

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



**Actividad antioxidante del extracto glicólico de la
cáscara de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho-
2018.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Bach. GONZALES DIPAZ, Raúl José

AYACUCHO - PERÚ

2019

A mi madre y a Luz, por su
apoyo.

A la naturaleza, por dar paz
y calma a mi alma.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por acogerme en sus instalaciones durante mi etapa como estudiante.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los docentes de nuestra grandiosa y prestigiosa casa superior por habernos inculcado conocimientos y valores en el transcurso de nuestra formación profesional.

A mi asesor Mg. QF. Edgar Cárdenas Landeo, por su colaboración y apoyo profesional en la realización de esta investigación.

A Carlos Velazco y Julio Sánchez por su ayuda en la realización de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de estudio	3
2.2. Marco conceptual	4
2.2.1. Radicales libres	4
2.2.2. Toxicidad de los radicales libres	5
2.2.3. Prunus serotina “guinda”	6
2.2.4. Compuestos fenólicos	7
2.2.7. Extracto glicólico	12
2.2.8. Método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Lugar de ejecución	15
3.2. Población y muestra	15
3.3. Diseño y metodológico para la recolección de datos	15
3.4. Diseño experimental	19
3.5. Hipótesis	20
3.6. Análisis estadístico	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	31
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Designación de los tratamiento a los grupos expremientales. Ayacucho-2018	19
Tabla 2. Identificación fitoquímica en el extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho-2018	23
Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos del extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho-2018	24
Tabla 4. Contenido de compuestos fenólicos en el extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho-2018	25
Tabla 5. Concentración efectiva media (EC ₅₀) calculada en las muestras de ácido gálico y extracto glicólico de la cascara de los frutos de <i>Prunus</i> <i>serotina</i> “guinda”. Ayacucho- 2018	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplo de Algunos Radicales libres ¹¹ .	4
Figura 2. Generación de ROS en los macrófagos ¹¹ .	5
Figura 3. Estructura de los ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico ¹⁵ .	8
Figura 4. Estructura química de los ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico ¹⁵ .	9
Figura 5. Clasificación de los flavonoides según su estructura química ¹⁵ .	10
Figura 6. Estructura química de una antocianina ²¹	11
Figura 7. Estructura química del ácido gálico ²³	12
Figura 8. Reacción química del DPPH frente al agente antioxidante ²⁵ .	13

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Clasificación taxonómica de la especie <i>Prunus serotina</i> “guinda”, emitida por el <i>HERBARIUM HUAMANGENSIS</i> de la Facultad de ciencias biológicas de la Universidad Nacional de san Cristóbal de Huamanga	49
Anexo 2. Diseño experimental para determinar la actividad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus Serotina</i> “guinda”. Ayacucho 2017	50
Anexo 3. Diagrama de flujo para el tamizaje fitoquímico del extracto glicólico de la cáscara del fruto de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho 2018	51
Anexo 4. Frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho-2018	52
Anexo 5. Extracto glicólico obtenido a partir de la cáscara de los Frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho-2018	53
Anexo 6. Tamizaje fitoquímico realizado al extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho-2018	54
Anexo 7. Preparación de la curva de calibración del ácido gálico, para la cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Ayacucho-2018	55
Anexo 8. Preparación de las muestras solución para la cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Ayacucho-2018	56
Anexo 9. Preparación de la solución madre y diluciones a partir del extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i> “guinda” para el estudio de la Actividad antioxidante. Ayacucho-2018	57
Anexo 10. Recta de calibración del ácido gálico para la cuantificación de compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu. Ayacucho-2018	58
Anexo 11. Recta de calibración del ácido gálico para la evaluación de la actividad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho-2018	59
Anexo 12. Prueba T student para EC ₅₀ de la solución de ácido gálico y extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho- 2018	60
Anexo 13. Matriz de consistencia	61

RESUMEN.

Los radicales libres son sustancias químicas altamente reactivas que pueden ocasionar daño a diferentes células de nuestro organismo. Motivo por el cual, la presente investigación básico-experimental, tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serótina* “guinda”, y fue desarrollado en los laboratorios de farmacognosia y 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 (UNSCH) durante los meses de noviembre 2018 a abril 2019. Los frutos fueron recolectados en el distrito de Tambo, provincia La mar, departamento de Ayacucho durante el mes de febrero del 2019. Se realizó la identificación fitoquímica, análisis fisicoquímico, cuantificación de los compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu y evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante siguiendo la metodología descrita por Sousa *et al.*, utilizando el sistema de ensayo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), a diferentes concentraciones del extracto glicólico y ácido gálico. El extracto obtenido es un líquido de aspecto viscoso, color guinda, olor sui generis de sabor purgente, soluble en agua, insoluble en cloroformo y de pH 6,6, presentó taninos de tipo galotánico y flavonoides. De la cuantificación de compuestos fenólicos totales se pudo determinar un promedio de 0.75 mg GAE/g de extracto, y EC_{50} de $53,76 \pm 2,6824$ para el ácido gálico y $83,97 \pm 1,6921$ para el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serótina* “guinda”. Se Concluye que el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serótina* “guinda” si tiene efecto antioxidante, pero no es superior frente a la solución de ácido gálico.

Palabras clave: Extracto glicólico, compuestos fenólicos, *Prunus serotina*.

I. INTRODUCCIÓN

La vida sobre la tierra ha evolucionado dando lugar a organismos aeróbicos, que no pueden sobrevivir sin el oxígeno, ya que es clave para sus procesos metabólicos, sin embargo, cuando este oxígeno es activado se convierte en tóxico para estos organismos, conduciendo esto al estrés oxidativo.

En el ser humano, el estrés oxidativo es causante de enfermedades de mayor impacto en la población como aterosclerosis, Parkinson, Alzheimer y también es un factor importante en el envejecimiento¹.

Desde el momento en que el hombre comienza a hacer uso de las plantas, el misterio y la magia de la naturaleza es revelado, lo que hoy nos regala, es el resultado de cientos de años de conocimientos aprendidos, acumulados, enriquecidos y transmitidos de generación en generación².

Actualmente las tendencias en el mundo para la industria cosmética cada vez se enfocan más en el uso de ingredientes naturales con propiedades antioxidantes y con beneficios que combaten los signos de la edad.

En el año 2016, un informe de Diario gestión daba a conocer que la industria cosmética mueve US\$ 530 billones en el mundo y a pesar de la crisis, es la única industria que creció en dos dígitos. Perú es el quinto país en exportar cosmética natural, mientras que Francia ocupa el primer lugar³.

La “guinda” o “capulí” (*Prunus serotina*) es una especie que habita en todo el continente americano, especialmente en zonas de clima templado, el cual tiene múltiples usos, de acuerdo con la investigación de Teves y Torres es empleada para tratar el insomnio, diarrea, fiebre, antirreumático y digestivo, además de ser un desinfectante en forma tópica⁴.

Se realizó la evaluación de la actividad Antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de *Prunus Serotina* “Guinda”, con la finalidad de demostrar dicho efecto y así convertirse en una alternativa para la prevención del envejecimiento, además de convertirse en una alternativa económica para los productores.

Por tal motivo se plantea el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta como objetivo general:

- Evaluar la actividad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”.

Objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos presentes en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”.
- Efectuar el análisis fisicoquímico al extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”.
- Cuantificar los compuestos fenólicos totales presentes en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”.
- Comparar la capacidad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda” con la solución estándar de ácido gálico.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

Existen variedad de investigaciones realizadas a esta especie a lo largo de estos años, entre ellas encontramos:

Hurtado et al⁵ en 2014, han aislado antocianinas de la cáscara del fruto de capulí (*Prunus serotina* spp capulí (Cav) Mc. Vaug Cav), a partir de una maceración en metanol-ácido acético. Identificaron, realizaron estudios de estabilidad y demostraron su actividad antioxidante, determinando mayoritariamente la presencia de pigmentos como la cianidina-3-O-(6''-O- α -ramnopirasonil)- β -glucopiranosido y la cianidina-3-O- β -glucopiranosido. Además de describir una cinética de primer orden, y un $t_{1/2}$ es mayor cuando los extractos se almacenan en condiciones más ácidas (pH 3) y en ausencia de aire y luz en los estudios de estabilidad realizados.

Jimenez et al⁶ en el 2011, evaluaron las propiedades antioxidantes y antimicrobianas del extracto acuoso, acetónico, etanólico y metanólico del fruto de capulín (*Prunus serotina* subs capuli). Llegaron a la conclusión que el extracto etanólico presenta una mayor actividad antioxidante; además de señalar su actividad antimicrobiana frente a bacterias gram (-): *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, pero solo contra la bacteria gram (+): *Staphylococcus aureus*.

A nivel nacional también se encontraron investigaciones realizadas a esta especie como son las siguientes:

Ruiz et al⁷ en el 2018 realizó el estudio de las características farmacognósticas y cuantificación de antocianinas totales del fruto de *Prunus Serotina subsp. Capulí*

(CAV.) McVaugh (Rosaceae) “capulí”, identificando la presencia de azúcares reductores, fenoles aminoácidos y flavonoides como antocianidinas, además de cuantificar el contenido de antocianinas en el fruto obteniendo 10,7117 mg de cianidina 3-glucósido/g.

Muñoz Jáuregui et al.⁸, en su estudio realizado en 2009 se evaluó el contenido de compuestos con actividad biológica, determinación de polifenoles totales, como la actividad antioxidante utilizando la eficiencia antirradical de los polifenoles frente a 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) radical, en las cascarras de carambola, tomate de árbol, guinda, camu camu y su capacidad de secuestro de radicales libres producidos por el sistema ABTS/ABAP; demostrando así que estas especies resultan ser una buena fuente de antioxidantes sobre todo de compuestos fenólicos.

Alvarado⁹ en el año 2007 realizó el tamizaje Fitoquímico respectivo en la especie guinda (*Prunus serotina*), y se encontraron metabolitos secundarios como son antraquinonas, azúcares reductores, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, saponinas, taninos; alcaloides, aminoácidos libres.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Radicales libres

Definimos a los radicales libres a toda aquella especie química, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, que genera gran inestabilidad, señalado por el punto situado a la derecha del símbolo¹⁰. Son conocidas como especies reactivas del oxígeno o ROS (por sus siglas en inglés de Reactive Oxygen Species). Los siguientes son miembros de este grupo:

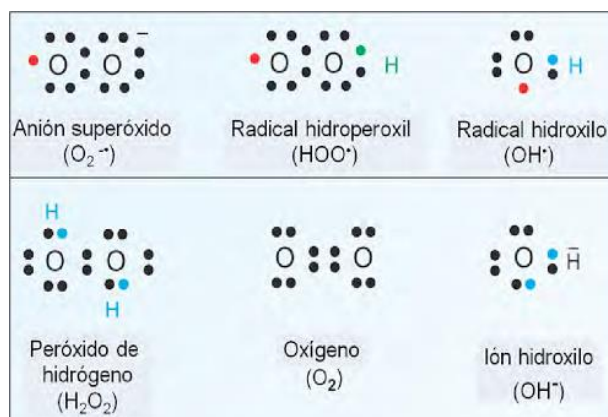


Figura 1. Ejemplo de Algunos Radicales libres¹¹.

