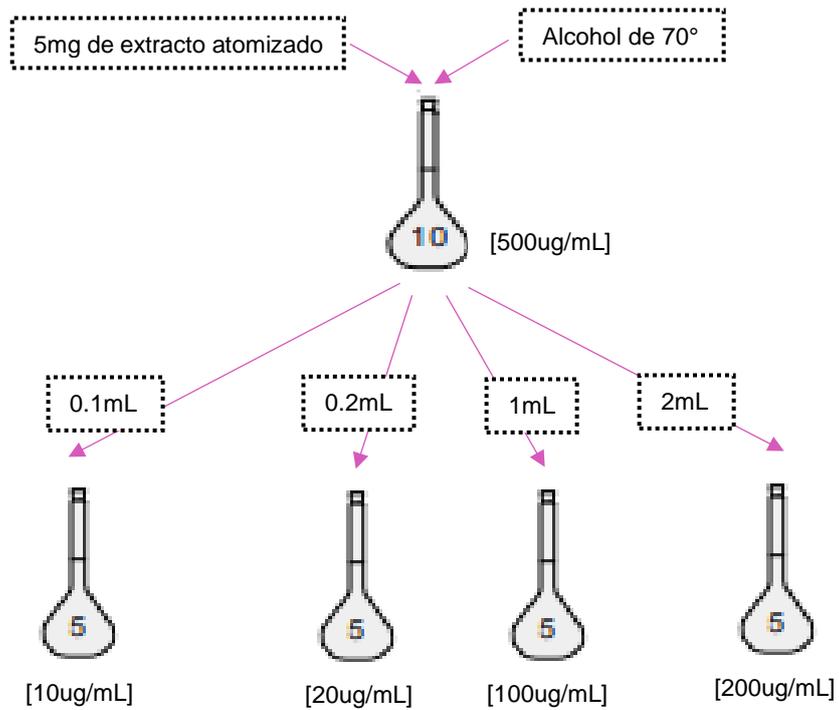
Trolox



Extracto atomizado de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana a diferentes concentraciones.



Anexo 13. Flujograma del procedimiento experimental de la evaluación *in vitro* del factor de protección solar del extracto hidrolalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.



- Realizar el barrido espectral de 290 a 320 nm
- La absorbancia se realizará por triplicado.

Anexo 14. Matriz de consistencia

Título: Contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Cuál es el contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana?	<p>Objetivo general: Determinar el contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar el contenido de antocianinas en el extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana. • Evaluar la actividad antioxidante <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana. • Evaluar la actividad fotoprotectora <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana. 	<p>Hi: El extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana presenta un contenido importante de antocianinas.</p> <p>Hi: El extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana presenta actividad antioxidante y fotoprotectora.</p> <p>Ho: El extracto hidroalcohólico de las flores de <i>Brachyotum naudinii</i> Triana no presenta actividad antioxidante ni fotoprotectora.</p>	<p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico de las flores de <i>B. naudinii</i></p> <p>Indicador: Concentración del extracto</p> <p>Variables dependientes Contenido de antocianinas Actividad antioxidante Efecto fotoprotector</p> <p>Indicador: Concentración de antocianinas en mg/100 g Actividad antioxidante (%) y concentración media inhibitoria (µg/mL) Índice del factor de protección solar (FPS)</p>	<p>Tipo de investigación Básica</p> <p>Definición de la población y muestra</p> <p>a) Población.- Flores de <i>B. naudinii</i> recolectadas del Bosque de Piedras de Huaraca del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, Ayacucho.</p> <p>b) Muestra.- 500 gramos de flores de <i>B. naudinii</i> recolectadas del Bosque de Piedras de Huaraca del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, Ayacucho.</p> <p>Métodos instrumentales para la recolección de datos Para determinar el contenido de antocianinas y evaluar la actividad antioxidante y fotoprotectora se empleará la espectrofotometría UV-VIS.</p> <p>Análisis estadístico Los datos obtenidos serán procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel y expresados en promedios, representados en gráficas y se realizará el análisis de varianza para identificar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) del factor de fotoprotección de los diferentes tratamientos, aplicándose ANOVA y comparaciones múltiples con el Test de Tukey, empleando el programa SPSS.</p>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

El asesor del presente trabajo de tesis emite la presente:

CONSTANCIA

DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

A Eylen Almendra Ortiz Pérez, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en mérito a que la tesis titulada: “Contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana”, ha alcanzado un índice de similitud de 22% (veintidós); cumpliendo satisfactoriamente lo establecido en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante el uso del SOFTWARE TURNITIN.

En ese sentido, se emite la presente constancia en señal de conformidad.

Ayacucho, 16 de febrero de 2023.


Firmado
digitalmente por
Marco R. Aronés Jara
Fecha: 2023.02.16
15:55:33 -05'00'

Prof. Marco R. Aronés Jara
Docente - Asesor

Constancia N° 001-2023



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(C° 13-2023-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en representación de la decana y delegada por Resolución Decanal N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

Contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana

Presentado por la: Bach. **ORTIZ PÉREZ, EYLEN ALMENDRA**

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **25% de índice de similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH. Por tanto, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 20 de febrero del 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Mg. Maricela López Sierralta
DIRECTORA
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

Contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana

por Eylen Almendra Ortiz Pérez

Fecha de entrega: 20-feb-2023 06:05p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2019120996

Nombre del archivo: Tesis_Eylen_Almendra_ORT_Z_P_REZ.pdf (1.61M)

Total de palabras: 12869

Total de caracteres: 70741

Contenido de antocianinas, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Brachyotum naudinii* Triana

INFORME DE ORIGINALIDAD

25%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

18%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	12%
2	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	6%
3	familiaysalud.es Fuente de Internet	2%
4	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	1%
5	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	1%
6	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
7	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	1%
8	Submitted to Universiti Teknologi MARA	

Trabajo del estudiante

<1 %

9 "Biodegradable Materials and Their Applications", Wiley, 2022

Publicación

<1 %

10 www.scribd.com

Fuente de Internet

<1 %

11 core.ac.uk

Fuente de Internet

<1 %

12 repositorio.unsaac.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo