



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
ZONA HUASTECA**



**“Evaluación antidiarreica y estudio del acoplamiento molecular de los compuestos bioactivos de la cáscara de *Litchi chinensis*”**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS BIOQUÍMICAS**

**Presenta:**

**Ing. Christian Iván Cano Gómez**

**Director de tesis:**

**Dr. Jorge Enrique Wong Paz**

**Co-Director de tesis:**

**Dr. Angel Josabad Alonso Castro**

**Asesora de tesis:**

**Dra. Candy Carranza Álvarez**

“Evaluación antidiarreica y estudio del acoplamiento molecular de los compuestos bioactivos de la cáscara de *Litchi chinensis*”



**COMITÉ TUTELAR:**





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
ZONA HUASTECA



“Evaluación antidiarreica y estudio del acoplamiento molecular de los compuestos bioactivos de la cáscara de *Litchi chinensis*”

**JURADO:**



Evaluación antidiarreica y estudio del acoplamiento molecular de los compuestos bioactivos de la cáscara de *Litchi chinensis* © 2024 by Christian Iván Cano Gómez is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International. To view a copy of this license, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

El programa de Maestría en Ciencias Bioquímicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados (SNP) del CONAHCYT, Registro 006289.



El presente trabajo fue realizado con apoyo de una beca académica otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología con el número 822463.

Al Laboratorio de Investigación en Alimentos de la Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca-UASLP por todas las facilidades para el desarrollo del proyecto y por permitirme utilizar sus instalaciones.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, un pilar que me brindan apoyo y los mejores deseos.

A mis amigos que siguen conmigo en las buenas y en las malas, a los amigos y compañeros que conocí realizando este proyecto por todos los momentos y experiencias compartidas.

Al comité tutelar, por su apoyo, consejos y paciencia, además les agradezco sus enseñanzas, entendimiento y la amistad que me han brindado. Del mismo modo agradezco a los profesores por compartir su conocimiento y ser parte de mi formación académica.

A todos sinceramente gracias creer en mí y otorgarme su confianza.

## PREFACIO

La presente tesis está estructurada en un formato de capítulos independientes, cada uno de los cuales aborda un aspecto específico del tema “Evaluación antidiarreica y estudio del acoplamiento molecular de los compuestos bioactivos de la cáscara de *Litchi chinensis*”. Este enfoque permite que cada capítulo sea consultado de manera autónoma, aunque en conjunto, ofrecen una visión integral y coherente sobre el tema.

Cada capítulo está diseñado para aportar un componente fundamental a la comprensión del problema abordado, garantizando que el lector tenga una experiencia fluida y cohesiva a lo largo de la tesis.

## RESUMEN

El litchi (*Litchi chinensis*) es una fruta tropical y subtropical valorada tanto por sus propiedades nutricionales como medicinales. Este trabajo de investigación explora la extracción, purificación y caracterización de estos compuestos bioactivos y su potencial terapéutico, especialmente en el tratamiento de la diarrea, así como la evaluación de los compuestos identificados en un modelo de acoplamiento molecular. Se caracterizó químicamente el extracto etanólico de la cáscara de litchi, se detallan los métodos de extracción y fraccionamiento, utilizando técnicas como la extracción asistida por microondas y sephadex LH-20. Los compuestos bioactivos identificados incluyen ácidos hidroxicinámicos, catequinas y proantocianidinas. Los análisis revelaron que la fracción acetónica contenía los niveles más altos de azúcares reductores, polifenoles totales y procianidinas. La evaluación en un modelo murino de la actividad antidiarreica del extracto etanólico de la cáscara de litchi mostró a 100 mg/kg tasas de inhibición de la diarrea entre 46.15% y 70.8%, presentando la mayor actividad antidiarreica. El extracto retrasó significativamente el inicio de la diarrea, a 100 mg/kg, redujo el tránsito gastrointestinal en un 59.2%. En el modelo de contorsiones inducidas por ácido acético, el extracto también inhibió el dolor abdominal de manera dosis-dependiente, mostrando una inhibición de la nocicepción del 59% con 200 mg/kg, comparable al 54% observado con naproxeno. El estudio de acoplamiento molecular (docking) evaluó la interacción de los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi con proteínas diana involucradas en la diarrea. Utilizando AutoDock Vina, se investigaron las afinidades de unión de ácido cafeico 4-O-glucósido, procianidina A2 y prodelfinidina B3 con enzimas como COX-1, COX-2, 5-LOX, y receptores muscarínicos M3 y  $\mu$ -opioide. Los resultados sugieren que estos compuestos pueden modular la actividad de proteínas clave en la inflamación y la motilidad gastrointestinal. En este estudio se demostró que los compuestos bioactivos presentes en la cáscara de litchi contribuyen a su actividad antidiarreica y antinociceptiva.

Palabras clave: cáscara de litchi, compuestos bioactivos, antidiarreico, antinocicepción, antioxidante, docking.

## ABSTRACT

Lychee (*Litchi chinensis*) is a tropical and subtropical fruit valued for both its nutritional and medicinal properties. This research work explores the extraction, purification and characterization of these bioactive compounds and their therapeutic potential, especially in the treatment of diarrhea, as well as the evaluation of the identified compounds in a molecular docking model. The ethanolic extract of litchi peel was chemically characterized, and the extraction and fractionation methods were detailed, using techniques such as microwave-assisted extraction and sephadex LH-20. The bioactive compounds identified include hydroxycinnamic acids, catechins and proanthocyanidins. Analysis revealed that the acetone fraction contained the highest levels of reducing sugars, total polyphenols and procyanidins. Evaluation in a murine model of the antidiarrheal activity of litchi peel ethanolic extract showed at 100 mg/kg diarrhea inhibition rates between 46.15% and 70.8%, presenting the highest antidiarrheal activity. The extract significantly delayed the onset of diarrhea; at 100 mg/kg, it reduced gastrointestinal transit by 59.2%. In the acetic acid-induced contortions model, the extract also inhibited abdominal pain in a dose-dependent manner, showing a 59% inhibition of nociception at 200 mg/kg, comparable to the 54% observed with naproxen. The molecular docking study evaluated the interaction of litchi peel bioactive compounds with target proteins involved in diarrhea. Using AutoDock Vina, the binding affinities of caffeic acid 4-O-glucoside, procyanidin A2 and prodelfinidin B3 with enzymes such as COX-1, COX-2, 5-LOX, and muscarinic M3 and  $\mu$ -opioid receptors were investigated. The results suggest that these compounds may modulate the activity of key proteins in inflammation and gastrointestinal motility. In this study, bioactive compounds present in litchi peel were shown to contribute to its antidiarrheal and antinociceptive activity.

Key words: litchi peel, bioactive compounds, antidiarrheal, antinociceptive, antioxidant, docking.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>xi</b>
Objetivo general .....	xi
Objetivos específicos .....	xi
<b>Hipótesis</b> .....	<b>xii</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>2</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>3</b>
<b>Capítulo 1. Generalidades en el procesamiento de la cáscara de litchi</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1. Introducción</b> .....	<b>4</b>
<b>1.2. Métodos de secado de la cáscara de litchi</b> .....	<b>6</b>
1.2.1. Secado por aire caliente .....	12
1.2.2. Liofilización .....	14
1.2.3. Secado al sol .....	17
<b>1.3. Métodos de extracción de la cáscara de litchi</b> .....	<b>18</b>
1.3.1. Maceración .....	19
1.3.2. Extracción asistida por ultrasonidos (EAU) .....	20
1.3.3. Extracción por alta presión (HPE) .....	22
<b>1.4. Aislamiento y caracterización de compuestos bioactivos de la cáscara de litchi</b> .....	<b>23</b>
1.4.1. Gel de sílice .....	25
1.4.2. Sephadex LH-20 (SLH) .....	25
1.4.3. Amberlite XAD-7 .....	27
1.4.4. Sephadex G-50 .....	29
1.4.5. Resina macroporosa AB-8 .....	30
<b>1.5. Propiedades biológicas y mecanismos de acción de los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi</b> .....	<b>33</b>
1.5.1. Actividad antioxidante .....	35
1.5.2. Actividad cardioprotectora .....	39
1.5.3. Actividad hepatoprotectora .....	40
1.5.4. Actividad antiaterosclerótica .....	42
1.5.5. Actividad anticancerígena .....	44
1.5.6. Actividad antihiper glucémica .....	46

1.6. Conclusiones .....	48
1.7. Referencias .....	50
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>65</b>
<i>Resumen</i> .....	66
<i>Abstract</i> .....	67
<b>Capítulo 2. Caracterización química del extracto etanólico de la cáscara de litchi .....</b>	<b>68</b>
2.1. Introducción .....	68
2.2. Materiales y métodos .....	69
2.2.1. Material vegetal .....	69
2.2.2. Preparación del extracto vegetal .....	69
2.2.3. Fraccionamiento de extractos vegetales .....	69
2.2.4. Determinaciones colorimétricas .....	70
2.2.5. Determinaciones cualitativas .....	71
2.2.6. HPLC-ESI-MS .....	72
2.3. Resultados y Discusión .....	73
2.3.1. Rendimientos de extracción .....	73
2.3.2. Caracterización química .....	73
3.4. Conclusiones .....	83
3.5. Referencias .....	84
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>87</b>
<i>Resumen</i> .....	88
<i>Abstract</i> .....	89
<b>Capítulo 3. Evaluación en un modelo murino de la actividad antidiarreica del extracto etanólico de la cáscara de litchi. ....</b>	<b>90</b>
3.1. Introducción .....	90
3.2. Materiales y Métodos .....	91
3.2.1. Actividad antioxidante .....	91
3.2.2. Animales .....	93
3.2.3. Tratamiento farmacológico .....	93
3.2.4. Toxicidad aguda .....	94
3.2.5. Actividad antidiarreica .....	94
3.2.6. Actividad antinociceptiva .....	95
3.2.7. Análisis estadístico .....	95
3.3. Resultados y Discusión .....	95
3.3.1. Actividad antioxidante .....	95
3.3.2. Toxicidad aguda .....	98
3.3.3. Actividad antidiarreica .....	98
3.3.4. Actividad antinociceptiva .....	100

3.4. Conclusiones .....	105
3.5. Referencias .....	105
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>110</b>
<i>Resumen</i> .....	<b>111</b>
<i>Abstract</i> .....	<b>112</b>
<i>Capítulo 4. Estudio de acoplamiento molecular (docking) con al menos un compuesto bioactivo identificado en la cáscara de litchi .....</i>	<b>113</b>
4.1. Introducción .....	<b>113</b>
4.2. Materiales y métodos .....	<b>114</b>
4.2.1. Docking Molecular .....	114
4.3. Resultados y Discusión .....	<b>115</b>
4.3.1. Estudios de acoplamiento.....	115
4.4. Conclusiones .....	<b>124</b>
4.5 Referencias .....	<b>125</b>
<i>Anexos</i> .....	<b>129</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Visión general del estudio de la cáscara de litchi.....	8
<b>Figura 2.</b> Mecanismos de los beneficios para la salud mediados por los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi. ....	34
<b>Figura 3.</b> AR, PT y PCs detectadas en el EC22 y sus fracciones .....	74
<b>Figura 4.</b> Perfiles de separación durante el tiempo de elución para AR, PT y PCs.....	75
<b>Figura 5.</b> Cromatogramas CL22 del (A) extracto crudo. (B) Fracción agua, (C) Fracción etanol y (D) Fracción acetona.....	79
<b>Figura 6.</b> Cromatogramas CL23 del (A) extracto crudo. (B) Fracción agua, (C) Fracción etanol y (D) Fracción acetona.....	80
<b>Figura 7.</b> Evaluación de la actividad antioxidante por DPPH .....	96
<b>Figura 8.</b> Evaluación de la actividad antioxidante por ABTS.....	97
<b>Figura 9.</b> Evaluación de la actividad antioxidante por FRAP.....	98
<b>Figura 10.</b> Complejo de acoplamiento 5-LOX con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de AF7 (ligando co-cristalizado) y la pose re-acoplada de validación. ....	117
<b>Figura 11.</b> Complejo de acoplamiento COX-1 con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de W8M (ligando co-cristalizado) y la pose re-acoplada de validación. ....	118
<b>Figura 12.</b> Complejo de acoplamiento COX-2 con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de CEL (ligando co-cristalizado) y la pose re-acoplada de validación.....	119
<b>Figura 13.</b> Complejo de acoplamiento muscarinico M3 con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de 9EC (ligando co-cristalizado) y la pose re-acoplada de validación. ....	120
<b>Figura 14.</b> Complejo de acoplamiento $\mu$ -opioide con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de BU72 (ligando co-cristalizado) y la pose re-acoplada de validación.....	121

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Métodos de extracción utilizados para la cáscara de litchi. ....	8
<b>Tabla 2.</b> Compuestos aislados de la cáscara del litchi, propiedades biológicas y mecanismos de acción.....	34
<b>Tabla 3.</b> Rendimientos de extracción para ambos lotes de cáscara de litchi.....	73
<b>Tabla 4.</b> Determinaciones cualitativas de CL22 y CL23.....	76
<b>Tabla 5.</b> Lista de compuestos tentativos detectados en CL22 y CL23 .....	81
<b>Tabla 6.</b> Actividad antidiarreica del extracto crudo y las fracciones .....	99
<b>Tabla 7.</b> Tránsito intestinal delgado del extracto crudo .....	100
<b>Tabla 8.</b> Enteropooling inducido por aceite de ricino del extracto crudo.....	100
<b>Tabla 9.</b> Contorsiones abdominales inducidas por ácido acético del extracto crudo.....	100

## Objetivos

### Objetivo general

Evaluar la actividad antidiarreica de los compuestos bioactivos obtenidos de la cáscara de *Litchi chinensis* en un modelo murino.

### Objetivos específicos

1. Caracterizar químicamente el extracto etanólico de la cáscara de litchi.
2. Evaluar en un modelo murino la actividad antidiarreica del extracto etanólico de la cáscara de litchi.
3. Realizar un estudio de acoplamiento molecular (docking) con al menos un compuesto bioactivo identificado en la cáscara de litchi.

## **Hipótesis**

El extracto etanólico de cáscara de litchi contiene compuestos bioactivos con un efecto antidiarreico.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES ZONA HUASTECA**



# **CAPÍTULO 1**

## **Generalidades en el procesamiento de la cáscara de litchi**

*Artículo publicado: Cano-Gómez, C. I., Alonso-Castro, A. J., Carranza-Alvarez, C., & Wong-Paz, J. E. (2024). Advancements in Litchi chinensis Peel Processing: A Scientific Review of Drying, Extraction, and Isolation of Its Bioactive Compounds. Foods, 13(10), 1461. (versión en inglés)*

## Resumen

Este capítulo revisa sistemáticamente los avances en el procesamiento de la cáscara de litchi (*Litchi chinensis*), haciendo hincapié en el secado, la extracción, los métodos de purificación y el potencial de los compuestos bioactivos obtenidos a partir de la cáscara de litchi. Este trabajo también destaca el impacto de diversas técnicas de secado en los perfiles fitoquímicos, centrándose en cómo métodos como el aire caliente y la liofilización afectan a la conservación de los compuestos bioactivos. El estudio profundiza en los métodos de extracción, detallando cómo los distintos disolventes y técnicas influyen en la eficacia de la extracción de compuestos bioactivos de la cáscara de litchi. Además, se analiza la purificación y caracterización de los compuestos activos, mostrando el papel de las técnicas cromatográficas en el aislamiento de moléculas bioactivas específicas. Se revisan las propiedades biológicas y los mecanismos de acción, como las actividades antioxidantes, antihiper glucémica, cardioprotectora, hepatoprotectora, antiaterosclerótica y anticancerígena, proporcionando una visión de los beneficios potenciales para la salud de los compuestos de la cáscara de litchi. Esta revisión destaca la importancia de optimizar y seleccionar métodos precisos de secado y extracción para maximizar los efectos terapéuticos de la cáscara de litchi y sus compuestos bioactivos. Esta revisión también revela el amplio potencial farmacológico de los compuestos aislados, subrayando la necesidad de seguir investigando para descubrir sus acciones específicas y beneficios para la salud.

Palabras clave: *Litchi chinensis*; compuestos bioactivos; propiedades biológicas; métodos de secado.

## **Abstract**

This article systematically reviews the advancements in processing litchi peel (*Litchi chinensis*), emphasizing drying, extraction, purification methods, and the potential of bioactive compounds obtained from litchi peel. This work also highlights the impact of various drying techniques on phytochemical profiles, focusing on how methods such as hot air and freeze-drying affect the preservation of bioactive compounds. The study delves into extraction methods, detailing how different solvents and techniques influence the efficiency of extracting bioactive compounds from litchi peel. Furthermore, the purification and characterization of active compounds, showcasing the role of chromatographic techniques in isolating specific bioactive molecules, is discussed. Biological properties and mechanisms of action, such as antioxidant, antihyperglycemic, cardioprotective, hepatoprotective, anti-atherosclerotic, and anticancer activities, are reviewed, providing insight into the potential health benefits of litchi peel compounds. This review highlights the importance of optimizing and selecting accurate drying and extraction methods to maximize the therapeutic effects of litchi peel and its bioactive compounds. This review also reveals the broad pharmacological potential of the isolated compounds, underscoring the need for further research to discover their specific actions and health benefits.

**Keywords:** *Litchi chinensis*; bioactive compounds; biological properties; drying methods.

# Capítulo 1. Generalidades en el procesamiento de la cáscara de litchi

## 1.1. Introducción

Litchi (*Litchi chinensis*) es una fruta tropical originaria de China, se cultiva en todo el mundo en climas cálidos y es un importante cultivo frutal con un enorme potencial de exportación que juega un papel significativo en su economía (Kong et al., 2010; Kumar et al. 2017). Los residuos generados a partir de su cosecha o procesamiento representan una importante fuente de compuestos fitoquímicos que se utilizan en una amplia gama de aplicaciones, especialmente aquellos con actividades biológicas (Pacheco López & Cuevas Bernardino, 2020) como la cáscara, que han sido utilizados por los practicantes de la medicina tradicional china para diversas enfermedades (Mal et al., 2010). Originada como un subproducto de la fruta del litchi, a menudo descartada como desecho, la cáscara ha emergido como una fuente significativa de compuestos activos. Extensas investigaciones revelan su rica diversidad fitoquímica, que incluye flavonoles simples, sesquiterpenos, ácidos fenólicos y proantocianidinas, que contribuyen a su amplia gama de propiedades medicinales, como efectos antioxidantes, antidiabéticos, preventivos del cáncer y antiinflamatorios (Chukwuma et al., 2021a). La exploración de compuestos bioactivos derivados de fuentes vegetales, en particular los que se encuentran en la cáscara del litchi, representa una frontera en la búsqueda de antioxidantes naturales, agentes antihiperoglucémicos, compuestos cardioprotectores y otros usos medicinales. Este proceso comienza con la extracción de una mezcla compleja de fitoquímicos, que necesita el aislamiento y la purificación de compuestos con interés farmacológico (L. G. Chen et al., 2017; L. Liu et al., 2007). La cáscara de litchi, a menudo descartada como residuo, emerge como una fuente significativa de compuestos activos, con estudios que revelan su rica diversidad fitoquímica (Queiroz et al., 2018; Rong et al., 2017). Un paso inicial crucial en el aprovechamiento de estos compuestos es el proceso de secado, que influye significativamente en la conservación y concentración de los compuestos bioactivos. Técnicas como el secado por aire caliente y el secado por congelación

se seleccionan cuidadosamente para mantener la integridad de estos compuestos, lo que afecta a su posterior extracción y a la eficacia general de los productos derivados (Vidinamo et al., 2021). El secado de la cáscara de litchi es un factor determinante en la calidad de los extractos obtenidos, allanando el camino para el aislamiento eficaz de los compuestos. Tras el secado, el proceso de extracción juega un papel fundamental. Se emplean métodos que van desde la extracción convencional con disolventes hasta técnicas avanzadas como la extracción con fluidos supercríticos y la extracción asistida por ultrasonidos, cada una con su propio conjunto de parámetros diseñados para optimizar el rendimiento de los compuestos bioactivos. Esta etapa es crítica, ya que la elección del método de extracción y del disolvente puede influir significativamente en el perfil fitoquímico del extracto, afectando así a su eficacia biológica (Gong et al., 2018). Los compuestos aislados se someten a purificación, basada en técnicas cromatográficas como la exclusión por tamaño, el gel de sílice y la cromatografía de afinidad. Estos procesos de purificación son cruciales para aislar moléculas bioactivas específicas, lo que permite una investigación detallada de sus propiedades y posibles beneficios para la salud. La caracterización de compuestos bioactivos, incluyendo flavonoides, proantocianidinas y antocianinas, marca un avance significativo en el campo, destacando el papel indispensable de la cromatografía en la investigación fitoquímica (Hameed et al., 2018; Mottaghipisheh et al., 2020). Los efectos antioxidantes, antihiper glucémica, cardioprotectora, hepatoprotectora, antiaterosclerótica y anticancerígena de estos extractos se han revisado meticulosamente mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*. Estos estudios no solo arrojaron luz sobre las posibles aplicaciones terapéuticas de los compuestos de la cáscara de litchi, sino que también abordaron sus mecanismos de acción, proporcionando una base para futuras investigaciones y desarrollos (Gong et al., 2018). El estudio exhaustivo de los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi, desde el secado y la extracción hasta la purificación y la caracterización, revela un campo de investigación complejo pero prometedor. El potencial terapéutico de estos compuestos subraya la importancia de seguir perfeccionando las técnicas de procesamiento y profundizar en sus mecanismos de acción.