Vasudevan et al.¹¹, refieren al peróxido de hidrogeno y el singlete de oxígeno no son radicales libres. Sin embargo, debido a su reactividad extrema, se incluyen en el grupo de especies reactivas de oxígeno.

Cuando un radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, dando inicio a una reacción en cadena que destruye nuestras células. Tiene una vida media de microsegundos, pero, con gran capacidad de reaccionar con todo lo que este a su alrededor provocando un gran daño a las moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son intrínsecamente deletéreos; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus¹¹.

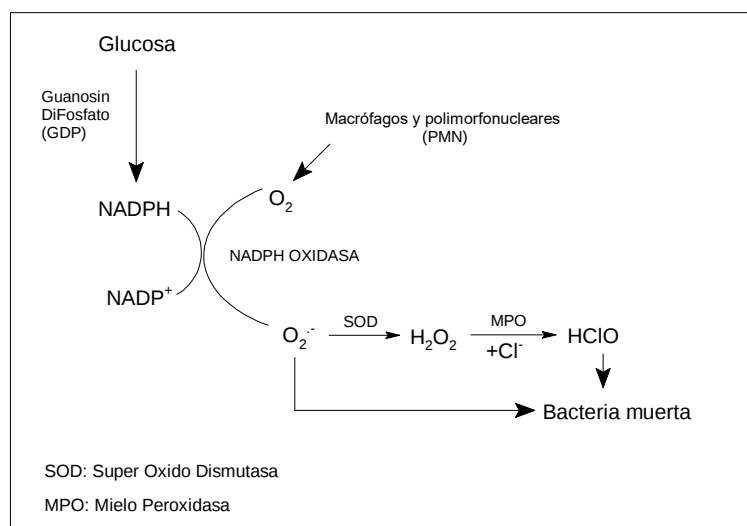


Figura 2. Generación de ROS en los macrófagos¹¹.

2.2.2. Toxicidad de los radicales libres

Cuando un radical libre colisiona con una biomolécula, esta pierde un electrón, ocasionando una oxidación de la biomolécula, que pierde su función en la célula. En caso de los lípidos (ácidos grasos poliinsaturados), se dañan las estructuras ricas en ellas como las membranas celulares y las lipoproteínas. En las primeras se altera la permeabilidad conduciendo al edema y la muerte celular y en la segunda, la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), génesis de la placa ateromatosa¹³.

Al perder un electrón los lípidos sufren de la oxidación lipídica, trata de una reacción en cadena en la que el ácido graso al oxidarse, se convierte en radical de ácido graso con capacidad de oxidar a otra molécula vecina.

Este proceso es conocido como peroxidación lipídica, genera numerosos subproductos, muchos de ellos como el malondialdehído (MDA), cuya determinación en tejidos, plasma u orina es uno de los métodos de evaluar el estrés oxidativo¹³.

Los aminoácidos como fenilalanina, tirosina, triptófano, histidina y metionina sufren un proceso de oxidación, como consecuencia se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, fragmentación de la proteína y formación de grupos carbonilos e impiden el normal desarrollo de sus funciones (transportadores iónicos de membranas, receptores y mensajeros celulares, enzimas que regulan el metabolismo celular, etc¹²).

El ácido desoxirribonucleico también sufre daño por parte de los radicales libres, consecuencia de este daño, las bases nitrogenadas son modificadas, lo que tiene serias consecuencias en el desarrollo de mutaciones, carcinogénesis, o daño al gen específico. Los radicales libres están implicados en la génesis o exacerbación de numerosos procesos:

- Aparato cardiovascular: Aterosclerosis, infarto del miocardio, cardiopatía.
- Sistema neurológico: enfermedad de Parkinson, Alzheimer, isquemia o infarto cerebral, traumatismos craneales.
- Aparato ocular: cataratas, daño degenerativo de la retina.
- Aparato respiratorio: Cáncer de pulmón, enfisema.
- Sistema osteomioartricular (SOMA): artritis reumatoide¹³.

2.2.3. *Prunus serotina* “guinda”

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ROSIDAE
ORDEN	: ROSALES
FAMILIA	: ROSACEAE
GENERO	: <i>Prunus</i>
ESPECIE	: <i>Prunus serotina</i> Ehr.
Variedad	: <i>salicifolia (Kunth.) Koehne</i>
Nombre vulgar	: “guinda”, “cerezo”.

Fuente: Constancia emitida por m Herbarium Huamangensis de La Facultad de Ciencias Biológicas de La Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Sinonimias: *Prunus capulí Cav.*; *Prunus Salicifolia Kunth*; *Prunus serotina Subsp. Capuli (cav.) McVaugh*¹⁴.

Nombres comunes: Capulín, capuli, cerezo negro, guinda¹⁴.

2.2.3.1. Descripción

Mc Vaugh en su investigación, hizo la siguiente descripción botánica¹⁴:

- Árbol monopódico, perennifolio o caducifolio, de 5 a 15 m (hasta 38 m) de altura con un diámetro a la altura de hasta 1.2 m. Corteza café o grisácea casi lisa y glabra, exceptuando las ramas tiernas que a veces son pubescentes¹⁴.
- Tronco largo y recto en el bosque, pero en los claros es corto y ancho. Ramas alternas, erguido-extendidas, escabrosas por la presencia de muchas lenticelas esparcidas¹⁴.
- Hojas estipuladas, simples, alternas, cortamente pecioladas, ovadas a lanceoladas, de 5 a 16 cm de largo por 2 a 5 cm de ancho, margen aserrado; haz verde oscuro y brillante¹⁴.
- Flores Hermafroditas, flores numerosas, pequeñas y blancas, agrupadas en racimos axilares colgantes y largos, de 10 a 15 cm, con pedicelos de 5 a 10 mm de largo¹⁴.
- Fruto. Drupa globosa, de color negro rojizo en la madurez, de 12 a 20 mm de diámetro, sabor agridulce y algo astringente; conteniendo una sola semilla.
- Semilla esférica y rodeada por un endocarpio o hueso leñoso (almendra) de sabor amargo¹⁴.

2.2.3.2. Usos medicinales

Las hojas y las ramas se emplean con fines medicinales, y la fruta por su valor nutricional. Las hojas de esta planta se utilizan para calmar los espasmos, y las molestias del reumatismo y procesos inflamatorios. La corteza, tiene propiedades expectorantes, alivia la tos y el catarro¹⁴.

2.2.4. Compuestos fenólicos

Son compuestos que constituyen más de 8000 sustancias de origen natural, los cuales poseen una característica química en común, un grupo fenol con al menos un grupo hidroxilo como sustituyente¹⁵.

Son muy importantes en la dieta humana, debido a la gran variedad de actividades biológicas que estos presentan: entre ellas inhibición de enzimas hidrolíticas y oxidativas (fosfolipasa A₂, ciclooxigenasa, lipoxigenasa), efectos antibacteriales, actividad antiinflamatoria y antioxidante, ayudan a contrarrestar o disminuir el riesgo de cáncer, enfermedades cardiovasculares y estrés oxidativo¹⁶.

Químicamente se clasifican en dos grupos:

2.2.4.1. No flavonoides

a. Fenoles no carboxílicos

Los fenoles simples (como el catecol, guayacol, y floroglucinol) son bastante escasos en la naturaleza salvo la hidroquinona que se encuentra en diversas familias (*ericaceae*, *rosaceae*), frecuentemente en forma de glucósido de difenol (arbutósido) o de su monometiléter. Los alquilfenoles y sus dépsidos, que provienen del metabolismo de un poli- β -cetoéster, son característicos de los líquenes. También se conocen algunos alquenilfenoles (urushiol) y monoterpenos fenólicos¹⁵.

b. Ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico

Los ácidos fenólicos en C₆- C₁, derivados hidroxilados del ácido benzoico, son muy frecuentes tanto libres como combinados al estado de ésteres o de heterósidos. El ácido gálico y su dímero (el ácido hexahidroxidifénico) son los elementos constituyentes de los taninos hidrolizables.

También se conocen los aldehídos correspondientes a estos ácidos: vainillina (el más repartido), anisaldehído (en algunos aceites esenciales), salicilaldehído¹⁵.

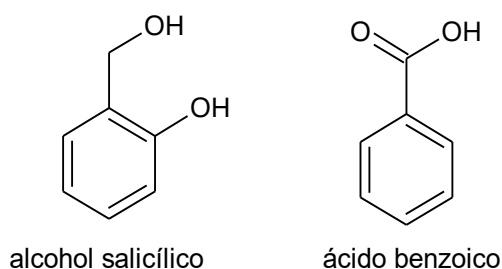


Figura 3. Estructura de los ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico¹⁵.

c. Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico

La mayoría de los ácidos fenólicos en C₆-C₃ (ácido 4-cumárico, cafeíco, ferúlico, sináptico) están ampliamente distribuidos; los demás (ej.: ácido 2-cumárico) son

poco frecuentes. Se encuentran (raramente en forma libre, en este caso son artefactos de extracción), normalmente esterificados:

- Esteres de alcoholes alifáticos (ácidos mono-) y dicafeil-tartárico de las *vitaceae* o del *orthosiphon aristatus*, feruloil-tartárico de *echinacea* y de otras *asteraceae*, cafeil-málico de *parietaria officinalis*;
- Esteres de ácido quínico (ácido clorogénico, frecuente) y dépsidos (ácidos rosmarínico y litospérmico), específicos de las *lamiaceae* y *boraginaceae*¹⁵.

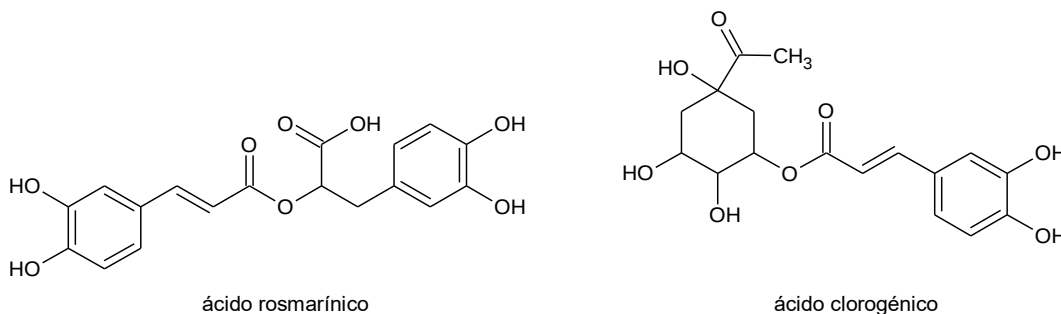


Figura 4. Estructura química de los ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico¹⁵.

2.2.4.2. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que debe obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos¹⁷.

a. Clasificación

En función de sus características estructurales los flavonoides se pueden clasificar en:

- N-Flavanos, como la catequina, con un grupo-OH en posición 3 del anillo C.
- N-Flavonoles, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
- N-Flavonas, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.
- N-Antocianinas, que tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C¹⁸.

b. Mecanismo antioxidante de los flavonoides

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, algunos autores se refieren además como la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa, la ciclooxygenasa, la mieloperoxidasa, la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa; evitando la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) in vivo, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas como la fosfolipasa A2 (FLA2), que participa indirectamente en diversos procesos operativos al mismo tiempo que estimulan otras reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa (CAT) y el superóxido dismutasa (SOD). De esta forma, los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de radicales libres y en la formación del radical en Si^{19} .

