

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-----|
| ÍNDICE GENERAL | i |
| ÍNDICE DE FIGURAS | iv |
| ÍNDICE DE TABLAS | vi |
| ABREVIATURAS | vii |
| | |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| | |
| II. MARCO TEÓRICO..... | 3 |
| 2.1 <i>Aristotelia chilensis</i> | 3 |
| 2.2 Cicatrización de heridas | 6 |
| 2.3 Fases de la cicatrización | 6 |
| 2.4 Radicales libres y el mecanismo de defensa antioxidante | 8 |
| 2.5 Extractos naturales y su purificación | 10 |
| 2.6 Pruebas <i>in vitro</i> para caracterizar extractos naturales | 11 |
| 2.7 Fibroblastos..... | 12 |
| 2.8 Cultivo de fibroblastos | 12 |
| | |
| III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 14 |
| 3.1 Pregunta de investigación..... | 14 |
| 3.2 Hipótesis nula | 14 |
| 3.3 Hipótesis alternativa | 14 |
| 3.4 Objetivo general | 15 |
| 3.5 Objetivos específicos..... | 15 |

| | |
|--|----|
| IV. MATERIALES Y MÉTODOS | 16 |
| 4.1 Recolección de la materia vegetal | 16 |
| 4.2 Registro herbario | 17 |
| 4.3 Preparación de los extractos de <i>A. chilensis</i> | 17 |
| 4.4 Determinación de fenoles totales en extractos liofilizados de <i>A. chilensis</i> | 18 |
| 4.5 Determinación de flavonoides en extractos liofilizados de <i>A. chilensis</i> | 20 |
| 4.6 Determinación de antocianinas en extractos liofilizados de <i>A. chilensis</i> | 21 |
| 4.7 Evaluación de la capacidad antioxidante a través del ensayo de DPPH | 24 |
| 4.8 Evaluación de la capacidad antioxidante por ABTS | 26 |
| 4.9 Cultivo celular | 29 |
| 4.10 Ensayo de viabilidad celular por MTT | 31 |
| 4.11 Ensayo de cierre de herida (Scratch assay) | 32 |
| 4.12 Consideraciones bioéticas | 32 |
| 4.13 Análisis estadístico | 33 |
| V. RESULTADOS..... | 34 |
| 5.1 Cuantificación del contenido de fenoles totales en extractos liofilizados de <i>A. chilensis</i> | 34 |
| 5.2 Cuantificación de flavonoides en extractos liofilizados de <i>A. chilensis</i> | 35 |
| 5.3 Cuantificación de antocianinas en extractos liofilizados de <i>A. chilensis</i> | 36 |
| 5.4 Actividad antioxidante | 37 |
| 5.5 Cultivo celular de fibroblastos NIH-3T3..... | 40 |
| 5.6 Viabilidad celular de fibroblastos NIH-3T3 en extractos liofilizados de <i>A. Chilensis</i> | 41 |
| 5.7 Ensayo de cierre de herida <i>in vitro</i> | 43 |
| VI. DISCUSIÓN | 47 |
| VII. CONCLUSIÓN..... | 54 |

| | |
|------------------------|----|
| VIII. RESUMEN..... | 55 |
| IX. BIBLIOGRAFÍA | 57 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1. Rama con frutos de <i>A. chilensis</i> | 5 |
| FIGURA 2. Protocolo para la determinación de fenoles totales en las muestras de extractos de <i>A. chilensis</i> | 19 |
| FIGURA 3. Protocolo para la determinación de flavonoides totales en las muestras de extractos de <i>A. chilensis</i> | 21 |
| FIGURA 4. Protocolo para la determinación de antocianinas totales en las muestras de extractos de <i>A. chilensis</i> | 23 |
| FIGURA 5. Ensayo para evaluar la actividad antioxidante de muestras por el método DPPH | 25 |
| FIGURA 6. Protocolo para la generación del radical catión ABTS. | 27 |
| FIGURA 7. Ensayo para evaluar la actividad antioxidante de muestras por el método ABTS ⁺⁺ | 28 |
| FIGURA 8. Gráfica de la cantidad de fenoles totales obtenidos para los extractos liofilizados de hojas y frutos de <i>A. chilensis</i> , mediante la técnica de Folin-Ciocalteau | 35 |
| FIGURA 9. Cuantificación de flavonoides totales en extractos liofilizados de <i>A. chilensis</i> , mediante el método colorimétrico de AlCl ₃ | 36 |
| FIGURA 10. Gráfica de la cantidad de antocianinas obtenidas para los extractos liofilizados de hojas y frutos de <i>A. chilensis</i> , mediante el método de pH diferencial. | 37 |
| FIGURA 11. Gráfico comparativo de la capacidad antioxidante de los extractos de hojas y frutos de <i>A. chilensis</i> a partir del método DPPH. | 39 |
| FIGURA 12. Gráfico comparativo de la capacidad antioxidante de los extractos de hojas y frutos de <i>A. chilensis</i> a partir del método ABTS | 40 |
| FIGURA 13. Imagen microscópica del cultivo celular de fibroblastos NIH-3T3 en placa de 100 mm bajo condiciones de cultivo.. | 41 |

| | |
|---|----|
| FIGURA 14. Viabilidad de fibroblastos NIH-3T3 frente a distintas concentraciones de extractos liofilizados de <i>A. chilensis</i> | 43 |
| FIGURA 15. Comparación de Ensayo de cierre de herida de fibroblastos NIH-3T3 en grupo control (sin extractos), con extracto de frutos y con extracto de hojas de <i>A. chilensis</i> | 44 |
| FIGURA 16. Gráfica del porcentaje del área de cicatrización en cultivos fibroblastos NIH-3T3 <i>in vitro</i> , expuesto a diferentes extractos de <i>A. chilensis</i> | 46 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| TABLA 1. Protocolo para ensayo de DPPH..... | 25 |
| TABLA 2. Protocolo de ensayo de ABTS..... | 28 |
| TABLA 3. Determinación de la capacidad antioxidante equivalente al porcentaje de decoloración aplicando métodos DPPH y ABTS..... | 38 |
| TABLA 4. Viabilidad celular de fibroblastos NIH-3T3 a través del Kit de MTT..... | 42 |
| TABLA 5. Recuento del porcentaje del área de cicatrización en cultivos fibroblastos NIH-3T3 <i>in vitro</i> durante 12 horas..... | 45 |