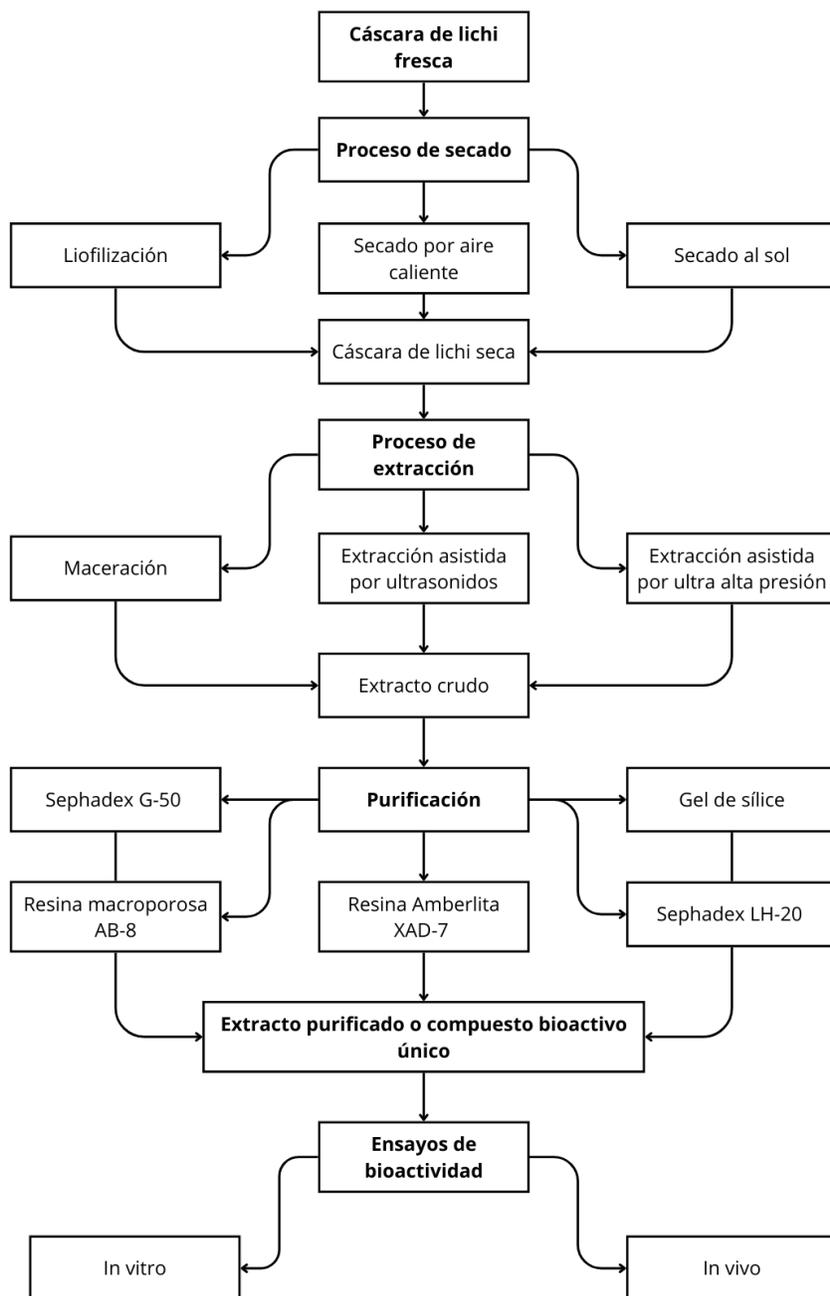
Si se sigue investigando la cáscara del litchi, se podrán descubrir nuevos beneficios para la salud, lo que dará lugar a nuevas investigaciones y, potencialmente, a nuevos agentes terapéuticos y a un conocimiento más profundo de los compuestos bioactivos de origen vegetal (Chukwuma et al., 2021, Ibrahim & Mohamed, 2015). La investigación y aprovechamiento de este recurso desaprovechado puede facilitar avances importantes en la formulación de suplementos dietéticos, productos farmacéuticos y nutracéuticos. Esto resalta la importancia de continuar desarrollando estudios en esta área, ya que los compuestos bioactivos presentes podrían ofrecer beneficios terapéuticos valiosos y contribuir a innovaciones en el campo de la salud.

## **1.2. Métodos de secado de la cáscara de litchi**

Para el estudio de la cáscara de litchi, debe llevarse a cabo un proceso secuencial, como se muestra en la [Figura 1](#). Este proceso comienza con el secado, seguido de la extracción, purificación y realización de ensayos biológicos. Este proceso comienza con el secado, seguido de la extracción, la purificación y los ensayos biológicos realizados. El paso inicial que discutiremos es la fase de secado.

El proceso de secado afecta significativamente a los compuestos fitoquímicos de frutas y verduras. Estos fitoquímicos, entre los que se incluyen fenoles y flavonoides, son compuestos bioactivos que se encuentran en las plantas con capacidades antioxidantes. Estas propiedades farmacológicas pueden variar en función del secado, las condiciones y el tiempo de almacenamiento. Las diferentes técnicas de secado pueden inducir variaciones positivas y negativas en la estructura física y química de los productos deshidratados. Las cáscaras de litchi, un subproducto frecuentemente desechado, representan alrededor del 15% del peso total del Litchi fresco, causando un importante desperdicio de recursos y contaminación ambiental. Algunas sustancias químicas vegetales, como los flavonoides (Vidinamo et al., 2021), las proantocianidinas y las antocianinas, son cada vez más conocidas por sus actividades biológicas (Z. Yang et al., 2022). La cáscara de litchi necesita ser secada antes de extraer sus compuestos bioactivos. Los métodos de secado pueden tener un impacto en la calidad y cantidad de químicos extraídos de la planta,

el secado con aire caliente y la liofilización han sido utilizados en el proceso de la cáscara del litchi, como se muestra en la [Tabla 1](#).



**Figura 1.** Visión general del estudio de la cáscara de litchi.

**Tabla 1.** Métodos de extracción utilizados para la cáscara de litchi.

Método	Método de secado	Disolvente	Proceso	Depuración	Resultado	Referencia
Maceración	Liofilizado	Etanol (68%)	1:20 (p/v) 59°C 93 min	Utilización de la resina macroporosa AB-8 y diversas técnicas cromatográficas	81,4% de contenido en fenol	(Chen et al., 2017)
	Liofilizado	Etanol (70%)	50°C 120 min	Columna rellena de resina macroporosa AB-8	Contenido en procianidinas 95,85 ± 4,44%.	(Sui et al., 2016)
	Liofilizado	Etanol (70%)	50°C 90 min		Contenido de procianidina 99,56 ± 1,2%.	(S. Li et al., 2012)
		Acetona	25°C 240 min		El peso corporal de los ratones se redujo en un 12,3%.	(Rong et al., 2017)
	Liofilizado	HCl 0,5 M	25°C 12 h	Cromatografía en columna con resina Amberlite XAD-7	Contenido en antocianinas: 67,7%.	(Z. Zhang et al., 2004a)
		Acetona	1:10 (p/v) 25°C 240 min		Fuerte actividad antioxidante <i>in vitro</i>	(L. Liu et al., 2007)
	Secado en horno durante 18 h a 60 °C	Metanol (70%)	1:10 (p/v) 40°C 180 min		Contenido en fenoles totales: 3,68 mg GAE/g-dw a 37,4 mg GAE/g-dw	(Babbar et al., 2011)

Secado al aire durante 2 h a 28°C	HCl 0,5 M (en agua)	25°C 12 h	Contenido total de antocianinas de 18,6 mg/100 g	(Duan, Jiang, et al., 2007)
	Acetona (80%)	1:10 (p/v) 120 min 25°C	Contenido fenólico total entre 9,39 y 30,16 mg GAE/g FW	(W. Li et al., 2012)
Liofilizado	Na acuoso saturado <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	pH 10 60°C 6 h	Contenido de 75,06% de polifenoles totales, 13,98% de flavonoides totales, 5,51% de antocianinas totales y 28,53% de proantocianidinas totales.	(Z. Yang et al., 2022)
Nitrógeno líquido	Etanol acuoso frío (65%) con metabisulfito sódico al 0,5	1:10 (p/v) 30 min 4°C	Las actividades de barrido de radicales DPPH de los fenólicos del litchi fueron del 73,09 %.	(Duan, Wu, et al., 2007)
Secado al aire caliente (2-8 h), secado al aire (5-7 días), escaldado al vapor y secado al aire caliente (2-5 h) 28 - 80 °C	Etanol (60%)	1:3 (p/v) 120 min 40°C	Los compuestos fenólicos totales se redujeron en un 26,44% tras el secado al aire durante siete días. El secado en estufa de aire caliente a 40°C redujo el contenido fenólico total en un 12,03%, mientras que el secado por encima de una temperatura de 60°C provocó una reducción de los grupos	(Kessy et al., 2016)

				fenólicos superior al 40%.	
		85% Etanol:15 % HCl	1:80 (p/v) 4 °C 120 min	La fracción de acetato de etilo de los flavonoides representó el 83,1% de la cantidad total de flavonoides.	(Zhao et al., 2006)
		Agua destilada	1:20 (p/v) 30 °C 120 min	Filtración en gel utilizando una columna Sephadex G-50	Las fracciones de polisacáridos mostraron actividad antirradical (17 - 76%). (B. Yang et al., 2006)
	Congelado en nitrógeno líquido	Solución acuosa de HCl 0,1 mol/L	1:10 (p/v) 25 °C 12 h	Utilización de resina Amberlite XAD-7 y columnas Sephadex LH-20	Se detectaron más de 1000 y 2000 mg de equivalencia de ácido gálico por gramo (mg GAE/g). (Gong et al., 2018)
	Secado al sol	Metanol	1:10 (p/v) 4 días 25 - 32 °C	utilizó una secuencia de fraccionamientos con disolventes, seguida de cromatografía en columna de gel de sílice.	La actividad antioxidante aumentó al aumentar la concentración de cada muestra (10 - 72%). (G. Jiang et al., 2013)
<b>Extracción asistida por ultrasonidos</b>	Secado en horno durante 48 h a 60 °C	Metanol y acetona acuosa (70%, v/v)	1:5 (p/v) 20 min		Contenido de procianidina 2,2 (metanol) y 6,9% (acetona) (p/p) (Miranda-Hernández et al., 2019)
	Secado al horno a 40 °C	Etanol (70%)	1:10 (p/v) 15 min 45°C		Los fenoles solubles totales oscilaron entre 51,3 y 102,1 g kg-1 DW (H. C. Wang et al., 2011)
		Etanol (20%)	200 - 400 w		64,34 ± 2,65, lo que demuestra una fuerte actividad (S. Li et al., 2018)

		60 - 100 min 10 - 20 mL/g	antioxidante en productos horneados.	
Secado al horno a 50 °C durante 12 h.	Etanol (40 - 90%) en HCl al 1% (p/p)	1:20 (p/v). 30 °C 5 - 60 min 120 - 300 W	La concentración de etanol fue el factor más importante para la extracción de cianidina-3- rutinosido.	(Rao, 2010)
Secado al horno a 80 °C durante 36 h.	Etanol:HCl (85:15)	1:40 (p/v) 25 °C 30 min	Los rendimientos más elevados (30, 29 y 24%) de compuestos fenólicos se obtuvieron cuando se aplicó ultrapresión a 400 y 200 MPa y ultrasonidos.	(Prasad et al., 2009)
<b>Extracción asistida por enzimas/ ultrasonidos</b>	Etanol (20%)	1:15 (p/v) 50 °C 90 min	El proceso mejoró notablemente el rendimiento del LPOPC, que osciló entre el 8,25% y el 14,20%, en comparación con el rendimiento inferior al 9% obtenido únicamente con el tratamiento enzimático.	(S. Li et al., 2018)
<b>Extracción asistida por ultra alta presión</b>	Etanol acuoso	1:10 (p/v) 25°C 10 min 100 - 500 MPa	ORAC (139,7 µmol TE/g) y CAA (34,21 µmol QE/g)	(R. Zhang et al., 2017)

Secado al horno a 80 °C durante 36 h.	Etanol:HCl (85:15)	1:40 (p/v) 25 °C 30 min 200 - 400 MPa	Los mayores rendimientos (30, 29 y 24%) de compuestos fenólicos se obtuvieron cuando se aplicó Ultra-alta presión a 400 y 200 MPa y Ultrasonidos.	(Prasad et al., 2009)
---------------------------------------	--------------------	--	---	-----------------------

### 1.2.1. Secado por aire caliente

El uso del secado por aire caliente es necesario cuando se requiere un secado rápido para reducir el costo de producción. Sin embargo, esta técnica suele provocar una pérdida significativa de antioxidantes debido a las altas temperaturas que se alcanzan. Se aplicaron diferentes métodos de secado para analizar su impacto en el perfil fitoquímico y la actividad antioxidante de varios productos, y los resultados mostraron un aumento y una disminución del contenido de compuestos bioactivos. El secado por aire caliente, que se realiza en entornos controlados con espacios ventilados y diversas fuentes de calor, permite regular con precisión la temperatura y la presión atmosférica para optimizar el proceso de secado. La elección de la técnica de secado para las verduras depende de sus componentes bioactivos. Por ejemplo, el uso de temperaturas significativamente elevadas, que oscilan entre 100°C y 180°C, mejora el proceso es factible para las hortalizas ricas en flavonoides. Sin embargo, la aplicación de tales temperaturas puede provocar la pérdida de compuestos volátiles (Periche et al., 2015; Thamkaew et al., 2021).

El proceso de secado por aire caliente implica una serie de transformaciones tanto físicas como fisicoquímicas en el material vegetal. La temperatura del medio de secado, normalmente aire, tiene un impacto significativo en el proceso. Al aumentar la temperatura, se acelera la velocidad de secado. Es esencial tener en cuenta tanto la temperatura como la duración del secado en relación con los compuestos bioactivos, lo que pone de manifiesto la necesidad de especificar detalladamente las condiciones experimentales en cualquier metodología empleada (Krakowska-

Sieprawska et al., 2022; Roshanak et al., 2016). De acuerdo con los datos de la Tabla 1, diferentes experimentos utilizan diferentes condiciones de secado en estufa y reportan variaciones en la composición bioactiva de la cáscara de litchi (Babbar et al., 2011a) realizaron un proceso de secado en estufa de 18 h a 60°C y alcanzaron un contenido total de fenoles de 3,68 mg GAE/g-PS. Del mismo modo, (Miranda-Hernández et al., 2019) utilizaron el mismo método de secado a 60°C, pero lo extendieron a 48 h, reportando un contenido de 2,2% de procianidinas (metanol) y 6,9% (acetona). Por el contrario, (Duan, Wu, et al., 2007) decidieron secar a una temperatura inferior de 28°C, pero registraron un contenido de antocianinas de 18,6 mg/100 g en poco tiempo. (Kessy et al., 2016) investigaron la influencia del blanqueado con vapor y el proceso de secado en los compuestos fenólicos de la cáscara de litchi. Hasta la fecha, este es el único trabajo que contrasta diferentes parámetros de secado utilizando métodos variados para la cáscara de litchi. Las muestras se sometieron a tratamientos que incluyeron blanqueado con vapor durante 3 min, seguido de secado en estufa de convección a 60 y 80 °C, secado a temperatura ambiente y secado en estufa de convección a temperaturas de 40, 60, 70 y 80 °C. Los compuestos fenólicos totales, flavonoides, pro-antocianidinas y antocianinas disminuyeron un 26,44%, 15,11%, 14,12% y 78,61%, respectivamente, tras la deshidratación a temperatura ambiente durante siete días. La deshidratación en horno a 40 °C redujo los fenoles totales, flavonoides y antocianidinas en un 12,03%, 18,38% y 60,01%, respectivamente. Sin embargo, cuando la temperatura supera los 60 °C, se produce una disminución de los compuestos fenólicos que supera el 40%. La combinación del blanqueado con vapor y el secado en estufa a 60 °C puede maximizar la concentración de compuestos fenólicos en la cáscara de litchi. el efecto del secado con aire caliente en el perfil fitoquímico y la actividad antioxidante varía entre las cáscaras de las frutas.

Por ejemplo, en un estudio sobre cáscaras de cítricos se observó que el secado con aire caliente provocaba una disminución del contenido fenólico total y de la capacidad antioxidante, lo que sugiere una posible degradación de los compuestos bioactivos a temperaturas de secado más elevadas (Shu et al., 2020). Del mismo

modo, la investigación sobre la cáscara de la fruta del dragón demostró que mientras que el secado al sol dio lugar a una menor actividad antioxidante y contenido de betalaínas, el secado por aire caliente a una temperatura controlada conservó más de estos valiosos compuestos (L. Wiset et al., 2012). Por el contrario, un estudio sobre la cáscara de zanahoria mostró que el secado por aire caliente a temperaturas típicas dio lugar a niveles más bajos de compuestos fitoquímicos en comparación con otros métodos como el secado por microondas (Nguyen & Le, 2018). Además, la investigación sobre la cáscara de Hongjv (*Citrus reticulata* Blanco) observó que el secado con aire caliente indujo disminuciones significativas en el contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante, lo que pone de relieve la naturaleza delicada de estos compuestos cuando se exponen a altas temperaturas (W. Li et al., 2020). Al comparar estos resultados con los de la cáscara de litchi, es evidente que mientras que la cáscara de litchi puede retener ciertos compuestos bioactivos tras el secado al aire caliente, otras cáscaras de fruta pueden experimentar una reducción más significativa de fitoquímicos y antioxidantes valiosos. Esto sugiere que la elección de la técnica de secado debe adaptarse al tipo específico de cáscara de fruta y al resultado deseado para la conservación de los compuestos bioactivos. Los diferentes resultados obtenidos con esta metodología refuerzan aún más la idea de que los métodos seleccionados pueden afectar significativamente al perfil fitoquímico de los productos desecados, lo que subraya la importancia de considerar y ajustar cuidadosamente estos parámetros.

### 1.2.2. Liofilización

La liofilización es un procedimiento avanzado de deshidratación que funciona a temperaturas muy bajas, lo que garantiza una conservación óptima de la integridad y la calidad del producto. Esta técnica, conocida como secado por sublimación, se centra en eliminar la humedad del material previamente congelado mediante la transición directa de un estado sólido a uno gaseoso, sin pasar por una fase líquida. El inicio del proceso es crucial y consiste en una congelación rápida entre  $-40^{\circ}\text{C}$  y  $-50^{\circ}\text{C}$  para evitar la generación de grandes cristales de hielo. Esta etapa, que implica

la sublimación, utiliza un vacío combinado con una temperatura controlada y puede durar hasta 48 h sigue a la fase inicial de congelación, en la que el material se solidifica para preparar la eliminación de la humedad. Durante este periodo, la humedad no se licua, sino que se volatiliza. Por último, se lleva a cabo una etapa de desorción a temperaturas de 40-50°C para eliminar la retención de agua no congelada. El producto resultante sólo conserva entre un 1% y un 2% de su contenido acuoso original (Krakowska-Sieprawska et al., 2022; Vidinamo et al., 2021).