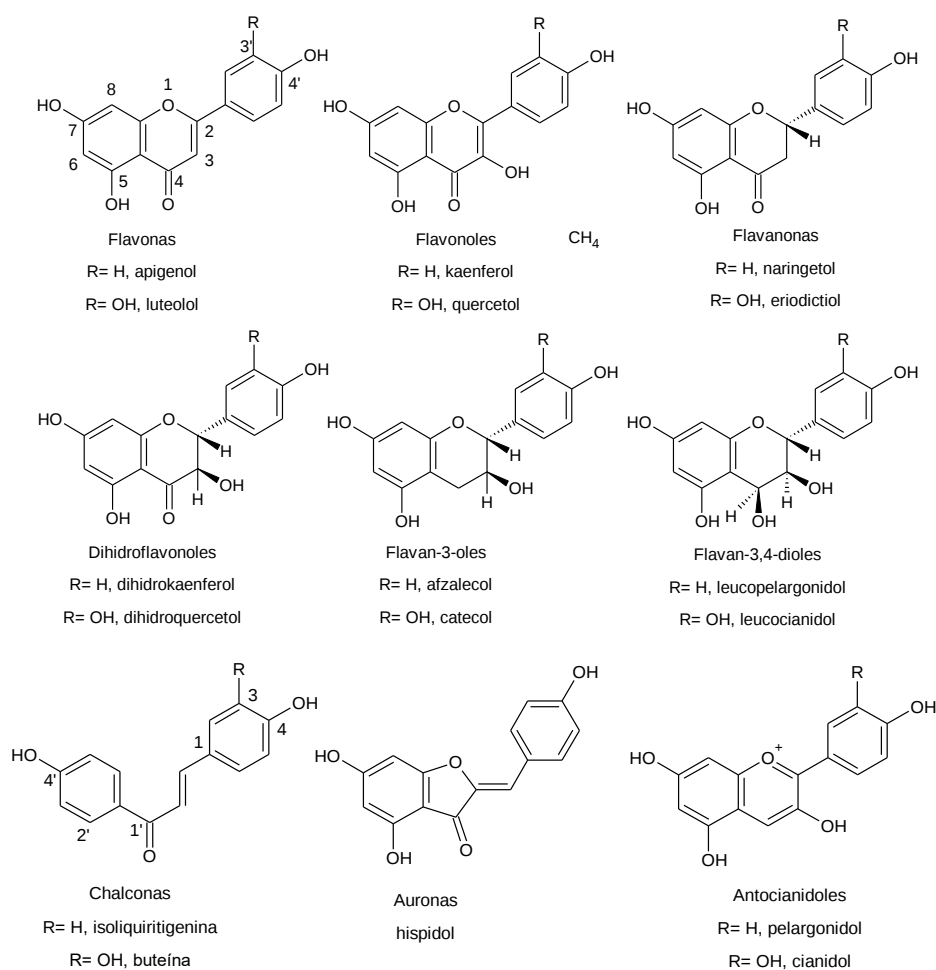


Figura 5. Clasificación de los flavonoides según su estructura química¹⁵.

c. Aplicación de los flavonoides en la cosmética

- Agentes preventivos de la fragilidad capilar.
- Inmunomoduladores de acción local.
- Antiinflamatorios tópicos.
- Antibacterianos y antivirales (en erupciones, acné, pústulas).
- Filtro solar.
- Reguladores de la síntesis de colágeno y elastina dérmica.
- Estimulantes del crecimiento del cabello²⁰.

2.2.5. Antocianinas.

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C.

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas²¹.

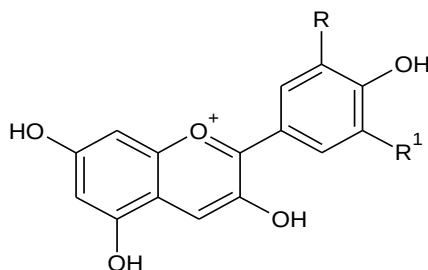


Figura 6. Estructura química de una antocianina²¹

2.2.5.1. Actividad biológica de las antocianinas

Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante²¹.

2.2.6. Taninos.

Químicamente se definen como: Metabolitos secundarios derivados de plantas que pueden ser esteres de ácido gálico o sus derivados unidos a una amplia variedad de poli oles, catequina o núcleos triterpenoides [galotaninos (GT), elagitaninos (ET) o taninos coplejos], o bien oligómeros o polímeros de proantocianidinas que pueden poseer diferente acoplamiento inter-flavonil u otros patrones de substitucion (taninos condensados)²².

2.2.6.1. Ácido gálico

También conocido como ácido 3, 4,5. Trihidroxibenzoico, es un ácido fenolólico presente en diversas fuentes naturales como plantas: *Larrea tridentata* (gobernadora), frutas: uva, granada, nueces, plátano, fresa, limón, arándano cáscara de manzana y mango; verduras: acelga y espinacas y bebidas: café, vino tinto y té verde. Se le atribuyen varios efectos biológicos, que van desde la actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibiótica, hasta la protección cardiovascular y anticancerígena²³.

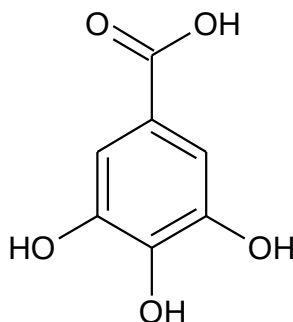


Figura 7. Estructura química del ácido gálico²³

2.2.7. Extracto glicólico

Son extractos de uso exclusivo en el campo de la dermatología, se obtiene a partir de la droga seca sometida a la acción extractiva de una solución a base de propilenglicol y agua, consiguiéndose así principios activos polares en su mayoría.

Dada la baja capacidad de absorción que muestra la piel, se previene intolerancias y acumulación innecesaria de principios activos. Por otra parte, el propilenglicol, por sí mismo muy bien tolerado, ejerce una acción higroscópica que lo hace muy adecuado en la mayor parte de formulaciones para la aplicación cutánea. Desde el punto de vista galénico, se incorpora fácilmente a los geles

hidrófilos y emulsiones aceite/agua, sin alterar su estructura, cosa que no ocurre con los extractos fluidos. El inconveniente que presenta estos extractos radica en la gran variabilidad en la calidad y riqueza de principios activos que se observa dependiendo del fabricante²⁴.

2.2.8. Método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Brand-Williams et al., (1995) evaluaron la actividad de compuestos específicos o extractos usando el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•) en una solución metanólica. La reducción del DPPH• se monitorea por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el DPPH• absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece. En consecuencia, la desaparición del DPPH• proporciona un índice para estimar la capacidad del compuesto de prueba para atrapar radicales. El modelo que explica la actividad de un compuesto como antirradical se ejemplifica con la siguiente ecuación:

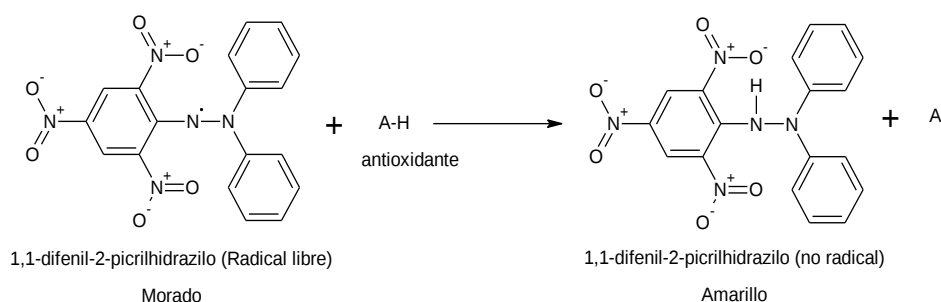


Figura 8. Reacción química del DPPH frente al agente antioxidante²⁵.

Donde AH es un antioxidante que actúa como antirradical donando átomos de hidrógeno, dando como resultados radicales con estructuras moleculares estables que detendrán la reacción en cadena, tal es el caso de los fenoles. El nuevo radical formado (A) puede interactuar con otro radical para formar moléculas estables (DPPH-A, A-A). La reacción entre el DPPH• y un compuesto depende de la conformación estructural del mismo, por lo que las comparaciones cuantitativas no siempre son apropiadas²⁵.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios (Farmacognosia y Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos) de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de noviembre 2018 a abril de 2019.

3.2. Población y muestra

a. Población

Especie de *Prunus Serotina* “Guinda” que crece en el distrito de Tambo, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho.

b. Muestra

2,500 g de frutos de *Prunus Serotina* “Guinda” recolectadas en el distrito de Tambo, se recolectó una parte de la planta que fue llevada al *Herbarium Huamangensis* para su respectiva identificación y su clasificación botánica.

3.3. Diseño y metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección de la muestra

Los frutos se recolectaron manualmente en el mes de febrero del 2019, en las horas de la mañana, para su posterior traslado al laboratorio.

La muestra se lavó y desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio 1% y el secado se realizó a temperatura ambiente durante una hora; con ventilación necesaria para facilitar su secado.

Se seleccionaron los frutos, y se procedió a separar la cáscara del fruto manualmente, para su posterior secado.

3.3.2. Preparación del extracto glicólico

De 200 g de la cáscara seca y sin triturar, se llevó a maceración en un frasco de color ámbar por 7 días aproximadamente en solución de propilenglicol que fue enrazado en proporción de 1 a 5. Durante el proceso se agitó periódicamente para que el propilenglicol se distribuya homogéneamente en la muestra y finalmente se procedió a filtrar el residuo. Obteniéndose así 980 gramos de extracto glicólico que fueron conservados en un frasco ámbar estéril de capacidad 1L.

3.3.3. Identificación fitoquímica

Las reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto glicólico, se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Miranda²⁶.

a. Ensayo de cloruro férrico

A una alícuota se le adicionó 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua)²⁶.

b. Ensayo de Shinoda

A una alícuota se le diluyó en 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y se añadió un pedacito de cinta de magnesio metálico, se esperó 5 minutos y se añadió 1mL de alcohol amílico²⁶.

3.3.4. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos

El extracto glicólico obtenido, se evaluó los parámetros fisicoquímicos propuesto por Miranda²⁶ tales como:

a. Determinación del pH.

se tomó 5 mL de extracto glicólico y se colocó en un vaso precipitado. Seguidamente se colocó un potenciometro, previamente calibrado y se procedió a anotar la lectura de pH.

b. Determinación de solubilidad.

Se tomó 1 mL de extracto glicólico, y se procedió a colocar en tubos de ensayo, luego se le añadió a cada tubo 1mL de agua, etanol, cloroformo y propilenglicol respectivamente. Se agitó y se observó y reportó los resultados.