En contraste con los métodos de secado convencionales, la liofilización es conocida por sus ventajas distintivas. Las técnicas estándar pueden inducir alteraciones químicas o físicas en los productos debido a las altas temperaturas utilizadas, lo que, en el caso de extractos botánicos sensibles, puede comprometer seriamente la calidad del extracto resultante. Algunos de los contrastes más notables entre ambos métodos son la técnica de eliminación de la humedad, el porcentaje de agua eliminada (con la liofilización se elimina casi el 98% del agua, en contraste con el 70-80% de los métodos convencionales), la durabilidad del producto (los productos liofilizados pueden conservarse hasta 20-30 años, mientras que los secados convencionalmente tienen una vida útil de 1-5 años), y el contenido nutricional (los artículos liofilizados conservan una mayor cantidad de vitaminas y nutrientes en comparación con los secados por métodos convencionales) (Krakowska-Sieprawska et al., 2022; Vidinamo et al., 2021). De acuerdo con la información contenida en la [Tabla 1](#), varias investigaciones han adoptado esta metodología utilizando cáscara de litchi. Por ejemplo, S. Li et al., (2012b) aplicaron la liofilización como paso preparatorio en el proceso de extracción, logrando un contenido de procianidina de  $99,56 \pm 1,2\%$ . Este resultado es comparable al obtenido por Sui et al, (2016), quienes informaron de un contenido de procianidina del  $95,85 \pm 4,44\%$ . Por el contrario, L. G. Chen et al., (2017) reportaron un contenido fenólico del 81,4%. Hasta la fecha, no hay estudios disponibles que comparen directamente los métodos de secado y su influencia en la extracción de fitoquímicos de la cáscara de litchi. La liofilización ha demostrado ser un método eficiente en la preparación de

muestras para la extracción de fitoquímicos, evidenciado por los altos porcentajes de procianidinas y fenoles obtenidos en las investigaciones citadas. Sin embargo, existe un vacío en la literatura científica sobre la comparación directa de diferentes técnicas de secado y su impacto en la extracción de fitoquímicos de la cáscara de litchi, destacando la necesidad de futuras investigaciones en esta área. La liofilización se ha utilizado ampliamente para preservar la integridad fitoquímica y la actividad antioxidante de las cáscaras de fruta, al igual que ha resultado beneficiosa para la cáscara de litchi. El proceso ha demostrado mantener altos niveles de compuestos bioactivos en una gran variedad de cáscaras de fruta. Por ejemplo, las cáscaras liofilizadas de manzana estrella púrpura, anacardo amarillo y anacardo rojo demostraron ser una fuente considerable de compuestos antioxidantes, lo que indica la eficacia del método para conservar los antioxidantes (Moo-Huchin et al., 2015). Del mismo modo, otro estudio demostró que la liofilización retuvo las actividades antioxidantes en el polvo de orujo de manzana (APP) y el polvo de cáscara de granada (PPP), confirmando así su papel en la preservación del potencial antioxidante (Ahmed et al., 2022). Cuando se compara con otros métodos de secado, la liofilización se ha encontrado superior en términos de preservación de compuestos fenólicos y actividades antioxidantes en varias cáscaras de frutas, como en cítricos sin madurar fisiológicamente caídos (Y. Sun et al., 2015) y cáscaras de *Selenicereus undatus* (L. Wiset et al., 2012). Sin embargo, algunos estudios sugieren que, si bien la liofilización garantiza en general la retención de compuestos bioactivos, puede producirse cierto grado de pérdida de actividad antioxidante en comparación con la fruta fresca, como se ha puesto de manifiesto en investigaciones sobre frutas tropicales como la carambola y el mango (Shofian et al., 2011).

En general, los hallazgos en diferentes cáscaras de fruta corroboran la eficacia de la liofilización para mantener perfiles fitoquímicos similares a los observados en la cáscara de litchi, afirmando la aplicabilidad de este método para la preparación de extractos de alta calidad. La elección del método de secado es crucial para optimizar la posterior extracción de fitoquímicos de la cáscara de litchi. El método de secado

debe seleccionarse teniendo en cuenta los compuestos bioactivos y el método de extracción.

### 1.2.3. Secado al sol

El uso de la energía solar ha sido históricamente fundamental en las prácticas de procesamiento y almacenamiento de alimentos, especialmente en la deshidratación de productos agrícolas. El uso de la radiación solar para secar alimentos y cosechas representa una técnica rentable y sostenible, que contribuye significativamente a la mejora económica de pequeños productores y comunidades rurales. A pesar de su larga tradición, el secado natural al sol ha presentado desafíos en términos de calidad y pureza del producto final. Esta forma ancestral de conservar las materias primas ha culminado a menudo en productos de calidad inferior y susceptibles de contaminación. Aunque el secado solar se sigue practicando, muchos han optado por abandonarlo debido a la prolongada duración del proceso y a la falta de control sobre las variables de deshidratación, que repercuten directamente en la calidad del producto secado (Krakow-ska-Sieprawska et al., 2022; Suresh et al., 2023; Vidinamo et al., 2021). En este contexto, Jiang et al., (2013) emplearon el secado al sol como método preparatorio para su estudio, observando que la actividad antioxidante aumentaba con el incremento de la concentración para cada muestra (10 - 72%), lo que sugiere que, a pesar de sus inconvenientes, el secado al sol controlado todavía puede contribuir positivamente a la retención de compuestos beneficiosos en el proceso de deshidratación. Por ejemplo, en el secado de la cáscara de la fruta del dragón, la investigación ha demostrado que, aunque el secado al sol prolongó significativamente el tiempo de secado, la actividad antioxidante y el contenido de betalaínas fueron inferiores en comparación con el secado mediante una bomba de calor o un secador de lecho fluidizado (L.Wiset et al., 2012). Otro estudio sobre diferentes partes de frutos de granada silvestre, incluida la cáscara, sugirió que el secado natural al sol era menos eficaz para preservar los fenoles totales y las propiedades antioxidantes en comparación con otros métodos de secado como el secado en túnel solar o el secado en armario mecánico (Hamid et al., 2020). Del mismo modo, la cáscara de manzana expuesta

al sol mostró una disipación térmica y unos sistemas antioxidantes diferentes en comparación con la cáscara a la sombra, lo que demuestra que factores naturales como la exposición a la luz dentro de la copa del árbol podrían influir en las propiedades antioxidantes (F. Ma & Cheng, 2003).

Estos resultados coinciden con las observaciones realizadas para la cáscara de litchi, donde se ha empleado el secado al sol abierto reconociendo sus limitaciones en cuanto al control de las variables de secado y la calidad del producto. Aunque Jiang, G. et al. observaron un aumento de la actividad antioxidante con la concentración en las muestras de cáscara de litchi secadas al sol, es evidente que métodos de secado más controlados podrían ofrecer una mejor conservación de los fitoquímicos y antioxidantes en las cáscaras de frutas, incluido el litchi.

### **1.3. Métodos de extracción de la cáscara de litchi**

La eficacia de la extracción de los compuestos bioactivos de una planta depende de la técnica de extracción utilizada. El procedimiento de obtención de compuestos fenólicos a partir de plantas se convierte en el paso determinante en las investigaciones relacionadas. La eficacia de la extracción de compuestos bioactivos de una planta depende de la técnica de extracción utilizada. Investigaciones anteriores han abordado los métodos de extracción utilizados en las cáscaras de litchi, incluyendo técnicas tradicionales y emergentes. Los enfoques tradicionales incluyen la maceración y la extracción térmica, que implica reflujo, agitación y mezcla. La literatura científica se ha basado a menudo en estas técnicas tradicionales para obtener extractos de litchi. Sin embargo, la maceración y la extracción térmica pueden llevar mucho tiempo y consumir muchos recursos, con el consiguiente impacto en la eficacia y la calidad del producto final. Con el avance tecnológico, ha crecido el interés por implementar tecnologías de extracción emergentes, como la extracción asistida por ultrasonidos (EAU) y la extracción a ultra alta presión, para mejorar la calidad de los extractos obtenidos de las cáscaras de litchi. Los aspectos que comúnmente determinan la eficiencia de la extracción incluyen las características del sustrato, el solvente seleccionado, parámetros como la temperatura y la duración de la extracción, la proporción de líquido a sólido y el

tamaño de partícula de la muestra. Es crucial señalar que la selección del disolvente es fundamental para la eficacia de la extracción de los compuestos bioactivos. La polaridad del disolvente afecta directamente a la solubilidad de los compuestos fenólicos (Gallego et al., 2019; García-Salas et al., 2010; Panzella et al., 2020; Tingting et al., 2022). Se utilizaron diferentes concentraciones y polaridades de disolventes para extraer compuestos químicos vegetales de la cáscara de litchi. Como se muestra en la [Tabla 1](#).

### 1.3.1. Maceración

La maceración permite la extracción de una amplia gama de compuestos fenólicos debido a la naturaleza polar de estas sustancias, en la que influyen su estructura de carbono y sus sustituyentes. Los disolventes utilizados para extraer la cáscara de litchi incluyen principalmente etanol, acetona, metanol y HCl a diferentes concentraciones, y el etanol y el etanol permitieron la extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de litchi, mientras que otros estudios utilizaron etanol al 70% para extraer procianidinas de la cáscara de litchi, logrando contenidos de procianidinas de  $99,56 \pm 1,2\%$  (p/p) y  $95,85 \pm 4,44\%$  (p/p) en comparación con las procianidinas de la semilla de uva (S. Li et al., 2012b; Sui et al., 2016) respectivamente, mientras que Miranda-Hernández et al., (2019) utilizaron metanol para extraer procianidinas de la cáscara de litchi, logrando contenidos de procianidinas de solo  $2,2\%$  (p/p). Esto se debe a la solubilidad de los compuestos fenólicos en etanol, debido a que la polaridad de los compuestos fenólicos está definida por su estructura de carbono y la naturaleza y el número de sustituyentes (Tingting et al., 2022). Además de influir en la eficacia del proceso de extracción, otros parámetros son la temperatura de extracción, el tiempo y la relación líquido-sólido. Como se detalla en la Tabla 1, la temperatura de extracción oscila entre 25 y 59°C, el tiempo oscila entre 15 min y 12 h, y la relación líquido-sólido oscila entre 1:5 y 1:20, basándose en los datos anteriores sobre la extracción de la cáscara de litchi. La optimización adecuada de estos factores es esencial para maximizar la eficiencia de la extracción.

### 1.3.2. Extracción asistida por ultrasonidos (EAU)

La EAU se presenta como un método prometedor, reconocido por su rentabilidad y eficacia, con duraciones de extracción notablemente más cortas. Esta técnica utiliza baños de ultrasonidos que varían en concentraciones de disolvente, proporciones de líquido a sólido, duración, temperatura y frecuencias de ultrasonidos. Estos parámetros están sujetos a cambios y requieren una optimización en función del tipo de material. Las condiciones ideales, que incluyen los tipos y concentraciones de solventes, duración y temperatura para extraer fenoles de la cáscara de litchi usando EAU, se están convirtiendo cada vez más en un tema de interés (Tingting et al., 2022).

Prasad et al, (Prasad et al., 2009) exploraron comparativamente el rendimiento de la extracción convencional y la asistida por ultrasonidos en la obtención de flavonoides a partir de cáscaras de litchi. Aunque los rendimientos de extracto crudo obtenidos por EAU y extracción convencional fueron 24% y 1,83%, respectivamente, ambos métodos encontraron que el contenido de fenol total y la actividad antioxidante fueron similares a concentraciones equivalentes. (Rao, 2010) se evaluó el impacto de la fuerza ultrasónica, la duración y la concentración de etanol en el rendimiento de cianidina-3-rutinósido. La concentración de etanol es el factor más importante que influye en la eficiencia de extracción. (H. C. Wang et al., 2011) En los diferentes cultivares, la composición fenólica mostró una diferencia significativa, siendo los flavonoides, las proantocianidinas y los ácidos fenólicos los compuestos fenólicos predominantes, arrojando una concentración total de fenol soluble en la cáscara de litchi de 51 a 102 g/kg-1 DW. Li et al, (2018) evaluaron el efecto de la terapia combinada de enzimas y ultrasonidos en el rendimiento de extracción, con un rendimiento de hasta el 13,5%. Esto representa un aumento de seis veces en comparación con la extracción tradicional de etanol. Además, el estudio observó una mayor abundancia de oligómeros, lo que sugiere que los esfuerzos ultrasónicos podrían facilitar la transformación de los compuestos de flavanol durante el proceso de extracción. Otros trabajos optimizaron la extracción asistida por ultrasonidos utilizando un diseño experimental Box-Behnken mediante

la evaluación de diversos parámetros como la concentración, el tiempo de extracción y la potencia (S. Li et al., 2018; Rao, 2010). Los gráficos de superficie de respuesta revelaron que la potencia ultrasónica, el tiempo y la concentración influyeron notablemente en el rendimiento de extracción del contenido de cianidina 3-rutinósido y procianidina oligomérica, alcanzando eficiencias de hasta el 89,6%. En el estudio de Li S et al (2018) que exploraba la extracción asistida por tratamiento enzimático de procianidinas de pericarpio de litchi (LPOPC), los investigadores detallaron un método de dos pasos que implicaba un pretratamiento enzimático seguido de EAU. Se aplicó el EAU, en el que variables como la potencia del ultrasonido, el tiempo y la relación líquido-material se optimizaron utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM). Los resultados demostraron que el proceso combinado enzima/UAE mejoraba notablemente el rendimiento de LPOPC, que oscilaba entre el 8,25% y el 14,20%, en comparación con el rendimiento inferior al 9% con sólo tratamiento enzimático. Estos hallazgos sugieren que la optimización del proceso extractivo puede ser una herramienta valiosa y eficaz para la obtención de componentes bioactivos a partir de diversas matrices vegetales, sin embargo, persiste la necesidad de seguir investigando sobre la optimización del proceso en diversos métodos de extracción. Esta carencia limita la capacidad de realizar comparaciones efectivas entre las técnicas de extracción que han sido optimizadas.

La EAU destaca por su rentabilidad y eficacia, con duraciones de extracción reducidas en comparación con los métodos tradicionales. La versatilidad de la técnica queda patente en el uso de baños de ultrasonidos, que pueden ajustarse teniendo en cuenta las concentraciones de disolvente, las proporciones de líquido y sólido, la duración, la temperatura y la frecuencia de los ultrasonidos, adaptados al tipo específico de material extraído. La optimización de estos parámetros es crucial para lograr unas condiciones de extracción ideales, en particular para la extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de litchi. Estas técnicas avanzadas de extracción, en particular la EAU, representan una dirección prometedora para la extracción eficiente y eficaz de compuestos valiosos a partir de productos naturales,

ofreciendo mejoras significativas sobre los métodos tradicionales en rendimiento y calidad.

### 1.3.3. Extracción por alta presión (HPE)

La HPE es uno de los métodos más recientes e innovadores para extraer compuestos bioactivos de materiales naturales. Esta técnica implica la aplicación de alta presión para estimular diversos fenómenos, como transiciones de fase, cambios en la dinámica de reacción y alteraciones en la estructura molecular. Estos factores pueden inducir reacciones que generalmente favorecen la reducción de volumen, aumentando la eficacia del proceso de extracción. Este enfoque ha ganado atención para aislar eficazmente compuestos bioactivos, haciendo una adición a las tecnologías de extracción (Khan et al., 2019).

Prasad et al, (2009) realizaron experimentos comparativos para investigar los efectos de la extracción convencional, la EAU y la HPE en la eficiencia de la extracción de flavonoides de la cáscara de litchi. Sus resultados indicaron rendimientos variables para el extracto crudo: 1,83% para la extracción convencional, 24% para la extracción asistida por ultrasonidos, y 30% para HPE. Un estudio estableció las condiciones óptimas para la HPE de proantocianidinas de la cáscara de litchi. Utilizando un método de análisis de superficie de respuesta con cuatro factores en tres niveles, determinaron que las condiciones ideales eran una presión de 295 MPa, un tiempo de mantenimiento de la presión de 13 min, una relación líquida/sólido de 16,0 mL/g y una concentración de etanol del 70% (R. Zhang et al., 2017). Estos estudios ponen de relieve la diversidad y la evolución de los enfoques para mejorar la extracción de compuestos valiosos a partir de fuentes naturales.

La extracción eficaz de compuestos bioactivos a partir de materiales vegetales como las cáscaras de litchi depende del método de extracción utilizado. Factores clave como la elección del disolvente, las características del sustrato, la temperatura y duración de la extracción, la proporción líquido-sólido y el tamaño de las partículas de la muestra desempeñan un papel crucial en la eficacia de la extracción. La

polaridad del disolvente es especialmente significativa, ya que influye directamente en la solubilidad de los compuestos fenólicos.

Los disolventes en diferentes concentraciones, como etanol, acetona, metanol y ácido clorhídrico, han demostrado su eficacia en la extracción de compuestos de las cáscaras de litchi. La optimización de parámetros como la temperatura, el tiempo de extracción y la relación líquido/sólido es esencial para maximizar la eficacia de la extracción. Además, se han desarrollado y evaluado técnicas de extracción emergentes como la EAU y la HPE. Estas técnicas se han mostrado prometedoras en cuanto a eficiencia y eficacia, mejorando los rendimientos y la calidad de los extractos en comparación con métodos tradicionales como la maceración y la extracción térmica, que, aunque ampliamente utilizados, pueden requerir más tiempo y recursos.

La optimización del proceso de extracción, incluida la selección adecuada de disolventes, y la aplicación de tecnologías avanzadas como UAE y HPE, representan una dirección valiosa y eficaz para extraer compuestos valiosos de productos naturales, ofreciendo mejoras significativas sobre los métodos tradicionales en rendimiento y calidad.

#### **1.4. Aislamiento y caracterización de compuestos bioactivos de la cáscara de litchi**

La cromatografía es una técnica analítica que separa los distintos componentes de una mezcla química. Este proceso de separación se basa en el movimiento de una muestra a través de una fase móvil que se encuentra continuamente con una fase estacionaria que permanece fija y sin muestra. La categorización de la separación cromatográfica depende de los estados físicos de las fases móvil y estacionaria, de cómo interactúan estas fases y de los mecanismos químicos o físicos que impulsan la separación de los componentes de la muestra. Este método versátil da cabida a diversas técnicas de separación, como la adsorción, la partición, el intercambio iónico, la exclusión por tamaño y la separación electroforética. Cada técnica analítica se elige específicamente en función de las características de los solutos y

de los objetivos de la purificación (Hameed et al., 2018). La Tabla 1 muestra algunos trabajos que incluyen la purificación de compuestos bioactivos aislados.

La búsqueda de compuestos bioactivos de origen vegetal comienza con la extracción de una mezcla compuesta por diversos fitoquímicos. Este extracto inicial, rico en potencial, también está cargado de una miríada de compuestos que pueden ser desde beneficiosos hasta inertes, o incluso nocivos, lo que requiere un paso crítico de purificación. El proceso de purificación no es una mera necesidad de procedimiento; es un imperativo científico que garantiza el aislamiento de compuestos específicos de interés, permitiendo un estudio detallado de sus propiedades, mecanismos de acción y aplicaciones potenciales. Dado el espectro de fitoquímicos presentes en un solo extracto, la tarea de purificación es como navegar por un mundo laberíntico de diversidad molecular. Esta tarea es crucial para eliminar interferencias, concentrar las moléculas deseadas y facilitar una caracterización precisa de los componentes bioactivos. El intrincado mundo de la investigación fitoquímica, especialmente en los derivados flavonoides, se ve profundamente enriquecido por la diversa gama de técnicas cromatográficas desarrolladas y perfeccionadas a lo largo del tiempo. En el aislamiento, identificación y caracterización de compuestos extraídos de diversas fuentes vegetales intervienen tanto métodos tradicionales como otros más modernos.

A la vanguardia de estos métodos cromatográficos se encuentra la cromatografía de exclusión por tamaño, un tipo de cromatografía de partición que ha sido fundamental para aislar moléculas en función de sus tamaños moleculares. Esta técnica, que recibe diversos nombres, como permeación en gel, exclusión en gel, filtración en gel y cromatografía de tamiz molecular, es famosa por su eficacia en las separaciones basadas en el tamaño. La separación en la cromatografía de exclusión por tamaño se consigue mediante la interacción de las moléculas con el relleno de la columna de matriz porosa, lo que da lugar a grados diferenciales de acceso. Las moléculas de tamaño inferior o equivalente al de los poros pueden penetrar en la matriz, mientras que las moléculas de mayor tamaño quedan excluidas, lo que facilita su separación. El éxito de este método depende de

parámetros críticos como el diámetro y el tamaño de los poros de los materiales empaquetados, la elección del eluyente apropiado como fase móvil y la longitud de la columna utilizada. La versatilidad y eficacia de la cromatografía de exclusión por tamaño la convierten en un método destacado entre las técnicas más utilizadas para las separaciones basadas en el tamaño en la investigación fitoquímica (Hameed et al., 2018; J. Liu & Jiang, 2015).

#### 1.4.1. Gel de sílice

La utilización de poliamida junto con la cromatografía en gel de sílice aumenta significativamente la eficacia y especificidad del proceso de aislamiento y caracterización de diversos compuestos, especialmente los flavonoides. La propiedad intrínseca de la poliamida de formar enlaces de hidrógeno con los grupos hidroxilo de los flavonoides se convierte en un factor fundamental en el proceso de separación cromatográfica. Esta interacción es especialmente beneficiosa para mejorar la selectividad y la resolución de los compuestos flavonoides, en los que el número y la posición de los grupos hidroxilo influyen decisivamente en su aislamiento y purificación. Al aprovechar la capacidad de enlace de hidrógeno de la poliamida, los rellenos cromatográficos pueden lograr una separación más refinada, especialmente en el caso de flavonoides de alta polaridad, incluidas las formas glicosiladas, que se separan eficazmente utilizando gel de sílice y C18 tanto en cromatografía de fase normal como de fase reversa respectivamente. Esta sinergia entre la poliamida y la cromatografía en gel de sílice amplía el alcance de los compuestos separables y eleva la eficacia general del método, convirtiéndolo en una técnica fundamental en la separación cromatográfica de compuestos con polaridades variadas (Hameed et al., 2018; Mottaghipisheh et al., 2020).

#### 1.4.2. Sephadex LH-20 (SLH)

La SLH, una herramienta fundamental para la purificación de fitoquímicos se ha utilizado ampliamente en varias familias de plantas para aislar diversos flavonoides y derivados flavonoides. La SLH ha sido decisiva para aislar 189 flavonoides documentados, principalmente de las familias Asteraceae, Moraceae y Poaceae. Su eficacia queda demostrada por el aislamiento de 79 flavonoles, 63 flavonas y 18

flavanonas. Además, el SLH ha facilitado aislamientos únicos de homoisoflavanoides y proantocianidinas de las familias Asparagaceae y Lauraceae, respectivamente, siendo la familia Asteraceae una fuente particularmente rica en flavonas, con 22 derivados distintos. La continua confianza en el éxito del SLH en la purificación fitoquímica se atribuye a su rentabilidad, conveniencia, rapidez y eficiencia, haciendo del SLH una herramienta indispensable en el campo analítico (Hameed et al., 2018; Mottaghipisheh et al., 2020). La SLH es estimada por su papel en la purificación de alta eficiencia de una serie de sustancias, con algunos procedimientos que logran purezas superiores al 90% y rendimientos totales superiores al 40%, lo que habla de su notable eficacia en los procesos de aislamiento (Seger et al., 2006).

Algunas de las ventajas de utilizar SLH son su alta eficacia, demostrada en aplicaciones como la separación de corticosteroides plasmáticos y esteroides biológicamente activos. Es conocida por dar valores en blanco muy bajos o insignificantes, cruciales para ensayos con anticuerpos, transinas y receptores. Las columnas pueden reutilizarse muchas veces tras un lavado adecuado, lo que ofrece ventajas tanto económicas como prácticas. Además, el sistema proporciona buenos resultados a temperaturas inferiores a 25 °C, lo que subraya su idoneidad en una amplia gama de entornos de laboratorio (Setchell & Shackleton, 1973). Sin embargo, hay desventajas a tener en cuenta. La cromatografía SLH puede ser difícil de automatizar debido a la necesidad de un caudal constante, que es difícil de mantener con el flujo por gravedad. La compatibilidad con los materiales también plantea un problema, ya que los disolventes sólo pueden entrar en contacto con determinados materiales como el vidrio, el acero inoxidable y el teflón. Otro problema es la baja tensión superficial de los eluyentes, que puede impedir la división eficaz de la corriente de elución para obtener las fracciones, una consideración importante a la hora de diseñar protocolos experimentales (Murphy & D'Aux, 1975).

Junto con estos métodos, la cromatografía de afinidad ha sido reconocida como una estrategia eficaz para el aislamiento selectivo de proteínas específicas a partir de

extractos crudos. El desarrollo de matrices de afinidad, que históricamente era una tarea larga y laboriosa, se ha racionalizado considerablemente gracias a la aplicación de técnicas de biología molecular. Esta innovación abarca la integración molecular de la molécula de captura con un dominio de unión a la agarosa (ABD), fusionando eficazmente los pasos de purificación y unión en un proceso único y eficiente. Las matrices basadas en dextrano, como Sephadex, junto con la agarosa, han adquirido un amplio reconocimiento por su uso en la cromatografía de bioafinidad. La sencillez, eficacia y rapidez de la preparación de la matriz de afinidad mediante el empleo de proteínas de fusión producidas de forma recombinante directamente a partir de extractos celulares crudos hacen de la cromatografía de afinidad un método preferido para la purificación de muchas proteínas (Dan et al., 2021; Wu et al., 2019).

#### 1.4.3. Amberlite XAD-7

Zhang et al, (2004) observaron un enfoque innovador en los estudios de las antocianinas del litchi. La columna de resina Amberlite XAD-7 demostró una pronunciada afinidad hacia el aislamiento de antocianinas del litchi, segregándolas eficazmente de sales, carbohidratos y otras sustancias solubles. Esta separación identificó una fracción primaria de antocianinas, distinguida por su absorción máxima a 510 nm. El refinamiento posterior mediante una columna SLH, que diferencia en función del tamaño molecular, produjo cuatro fracciones distintas de antocianinas con distintos niveles de absorción a la misma longitud de onda, lo que indica un proceso de purificación completo validado para el aislamiento de antocianinas en este contexto. La fracción de antocianina, aislada mediante la columna SLH, se analizó posteriormente mediante HPLC-MS, revelando un pico significativo indicativo de un compuesto de gran pureza. El perfil de cromatografía de masas determinó el peso molecular de la principal antocianina de la cáscara del litchi en 595 m/z, que se suponía era cianidina-3-rutinósido según las hipótesis anteriores. Este análisis se vio reforzado por la espectrometría de masas por electrospray, que identificó dos componentes dentro de la fracción m/z 595: uno correlacionado con cianidina-3-glucósido con un peso molecular de pico iónico de

449, y el otro alineado con cianidina con un peso molecular de pico iónico de 287 g/mol. La capacidad de la resina Amberlite XAD-7 y las columnas SLH para aislar y purificar eficazmente fracciones de antocianinas de la cáscara de litchi, junto con técnicas analíticas avanzadas como HPLC-MS, destaca la precisión y eficacia de estas metodologías para descubrir la composición matizada de los fitoquímicos. (Gong et al., 2018) aislaron, purificaron y con-centraron antocianinas de manera efectiva a partir de extracto de litchi, empleando un proceso cromatográfico de dos etapas y utilizando resina Amberlite XAD-7 y columnas SLH, lo que facilitó la segregación de extractos en tres fracciones primarias según su contenido de antocianinas. El análisis posterior de otras fracciones particionadas (P1-P4) mediante técnicas de LC-MS y HPLC reveló la presencia de varios compuestos clave. Los compuestos más notables identificados fueron la epicatequina en la fracción P1, un prominente compuesto fenólico conocido por sus propiedades antioxidantes, y un dímero de procianidina de tipo B en P2, indicativo de la intrincada composición polifenólica de la cáscara del litchi. Además, las fracciones P3 y P4 produjeron trímeros de proantocianidina, incluidos los tipos B2A y B, junto con dímeros de tipo A y un trímero único con una unidad de afzelequina o epiafzelequina, lo que demuestra aún más la diversidad de procianidinas en la cáscara del litchi. Estos hallazgos no sólo mejoran nuestra comprensión del perfil fitoquímico de la cáscara de litchi, sino que también subrayan el potencial de estos compuestos bioactivos para contribuir a las propiedades beneficiosas para la salud de la fruta. La resina Amberlite XAD-7 ha demostrado ser muy eficaz en el aislamiento de antocianinas del litchi, con rendimientos de purificación superiores al 90% en algunas aplicaciones, lo que demuestra su eficacia en la obtención de compuestos de alta pureza (Matsumiya et al., 2005). A pesar de su alto rendimiento y eficacia, Amberlite XAD-7 se enfrenta a retos en la automatización debido a las fluctuaciones en el caudal con el flujo por gravedad, y a problemas de compatibilidad de materiales, ya que sólo ciertos materiales como el vidrio, el acero inoxidable y el teflón deben entrar en contacto con los disolventes. Además, la baja tensión superficial de los eluyentes puede complicar la división de la corriente de elución (Murphy & D'Aux, 1975).

#### 1.4.4. Sephadex G-50

Yang et al, (2006) añadieron una nueva dimensión a este campo al purificar polisacáridos del litchi. El método de cromatografía de intercambio aniónico DEAE acoplado a la columna de intercambio aniónico facilitó la división de estos polisacáridos en dos picos distintos, denominados F1 y F2, predominando la fracción F1 con un 82% del rendimiento total de polisacáridos, demostrando un alto nivel de pureza del 99,5%. El paso siguiente consistió en la aplicación de filtración en gel sobre Sephadex G-50, que refinó aún más la fracción F1 en una fracción singular, altamente purificada, F01, marcada por un tiempo de retención específico. Este proceso de purificación fue decisivo para conseguir una fracción (F01) con un contenido excepcionalmente alto de polisacáridos del 99,9%, lo que subraya la eficacia de las técnicas cromatográficas. Sin embargo, el método, aunque eficaz, no está exento de desventajas. Por ejemplo, el uso de Sephadex G-50 puede estar asociado a problemas relacionados con los caudales, especialmente cuando se utiliza el flujo por gravedad, que puede ser difícil de mantener de forma constante. Además, este tipo de cromatografía de filtración en gel requiere a menudo una elección cuidadosa de los tampones y puede implicar tiempos de preparación más largos en comparación con otras técnicas cromatográficas. A pesar de estas dificultades, las ventajas de Sephadex G-50, como su capacidad para separar eficazmente los componentes en función del tamaño con gran reproducibilidad y sin pérdidas significativas de material, lo convierten en un método valioso en el análisis bioquímico. Este equilibrio entre el alto rendimiento y la purificación eficaz y las consideraciones prácticas pone de relieve la importancia actual del Sephadex G-50 en los procesos de purificación complejos (Galpin et al., 1975). Jiang et al., (2013) emplearon un proceso de purificación elaborado y de múltiples pasos para aislar varios compuestos del litchi. Comenzando con un sólido rojizo obtenido de la solución de extracción, utilizaron una secuencia de fraccionamientos de disolventes, seguido de cromatografía en columna de gel de sílice. Este meticuloso enfoque implicó un sistema de disolventes cloroformo-metanol de polaridad variable y produjo diez fracciones distintas. Se aislaron e identificaron ocho compuestos, cada uno de ellos con estructuras y propiedades químicas distintas. Se realizó un análisis

exhaustivo mediante espectrometría de masas (ESI-MS) y espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN). Este enfoque analítico permitió la identificación precisa de los compuestos a partir de sus iones moleculares y datos espectroscópicos, con comparaciones con la bibliografía existente para confirmar sus identidades. Los compuestos identificados incluían el 3,4-dihidroxibenzoato de metilo, un compuesto con tres protones aromáticos y un ion molecular específico, y el estigmasterol, un cristal incoloro caracterizado por sus espectros de RMN únicos y la presencia de protones olefínicos. El isolariciresinol destacó por su forma cristalina y la detección de grupos aromáticos metoxilo y metileno relacionados con grupos hidroxilo, indicativos de su compleja estructura. El kaempferol se identificó por su espectro de RMN, que incluye seis protones aromáticos y una señal carbonílica distintiva. Se identificó un nuevo compuesto natural, descrito por su anillo de benceno orto-sustituido y una señal de grupo metoxi, que muestra la diversidad de compuestos de la cáscara del litchi. El metil shikimato y el etil shikimato se caracterizaron por su sistema de espín AB y la presencia de señales específicas de hidrógeno y carbono, respectivamente, demostrando variaciones en sus estructuras químicas. También se identificó el butilhidroxitolueno, un antioxidante sintetizado, lo que sugiere su presencia natural como antioxidante en la cáscara del litchi. Esta selección de compuestos purificados subraya la diversidad química y la importancia biológica potencial de los componentes de la cáscara del litchi. Los flavonoides y esteroides con actividad antioxidante ponen de relieve la intrincada composición química de la cáscara de lichi y su potencial como fuente de compuestos bioactivos.

#### 1.4.5. Resina macroporosa AB-8

El trabajo de Sui et al, (2016) aportó una nueva perspectiva, centrándose en la purificación de procianidinas de la cáscara de litchi. Su enfoque innovador comenzó aplicando una solución acuosa cruda de procianidinas a una columna rellena con resina macroporosa AB-8. El proceso incluyó varias etapas de enjuague y una fase de purificación. El proceso incluía varias etapas de aclarado y elución para la obtención de procianidinas de la cáscara del litchi (LPPC). Sus hallazgos, en

particular el alto contenido de procianidinas en LPPC, subrayaron el potencial de las cáscaras de litchi como una nueva fuente de procianidinas de tipo A. El análisis de las procianidinas en la cáscara de litchi se realizó mediante la evaluación de las áreas de los picos (%) de trece picos identificados, lo que facilitó la cuantificación del contenido relativo de procianidinas de tipo A y de tipo B. Los porcentajes de las áreas de los picos sirvieron como indicadores del contenido de procianidinas de tipo A en la cáscara de litchi. Los porcentajes del área de los picos sirvieron como indicadores de la proporción relativa de cada compuesto dentro del LPPC, utilizando el concepto de que una abundancia relativa del 100% implica una presencia predominante dentro de un pico específico. El área colectiva de estos 13 picos constituyó el 89,44% del área total de los picos de la LPPC, lo que pone de manifiesto la presencia significativa de procianidinas. Los componentes monoméricos, (-) epicatequina y (+)-catequina, representaban el 37,92% y el 4,10% de la LPPC, respectivamente. Las procianidinas de tipo A, incluidos dímeros y trímeros, formaron el 38,76% de la LPPC, mientras que las procianidinas de tipo B constituyeron una porción menor, el 8,66%, siendo las procianidinas de tipo A aproximadamente 4,48 veces más abundantes que las de tipo B. Esta presencia diferencial subraya el potencial de las cáscaras de litchi como una rica fuente de procianidinas de tipo A. Continuando con esta tendencia, L. G. Chen et al., (2017) se centraron en la purificación de polifenoles a partir de extracto de litchi. El uso de resina macroporosa AB-8 y varias técnicas cromatográficas fue crucial para eliminar impurezas y aislar los compuestos deseados. La cuantificación del contenido de polifenoles en los extractos también puso de manifiesto diferencias significativas en el contenido fenólico entre los diferentes extractos de cáscara de litchi. UPLC-MS, ESI-MS, y NMR facilitaron la identificación estructural de compuestos, incluyendo procianidina B2, (-)-epicatequina, un derivado complejo de epicatequina, un trímero de procianidina tipo A, un dímero de procianidina tipo B, y procianidina A2. Entre estos compuestos, la epicatequina era el monómero predominante en el extracto de cáscara de litchi, mientras que el contenido del dímero de procianidina de tipo B era comparativamente mínimo. Este estudio enfatizó la importancia de una cuantificación precisa y de técnicas cromatográficas avanzadas para comprender la

composición de los extractos de polifenoles del litchi. A pesar de lograr un alto rendimiento, lo que indica la eficacia del método para aislar compuestos de alta pureza, el uso de la resina macroporosa AB-8 no está exento de desventajas. Por ejemplo, aunque el AB-8 ofrece una gran capacidad de adsorción, la operación puede verse limitada por cuestiones como la compatibilidad de materiales, ya que sólo determinados materiales como el vidrio, el acero inoxidable y el teflón pueden entrar en contacto con los disolventes. Además, el AB-8 puede requerir condiciones específicas para optimizar los procesos de elución y adsorción, lo que puede añadir complejidad al proceso de purificación (R. Sun et al., 2009). No obstante, las ventajas del uso de la resina AB-8, como su rentabilidad, alta eficiencia y sencillez de configuración y funcionamiento, la convierten en una herramienta valiosa en la purificación de biomoléculas complejas. Este equilibrio entre alto rendimiento y purificación eficaz y consideraciones prácticas demuestra la relevancia actual de la resina macroporosa AB-8 en procesos de purificación complejos (Bi & Tan, 2012).

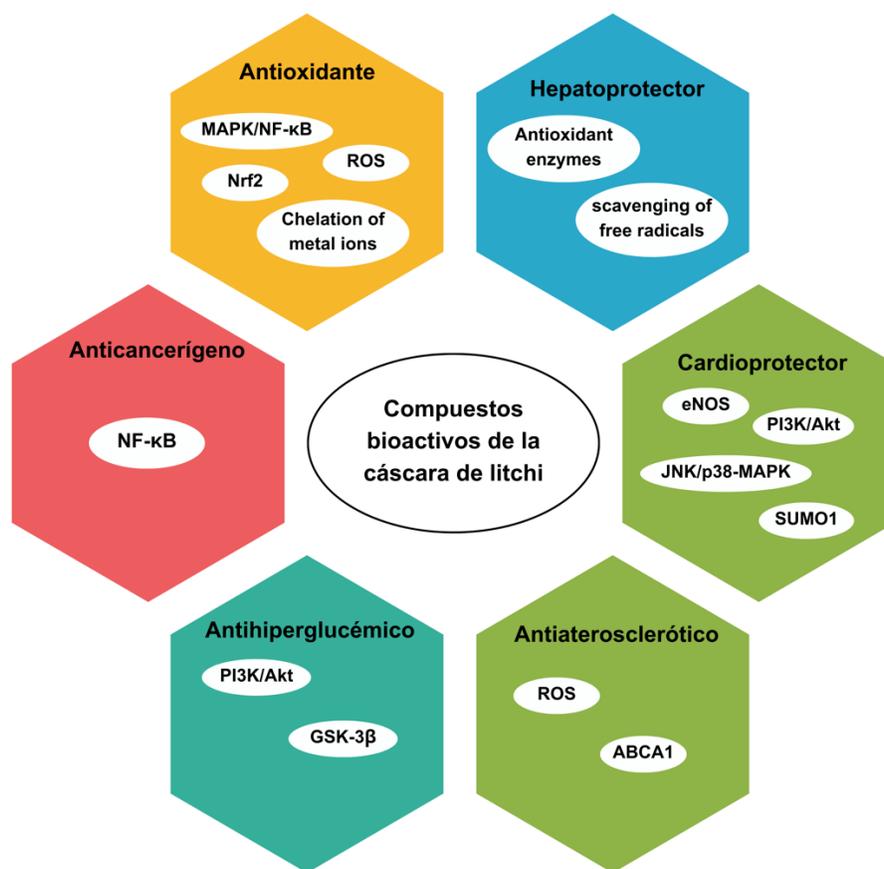
La categorización de la elución en distintas fracciones basadas en las características de absorbancia demostró un método refinado para extraer estos valiosos compuestos de los extractos de litchi, mostrando el enfoque matizado necesario para tales tareas. La investigación acumulada de estos estudios presenta una narrativa rica y detallada de los procesos de purificación aplicados a los extractos de litchi. Cada estudio, con su enfoque y metodología únicos, contribuye a una comprensión más amplia de las complejidades implicadas en la extracción y purificación de compuestos a partir de fuentes naturales. Este conjunto de trabajos hace avanzar nuestros conocimientos en el campo de la extracción de productos naturales y sienta las bases para futuras exploraciones de las aplicaciones potenciales de estos compuestos purificados.