3.3.5. Cuantificación de los compuestos fenólicos totales

Para la cuantificación de compuestos fenólicos se ha empleado el método de Folin-Ciocalteu, que consiste en la reacción de compuestos fenólicos a un pH básico, con una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, dando lugar a una coloración azul susceptible a ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm²⁷.

3.3.5.1. Preparación de la curva de calibración de ácido gálico

Para la solución madre se pesó 2 mg de ácido gálico y se disolvió en agua destilada y se enrazó a un volumen de 10 mL para obtener una solución madre con concentración 0,2 mg/mL.

A continuación, se procedió a pipetear a partir de la solución madre de ácido gálico las siguientes alícuotas: 50, 100, 150, 200, 250 µL y se adicionó 200 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 2 mL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) 7%. Se completó con agua destilada hasta un volumen de 5mL. Transcurridos 30 minutos se midió las absorbancias a 765 nm, utilizando la solución preparada con el mismo procedimiento sin la muestra como blanco.

3.3.5.2. Desarrollo de la técnica

Se tomó directamente del extracto glicólico 500 µL, y se transfirió a una fiola de 10 mL, para la solución madre, extrayéndose de éste 1 mL, se adicionó a continuación 50 µL del reactivo Folin-Ciocalteu, 1 mL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) 7%, y finalmente se completó a 5 mL con agua destilada. Luego de transcurrir los 30 minutos se midió la absorbancia a 765 nm contra el blanco que se preparó de igual forma sin la muestra. La cantidad de compuestos fenólicos se determinó en mg de contenido fenólico equivalentes de ácido gálico/g de extracto, utilizando la ecuación en la curva de calibración que se obtuvo en la curva de calibración de ácido gálico.

3.3.6. Evaluación de la actividad antioxidante

La evaluación cuantitativa de la actividad antioxidante se realizó siguiendo la metodología descrita por Brand-Williams, con pequeñas modificaciones, monitoreando el consumo del radical libre DPPH por las muestras, a través de la medida del descenso de la absorbancia de soluciones de diferentes

concentraciones. Estas medidas se realizaron en espectrofotómetro UV-Vis en la longitud de onda 515 nm, teniendo como control positivo ácido gálico²⁸.

3.3.6.1. Preparación de la curva de calibración de la solución DPPH

Se procedió a preparar 50 mL de la solución madre DPPH en metanol a una concentración de 40 mg/mL, se mantuvo en el refrigerador y protegido de la luz, se realizó diluciones a 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, 1 µg/mL. La curva de calibración se construyó a partir de los valores de absorbancia obtenidos a 515 nm de todas las soluciones (1 a 40 µg/mL), medidas en una cubeta de vidrio con el camino óptico de 1cm y teniendo como “blanco” el metanol²⁸.

3.3.6.2. Metodología de la evaluación de la actividad antioxidante

El extracto glicólico y su control positivo en etanol (ambos a 500 µg/mL), fueron diluidos a concentraciones de 250, 200, 150, 100, 50 y 25 mg/mL. Las medidas de absorbancia de las mezclas de reacción (0,3 mL de solución de muestra y 2,7 mL de la solución madre de DPPH a la concentración de 40 µg/mL) se realizaron a 515 nm a 1, 5 y 10 minutos, cada 10 minutos hasta una hora. Se utilizó una mezcla de metanol de metanol (2,7 mL) y una solución metanólica como blanco.

A partir de la curva de calibración de la ecuación y los valores de tiempo absorbancia de 30 minutos, se determinó el porcentaje de DPPH restante (%DPPH_{REM}), de acuerdo a la ecuación:

$$\%DPPH_{REM} = \left[\frac{DPPH_{T=t}}{DPPH_{T=0}} \right] \times 100$$

Donde DPPH_{T=t} será la concentración de DPPH en el medio después de la reacción con el extracto y DPPH_{T=0} será la concentración inicial de DPPH, a saber, 40 mg/mL (100 µmol/mL).

Los valores de absorbancia a todas las concentraciones ensayadas, se convirtieron en porcentaje de actividad antioxidante (%AA), que se determinó por la ecuación:

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{control} - (Abs_{muestra} - Abs_{blanco})] \times 100\}}{Abs_{control}}$$

Donde Abs_{control} es la absorbancia inicial de la solución de metanólica de DPPH, y Abs_{muestra} es la absorbancia de la reacción del DPPH con la muestra²⁸.

3.4. Diseño experimental

La investigación realizada es de tipo básico, que hace uso del método de investigación experimental, con pos prueba y grupo control, puesto que se emplean varios tratamientos experimentales, y los efectos de los grupos experimentales se investigan comparando las pos pruebas de los grupos.

RG ₁	X	O ₁
RG ₂	X	O ₂

Donde RG es el grupo aleatorio, X es el experimento, y O es la posprueba o resultado²⁹.

Para la evaluar la actividad antioxidante se realizaron 12 tratamientos y 3 repeticiones para cada grupo del modo siguiente:

Tabla 1. Designación de los tratamiento a los grupos expremientales. Ayacucho-2018

Grupo	Tratamiento	Concentración
Grupo I	Extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i>	25 µg/mL
Grupo II	Extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i>	50 µg/mL
Grupo III	Extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i>	100 µg/mL
Grupo IV	Extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i>	150 µg/mL
Grupo V	Extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i>	200 µg/mL
Grupo VI	Extracto glicólico de la cáscara de <i>Prunus serotina</i>	250 µg/mL
Grupo VII	Ácido gálico	25 µg/mL
Grupo VIII	Ácido gálico	50 µg/mL
Grupo IX	Ácido gálico	100 µg/mL
Grupo X	Ácido gálico	150 µg/mL
Grupo XI	Ácido gálico	200 µg/mL
Grupo XII	Ácido gálico	250 µg/mL

3.5. Hipótesis

H_0 : el extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* no tiene efecto antioxidante.

H_i : el extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* tiene efecto antioxidante.

3.6. Análisis estadístico

Los resultados se expresaron en cuadros y gráficos. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos ha sido evaluada a través de la prueba t student para muestras independientes, con un nivel de significancia estadística de 0,05 (para ello se utilizó el programa SPSS versión 22).

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Identificación fitoquímica en el extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho-2018

Metabolitos secundarios	Reactivos y/o reacciones	Resultados	Coloración
Taninos del tipo piro galotánicos	Tricloruro férrico	+++	Azul
Flavonoides	Shinoda	+++	Rojo

Leyenda:

Escaso/Débil: (+)

Regular: (++)

Abundante/Intenso (+++)

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos del extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho-2018

Parámetros	Ensayo	Resultados
Organolépticos	Color	Sui géneris
	Olor	Sui géneris
	Sabor	Purgente
	Estado	Líquido
Solubilidad	Agua	Soluble
	Etanol	Soluble
	Cloroformo	Insoluble
	Propilenglicol	Soluble
pH	Prueba de pH	6,6

Tabla 4. Contenido de compuestos fenólicos en el extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho-2018

Muestra	Concentración mg GAE/gr de extracto
Extracto Glicólico de <i>Prunus serotina</i> “guinda”	0.75 ± 0.003

mg GAE: miligramos equivalentes de ácido gálico.

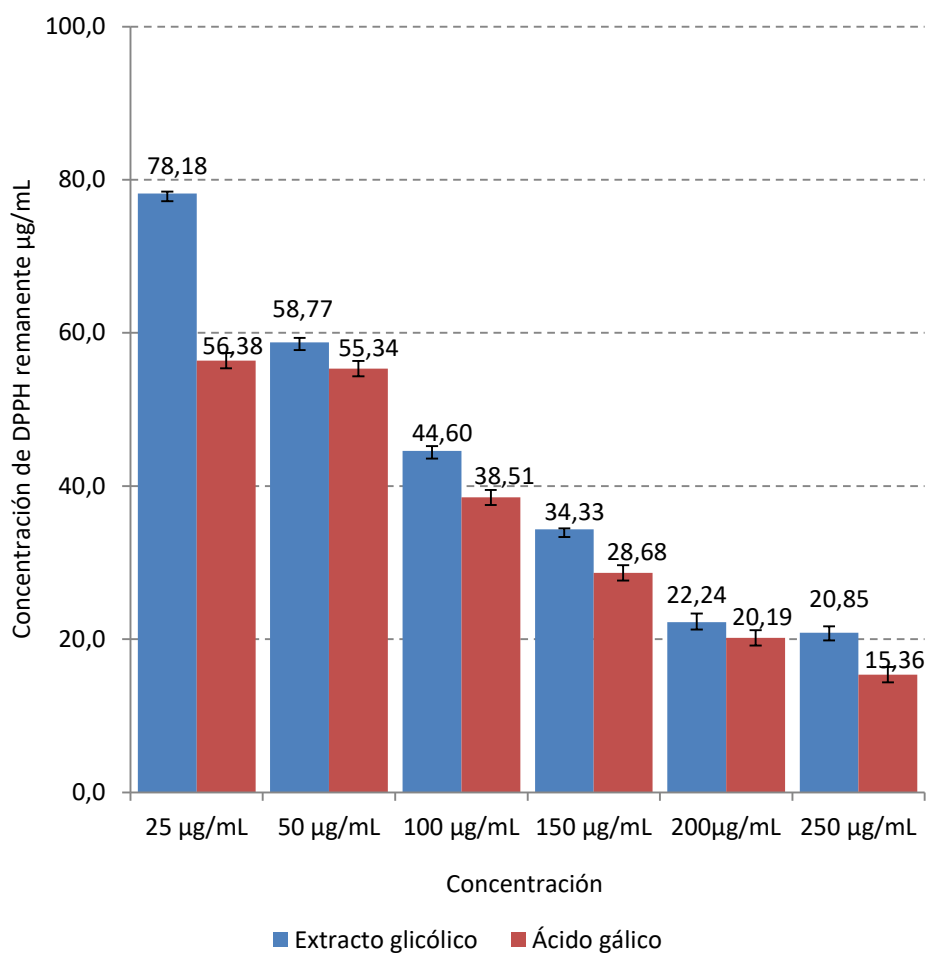


Gráfico 1. Concentración de la solución de DPPH remanente a los 30 minutos a diferentes concentraciones del extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda” y ácido gálico. Ayacucho- 2018.

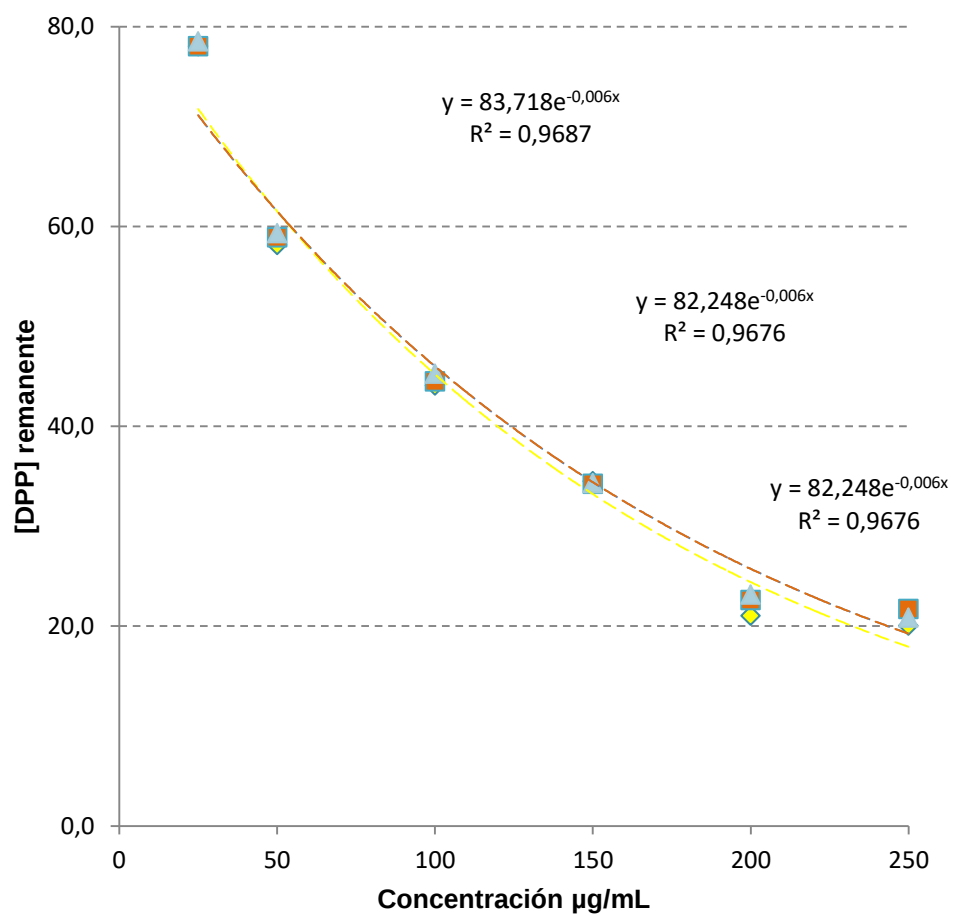


Gráfico 2. Curva para determinar EC_{50} (concentración antioxidante necesaria para reducir la concentración inicial de la solución DPPH a la mitad) con diferentes concentraciones del extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* "guinda". Ayacucho- 2018.

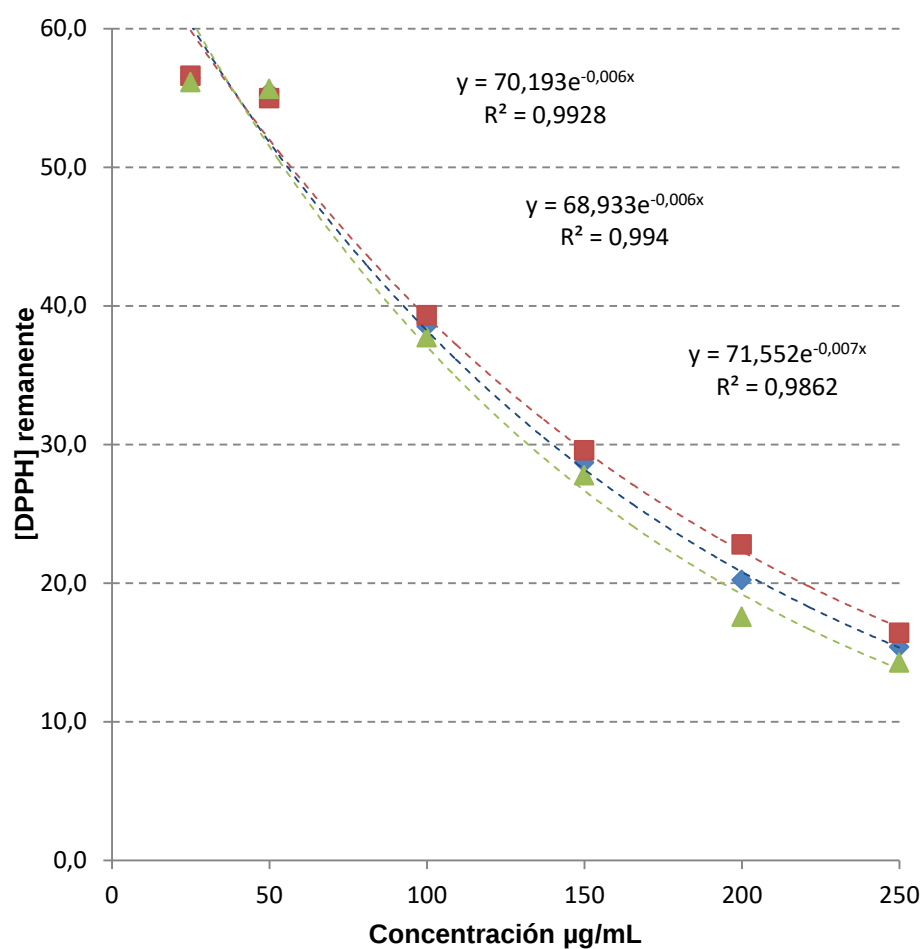
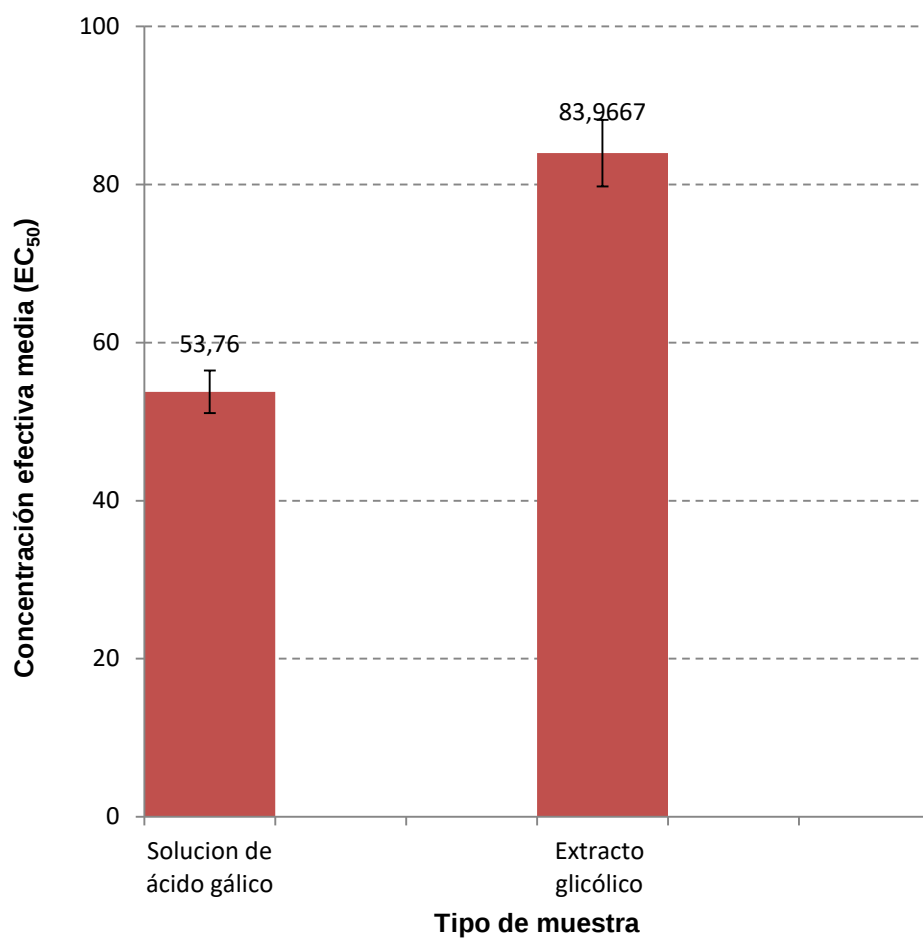


Gráfico 3. Curva para determinar EC_{50} (concentración antioxidante necesaria para reducir la concentración inicial de la solución DPPH a la mitad) con diferentes concentraciones de la solución de ácido gálico. Ayacucho- 2018.

Tabla 5. Concentración efectiva media (EC₅₀) calculada en las muestras de ácido gálico y extracto glicólico de la cascara de los frutos de *Prunus serotina* "guinda". Ayacucho-2018

Tipo de solución	EC50 (µg/mL)
Solución de ácido gálico	53,7600 ± 2,6824
Extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus serotina</i> "guinda"	83,9667 ± 1,6921



P= 0,561

Gráfico 4. Comparaciones entre concentración efectiva media (EC₅₀) en las muestras de ácido gálico y extracto glicólico de la cascara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho- 2018

V. DISCUSIÓN

Los productos ecológicos y libres de químicos se han ido posicionando, así como la opción más saludable y cada vez son más los consumidores que deciden probarlos, evidenciando que no solamente no existen diferencias, sino que esta modalidad mejora en diversos aspectos a la competencia. Los beneficios resultantes en la salud del consumidor, así como el cuidado medioambiental son razón más que suficientes para consumir estos productos. Además, muchos de estos productos están realizados respetando la biodiversidad y están libres de pruebas en animales, lo que aporta otro punto más a su favor³⁰.

De acuerdo a Robles et al.³¹ los metabolitos secundarios son sustancias orgánicas que se encuentran en las plantas, los cuales no tienen un papel definido en los procesos de respiración, asimilación y transporte, su producción se limita a un determinado género de plantas, familias o incluso algunas especies, teniendo un importante valor medicinal, económico, e industrial (como es el caso de la cosmética, alimentación y farmacéutica).

En la presente investigación se realizó con la finalidad de cuantificar los fenoles presente y la actividad antioxidante en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”.

Para poder detectar los metabolitos secundarios presentes en las plantas, se realiza una extracción de estos mediante el uso de solventes orgánicos de diferentes polaridades y aplicando pruebas de coloración³², Gracias a esta herramienta nos permite a reconocer metabolitos presentes en las muestras vegetales para su posterior separación y purificación³³.

En las pruebas de coloración que se han realizado (tabla 1), se pudo observar los metabolitos secundarios presentes en el extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”, tales como taninos del tipo pirogálico y flavonoides. En

el caso de la reacción de Kedde para determinar la presencia de glicósidos cardiotónicos, debió tornar un color violeta o azul con una duración de 1 a 2 horas, de acuerdo a la obra de Lock de Ugaz³⁴, sin embargo al momento de comenzar el ensayo de coloración el extracto glicólico era de un color violeta, permaneciendo el mismo color después de realizado el ensayo, dando origen a un resultado falso positivo, que vienen a ser un hallazgo que se considera verdadero pero que luego se demuestra falso³⁵.

Alvarado⁹ en su trabajo de investigación “Plantas medicinales de la Cordillera Negra” reportó la presencia de antraquinonas, azúcares reductores, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, saponinas, taninos, alcaloides y aminoácidos libres en la especie *Prunus serotina*, esto se debe a que la autora hizo empleo de hojas, tallos, flores y frutos.

Los resultados reportados del ensayo fisicoquímico (tabla 2) realizado al extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”, presenta un color y olor *sui generis*, de consistencia líquido-vizcosa y sabor Purgente, muy soluble en agua y etanol, soluble en propilenglicol e insoluble en cloroformo con un pH de ligeramente ácido.