La convergencia de múltiples técnicas cromatográficas en la purificación de fitoquímicos subraya una evolución significativa en la investigación fitoquímica. Esta evolución se caracteriza por una mezcla de métodos tradicionales e innovaciones modernas, cada uno de los cuales contribuye de forma única a los procesos de extracción y purificación. Metodologías clave como la cromatografía de exclusión

por tamaño, la cromatografía en gel de sílice y la cromatografía de afinidad han desempeñado un papel fundamental en el avance de nuestra comprensión y capacidad para aislar compuestos específicos de fuentes de cáscara de litchi con alta eficiencia y precisión. La cromatografía de exclusión por tamaño, conocida por su eficacia en la separación de moléculas en función del tamaño molecular, emerge como un método destacado en este campo. La cromatografía en gel de sílice mejora aún más el panorama de la purificación fitoquímica. La capacidad de este método para aislar y caracterizar compuestos en función de su polaridad lo convierte en una herramienta robusta y versátil en el arsenal del cromatógrafo. Se ha descrito el importante papel del SLH en la purificación de una amplia gama de polifenoles. Este trabajo hace avanzar nuestros conocimientos en la extracción de productos naturales y sienta las bases para futuras investigaciones sobre las aplicaciones potenciales de estos compuestos purificados, consolidando el papel crucial de las técnicas cromatográficas en la investigación fitoquímica. En el ámbito de la investigación fitoquímica, la cáscara del litchi se ha revelado como una importante fuente de compuestos bioactivos, con estudios que revelan una diversa gama de sustancias con potencial para aplicaciones beneficiosas para la salud. En particular, el aislamiento y la identificación de antocianinas y procianidinas ponen de relieve la rica diversidad fitoquímica de la cáscara de lichi. La presencia de compuestos como la epicatequina y el kaempferol enriquece aún más el perfil de la cáscara de litchi, sugiriendo vías para explorar sus funciones en la modulación de procesos biológicos y mecanismos de enfermedad.

### **1.5. Propiedades biológicas y mecanismos de acción de los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi**

En esta sección, examinamos una selección de estudios que exploran las bioactividades y los mecanismos de acción de diversos compuestos bioactivos extraídos de la cáscara del litchi ([Figura 2](#)), incluidas las actividades antioxidantes, antihiper glucémica, cardioprotectora, hepatoprotectora, antiaterosclerótica, anticancerígena y anticoccidial, en diversas pruebas in vitro e in vivo, como se muestra en la [Tabla 2](#).



**Figura 2.** Mecanismos de los beneficios para la salud mediados por los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi.

**Tabla 2.** Compuestos aislados de la cáscara del litchi, propiedades biológicas y mecanismos de acción.

Nombre del compuesto	Propiedades biológicas	Mecanismo de acción	Referencia
Polisacáridos	Actividad antioxidante	Quelación de iones metálicos	(J. Wang et al., 2016)
Isolariciresinol	Actividad antioxidante	-	-
Kaempferol	Actividad antioxidante	Reducir la producción de radicales libres y especies reactivas del oxígeno (ROS).	(Imran et al., 2019)

<b>Procianidina B2</b>	Actividad antioxidante	Interacción con especies reactivas del oxígeno (ROS). Activar la vía Nrf2. Inhibición de la vía MAPK/NF- $\kappa$ B.	(L. Yang et al., 2018)
	Actividad antiaterosclerótica	Reducir los niveles de ROS.	(J. Y. Zhang et al., 2016)
<b>Epicatequina</b>	Actividad cardioprotectora	Estimulación de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). Activación de vías de señalización como la vía PI3K/Akt. Inhiben las vías de señalización asociadas al estrés, incluyendo JNK/p38-MAPK Regulación de la modulación de SIRT1 dependiente de SUMO1	(Heiss et al., 2010)
	Actividad hepatoprotectora	Regulación de las enzimas antioxidantes. Eliminación directa de radicales libres.	(Alkinani et al., 2021)
	Actividad antioxidante	Interacción con especies reactivas del oxígeno (ROS). Activar la vía Nrf2. Inhibición de la vía MAPK/NF- $\kappa$ B.	(L. Yang et al., 2018)
<b>Proantocianidinas</b>	Actividad antiaterosclerótica	Expresión del cassette de unión ATP subfamilia A miembro 1 (ABCA1)	(L. Wang et al., 2017)
	Actividad anticancerígena	Vía de señalización NF- $\kappa$ B.	(J. Y. Zhang et al., 2016)
	Antihiper glucémico	Activación de la vía PI3K/Akt. Inhibición de GSK-3 $\beta$ .	(El-Ashmawy et al., 2022)
	Actividad antioxidante	Interacción con especies reactivas del oxígeno (ROS). Activar la vía Nrf2. Inhibición de la vía MAPK/NF- $\kappa$ B.	(L. Yang et al., 2018)
<b>Procianidina A2</b>	Actividad hepatoprotectora	Vía de señalización PI3K-Akt. Vía de señalización HIF-1.	(Feng et al., 2020)

### 1.5.1. Actividad antioxidante

Yang et al, (2006) evaluaron la actividad de barrido del DPPH, indicativa del potencial antioxidante, utilizando un extracto acuoso de polisacáridos de cáscara de litchi. El extracto se sometió a cromatografía a través de una columna de

intercambio aniónico, produciendo dos fracciones separadas. La fracción que contenía los polisacáridos purificados, probada a 100 µg, mostró la mayor actividad antioxidante (54%). Este resultado sugiere que el polisacárido purificado de la cáscara de litchi podría representar un nuevo agente antioxidante. Liu et al, (2007) exploraron las capacidades de barrido de radicales hidroxilos (OH) de las proantocianidinas oligoméricas (PC) derivadas de la cáscara de litchi probando varias concentraciones. Sus resultados revelaron que todas las concentraciones evaluadas tenían un potente efecto en la eliminación de radicales hidroxilos. Los valores de  $CI_{50}$  que representan la concentración necesaria para neutralizar el 50% de los radicales libres, se determinaron en 2,60 µg/mL para las PC oligoméricas, 1,75 µg/mL para las PC A2 y 1,65 µg/mL para las PC triméricas, lo que demuestra la eficacia de estos compuestos en la inhibición de radicales. El estudio también sugirió que las actividades antioxidantes de los PCs diméricos y triméricos de tipo A podrían estar relacionadas con el número de grupos hidroxilo en sus estructuras moleculares. Jiang et al., 2013 (Jiang et al., 2013) destacaron las potentes propiedades antioxidantes de los PC y sus posibles aplicaciones en la salud y el bienestar. El estudio investigó las propiedades antioxidantes de compuestos bioactivos aislados de la cáscara de litchi, como el kaempferol y el isolariciresinol, que demostraron notables actividades antioxidantes evidenciadas por su rendimiento en ensayos de barrido de radicales libres en comparación con el hidroxitolueno butilado (BHT), un conocido antioxidante sintético. Los resultados del ensayo DPPH revelaron un aumento de la actividad antioxidante dependiente de la concentración para cada muestra, lo que indica que cuanto mayor es la concentración de los compuestos, más pronunciados son sus efectos antioxidantes. En particular, los efectos de barrido del kaempferol y el isolariciresinol superaron a los del BHT, lo que pone de manifiesto su potente capacidad antioxidante. El principal mecanismo de la actividad antioxidante del kaempferol consiste en su capacidad para reducir la producción de radicales libres y especies reactivas del oxígeno (ROS). Esta acción es crucial, ya que las ROS son moléculas altamente reactivas que pueden causar daños celulares, dando lugar a diversas enfermedades, como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y los trastornos

neurodegenerativos. El kaempferol logra esta reducción al eliminar directamente los radicales libres, neutralizando así su reactividad, y evitando que causen estrés oxidativo dentro de las células (Imran et al., 2019). Yang et al, (Z. Yang et al., 2022) evaluaron la actividad de eliminación de radicales del extracto de cáscara de litchi, según lo indicado por el  $CI_{50} = 1,22 \mu\text{g/mL}$  en el ensayo de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) y el  $CI_{50} = 1,12 \mu\text{g/mL}$  en el ensayo de 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS). El estudio también examinó los efectos de la administración de D-galactosa en ratones, que se sabe que induce estrés oxidativo e imita los cambios relacionados con el envejecimiento. La administración de 400 mg/kg de D-galactosa redujo las actividades de las enzimas antioxidantes, exacerbó la peroxidación lipídica e indujo la oxidación de proteínas en ratones. Los niveles de glutatión, superóxido dismutasa y malondialdehído se restablecieron, en comparación con el grupo de control (ratones sin tratamiento), en ratones envejecidos tras el tratamiento con extracto de cáscara de litchi (400 mg/kg) durante 8 semanas. Esto sugiere que el extracto tiene propiedades terapéuticas potenciales contra el estrés oxidativo y el daño celular relacionado con la edad, destacando su potencial como suplemento antioxidante natural. Los polisacáridos tienen un mecanismo interesante en cuanto a su capacidad para prevenir la generación de radicales libres; este mecanismo implica la quelación de iones metálicos, como los iones ferrosos y de cobre, que desempeñan un papel fundamental en la catálisis de la reacción de Fenton. Al unirse a estos iones de metales de transición, los polisacáridos inhiben eficazmente la progresión de la reacción, reduciendo así la formación de estos radicales dañinos (J. Wang et al., 2016). Los PC presentan un mecanismo de acción multifacético en su capacidad antioxidante, crucial para mitigar las enfermedades asociadas al estrés oxidativo (EO) (L. Yang et al., 2018). Su eficacia se extiende tanto en ensayos in vitro como in vivo al disminuir el barrido de moléculas dañinas y modular las vías de señalización clave que gobiernan las respuestas celulares al estrés. Los PC mejoran el marco antioxidante celular a través de varios mecanismos distintos. Una vía principal a través de la cual los PC ejercen sus efectos antioxidantes es la eliminación de radicales hidroxilo y aniones superóxido. Esta interacción directa con las especies reactivas del oxígeno (ROS)

ayuda a neutralizar estas moléculas nocivas antes de que puedan inducir daños celulares. Más allá de esta actividad barredora directa, los PC influyen significativamente en los mecanismos de defensa de las células (L. Yang et al., 2018) y activan la vía Nrf2, un regulador crítico de la respuesta antioxidante celular, lo que conduce a la regulación al alza de varias enzimas antioxidantes endógenas y proteínas de desintoxicación, lo que aumenta la capacidad antioxidante inherente de la célula. Las PC modulan otras vías de señalización, en particular la inhibición de la vía MAPK/NF- $\kappa$ B, implicada en las respuestas inflamatorias y las condiciones de estrés oxidativo. (Long et al, 2016; Mantena y Katiyar, 2006; Sharma et al, 2007; X. H. Wang et al, 2013; L. Yang et al, 2018). Los mecanismos antioxidantes multifacéticos de los PC y los polisacáridos, desde la eliminación directa de radicales hasta la modulación de las defensas antioxidantes celulares y las vías de señalización, subrayan su potencial como antioxidantes versátiles y seguros para combatir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo; sin embargo, cabe destacar que la evaluación de los compuestos aislados individuales dentro del espectro de PC permanece en gran medida inexplorada. Esta laguna en la investigación representa una oportunidad fundamental para que los futuros estudios se centren en el aislamiento y el examen detallado de compuestos individuales de PCs y polisacáridos. Estas investigaciones específicas son cruciales para desentrañar los mecanismos de acción específicos atribuidos a los PC y polisacáridos individuales, mejorando así nuestra comprensión de su potencial terapéutico. Sin embargo, se han realizado otros estudios sobre la actividad antioxidante de las cáscaras de frutas, en un estudio de Babbar et al., (2011b) demostró que mientras que el extracto de cáscara de kinnow (*Citrus nobilis*) exhibió las actividades antioxidantes más altas entre varios residuos de frutas, el pericarpio de litchi también mostró un potencial significativo, lo que indica sus fuertes propiedades antioxidantes en relación con otras frutas. Otros análisis realizados por Okonogi et al., (2007) compararon las capacidades antioxidantes de las cáscaras de varias frutas y descubrieron que ciertas cáscaras, como las de la granada y el rambután, mostraban un poder de eliminación de radicales libres notablemente elevado. En este estudio se observó que, aunque el extracto de cáscara de litchi

tiene efectos antioxidantes beneficiosos, algunas cáscaras de otras frutas podrían ofrecer actividades más potentes o comparables, lo que sugiere que los extractos de litchi ocupan una posición competitiva, pero no siempre son superiores.

#### 1.5.2. Actividad cardioprotectora

Chen et al, (2017) obtuvieron un extracto purificado de la cáscara de litchi. El principal compuesto identificado en este extracto fue el dímero de procianidina de tipo B. La capacidad del extracto puro para eliminar radicales libres de oxígeno se evaluó mediante ensayos *in vitro* ( $CI_{50} = 120$  g/kg en el ensayo DPPH). El extracto purificado (200 mg/kg) restableció los niveles de lactato deshidrogenasa, en comparación con el grupo sin ningún tratamiento, y aumentó la expresión de Bcl-2 y disminuyó la de Bax en el tejido miocárdico en un modelo de isquemia miocárdica aguda en ratas Sprague-Dawley durante 5 días.

El estudio de Ramírez-Sánchez et al., (2010) demostraron que la epicatequina 1  $\mu$ M ejercía la mayor actividad inhibidora sobre la producción de óxido nítrico (NO) en las células endoteliales de la arteria coronaria humana a los 10 min de tratamiento, dichos efectos se producían a través de la fosforilación de serina 633 y serina 1177 y la desfosforilación de treonina 495 en la óxido nítrico sintasa endotelial, una enzima que produce NO, una molécula vasoprotectora que desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la salud vascular al mejorar la bioactividad del NO y reducir simultáneamente la producción de superóxido (Heiss et al., 2010). Se ha demostrado que la administración aguda de epicatequina induce la activación de la eNOS en células endoteliales coronarias humanas, lo que mejora la función endotelial y la salud vascular (Heiss et al., 2010). Más allá de sus efectos sobre la eNOS y la bioactividad del NO, la epicatequina ejerce efectos cardioprotectores a través de varios otros mecanismos moleculares, especialmente en la lesión por isquemia/reperfusión (I/R). Estos mecanismos incluyen la inhibición de la apoptosis y la activación de vías de señalización cardioprotectores como la vía PI3K/Akt, conocida como la vía RISK (Ferenczyová et al., 2021). Además, la epicatequina puede inhibir las vías de señalización asociadas al estrés, incluyendo JNK/p38-

MAPK, contribuyendo a la preservación de la función mitocondrial y a la modulación de los procesos de autofagia (Ferenczyová et al., 2021; Heiss et al., 2010).

Además, la epicatequina mostró un efecto protector frente a la fibrosis cardiaca, un factor crítico en la progresión de las cardiopatías. Este efecto está mediado por la regulación de la modulación dependiente de SUMO1 de SIRT1, una vía que subraya aún más el potencial terapéutico de este compuesto en la salud cardiaca (Luo et al., 2022). A través de estos diversos mecanismos, la epicatequina se presenta como un compuesto natural prometedor para el desarrollo de intervenciones dirigidas a la protección cardiovascular y la mitigación de las enfermedades del corazón. Sin embargo, se han realizado otros estudios con cáscaras de otras frutas, Paul et al. (2017) han mostrado resultados prometedores en relación con los efectos cardioprotectores de la epicatequina, un compuesto que se encuentra en varias frutas, entre ellas el litchi. Del mismo modo, la investigación sobre el extracto de cáscara de *Citrus macroptera* demostró efectos cardioprotectores significativos contra el infarto de miocardio en ratas, lo que sugiere que la cáscara de esta fruta, al igual que el lichi, puede tener valiosas propiedades cardioprotectoras. Además, los extractos de la cáscara de la fruta *Annona crassiflora* han mostrado propiedades antioxidantes en el tejido cardiaco de ratones hiperlipidémicos, lo que indica un potencial cardioprotector similar al de los extractos de la cáscara del litchi (Komino et al., 2023).

### 1.5.3. Actividad hepatoprotectora

Chen et al., (2017) extrajeron compuestos polifenólicos distintivos de la cáscara del litchi y llevaron a cabo experimentos *in vitro* e *in vivo* para evaluar sus efectos hepatoprotectores. El extracto de la planta (100 ug/mL) aumentó aproximadamente un 20% la viabilidad de las células hepáticas BNL CL.2 lesionadas por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) y el extracto de la planta probado a 200 mg/kg disminuyó los niveles séricos de aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa, marcadores de daño hepático, en ratones ICR macho intoxicados por CCl<sub>4</sub> tras 6 semanas de tratamiento. El posible mecanismo de esta actividad se basó en la restauración del sistema antioxidante del glutatión (glutatión peroxidasa y glutatión

reductasa) a los niveles de los ratones sin ningún tratamiento farmacológico. La actividad hepatoprotectora se confirmó cuando el extracto preservó la estructura hexagonal de los hepatocitos y disminuyó el número de células necróticas, con exámenes histopatológicos de los hígados de ratones ICR expuestos a CCl<sub>4</sub>.

Del mismo modo, Alkinani et al, (Alkinani et al., 2021) evidenciaron que la actividad hepatoprotectora de la epicatequina (20 mg/kg) durante 3 semanas en el modelo de lesión hepática aguda inducida por (CCl<sub>4</sub>) en ratas Wistar restablecía los niveles de aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina en comparación con los encontrados en los animales de control (sin tratamiento). La regulación de las enzimas antioxidantes y la eliminación directa de radicales libres por el propio compuesto contribuyen colectivamente a mitigar el estrés oxidativo, un factor clave en la patogénesis del daño hepático.

Feng et al., (2020) demostraron que un extracto de cáscara de litchi rico en flavonoides (25 y 100 mg/kg) ejercía una actividad hepatoprotectora en un modelo de fibrosis hepática inducida por CCl<sub>4</sub> en ratas, al disminuir los niveles séricos de alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa tras 4 semanas de tratamiento. Un estudio de acoplamiento molecular reveló que la procianidina A2, un compuesto bioactivo perteneciente a la clase de las procianidinas interactúa con varias dianas moleculares y vías de señalización críticas para la salud y la enfermedad hepáticas. La participación de la vía de señalización PI3K-Akt subraya un mecanismo a través del cual la procianidina A2 puede ejercer efectos protectores contra la fibrosis hepática, una enfermedad caracterizada por la acumulación excesiva de proteínas de la matriz extracelular que conduce a la cicatrización del tejido hepático. La vía de señalización HIF-1 (Factor 1 de hipoxia inducible), otra vía a través de la cual podría actuar la procianidina A2, desempeña un papel importante en las respuestas celulares a la falta de oxígeno, una condición que se presenta con frecuencia en las enfermedades hepáticas crónicas. Modulando esta vía, la procianidina A2 podría ayudar a mitigar el daño tisular y la fibrosis inducidos por la hipoxia. Aunque se ha determinado que la procianidina A2, junto con otros compuestos como la pinocembrina, la quercetina, la epicatequina, la naringenina, la

nobiletina, la florizina y la rutina, tiene una alta correlación con objetivos y vías relacionados con la fibrosis hepática, es imperativo señalar que aún no se han establecido pruebas concluyentes que delineen la actividad específica de la procianidina A2. Los conocimientos actuales no aíslan el mecanismo de acción hepatoprotectora a la procianidina A2 por sí sola, sino más bien a un efecto sinérgico del grupo de compuestos. Esto subraya una importante laguna en el cuerpo de investigación existente, subrayando la necesidad de más estudios para comprender las contribuciones específicas de la procianidina A2 a la salud del hígado. En otros estudios realizados sobre diversas cáscaras de frutas, por ejemplo, los efectos hepatoprotectores de las cáscaras de cítricos fueron estudiados por Gad et al., (2013), quienes descubrieron que los extractos de cáscara de pomelo y naranja a una dosis de 200 mg/kg mostraban una protección hepática significativa contra el daño hepático inducido por lipopolisacáridos en ratas. Estas cáscaras de cítricos mostraron resultados similares o incluso mejores en comparación con los tratamientos estándar, lo que indica su potencial como tratamientos naturales eficaces para las afecciones hepáticas. Del mismo modo, las cáscaras de maracuyá demostraron actividad hepatoprotectora contra la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas, lo que sugiere que estos extractos también pueden proteger contra el daño hepático (Nerdy & Ritarwan, 2019). Tanto la cáscara morada como la roja de maracuyá redujeron eficazmente los niveles de enzimas hepáticas, comparables a los del fármaco estándar silimarina, lo que subraya su importante potencial.