Para determinar la cantidad de compuestos fenólicos totales presente en el extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”, se ha empleado el método de Folin-Ciocalteu²⁷, que consiste en la preparación de la curva de calibración de ácido gálico e interpolar con las absorbancias de las muestras previamente diluidas, este resultado se mide en mg ácido gálico equivalente (GAE)/ g extracto.

El extracto glicólico cuenta con 75 mg GAE/100 g extracto, valor inferior a comparación de los estudios realizados por Jimenez, Castillo, Azuara y Beristain que el extracto etanólico de *Prunus serotina* “guinda” tiene 1732±42.40 mg GAE/100 g muestra⁶ y Muñoz, Ramos, Alvarado, Castañeda y Lizaraso que muestran que el extracto metanólico centrifugado de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda” tiene un contenido en fenoles totales de 735.99±15.05 mg GAE/100 g muestra⁸, llegando a la determinar que el extracto etanólico presenta una mayor cantidad de compuestos fenólicos, seguido por el extracto metanólico, y finalmente se encuentra el extracto glicólico.

Beltrán en su investigación “evaluación de la actividad antioxidante en tres estadios de madurez del sauco (*sambucus peruviana* L.) De nor Yauyos-Lima” manifiesta que, la composición química de las frutas fluctúa dentro de amplios límites, dependiendo en buena medida de la variedad, características del año, abonado, origen, edad, momento de recolección y almacenado. Esto explica algunas diferencias existentes entre los resultados obtenidos y aquellos reportados por los autores mencionados anteriormente.³⁶

Para evaluar la capacidad antioxidante se ha empleado el método de DPPH, metodología descrita por Brand-Williams, monitoreando el consumo del radical libre DPPH por las muestras, a través de la medida del descenso de la absorbancia de soluciones de diferentes concentraciones²⁸.

Esta técnica puede ser útil para la búsqueda de nuevos antioxidantes, no cuando se pretende valorar la utilidad de un antioxidante en un alimento, ya que su actividad en este caso depende de factores como la polaridad, solubilidad y la actividad quelante de metales.³⁷ en esta ocasión se ha considerado calcular el parámetro EC_{50} (concentración antioxidante necesaria para reducir la concentración inicial de la solución DPPH a la mitad).

El gráfico 1 muestra la concentración de 2,2 difenil-1- picrilhidracilo (DPPH) remanente a los 30 minutos, a diferentes concentraciones en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda” y la solución de ácido gálico, los puntos obtenidos en esta gráfica ayudó a realizar las curvas para determinar el parámetro EC_{50} (concentración de antioxidante que inhibe el 50% del radical libre).

En el gráfico 2 y el gráfico 3 representa las curvas para determinar el parámetro EC_{50} tanto para la solución de ácido gálico y extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda. Representado en $\mu\text{g/mL}$. Cuanto menor es el valor de EC_{50} , mayor es la capacidad de reducir el DPPH remanente. Este parámetro fue introducido por Sánchez-Moreno et al.³⁸, además del t_{EC50} , que es el tiempo necesario que necesita esa concentración para reducir en un 50% la cantidad inicial y la eficiencia antirradicálica que tiene en cuenta los dos factores.

$$AE = 1/(EC_{50} * t_{EC50})$$

Cuanto mayor sea AE, el antioxidante ejercerá su acción con menos concentración y en menos tiempo, lo que interesa en sistemas biológicos.

En la tabla 4 muestra el parámetro EC_{50} calculado en las muestras de ácido gálico y extracto glicólico de la cascara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”, que viene a ser la concentración de antioxidante necesaria para reducir la concentración del radical inicial a la mitad, dando como resultado que el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda” presenta un EC_{50} de $83,9667 \pm 1,6921 \mu\text{g/mL}$, muy superior a la solución de ácido gálico (EC_{50} $53,7600 \pm 2,6824 \mu\text{g/mL}$), comparando a los resultados obtenidos de Sousa et al. Que hicieron uso de la misma técnica, haciendo uso de extractos etanólicos de *T. brasiliensis* (cáscara) ($27,59 \pm 0,82$), *T. brasiliensis* (hojas) ($44,53 \pm 1,09$), *C. macrophyllum* (hojas) ($78,45 \pm 5,03$), *T. fagigolia* (hojas) ($42,23 \pm 1,72$), *Q. grandiflora* (hojas) ($50,16 \pm 0,82$), *C. prunifera* (raíz) ($111,14 \pm 12,48$), demostrando que el extracto glicólico tiene acción antioxidante media. Este valor puede explicarse por el medio de extracción usado, entendiéndose que una mezcla de solventes puede favorecer una mayor extracción de metabolitos secundarios, y por consiguiente un mejor efecto antioxidante³⁹.

En el gráfico 5 observamos Comparaciones entre EC_{50} (concentración antioxidante necesaria para reducir la concentración inicial de la solución DPPH a la mitad) en las muestras de ácido gálico y extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda” (con un valor $P= 0,000079$), concluyendo que la solución de ácido gálico presenta mejor efecto antioxidante que el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”.

En el anexo 12, Prueba T student para EC_{50} de la solución de ácido gálico y extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”, se observa que los valores de significancia del análisis realizado es 0,000079 (para EC_{50}), menores a 0,05, concluyendo que el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda” tiene efecto antioxidante. Chuquitarqui y Valdivia en su investigación “Estudio fitoquímico preliminar y evaluación del efecto diurético del extracto de *laurus nobillis* “laurel” en animales de experimentación” menciona que este procedimiento de comparación múltiple, se aplica para determinar que medias son significativamente diferentes de otras.⁴⁰

Por lo tanto, es muy importante consumir alimentos ricos en antioxidante para contrarrestar a los agentes oxidantes y mantener el equilibrio entre oxidante/antioxidante presente en nuestro organismo⁴¹.

También destacar la importancia de los polietilenglicoles en la industria cosmética, como agentes tensoactivos, emulsionantes, acondicionadores de la piel y de limpieza, en la industria farmacéutica se emplea como vehículo de fármacos y bases para ungüentos, capsulas, tabletas, y píldoras, supositorios, aglutinantes, recetas líquidas y en medicamentos veterinarios, incluidos parenterales, las preparaciones tópicas, oftálmicas, orales y rectales⁴².

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda”, presenta efecto antioxidante.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda” son taninos, flavonoides.
3. El extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda” es una solución viscosa de color guinda, olor sui generis, sabor purgante, soluble en agua, insoluble en cloroformo y de pH 6,6.
4. La cantidad de compuestos fenólicos presentes en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus serotina* “guinda” son de 0.75 mg GAE/g de extracto.
5. El extracto glicólico de la cáscara del fruto de *Prunus serotina* “guinda” presenta actividad antioxidante, pero no es superior a la actividad antioxidante de la solución de ácido gálico.

VII. RECOMENDACIONES

1. Emplear el propilenglicol como solvente para posteriores investigaciones que se han de realizar.
2. Desarrollar una forma farmacéutica adecuada para el extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”, y demostrar su comportamiento y actividad antioxidante.
3. Optimizar y estandarizar el proceso de obtención del extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. wikipedia. wikipedia, la enciclopedia libre. [Online]. 2016 [cited 2016 agosto 25. Available from:
https://es.wikipedia.org/wiki/Estr%C3%A9s_oxidativo
2. Botero Restrepo E. Plantas medicinales: pasado y presente Corantioquia; 2011.
3. Gestion.pe. Países de Asia usarán cosméticos hechos a base de productos andinos. Gestión El diario de economía y negocios de Perú. 2016 junio.
4. Teves F., Torres R. Estudio Comparativo de la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos antociánicos y caracterización de las antocianindinas en los frutos de las especies vegetales *Prunus serotina* (capulí), *Muehlenbeckia volcánica* (Benth.) Endl. (mullak'a), *Monnina salicifolia* R. & P. (Aceitunilla). Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Cusco, Perú 2011. [Acceso el 04 de junio del 2019] disponible en:
<http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/1061/253T20110041.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. Hurtado N, Pérez M. Identificación, estabilidad y actividad antioxidante de las antocianinas aisladas de la cascara de fruto de capulí (*Prunus serotina* spp capulí (Cav) Mc. Vaug Cav). [Online]; 2014 [cited 2016 agosto 26] . Available from:
<http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v25n4/art15.pdf>.
6. Jiménez M, Castillo I, Azuara E, Beristain CI. Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de capulín (*Prunus serotina* subsp capulí). [Online]; 2011 [cited 2016 agosto 27]. Available from:
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v10n1/v10n1a4.pdf>.
7. Ruiz, Venegas, Valdiviezo, Ocaña, Tadeo. Características Farmacognósticas y cuantificación espectrofotométrica de antocianinas totales del fruto de *Prunus serotina* subs. *Capulí* (cav.) McVaugh (rosaceae) "Capulí". [Online]; 2018 [citado el 04 de junio del 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v25n3/a09v25n3.pdf>.
8. Muñoz AM, Ramos F, Alvarado C, Castañeda B, Lizaraso F. Evaluación de compuestos con actividad biológica en cascara de camu camu (*Myrciria dubia*), Guinda (*Prunus serotina*), tomate de árbol

- (*Cyphomandra betacea*) y carambola (*Averrhoa carambola* L.) cultivadas en Perú. Revista de la Sociedad química del Perú. 2009 octubre; 75(4).
9. Alvarado B. Plantas medicinales de la cordillera negra. revista académica Perú salud. 2007; 14(2).
 10. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista cubana medica militar. 2002 Feb; 31(126-133).
 11. Vasudevan DM, Sreekumari S, Vaidayanathan K. Texto de bioquímica. Sexta ed. Guadalajara: Cuellar Ayala; 2011.
 12. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismo de protección. Atenea. 2006 Junio; II (494).
 13. Rodríguez J. M., Menéndez J. R., Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. Revista Cubana medica militar. 2001; 30(1).
 14. McVaugh R. A revisión o the North American Black Cherries (*Prunus Serotina* Ehrh., And relatives). Brittonia. 1951 diciembre; 7(4).
 15. Bruneton J. Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. segunda ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, S.A.; 2001.
 16. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. Ámbito farmacéutico nutrición [internet]. 2004 [consultado el 15 de abril del 2018]; 23(6). Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13063508>
 17. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición hospitalaria. 2002 Agosto; XVII (6).
 18. Russo R, Speranza M. Los flavonoides en la terapia cardiovascular. Revista costarricense de cardiología. 2006 Enero; 8(1).
 19. Pérez G. Los flavonoides: Antioxidantes o prooxidantes. Revista Cubana investigacion biomedica. 2003; 1(22).
 20. Ferraro G, Martino V, Bandoni A, Nadinic J. FITOCOMÉTICA FITOINGREDIENTES Y OTROS PRODUCTOS NATURALES. primera ed. Buenos Aires: Editorial universitaria de Buenos Aires; 2015.
 21. Astrid G. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. [Online].; 2008 [cited 2017 abril 15. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v13n3/v13n3a2.pdf>.

22. Olivas F, Wall A, Gonzales G, López J, Álvarez E, de la Rosa L, et al. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria*. 2015; 31(1).
23. Govea M, Zugasti A, Silva S, Valdivia B, Rodríguez R, Aguilar C, et al. Actividad anticancerígena del ácido gálico en modelos biológicos in vitro. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. 2013; 5(9).
24. Bagué AJ, Álvarez NS. *Tecnología Farmacéutica*. primera ed. San Vicente: Editorial club universitario; 2012.
25. Martínez J. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Helicarpus terbinthinaceus*. [Online].; 2007 [cited 2016 agosto 30. Available from: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10150.pdf.
26. Miranda M, Cuellar. *Farmacognosia y Productos Naturales La Habana: Félix Varela*; 2001.
27. García E, Fernández I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. [Online]. [cited 2017 abril 15]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>.
28. Sousa M, Rocha H, Magela G, Cruz M, da Costa C, Sérvulo D, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*. 2007 Abril; 30(2).
29. Hernández S., Fernández C., Baptista L. *metodología de la investigación*. Cuarta edición. México DF. McGraw-Hill interamericana, 2006.
30. Olimpo M. *Cosmética natural, y cambios estéticos*. La Republica Diario obrero y republicano. 2017 mayo.
31. Robles M, Aguilar A, Gutiérrez M, Rodríguez F, Morales J, Guerrero P, Madrigal J, Toro C. Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum Capiri Pittier*). *Biotecnia* [internet]. 2016 [consultado el 15 de noviembre del 2018]; 18(3-8). Disponible en: <https://biblat.unam.mx/es/revista/biotecnia/articulo/identificacion-cualitativa-de-metabolitos-secundarios-y-determinacion-de-la-citotoxicidad-de-extractos-de-tempisque-sideroxylum-capiri-pittier>
32. Colina A. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas

- de *Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M Johnst de la zona de Yucay (Cusco). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú 2016. [Acceso el 15 de noviembre del 2018] disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/7121/Colina_ra.pdf?sequence=1&isAllowed=y
33. Rivas C., Oranday M., Verde M. Investigación en plantas de importancia médica. Nuevo León. Omniascience, 2016.
 34. Lock, O. Investigación fitoquímica métodos en el estudio de productos naturales [internet]. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP); 1994 [1994, citado el 20 de noviembre del 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=N36g2QOccXkC&pg=PA285&dq=reaccion+de+kedde&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjN1LzznsjeAhWnt1kKHxo8B_AQ6AEIKDAA#v=onepage&q=reaccion%20de%20kedde&f=false
 35. Agrest, A. Los falsos positivos en medicina. Medicina (B. Aires) [internet]. 2012 [Consultado el 20 de noviembre del 2018]; 72(2). Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802012000200020
 36. Beltran M. Evaluación de la actividad antioxidante en tres estadios de madurez del sauco (*sambucus peruviana* L.) de nor Yauyos-Lima. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú 2010. [Acceso el 23 de junio del 2018] disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2642/Beltr%C3%A1n%20Ch%C3%A1vez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 37. Cerón L., Lopez I. extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante a partir de cáscaras de tres variedades de papa *solanum tuberosum* en el departamento de Nariño. Universidad de Nariño. San Juan de pasto. 2013 [Acceso el 23 de junio del 2018] disponible en: <http://biblioteca.udenar.edu.co:8085/atenea/biblioteca/89552.pdf>
 38. Pérez, J. Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes. Efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos. Universidad Autónoma de Madrid. 2007 [acceso el 24 de noviembre del 2018] disponible en:

https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/1671/6494_perez_jime nez_jara.pdf

39. Carbonel, K., Suárez S., Arnao A. Características fisicoquímicas y capacidad antioxidante in vitro del extracto de *Gentianella nitida* [internet] 2016 [consultado el 26 de noviembre del 2018]; 77(4). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a03v77n4.pdf>
40. Chuquitarqui L., Valdivia F. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación del efecto diurético del extracto de *laurus nobilis* “laurel” en animales de experimentación. Universidad Católica de Santa María. Arequipa, Perú 2013. [Acceso el 24 de junio del 2018]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/54220541.pdf>
41. Martínez J. evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *heliocarpus terebinthinaceus*. Universidad tecnológica de la Mixteca. Oaxaca, México 2007. [Acceso el 24 de junio del 2018] disponible en: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10150.pdf
42. Taype E. Estandarización y validación del método HET-CAM para medir la irritabilidad ocular in vitro de los extractos de cinco frutos nativos del Perú utilizados en la industria cosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú 2015. [Acceso el 25 de junio del 2018] disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4474/Taype_ee.pdf?sequence=1&isAllowed=y

ANEXOS

Anexo 1. Clasificación taxonómica de la especie *Prunus serotina* “guinda”, emitida por el **HERBARIUM HUAMANGENSIS** de la Facultad de ciencias biológicas de la Universidad Nacional de san Cristóbal de Huamanga.



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 Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Raúl José, GONZALES DIPAZ**, 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	:	ROSALES
FAMILIA	:	ROSACEAE
GENERO	:	Prunus
ESPECIE	:	<i>Prunus serotina</i> Ehr.
Var	:	<i>salicifolia</i> (Kunth.) Koehne.
N.V.	:	“guinda”, “cerezo”

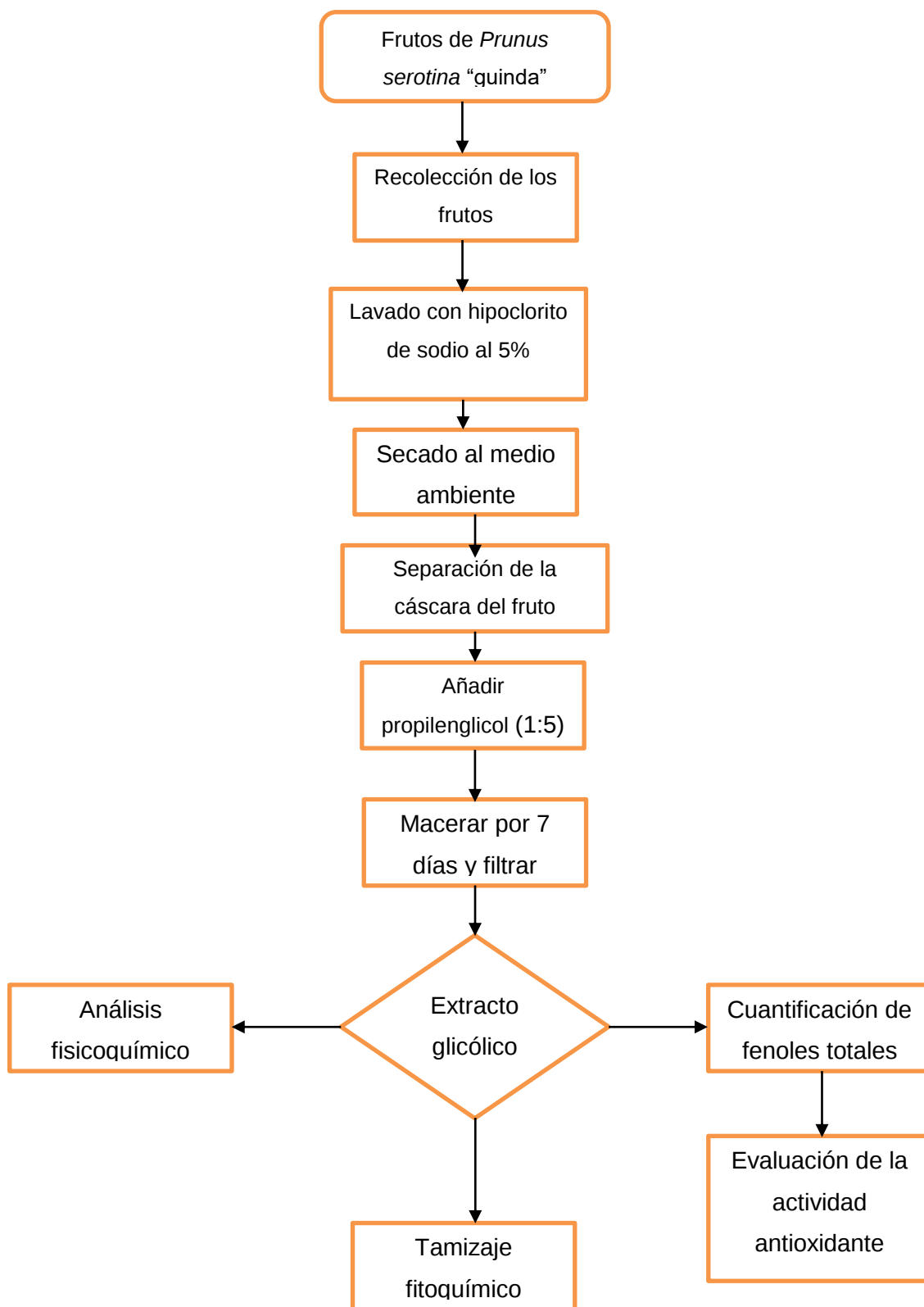
Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 10 de Octubre del 2013

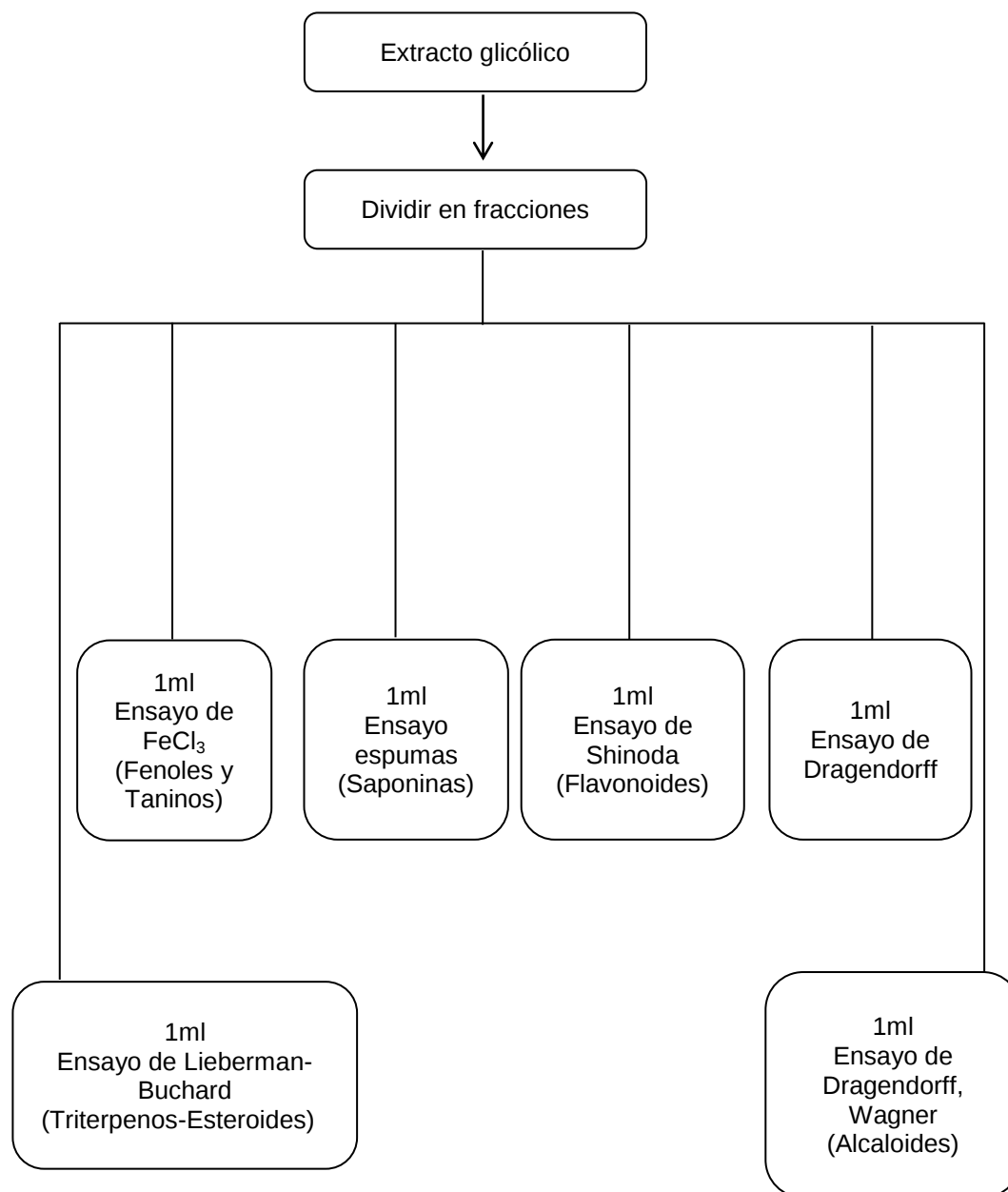
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Bga. Laura Agustine Medina
JEFE