#### 1.5.4. Actividad antiaterosclerótica

Rong et al, (2017) exploraron los efectos de las procianidinas extraídas de la cáscara de litchi en la lucha contra la aterosclerosis y la hiperlipidemia. Su estudio se centró en ratones C57BL/6 incapaces de producir apolipoproteína E (ApoE KO) sometidos a una dieta alta en grasas (compuesta por un 21% de grasa y un 0,15% de colesterol). Los resultados revelaron que el tratamiento con procianidinas de cáscara de litchi (LPPC) (100 mg/kg) mitigó el desarrollo de aterosclerosis, disminuyó la deposición de grasa y mejoró la hiperlipidemia en los ratones ApoE KO

durante 24 semanas. Estos resultados proponen que las procianidinas de la cáscara de litchi tienen potencial como medio para controlar o prevenir afecciones cardiovasculares como la aterosclerosis y la hiperlipidemia (disminución de los niveles séricos de colesterol y LDL), particularmente en escenarios que implican el consumo de dietas ricas en grasas mediante la disminución de los niveles de ARNm de la 3-hidroxi-3-metilglutaril (HMG)-CoA reductasa, un mediador de la biosíntesis del colesterol.

Queiroz et al, (2018) examinaron el efecto de la harina de cáscara de litchi (LPF) en una serie de indicadores de salud asociados a la obesidad, como los niveles séricos de colesterol total (CT), colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-c), triacilgliceroles (TAG) y otras métricas vinculadas a la obesidad en ratas alimentadas con una dieta hipercolesterolémica. El consumo de LPF (5-10% en la dieta) inhibió el aumento de peso corporal y el índice de masa corporal, junto con menores niveles de glucosa, TAG, TC, LDL-c, enzimas hepáticas y leptina tras 21 días de tratamiento. El LPF redujo el porcentaje de lípidos hepáticos, la peroxidación lipídica hepática y los casos de esteatosis grave. Los exámenes histológicos de la aorta mostraron la ausencia de formación de placas de ateroma. Estos resultados ponen de relieve el potencial de la harina de cáscara de litchi como elemento dietético beneficioso para controlar los problemas de salud relacionados con la obesidad y minimizar el riesgo de aterosclerosis.

Wang et al, (2017) profundizaron en el impacto de la PC sobre la aterosclerosis, la administración de PC (50 mg/kg) redujo, en comparación con los grupos de control, los marcadores ateroscleróticos (LDL, triglicéridos y colesterol total) en conejos alimentados con una dieta con un 0,3% de colesterol tras 24 semanas de tratamiento. Los resultados revelaron una notable disminución de la tinción de marcadores de estrés oxidativo junto con un aumento de la tinción y expresión del miembro 1 de la subfamilia A del casete de unión ATP tanto a nivel de ARNm como de proteínas. ABCA1 desempeña un papel crucial en el flujo de colesterol y la formación de HDL, lo que implica que los PC ejercen sus efectos anti-

ateroscleróticos al mejorar los mecanismos naturales de regulación del colesterol del organismo y mitigar el estrés oxidativo.

Zhang et al, (2016) evaluaron la procianidina B2, junto con otros compuestos, mediante un análisis farmacológico en red para dilucidar su mecanismo de acción. Este análisis reveló el compromiso del compuesto con las vías de señalización y los procesos biológicos relacionados con las enfermedades cardiovasculares, identificados mediante el mapeo KEGG y el análisis Uniprot. La procianidina B2 podría aliviar significativamente el daño de las células endoteliales, reducir los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y disminuir la formación de células espumosas de una manera dependiente de la dosis. Estos resultados sugieren que los efectos protectores de la procianidina B2 contra la aterosclerosis están mediados por la inhibición del daño de las células endoteliales y la reducción del estrés oxidativo. En conjunto, estos estudios iluminan los diversos mecanismos a través de los cuales las procianidinas, incluida la procianidina B2, contribuyen a la prevención y regresión de la aterosclerosis. Sin embargo, en otros estudios realizados con cáscaras de otras frutas se ha constatado lo siguiente: los extractos de cáscara de granada se han estudiado ampliamente por sus propiedades antiaterogénicas, revelando un potencial significativo en la reducción de las lesiones ateroscleróticas y la mejora de los perfiles lipídicos en ratones deficientes en apolipo-proteína E, similar a los resultados de los estudios sobre la cáscara de lichi (Aviram et al., 2008). Además, las cáscaras de pomelo y de kinnow han mostrado resultados prometedores en cuanto a sus actividades antioxidantes, que están estrechamente relacionados con los efectos antiateroscleróticos debido a su capacidad para reducir el estrés oxidativo, uno de los principales factores que contribuyen a la aterosclerosis (Babbar et al., 2011c).

#### 1.5.5. Actividad anticancerígena

Gong et al, (2018) utilizaron el fraccionamiento guiado por bioensayo mediante cromatografía en columna para aislar compuestos fenólicos activos del extracto acuoso de la cáscara de litchi. Su investigación encontró que una fracción específica (30 µg/mL) inhibía en un 32,9% la viabilidad de las células A549 a las 48 h de

tratamiento, mostrando una mayor eficacia que otras fracciones probadas e incluso superando la eficacia del platino cis-diclorodiamina (DDP) a una concentración de 0,5 µg/mL. Sin embargo, este nivel de inhibición no alcanzó la eficacia observada cuando se combinaron las cuatro fracciones. Este estudio identificó, por primera vez, dos tipos de trímeros de epi-catequina B en la especie Litchi. Las proantocianidinas (PACs) identificadas se detectaron en la cáscara del fruto joven, destacando el potencial de estos compuestos en aplicaciones biomédicas, especialmente en la investigación del cáncer. Los mecanismos a través de los cuales las PAC ejercen sus efectos anticancerígenos son multifacéticos e implican modulaciones de las vías de señalización celular. Un aspecto fundamental de la acción anticancerígena de los PAC es su impacto en la vía de señalización NF-κB, los PAC disminuyeron la fosforilación de p65 inducida por lipopolisacárido (LPS) y el inhibidor del factor nuclear kappa B (IκB), que son componentes cruciales de la cascada de señalización NF-κB (Barreca et al., 2017; X. Ma et al., 2020). Esta regulación a la baja impide la translocación de p65 del citoplasma al núcleo, un proceso esencial para la activación de genes diana de NF-κB implicados en la inflamación y la supervivencia celular. Además, los PAC ejercieron un efecto inhibitorio significativo en la vía de señalización MAPK, otro conducto crítico para la transmisión de señales extracelulares al núcleo, influyendo así en la proliferación, diferenciación y apoptosis celular (Barreca et al., 2017; X. Ma et al., 2020). Las PAC disminuyen la fosforilación de componentes clave de la vía MAPK, a saber, p38, cinasa regulada por señales extracelulares (ERK) y c-Jun NH2-terminal cinasa (JNK). Modulando estas quinasas, los CP pueden amortiguar la señalización MAPK, reduciendo la expresión de genes que impulsan la inflamación y la proliferación celular, dos procesos íntimamente ligados a la progresión del cáncer (Barreca et al., 2017; X. Ma et al., 2020). Estos hallazgos no solo arrojan luz sobre los mecanismos moleculares que sustentan los efectos anticancerígenos de los PAC, sino que también refuerzan el potencial de estos compuestos en la prevención y el tratamiento del cáncer. Sin embargo, quedan por estudiar las dianas moleculares específicas por las que los compuestos aislados ejercen sus mecanismos de acción. Se necesita más investigación sobre los compuestos aislados de proantocianidinas

para identificar la molécula responsable de sus efectos. Esta laguna en la investigación pone de relieve la oportunidad de profundizar en los componentes bioactivos de las proantocianidinas, lo que permitirá comprender con mayor precisión sus mecanismos de acción y descubrir potencialmente aplicaciones terapéuticas específicas. Para ofrecer una perspectiva más amplia de la actividad anticancerígena de los extractos de cáscara de litchi, resulta útil comparar estas propiedades con las de las cáscaras de otras frutas. Una revisión de Chukwuma et al., (2021b) destaca el rico contenido de fitoquímicos bioactivos y terapéuticos de muchas cáscaras de frutas, incluido el litchi, que presentan un notable potencial anticancerígeno. La revisión destaca en particular la eficacia de la cáscara de litchi en diversas aplicaciones contra el cáncer debido a su contenido de flavonoles simples y proantocianidinas, posicionándolo junto a otras frutas conocidas por sus propiedades promotoras de la salud. Además, Naguib & Tantawy, (2019) evaluaron la actividad anticancerígena de las cáscaras de varias frutas, incluidas la granada, la naranja y el limón. Sus hallazgos demostraron una actividad anticancerígena significativa, particularmente de la cáscara de granada, que se alinea con las propiedades observadas en la cáscara de litchi. Esta comparación sugiere que, si bien la cáscara de lichi es eficaz, otras cáscaras de frutas como la granada también ofrecen fuertes propiedades anticancerígenas, a menudo relacionadas con su alta capacidad antioxidante.

#### 1.5.6. Actividad antihiper glucémica

Contreras-Castro et al., (2022) evaluaron las propiedades anti-hiperglucémicas de la cáscara de litchis 'Brewster', cosechados en dos etapas distintas de madurez, utilizando una prueba de tolerancia oral a la glucosa realizada en ratas Wistar. La cáscara de litchis de fase II (frutos maduros considerados aptos para la exportación), probada a 25-200 mg/kg, redujo los niveles de glucosa en sangre en ratas a los 30 min durante la prueba oral de tolerancia a la glucosa. El extracto de cáscara de litchi (10 mg/kg) combinado con metformina (50 mg/kg), un fármaco antidiabético, redujo sinérgicamente la glucemia a los 60 y 90 min en la prueba oral de tolerancia a la glucosa con ratas normoglucémicas. Las proantocianidinas han

sido reconocidas por sus potenciales propiedades anti-hiperglucémicas, ofreciendo un enfoque prometedor para controlar los niveles de glucosa en sangre. Los mecanismos a través de los cuales los extractos que contienen proantocianidinas ejercen sus efectos sobre la regulación de la glucemia implican intrincadas interacciones con la vía de señalización de la insulina, las investigaciones sobre estos mecanismos han dilucidado que los extractos que contienen proantocianidinas promueven efectos hipoglucemiantes principalmente a través de la activación de la vía PI3K/Akt, esta activación desempeña un papel fundamental en la mejora de la translocación del transportador de glucosa de tipo 4 (GLUT4) a la membrana celular, facilitando así un mayor transporte de glucosa en las células y mejorando la captación celular de glucosa (El-Ashmawy et al., 2022). Otro aspecto significativo de la acción de las proantocianidinas es su capacidad para reducir la glucogénesis mediante la inhibición de la glucógeno sintasa quinasa-3 beta (GSK-3 $\beta$ ) (El-Ashmawy et al., 2022). Sin embargo, es importante señalar una limitación significativa en el panorama actual de la investigación: los estudios se han centrado principalmente en las proantocianidinas, sin profundizar en los efectos de compuestos aislados dentro de la clase de las proantocianidinas. Esta laguna señala la necesidad de seguir investigando las moléculas individuales de proantocianidinas para comprender plenamente sus contribuciones específicas y los mecanismos de acción de su actividad antihyperglucémica. Para ampliar la comprensión de la actividad anti-hiperglucémica de la cáscara de litchi, es útil compararla con las propiedades anti-hiperglucémicas de las cáscaras de otras frutas. Por ejemplo, el estudio de Sarah M. Abdel Aziz et al. (Abdel Aziz et al., 2020) exploró los efectos anti-hiperglucémicos de los extractos de hoja y cáscara de fruta de *Musa paradisiaca*, que mejoraron significativamente la tolerancia oral alterada a la glucosa y aumentaron los niveles séricos de insulina en ratas diabéticas. Esto indica una posible similitud funcional con la cáscara de litchi, aunque cada una tiene perfiles fitoquímicos y mecanismos de acción distintos. Además, se descubrió que la cáscara del fruto de *Citrus limetta* normalizaba los niveles de glucosa en sangre y mejoraba los parámetros bioquímicos séricos en ratas diabéticas, lo que sugiere otro tratamiento natural eficaz para controlar los niveles de azúcar en sangre,

comparable a la acción anti-hiperglucémica observada con la cáscara de litchi (KunduSen et al., 2011).

## **1.6. Conclusiones**

Este capítulo subraya la importancia crítica de optimizar las técnicas de procesamiento para maximizar el potencial terapéutico de los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi. El análisis comparativo de los métodos de secado reveló impactos significativos en los perfiles de compuestos bioactivos, destacando la necesidad de una selección metódica para preservar estos valiosos componentes. Del mismo modo, la exploración de diversas estrategias de extracción y purificación ha iluminado el camino hacia la mejora de la eficiencia y la especificidad de aislar estos compuestos, un paso crucial para su posterior aplicación en la salud y la medicina. Las actividades biológicas identificadas a través de una investigación rigurosa corroboran la rica tradición que rodea a la cáscara del litchi y subrayan el enorme potencial sin explotar de la fruta para abordar los problemas de salud contemporáneos. Resulta evidente que los procesos de purificación han aislado con éxito compuestos específicos de los extractos de cáscara de litchi, pero la mayor parte de las evaluaciones farmacológicas se han centrado en los extractos y no en estos compuestos purificados. Esta laguna en la investigación pone de relieve una importante oportunidad para que futuras investigaciones profundicen en las propiedades farmacológicas de los compuestos individuales aislados de la cáscara de litchi. El aislamiento de los compuestos activos es crucial para caracterizar los potenciales terapéuticos y los mecanismos de acción.

Los extractos de cáscara de Litchi y sus compuestos activos han mostrado efectos antioxidantes con actividad similar a la mostrada por los fármacos de referencia. El principal mecanismo de acción de los efectos hepatoprotectores, anti-ateroscleróticos y cardioprotectores mostrados por los extractos de cáscara de litchi y sus compuestos activos está relacionado con su actividad antioxidante. Las antocianidinas y los flavonoides fueron los compuestos activos responsables de los efectos farmacológicos en los extractos de cáscara de litchi.

El aislamiento y la identificación de compuestos bioactivos en la cáscara del litchi han revelado un espectro de actividades beneficiosas para la salud, entre las que se incluyen propiedades antioxidantes, anti-hiperglucémicas, cardioprotectoras, hepatoprotectoras, antiateroscleróticas y anticancerígenas. Además, las actividades biológicas identificadas en los extractos de cáscara de litchi sugieren un amplio espectro de beneficios potenciales para la salud. A pesar de estos prometedores hallazgos, persiste una limitación significativa en el cuerpo actual de la investigación: la mayoría de los estudios se han centrado en los efectos colectivos de las proantocianidinas y otros compuestos que quedan por identificar. Esta laguna pone de manifiesto la urgente necesidad de seguir investigando compuestos aislados de la cáscara del litchi para identificar la molécula o moléculas responsables de sus diversas actividades biológicas. Estas investigaciones específicas podrían revelar los mecanismos precisos de acción y, potencialmente, desvelar nuevas aplicaciones terapéuticas para estos compuestos.

Además, el uso tradicional de la cáscara de litchi en la medicina china como agente diurético y para el tratamiento de la diarrea y las infecciones parasitarias sugiere un potencial sin explotar para descubrir actividades biológicas adicionales (Kilari y Putta, 2017; W. Sun et al., 2021; Yuan et al., 2016). El acercamiento entre el conocimiento tradicional y la investigación científica moderna podría conducir a la identificación de nuevos compuestos con importantes beneficios para la salud.

El análisis de los compuestos aislados de la cáscara del litchi ofrece un campo prometedor para futuras investigaciones. Entre los aspectos más destacados se encuentra su potencial actividad antidiarreica, reconocida en la medicina tradicional, pero aún no validada de manera rigurosa por estudios científicos. La identificación y caracterización de los compuestos responsables de estas propiedades podría no solo corroborar los conocimientos empíricos, sino también llevar al descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos. Además, la investigación sobre las propiedades farmacológicas del litchi va más allá de su acción antidiarreica, abarcando posibles efectos antiinflamatorios, antimicrobianos y analgésicos. A través de la identificación sistemática de los compuestos bioactivos, se puede profundizar en la comprensión

de sus mecanismos de acción y dianas moleculares, abriendo la puerta a nuevas aplicaciones farmacológicas. Esto puede facilitar el desarrollo de nuevos compuestos con mayor eficacia y especificidad para diversas aplicaciones farmacológicas. La investigación continuada de estos compuestos, guiada por los conocimientos de la medicina tradicional y validada mediante métodos científicos modernos, encierra la promesa de nuevos agentes terapéuticos para diversas afecciones. Este esfuerzo no sólo contribuirá a la comprensión y apreciación de la medicina tradicional, sino también al avance de la farmacología y al desarrollo de nuevas soluciones terapéuticas.

Futuros estudios deberán evaluar el efecto del consumo de cáscara de litchi por los seres humanos en el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis, la diabetes y otras enfermedades cardiovasculares, debido a la presencia de compuestos bioactivos como flavonoides y proantocianidinas, que han mostrado efectos antioxidantes y antiinflamatorios en modelos preclínicos. Estos efectos podrían jugar un papel importante en la modulación de los procesos inflamatorios y oxidativos que subyacen a estas enfermedades, ayudando a prevenir o ralentizar su progreso.

## 1.7. Referencias

Abdel Aziz, S. M., Ahmed, O. M., Abd El-Twab, S. M., Al-Muzafar, H. M., Amin, K. A., & Abdel-Gabbar, M. (2020). Antihyperglycemic Effects and Mode of Actions of *Musa paradisiaca* Leaf and Fruit Peel Hydroethanolic Extracts in Nicotinamide/Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9276343>

Ahmed, M., Ali, A., Sarfraz, A., Hong, Q., & Boran, H. (2022). Effect of Freeze-Drying on Apple Pomace and Pomegranate Peel Powders Used as a Source of Bioactive Ingredients for the Development of Functional Yogurt. *Journal of Food Quality*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/3327401>

Alkinani, K. B., Ali, E. M. M., Al-Shaikh, T. M., Khan, J. A. A., Al-Naomasi, T. M., Ali, S. S., Abduljawad, A. A., Mosa, O. F., & Zafar, T. A. (2021). *Hepatoprotective Effects of (-) Epicatechin in CCl 4-Induced Toxicity Model Are Mediated via Modulation of Oxidative Stress Markers in Rats*. <https://doi.org/10.1155/2021/4655150>

Aviram, M., Volkova, N., Coleman, R., Dreher, M., Reddy, M. K., Ferreira, D., & Rosenblat, M. (2008). Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: Studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient (E0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(3), 1148–1157. [https://doi.org/10.1021/JF071811Q/SUPPL\\_FILE/JF071811QSI20071122\\_080948.PDF](https://doi.org/10.1021/JF071811Q/SUPPL_FILE/JF071811QSI20071122_080948.PDF)

Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., & Patil, R. T. (2011a). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, *44*(1), 391–396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.001>

Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., & Patil, R. T. (2011b). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, *44*(1), 391–396. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2010.10.001>

Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., & Patil, R. T. (2011c). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food Research International*, *44*(1), 391–396. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2010.10.001>

Barreca, D., Smeriglio, A., Bellocco, E., & Trombetta, D. (2017). Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects LINKED ARTICLES. *British Journal of Pharmacology*, *174*, 1244. <https://doi.org/10.1111/bph.v174.11/issuetoc>

Bi, Y. guang, & Tan, Y. quan. (2012). Study on Macroporous Resin Separation and Purification of Total Flavonoids of Plantago Process. *Advanced Materials Research*, 550–553, 987–992. <https://doi.org/10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/AMR.550-553.987>

Chen, L. G., Chang, C. W., Tsay, J. G., & Weng, B. B. C. (2017). Hepatoprotective effects of litchi (*Litchi chinensis*) procyanidin A2 on carbon tetrachloride-induced liver injury in ICR mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 13(6), 2839–2847. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4358>

Chen, Y., Li, H., Zhang, S., Yang, C., Mai, Z., Hu, X., Gao, Z., & Deng, H. (2017). Anti-myocardial Ischemia Effect and Components of Litchi Pericarp Extracts. *Phytotherapy Research*, 31(9), 1384–1391. <https://doi.org/10.1002/ptr.5865>

Chukwuma, C. I., Izu, G. O., Chukwuma, M. S., Samson, M. S., Makhafola, T. J., & Erukainure, O. L. (2021a). A review on the medicinal potential, toxicology, and phytochemistry of litchi fruit peel and seed. *Journal of Food Biochemistry*, 45(12), e13997. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13997>

Chukwuma, C. I., Izu, G. O., Chukwuma, M. S., Samson, M. S., Makhafola, T. J., & Erukainure, O. L. (2021b). A review on the medicinal potential, toxicology, and phytochemistry of litchi fruit peel and seed. *Journal of Food Biochemistry*, 45(12), e13997. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13997>

Contreras-Castro, A. I., Oidor-Chan, V. H., Bustamante-Camilo, P., Pelayo-Zaldívar, C., Díaz De León-Sánchez, F., & Mendoza-Espinoza, J. A. (2022). Chemical Characterization and Evaluation of the Antihyperglycemic Effect of Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) cv. Brewster. *Journal of Medicinal Food*, 25(1), 61–69. <https://doi.org/10.1089/jmf.2021.0098>

Dan, G., Li, W., Zhong, Z., Sun, K., Luo, Q., Magin, R. L., Zhou, X. J., & Muge Karaman, M. (2021). *mathematics Diffusion in Sephadex Gel Structures: Time Dependency Revealed by Multi-Sequence Acquisition over a Broad Diffusion Time Range*. <https://doi.org/10.3390/math9141688>

Duan, X., Jiang, Y., Su, X., Zhang, Z., & Shi, J. (2007). Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. *Food Chemistry*, *101*(4), 1365–1371. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.057>

Duan, X., Wu, G., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of the Antioxidant Properties of Litchi Fruit Phenolics in Relation to Pericarp Browning Prevention. In *Molecules* (Vol. 12). <http://www.mdpi.org/>

El-Ashmawy, N. E., Khedr, E. G., Alfeky, N. H., & Ibrahim, A. O. (2022). Upregulation of GLUT4 and PI3K, and downregulation of GSK3 mediate the anti-hyperglycemic effects of proanthocyanidins. *Medicine International*, *2*(14). <https://doi.org/10.3892/mi.2022.39>

Feng, Y. Y., Yan, J. Y., Xia, X., Liang, J. Q., Li, F., Xie, T. F., Luo, W. S., & Feng, J. F. (2020). [Effect and mechanism of total flavonoids of Lichi Semen on CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in rats, and prediction of Q-marker]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi = Zhongguo Zhongyao Zazhi = China Journal of Chinese Materia Medica*, *45*(23), 5722–5731. <https://doi.org/10.19540/J.CNKI.CJCM.20200720.401>

Ferenczyová, K., Kindernay, L., Vlkovičová, J., Kaločayová, B., Rajtík, T., Barteková, M., & Podesser, B. (2021). *Pharmacology of Catechins in Ischemia-Reperfusion Injury of the Heart Academic Editors: László Dux and*. <https://doi.org/10.3390/antiox10091390>

Gad, R. A., Abd El-Latif, H. A., & Ain Shoka, A. A. (2013). Hepatoprotective activity of citrus fruits peel extracts on lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced liver damage in rats. *Egyptian Journal of Zoology*, *60*(60), 245–266. <https://doi.org/10.12816/0003293>

Gallego, R., Bueno, M., & Herrero, M. (2019). Sub- and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae – An update. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 116, pp. 198–213). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.030>

Galpin, I. J., Kenner, G. W., Ohlsen, S. R., & Ramage, R. (1975). Gel filtration of protected peptides on Sephadex G-50 in hexamethylphosphoramide containing 5% water. *Journal of Chromatography A*, 106(1), 125–129. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)81054-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)81054-2)

Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). molecules Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15, 8813–8826. <https://doi.org/10.3390/molecules15128813>

Gong, Y., Fang, F., Zhang, X., Liu, B., Luo, H., Li, Z., Zhang, X., Zhang, Z., & Pang, X. (2018). B Type and Complex A/B Type Epicatechin Trimers Isolated from Litchi pericarp Aqueous Extract Show High Antioxidant and Anticancer Activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1). <https://doi.org/10.3390/IJMS19010301>

Hameed, B. S., Bhatt, C. S., Nagaraj, B., & Suresh, A. K. (2018). Chromatography as an efficient technique for the separation of diversified nanoparticles. *Nanomaterials in Chromatography: Current Trends in Chromatographic Research Technology and Techniques*, 503–518. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812792-6.00019-4>

Hamid, Thakur, N. S., Thakur, A., & Kumar, P. (2020). Effect of different drying modes on phenolics and antioxidant potential of different parts of wild pomegranate fruits. *Scientia Horticulturae*, 274, 109656. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2020.109656>

Heiss, C., Keen, C. L., & Kelm, M. (2010). Flavanols and cardiovascular disease prevention. *European Heart Journal*, 31(21), 2583–2592. <https://doi.org/10.1093/EURHEARTJ/EHQ332>

Ibrahim, S. R. M., & Mohamed, G. A. (2015). Litchi chinensis: Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 174, pp. 492–513). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.054>

Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Gondal, T. A., Saeed, F., Imran, A., Shahbaz, M., Valere, P., Fokou, T., Arshad, M. U., Khan, H., Guerreiro, S. G., Martins, N., & Estevinho, L. M. (2019). Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential. *Molecules*, 24. <https://doi.org/10.3390/molecules24122277>

Jiang, G., Lin, S., Wen, L., Jiang, Y., Zhao, M., Chen, F., Prasad, K. N., Duan, X., & Yang, B. (2013). Identification of a novel phenolic compound in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp and bioactivity evaluation. *Food Chemistry*, 136(2), 563–568. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.089>

Kessy, H. N. E., Hu, Z., Zhao, L., & Zhou, M. (2016). Effect of steam blanching and drying on phenolic compounds of litchi pericarp. *Molecules*, 21(6). <https://doi.org/10.3390/molecules21060729>

Khan, S. A., Aslam, R., & Makroo, H. A. (2019). High pressure extraction and its application in the extraction of bio-active compounds: A review. In *Journal of Food Process Engineering* (Vol. 42, Issue 1). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12896>

Kilari, E. K., & Putta, S. (2017). Delayed progression of diabetic cataractogenesis and retinopathy by *Litchi chinensis* in STZ-induced diabetic rats. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 36(1), 52–59. <https://doi.org/10.3109/15569527.2016.1144610>

Komino, E. A., Ramos, L. P. A., de Souza, A. V., Caixeta, D. C., Bittar, V. P., Borges, A. L., Botelho, F. V., Espindola, F. S., & Justino, A. B. (2023). *Annona crassiflora* Mart. Fruit Peel Polyphenols Preserve Cardiac Antioxidant Defense and Reduce Oxidative Damage in Hyperlipidemic Mice. *Foods*, 12(11), 2097. <https://doi.org/10.3390/FOODS12112097/S1>

Kong, F., Zhang, M., Liao, S., Yu, S., Chi, J., & Wei, Z. (2010). Antioxidant activity of polysaccharide-enriched fractions extracted from pulp tissue of litchi chinensis sonn. *Molecules*, 15(4), 2152–2165. <https://doi.org/10.3390/molecules15042152>

- Krakowska-Sieprawska, A., Kielbasa, A., Rafińska, K., Ligor, M., & Buszewski, B. (2022). *Modern Methods of Pre-Treatment of Plant Material for the Extraction of Bioactive Compounds*. <https://doi.org/10.3390/molecules27030730>
- Kumar, M., Kumar, V., Prasad, R., & Varma, A. (2017). The lychee biotechnology. In *The Lychee Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-3644-6>
- KunduSen, S., Haldar, P. K., Gupta, M., Mazumder, U. K., Saha, P., Bala, A., Bhattacharya, S., & Kar, B. (2011). Evaluation of Antihyperglycemic Activity of Citrus limetta Fruit Peel in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *ISRN Endocrinology*, 2011, 1–6. <https://doi.org/10.5402/2011/869273>
- Li, S., Xiao, J., Chen, L., Hu, C., Chen, P., Xie, B., & Sun, Z. (2012a). Identification of A-series oligomeric procyanidins from pericarp of Litchi chinensis by FT-ICR-MS and LC-MS. *Food Chemistry*, 135(1), 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.039>
- Li, S., Xiao, J., Chen, L., Hu, C., Chen, P., Xie, B., & Sun, Z. (2012b). Identification of A-series oligomeric procyanidins from pericarp of Litchi chinensis by FT-ICR-MS and LC-MS. *Food Chemistry*, 135(1), 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.039>
- Li, S., Yang, Y., Li, J., Zhu, Z., Lorenzo, J. M., & Barba, F. J. (2018). Increasing Yield and Antioxidative Performance of Litchi Pericarp Procyanidins in Baked Food by Ultrasound-Assisted Extraction Coupled with Enzymatic Treatment. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules23092089>
- Li, W., Li, Y., Bi, J., Ji, Q., Zhao, X., Zheng, Q., Tan, S., & Gao, X. (2020). Effect of hot air drying on the polyphenol profile of Hongjv (*Citrus reticulata* Blanco, CV. Hongjv) peel: A multivariate analysis. *Journal of Food Biochemistry*, 44(5), e13174. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13174>
- Li, W., Liang, H., Zhang, M.-W., Zhang, R.-F., Deng, Y.-Y., Wei, Z.-C., Zhang, Y., & Tang, X.-J. (2012). Phenolic Profiles and Antioxidant Activity of Litchi (Litchi

Chinensis Sonn.) Fruit Pericarp from Different Commercially Available Cultivars. *Molecules*, 17, 14954–14967. <https://doi.org/10.3390/molecules171214954>

Liu, J., & Jiang, G. (2015). Silver nanoparticles in the environment. *Silver Nanoparticles in the Environment*, 1–152. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-46070-2>

Liu, L., Xie, B., Cao, S., Yang, E., Xu, X., & Guo, S. (2007). A-type procyanidins from Litchi chinensis pericarp with antioxidant activity. *Food Chemistry*, 105(4), 1446–1451. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.022>

Long, M., Yang, S. H., Han, J. X., Li, P., Zhang, Y., Dong, S., Chen, X., Guo, J., Wang, J., & He, J. Bin. (2016). The Protective Effect of Grape-Seed Proanthocyanidin Extract on Oxidative Damage Induced by Zearalenone in Kunming Mice Liver. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6). <https://doi.org/10.3390/IJMS17060808>

Luo, Y., Lu, J., Wang, Z., Wang, L., Wu, G., Guo, Y., & Dong, Z. (2022). Small ubiquitin-related modifier (SUMO)ylation of SIRT1 mediates (-)-epicatechin inhibited- differentiation of cardiac fibroblasts into myofibroblasts. *Pharmaceutical Biology*, 60(1), 1762–1770. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2101672>

L.Wiset, Poomsa-ad, N., & Srilaong, V. (2012). Comparisons of Antioxidant Activity and Bioactive Compounds of Dragon Fruit Peel from Various Drying Methods. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 6(10), 943–946. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.1062480>

Ma, F., & Cheng, L. (2003). The sun-exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate–glutathione pathway than the shaded peel. *Plant Science*, 165(4), 819–827. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00277-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00277-2)

Ma, X., Wang, R., Yu, S., Lu, G., Yu, Y., & Jiang, C. (2020). Anti-Inflammatory Activity of Oligomeric Proanthocyanidins Via Inhibition of NF-κB and MAPK in LPS-

Stimulated MAC-T Cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(10), 1458. <https://doi.org/10.4014/JMB.2006.06030>

Mal, B., Rao, V. R., Arora, R. K., Sajise, P. E., & Sthapit, B. R. (2010). *Conservation and Sustainable Use of Tropical Fruit Species Diversity: Bioiversity's Efforts in Asia, the Pacific and Oceania*. <https://www.researchgate.net/publication/266499874>

Mantena, S. K., & Katiyar, S. K. (2006). Grape seed proanthocyanidins inhibit UV-radiation-induced oxidative stress and activation of MAPK and NF-kappaB signaling in human epidermal keratinocytes. *Free Radical Biology & Medicine*, 40(9), 1603–1614. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2005.12.032>

Matsumiya, H., Yasuno, S., Iki, N., & Miyano, S. (2005). Sulfinylcalix[4]arene-impregnated Amberlite XAD-7 resin for the separation of niobium(V) from tantalum(V). *Journal of Chromatography A*, 1090(1–2), 197–200. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2005.06.086>

Miranda-Hernández, A. M., Muñiz-Márquez, D. B., Wong-Paz, J. E., Aguilar-Zárate, P., de la Rosa-Hernández, M., Larios-Cruz, R., & Aguilar, C. N. (2019). Characterization by HPLC–ESI–MS 2 of native and oxidized procyanidins from litchi (*Litchi chinensis*) pericarp. *Food Chemistry*, 291, 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.020>

Moo-Huchin, V. M., Moo-Huchin, M. I., Estrada-León, R. J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, I. A., Ortiz-Vázquez, E., Betancur-Ancona, D., & Sauri-Duch, E. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 166, 17–22. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.05.127>

Mottaghipisheh, J., Iriti, M., & Cacciola, F. (2020). *molecules Sephadex® LH-20, Isolation, and Purification of Flavonoids from Plant Species: A Comprehensive Review*. <https://doi.org/10.3390/molecules25184146>

Murphy, B. E. P., & D'Aux, R. C. D. (1975). The use of sephadex LH-20 column chromatography to separate unconjugated steroids. *Journal of Steroid Biochemistry*, 6(3–4), 233–237. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(75\)90138-7](https://doi.org/10.1016/0022-4731(75)90138-7)

Naguib, D. M., & Tantawy, A. A. (2019). Anticancer effect of some fruits peels aqueous extracts. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 19(4), 415–420. <https://doi.org/10.1007/S13596-019-00398-6/METRICS>

Nerdy, N., & Ritarwan, K. (2019). Hepatoprotective Activity and Nephroprotective Activity of Peel Extract from Three Varieties of the Passion Fruit (*Passiflora* Sp.) in the Albino Rat. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(4), 536. <https://doi.org/10.3889/OAMJMS.2019.153>

Nguyen, V. T., & Le, M. D. (2018). Influence of Various Drying Conditions on Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Carrot Peel. *Beverages 2018*, Vol. 4, Page 80, 4(4), 80. <https://doi.org/10.3390/BEVERAGES4040080>

Okonogi, S., Duangrat, C., Anuchpreeda, S., Tachakittirungrod, S., & Chowwanapoonpohn, S. (2007). Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chemistry*, 103(3), 839–846. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2006.09.034>

Pacheco López, N. A., & Cuevas Bernardino, J. C. (2020). *Aprovechamiento de frutos, productos y subproductos tropicales. Avances recientes en el sur-sureste de México* (N. A. Pacheco López, J. C. Cuevas Bernardino, & T. del R. Ayora López, Eds.; 1st ed.). Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.

Panzella, L., Moccia, F., Nasti, R., Marzorati, S., Verotta, L., & Napolitano, A. (2020). Bioactive Phenolic Compounds From Agri-Food Wastes: An Update on Green and Sustainable Extraction Methodologies. *Frontiers in Nutrition | Www.Frontiersin.Org*, 1, 60. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00060>

Paul, S., Das, S., Tanvir, E. M., Hossen, M. S., Saha, M., Afroz, R., Islam, M. A., Hossain, M. S., Gan, S. H., & Ibrahim Khalil, M. (2017). Protective effects of ethanolic

peel and pulp extracts of Citrus macroptera fruit against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94, 256–264. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2017.07.080>

Periche, A., Castelló, M. L., Heredia, A., & Escriche, I. (2015). Influence of drying method on steviol glycosides and antioxidants in Stevia rebaudiana leaves. *Food Chemistry*, 172, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.09.029>

Prasad, K. N., Yang, B., Zhao, M., Ruenroengklin, N., & Jiang, Y. (2009). Application of ultrasonication or high-pressure extraction of flavonoids from litchi fruit pericarp. *Journal of Food Process Engineering*, 32(6), 828–843. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00247.x>

Queiroz, E. de R., De Abreu, C. M. P., Rocha, D. A., De Sousa, R. V, Fráguas, R. M., Braga, M. A., & César, P. H. S. (2018). Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) peel flour: Effects on hepatoprotection and dyslipidemia induced by a hypercholesterolemic diet. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 90(1), 267–281. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720150638>

Ramirez-Sanchez, I., Maya, L., Ceballos, G., & Villarreal, F. (2010). (-)-Epicatechin Activation of Endothelial Cell Endothelial Nitric Oxide Synthase, Nitric Oxide, and Related Signaling Pathways. *Hypertension*, 55(6), 1398–1405. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.147892>

Rao, G. (2010). Optimization of ultrasound-assisted extraction of cyanidin 3-rutinoside from litchi (*Lichi chinensis* Sonn.) fruit pericarp. *Analytical Methods*, 2(8), 1166–1170. <https://doi.org/10.1039/c0ay00203h>

Rong, S., Zhao, S., Xu, K., Zhang, L., Zhao, Y., Xiao, X., Bao, W., & Liu, L. (2017). Procyanidins extracted from the litchi pericarp attenuate atherosclerosis and hyperlipidemia associated with consumption of a high fat diet in apolipoprotein-E knockout mice. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.139>

Roshanak, S., Rahimmalek, M., & Goli, S. A. H. (2016). Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content,

chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (*Camellia sinensis* or *C. assamica*) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 721–729. <https://doi.org/10.1007/S13197-015-2030-X>

Seger, C., Eberhart, K., Sturm, S., Strasser, H., & Stuppner, H. (2006). Apolar chromatography on Sephadex LH-20 combined with high-speed counter-current chromatography: High yield strategy for structurally closely related analytes—Destruxin derivatives from *Metarhizium anisopliae* as a case study. *Journal of Chromatography A*, 1117(1), 67–73. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2006.03.055>

Setchell, K. D. R., & Shackleton, C. H. L. (1973). The group separation of plasma and urinary steroids by column chromatography on sephadex LH-20. *Clinica Chimica Acta*, 47(3), 381–388. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(73\)90270-2](https://doi.org/10.1016/0009-8981(73)90270-2)

Sharma, S. D., Meeran, S. M., & Katiyar, S. K. (2007). Dietary grape seed proanthocyanidins inhibit UVB-induced oxidative stress and activation of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-kappaB signaling in in vivo SKH-1 hairless mice. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6(3), 995–1005. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-06-0661>

Shofian, N. M., Hamid, A. A., Osman, A., Saari, N., Anwar, F., Dek, M. S. P., & Hairuddin, M. R. (2011). Effect of Freeze-Drying on the Antioxidant Compounds and Antioxidant Activity of Selected Tropical Fruits. *International Journal of Molecular Sciences* 2011, Vol. 12, Pages 4678-4692, 12(7), 4678–4692. <https://doi.org/10.3390/IJMS12074678>

Shu, B., Wu, G., Wang, Z., Wang, J., Huang, F., Dong, L., Zhang, R., Wang, Y., & Su, D. (2020). The effect of microwave vacuum drying process on citrus: drying kinetics, physicochemical composition and antioxidant activity of dried citrus (*Citrus reticulata* Blanco) peel. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(5), 2443–2452. <https://doi.org/10.1007/S11694-020-00492-3/METRICS>