Anexo 2. Diseño experimental para determinar la actividad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de los frutos de *Prunus Serotina* “guinda”. Ayacucho 2017



Anexo 3. Diagrama de flujo para el tamizaje fitoquímico del extracto glicólico de la cáscara del fruto de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho 2018



Anexo 4. Frutos de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho-2018



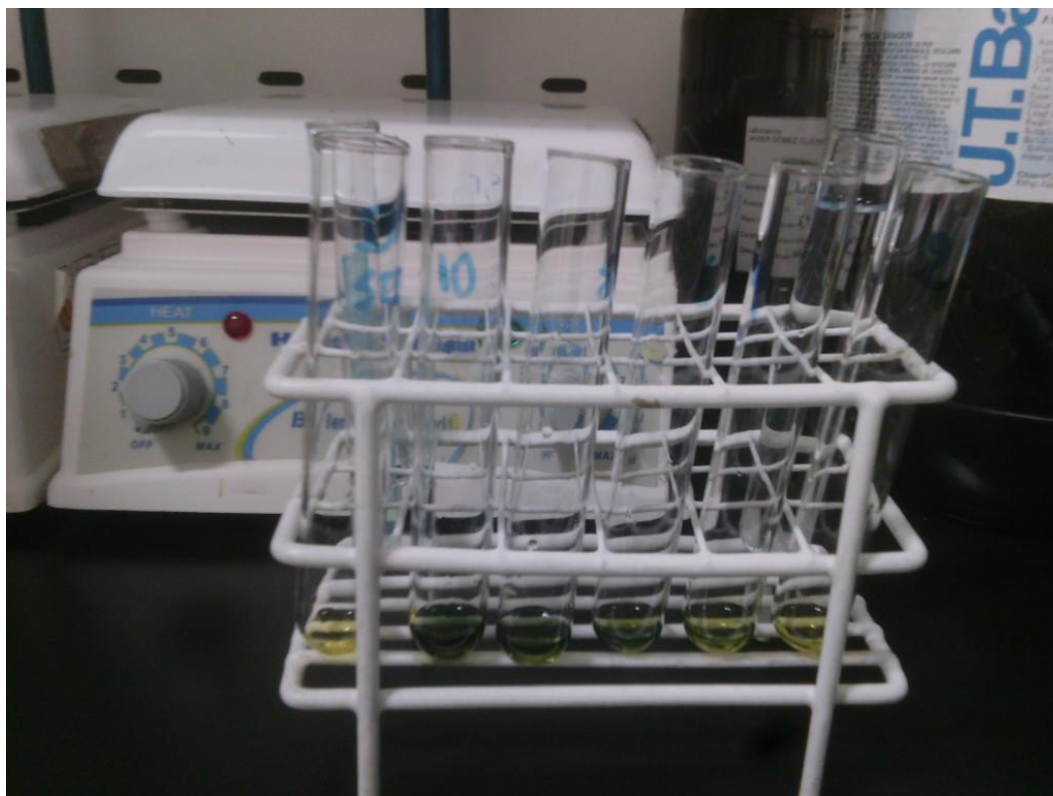
Anexo 5. Extracto glicólico obtenido a partir de la cáscara de los Frutos de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho-2018



Anexo 6. Tamizaje fitoquímico realizado al extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho-2018.



Anexo 7. Preparación de la curva de calibración del ácido gálico, para la cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Ayacucho-2018.



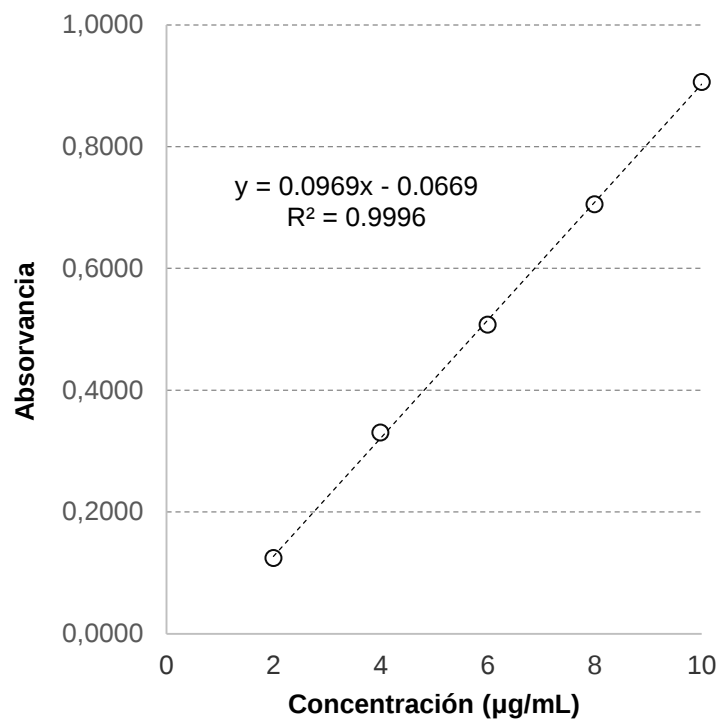
Anexo 8. Preparación de las muestras solución para la cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Ayacucho-2018



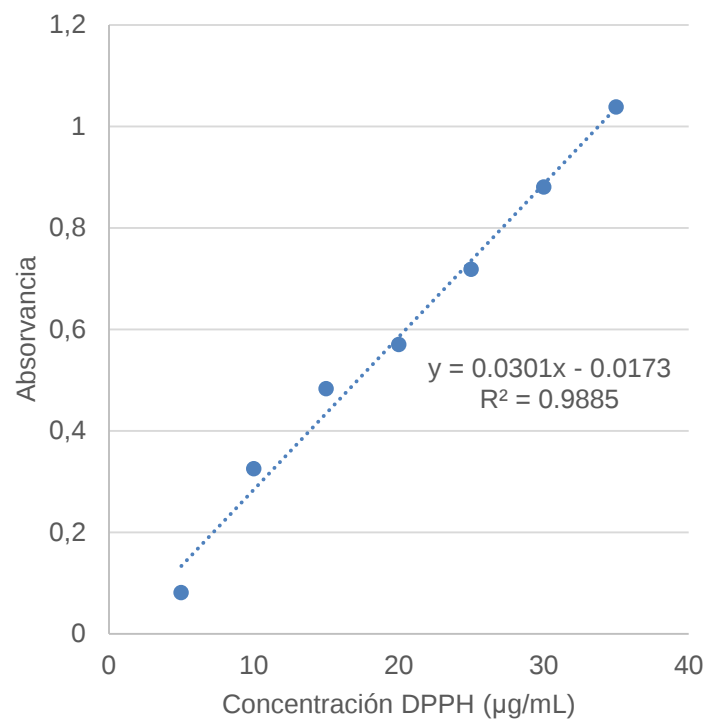
Anexo 9. Preparación de la solución madre y diluciones a partir del extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda” para el estudio de la Actividad antioxidante. Ayacucho-2018



Anexo 10. Recta de calibración del ácido gálico para la cuantificación de compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu. Ayacucho-2018



Anexo 11. Recta de calibración del ácido gálico para la evaluación de la actividad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* "guinda". Ayacucho-2018



Anexo 12. Prueba T student para EC₅₀ de la solución de ácido gálico y extracto glicólico de la cáscara de *Prunus serotina* “guinda”. Ayacucho-2018

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
										Lower Upper
EC₅₀	Equal variances assumed	,401	,561	16,497	4	0,000079	30.206667	1.831077	25.122781	35.290553
	Equal variances not assumed			16,497	3,374	0,000241	30.206667	1.831077	24.728380	35.684953

Anexo 13. Matriz de consistencia

Título	Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Metodología
Actividad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Ayacucho-2017	¿Tendrá actividad antioxidante el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda”?	Objetivo general. • Evaluar la actividad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus Serotina</i> “guinda”. Objetivos específicos. • Identificar los metabolitos presentes en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. • Efectuar el análisis fisicoquímico al extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda” • Cuantificar los compuestos fenólicos totales presentes en el extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. • Comparar la capacidad antioxidante del extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus Serotina</i> “guinda” con la solución estándar de ácido gálico.	Radicales libres. • Son especies cargadas químicamente, que presenta un electrón desapareado en su estructura, provocando gran daño a las moléculas, membranas celulares y tejidos. PRUNUS SEROTINA “GUINDA”. • DESCRIPCIÓN: • Usos medicinales: Extracto glicólico • Se obtienen a partir de droga seca sometida a la acción extractiva de propilenglicol y agua, se elaboran para su utilización exclusiva en dermatología, siendo muy bien tolerado de acción higroscópica que lo hace muy adecuado en mayor parte de formulaciones para la aplicación cutánea. Evitando así intolerancias y acumulación innecesaria de principios activos.	El extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda” tiene actividad antioxidante.	Variable dependiente: Actividad antioxidante Indicador: Decoloración del radical DPPH. Variable independiente: Extracto glicólico de la cáscara de los frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Indicadores: Concentración al 25, 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL.	Tipo de investigación: Básica- experimental Población: Frutos de <i>Prunus Serotina</i> que crecen en el distrito de Tambo, provincia de La Mar. Tipo de muestreo: Aleatorio Tamaño de muestra: 1 kg de frutos de <i>Prunus serotina</i> “guinda”. Metodología: Cuantificación de fenoles totales, se empleará el método de Folin-Ciocalteu. La actividad antioxidante será determinada basado en Sousa et al. (2007) Análisis Estadístico: Los datos será reportados en forma de gráficos. La significancia estadística estará determinada mediante la prueba de t de student para muestras independientes, con un nivel de confianza al 95%.