- Sui, Y., Zheng, Y., Li, X., Li, S., Xie, B., & Sun, Z. (2016). Characterization and preparation of oligomeric procyanidins from Litchi chinensis pericarp. *Fitoterapia*, 112, 168–174. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.06.001>
- Sun, R., Fu, K., Fu, Y., Zu, Y., Wang, Y., Luo, M., Li, S., Luo, H., & Li, Z. (2009). Preparative separation and enrichment of four taxoids from Taxus chinensis needles extracts by macroporous resin column chromatography. *Journal of Separation Science*, 32(9), 1284–1293. <https://doi.org/10.1002/JSSC.200800689>
- Sun, W., Shahrajabian, M. H., Shen, H., & Cheng, Q. (2021). Lychee (Litchi chinensis Sonn.), the King of Fruits, with Both Traditional and Modern Pharmacological Health Benefits. *Pharmacognosy Communications*, 11(1), 22–25. <https://doi.org/10.5530/pc.2021.1.5>
- Sun, Y., Shen, Y., Liu, D., & Ye, X. (2015). Effects of drying methods on phytochemical compounds and antioxidant activity of physiologically dropped un-matured citrus fruits. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 1269–1275. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2014.09.001>
- Suresh, B. V., Shireesha, Y., Kishore, T. S., Dwivedi, G., Haghghi, A. T., & Patro, E. R. (2023). Natural energy materials and storage systems for solar dryers: State of the art. In *Solar Energy Materials and Solar Cells* (Vol. 255). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2023.112276>
- Thamkaew, G., Sjöholm, I., & Galindo, F. G. (2021). A review of drying methods for improving the quality of dried herbs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(11), 1763–1786. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1765309>
- Tingting, Z., Xiuli, Z., Kun, W., Liping, S., & Yongliang, Z. (2022). A review: extraction, phytochemicals, and biological activities of rambutan (Nephelium lappaceum L) peel extract. In *Heliyon* (Vol. 8, Issue 11). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11314>
- Vidinamo, F., Fawzia, S., & Karim, M. A. (2021). Effect of drying methods and storage with agro-ecological conditions on phytochemicals and antioxidant activity

of fruits: a review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 62, Issue 2, pp. 353–361). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1816891>

Wang, H. C., Hu, Z. Q., Wang, Y., Chen, H. Bin, & Huang, X. M. (2011). Phenolic compounds and the antioxidant activities in litchi pericarp: Difference among cultivars. *Scientia Horticulturae*, 129(4), 784–789. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.05.042>

Wang, J., Hu, S., Nie, S., Yu, Q., & Xie, M. (2016). *Review Article Reviews on Mechanisms of In Vitro Antioxidant Activity of Polysaccharides*. <https://doi.org/10.1155/2016/5692852>

Wang, L., Fumoto, T., Masumoto, S., Shoji, T., Miura, T., Naraoka, M., Matsuda, N., Imaizumi, T., & Ohkuma, H. (2017). Regression of atherosclerosis with apple procyanidins by activating the ATP-binding cassette subfamily A member 1 in a rabbit model. *Atherosclerosis*, 258, 56–64. <https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2017.01.032>

Wang, X. H., Huang, L. L., Yu, T. T., Zhu, J. H., Shen, B., Zhang, Y., Wang, H. Z., & Gao, S. (2013). Effects of oligomeric grape seed proanthocyanidins on heart, aorta, kidney in DOCA-salt mice: role of oxidative stress. *Phytotherapy Research : PTR*, 27(6), 869–876. <https://doi.org/10.1002/PTR.4793>

Wu, S.-C., Wang, C., Chin, J., & Wong, & S.-L. (2019). A bio-coupling approach using a dextran-binding domain to immobilize an engineered streptavidin to sephadex for easy preparation of affinity matrix. *Scientific Reports*, 9(3359). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40044-4>

Yang, B., Wang, J., Zhao, M., Liu, Y., Wang, W., & Jiang, Y. (2006). Identification of polysaccharides from pericarp tissues of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit in relation to their antioxidant activities. *Carbohydrate Research*, 341(5), 634–638. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.01.004>

Yang, L., Xian, D., Xiong, X., Lai, R., Song, J., & Zhong, J. (2018). *Proanthocyanidins against Oxidative Stress: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications*. <https://doi.org/10.1155/2018/8584136>

Yang, Z., Zhang, L., Wu, Y. H., Li, D. P., & Li, W. (2022). Evaluation of Chemical Constituents of Litchi Pericarp Extracts and Its Antioxidant Activity in Mice. *Foods*, *11*(23). <https://doi.org/10.3390/foods11233837>

Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., & Piao, G. (2016). The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules21050559>

Zhang, J. Y., Wang, L., Liang, R. X., & Yang, B. (2016). [Explore anti-atherosclerotic mechanism of component compatibility of Danshen and Shanzha based on network pharmacology and cell level]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi = Zhongguo Zhongyao Zazhi = China Journal of Chinese Materia Medica*, *41*(23), 4408–4415. <https://doi.org/10.4268/CJCMM20162319>

Zhang, R., Su, D., Hou, F., Liu, L., Huang, F., Dong, L., Deng, Y., Zhang, Y., Wei, Z., & Zhang, M. (2017). Optimized ultra-high-pressure-assisted extraction of procyanidins from lychee pericarp improves the antioxidant activity of extracts. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, *81*(8), 1576–1585. <https://doi.org/10.1080/09168451.2017.1321953>

Zhang, Z., Xuequn, P., Yang, C., Ji, Z., & Jiang, Y. (2004). Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarp. *Food Chemistry*, *84*(4), 601–604. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.002>

Zhao, M., Yang, B., Wang, J., Li, B., & Jiang, Y. (2006). Identification of the major flavonoids from pericarp tissues of lychee fruit in relation to their antioxidant activities. *Food Chemistry*, *98*(3), 539–544. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.028>

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES ZONA HUASTECA**



# **CAPÍTULO 2**

**Caracterización química del extracto etanólico de  
la cáscara de litchi**

## Resumen

La cáscara de litchi (*Litchi chinensis*) es un residuo agroindustrial que contiene compuestos bioactivos como flavonoides, taninos y procianidinas, conocidos por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas. Este estudio se enfocó en la extracción y caracterización química del extracto etanólico de la cáscara de litchi, obtenida mediante un sistema de extracción asistida por microondas (MAE) con etanol a 70°C. Las cáscaras recolectadas en Huichihuayan, San Luis Potosí, fueron secadas, procesadas y almacenadas. Los extractos obtenidos de dos lotes (EC22 y EC23) fueron fraccionados con agua, etanol y acetona, resultando en fracciones acuosa (FW), etanólica (FE) y acetónica (FA). Los rendimientos de extracción fueron del 8% para CL22 y del 6.5% para CL23. La fracción acetónica mostró los niveles más altos de azúcares reductores (96.5 mg GE/L), polifenoles totales (204.7 mg GAE/L) y procianidinas (289.5 mg PC1/L). Las determinaciones cualitativas indicaron una alta concentración de taninos y flavonoides en la fracción acetónica. Además, mediante HPLC-ESI-MS, se identificaron 21 compuestos en la cáscara de litchi, incluyendo ácidos hidroxicinámicos, catequinas y proantocianidinas. La cáscara de litchi es una fuente prometedora de compuestos bioactivos con aplicaciones potenciales en la salud y la industria alimentaria. La optimización de las técnicas de extracción puede maximizar el aprovechamiento de estos compuestos, contribuyendo a la valorización de este residuo agroindustrial.

Palabras clave: Cáscara de litchi, compuestos bioactivos, extracto etanólico, polifenoles.

## Abstract

Litchi (*Litchi chinensis*) peel is an agroindustrial waste that contains bioactive compounds such as flavonoids, tannins, and procyanidins, known for their antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties. This study focused on the extraction and chemical characterization of the ethanolic extract of litchi peel, obtained using a microwave-assisted extraction (MAE) system with ethanol at 70°C. The litchi peel collected in Huichihuayan, San Luis Potosí, were dried, processed and stored. Extracts obtained from two batches (EC22 and EC23) were fractionated with water, ethanol and acetone, resulting in aqueous (FW), ethanolic (FE) and acetic (FA) fractions. The extraction yields were 8% for CL22 and 6.5% for CL23. The acetic fraction showed the highest levels of reducing sugars (96.5 mg GE/L), total polyphenols (204.7 mg GAE/L) and procyanidins (289.5 mg PC1/L). Qualitative determinations indicated a high concentration of tannins and flavonoids in the acetone fraction. In addition, by HPLC-ESI-MS, 21 compounds were identified in litchi peel, including hydroxycinnamic acids, catechins and proanthocyanidins. Litchi peel is a promising source of bioactive compounds with potential applications in health and food industry. The optimization of extraction techniques can maximize the utilization of these compounds, contributing to the valorization of this agroindustrial waste.

Key words: Lychee peel, bioactive compounds, ethanolic extract, polyphenols.

## **Capítulo 2. Caracterización química del extracto etanólico de la cáscara de litchi**

### **2.1. Introducción**

La cáscara de litchi (*Litchi chinensis*), una parte no comestible del fruto, ha despertado interés en la investigación científica debido a su rica composición de compuestos bioactivos. Tradicionalmente considerada un residuo agroindustrial, la cáscara de litchi se genera en grandes cantidades durante el procesamiento del fruto para consumo o para la producción de productos derivados. Este residuo no solo representa un desafío ambiental debido a su volumen, sino que también ofrece una oportunidad para su valorización a través de la extracción de compuestos con potenciales aplicaciones terapéuticas y nutricionales (Chukwuma et al., 2021).

La extracción y purificación de los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi implican el uso de diferentes disolventes y técnicas, cada una con su propia eficiencia y selectividad para ciertos compuestos. La fracción acetónica, por ejemplo, ha demostrado ser particularmente efectiva para extraer fenoles y polifenoles, que son conocidos por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Z. Zhang et al., 2004a). Otros estudios han utilizado métodos como la hidrólisis ácida y la filtración en gel para separar y purificar compuestos específicos, lo que permite una caracterización detallada de la composición química de los extractos (Y. Jiang et al., 2004). Entre los compuestos bioactivos identificados en la cáscara de litchi se encuentran los flavonoides, taninos, procianidinas y ácidos fenólicos. Estos compuestos han mostrado una variedad de actividades biológicas en estudios preclínicos y clínicos (C. Liu et al., 2020). Los taninos, por su parte, han demostrado tener propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, lo que los hace útiles en el tratamiento de infecciones y en la modulación de respuestas inflamatorias (Singh et al., 2019).

La extracción de estos compuestos no solo contribuye a la valorización de un residuo agroindustrial, sino que también abre nuevas posibilidades para el desarrollo de productos naturales con aplicaciones en la medicina y la industria

alimentaria. La cáscara de litchi, tradicionalmente considerada un residuo, posee una rica variedad de compuestos bioactivos con significativas propiedades terapéuticas. Estos hallazgos subrayan la importancia de continuar investigando y optimizando las técnicas de extracción para maximizar el potencial de la cáscara de litchi como fuente de compuestos bioactivos útiles.

## **2.2. Materiales y métodos**

### **2.2.1. Material vegetal**

La cáscara de litchi de variedad Racimo Rojo (cv Mauritius), fue proporcionada por productores de nieve, recolectadas en Huichihuayan ubicado en Huehuetlán en la Huasteca Potosina del estado de San Luis Potosí en México (21°28'57"N 98°58'07"W), en mayo de 2022 y 2023, obteniendo dos muestreos (CL22 y CL23). Posteriormente, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de investigación en alimentos de la Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, donde se secaron en una estufa (ECOSHEL LCD-65BE) a 55 °C durante 24 h. Una vez secas, las cáscaras se procesaron en un molino y se resguardaron hasta su uso.

### **2.2.2. Preparación del extracto vegetal**

Se utilizó un sistema de extracción asistida por microondas (MAE) (Anton Paar), con 16 recipientes de teflón sellados y control automático de la temperatura. El proceso utilizó una potencia de 50 W y mantuvo una temperatura de 70 °C. El protocolo de extracción de la cáscara de litchi consistió en utilizar muestras secas (5 g), que luego se trataron con etanol (50 mL) en una proporción sólido/disolvente de 1:10 (p/v) durante 20 min. Tras la extracción, los extractos se filtraron y el disolvente se evaporó a presión reducida utilizando un evaporador rotativo Büchi R-100 a 40°C y 175 mbar, obteniéndose un extracto crudo seco (EC) por cada lote de litchi (EC22 y EC23). Todas las extracciones se realizaron por triplicado.

### **2.2.3. Fraccionamiento de extractos vegetales**

Los extractos EC22 y EC23 se fraccionaron utilizando una columna de empaquetamiento cromatográfico Sephadex LH-20, comenzando con 350 mL de

agua, siguiendo con 750 mL de etanol y terminando con 380 mL de acetona al 70%, aumentando la fuerza de elución. Los EC (500 mg en agua) se aplicaron directamente al empaque cromatográfico previamente equilibrado con agua y, posteriormente, se eluyó la fase móvil. Las fracciones se agruparon manualmente para cada disolvente de la elución y se evaporaron al vacío para eliminar los disolventes orgánicos. Finalmente, se obtuvieron 3 fracciones que sólo se utilizaron en la caracterización química y en la diarrea inducida por aceite de ricino, la fracción acuosa (FW), la fracción etanólica (FE) y la fracción acetónica (FA).

#### 2.2.4. Determinaciones colorimétricas

Se realizaron determinaciones colorimétricas en las fracciones obtenidas de EC22, mientras que para EC23, estas determinaciones se llevaron a cabo durante el proceso de fraccionamiento. Se recolectaron muestras a intervalos de 3 min y se realizaron las siguientes determinaciones colorimétricas: azúcares reductores (Bello Gil et al., 2006), polifenoles totales (Wong-Paz et al., 2015) y procianidinas totales (Porter et al., 1985). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

##### 2.2.4.1. Azúcares reductores (AR)

La determinación de azúcares reductores se realizó mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Se añadieron 0,5 mL de la muestra (dilución 1:1000) y 0,5 mL de reactivo DNS a tubos con tapón de rosca cubiertos con papel de aluminio para proteger la reacción de la luz. Los tubos se colocaron en un baño de agua a 100°C durante cinco min. La reacción se detuvo enfriando en hielo durante cinco min y se añadieron 2,5 mL de agua destilada a cada tubo. La absorbancia se leyó a 540 nm utilizando un espectrofotómetro. Los azúcares reductores se expresaron como concentración de azúcares reductores en equivalentes de glucosa (mg/L).

##### 2.2.4.2. Polifenoles totales (PT)

Para la determinación de TP, se mezclaron 800 uL de la muestra con 800 uL de reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), se agitaron y se dejaron durante 5 min. A continuación, se añadieron 800 uL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,01M), se agitaron y se dejaron de nuevo durante 5 min. Por último, se diluyó la solución con 5 mL de agua destilada y

se leyó la absorbancia a 790 nm. El TP se expresó como concentración de polifenoles en equivalentes de ácido gálico (mg/L).

#### 2.2.4.3. Procianidinas totales (PCs)

Se preparó una solución de 1-butanol:HCl (95:5 v/v). Las muestras se disolvieron en metanol a una concentración de 2 g/L. A continuación, se mezclaron 250 µL de cada muestra con 1,5 mL de solución de 1-butanol:HCl y 50 µL de solución de reactivo de hierro [(NH<sub>4</sub>Fe (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-12H<sub>2</sub>O) en HCl 2 M, 2% p/v]. Las soluciones se calentaron en agua durante 40 min a 90 °C. Las muestras se leyeron a 550 nm utilizando un espectrofotómetro (Varian 50 Bio). Las PC se cuantificaron por comparación con una curva estándar de procianidina C1 (Sigma-Aldrich) y se expresaron como concentración de procianidinas totales en equivalentes (mg PC1/L).

#### 2.2.5. Determinaciones cualitativas

Se realizaron evaluaciones cualitativas al EC22 y EC23 y sus respectivas fracciones. Para identificar la presencia de alcaloides, se realizó la prueba de Mayer. A 200 µL del EC se le agregaron tres gotas del reactivo de Mayer, vertiéndolo cuidadosamente por un lado del tubo de ensayo. Un precipitado blanco-cremoso indicó una prueba positiva (Raaman, 2006).

Para identificar insaturaciones, se utilizó una prueba con permanganato de potasio (KMnO<sub>4</sub>). A 200 µL del EC se le añadió gota a gota una solución de KMnO<sub>4</sub> al 2% en agua. La prueba se consideró positiva si se observó decoloración o la formación de un precipitado café, resultado de la formación de bióxido de manganeso (Harborne, 1980). Adicionalmente, se realizó la prueba de Baljet, en la cual se utilizaron dos soluciones que se mezclaron en iguales volúmenes antes de usarse. La solución A contenía 0.5 g de ácido pícrico en 50 mL de etanol, y la solución B, 5 g de NaOH en 50 mL de agua. Para la prueba, se agregaron 200 µL del EC y 4 gotas del reactivo. La prueba fue positiva si la mezcla adquirió una coloración naranja o rojo oscuro (Torres-Castillo et al., 2013).

Para la detección de flavonoides, se empleó la prueba del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se colocaron 200 µL del extracto y 200 µL de ácido sulfúrico concentrado. La prueba fue positiva cuando se observaron coloraciones amarillas para flavonas y flavonoles, naranja-guinda para flavonas, rojo-azulosa para chalconas y rojo-púrpura para quinonas. Se utilizó agua destilada como control negativo y guayaba como control positivo (Torres-Castillo et al., 2013).

La presencia de taninos se determinó mediante la prueba del FeCl<sub>3</sub>. A 200 µL del extracto se le adicionaron unas gotas de FeCl<sub>3</sub> al 5%. La aparición de un precipitado rojo, azul violeta o verde se consideró positivo (Torres-Castillo et al., 2013).

Para identificar cumarinas, se realizó la prueba de hidróxido de sodio. Se colocaron 200 µL del extracto y se le agregó 200 µL de solución de NaOH al 10%. La prueba fue positiva al aparecer una coloración amarilla que desapareció al acidular con 200 µL de HCl. Se utilizó agua destilada como control negativo y canela como control positivo (Harborne, 1980).

#### 2.2.6. HPLC-ESI-MS

Los análisis por cromatografía líquida de alto rendimiento de fase reversa se realizaron en un sistema HPLC de Varian que incluía un automuestreador (Varian ProStar 410, EE.UU.), una bomba ternaria (Varian ProStar 230I, EE.UU.) y un detector PDA (Varian ProStar 330, EE.UU.). También se utilizó un espectrómetro de masas de trampa iónica de cromatografía líquida (Varian 500-MS IT Mass Spectrometer, EE.UU.) equipado con una fuente de iones de electrospray. Las muestras (EC, FW, FE y FA) se prepararon con 10 mg de cada una disueltas en 2 mL de etanol al 70%. Las muestras (5 µL) se inyectaron en una columna Denali C18 (150 mm × 2,1 mm, 3µm, Grace, EE.UU.). La temperatura del horno se mantuvo a 30 °C. Los eluyentes fueron ácido fórmico (0,2 %, v/v; disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). Se aplicó el siguiente gradiente: inicial, 3% B; 0-5 min, 9% B lineal; 5-15 min, 16% B lineal; 15-45 min, 50% B lineal. A continuación, se lavó y reacondicionó la columna. El caudal se mantuvo a 0,2 mL/min y la elución se monitorizó a 245, 280, 320 y 550 nm. Todo el efluente (0,2 mL/min) se inyectó en la fuente del espectrómetro de masas, sin división. Todos los experimentos de EM

se realizaron en el modo negativo [M-H]<sup>-1</sup>. Se utilizó nitrógeno como gas nebulizador y helio como gas de amortiguación. Los parámetros de la fuente de iones fueron: voltaje de nebulización 5,0 kV y, voltaje capilar y temperatura fueron 90,0 V y 350 °C, respectivamente. Los datos se recogieron y procesaron utilizando el software MS Workstation (V 6.9). Las muestras se analizaron en primer lugar en modo de barrido completo adquirido en el intervalo m/z 50-2000 (Cerdeja-Cejudo et al., 2022).

## 2.3. Resultados y Discusión

### 2.3.1. Rendimientos de extracción

Durante el proceso de extracción de la cáscara de lichi, 35 gramos de cáscara produjeron 2,8 g de extracto seco, lo que dio lugar a un rendimiento del  $8 \pm 4\%$  para CL22. Para CL23, 35 g de cáscara produjeron 2.3 g de extracto seco, lo que dio lugar a un rendimiento del  $6.5 \pm 2$ , por lo tanto, se encontraron diferencias significativas entre los dos lotes de extractos, como se muestra en la [Tabla 3](#).

**Tabla 3.** Rendimientos de extracción para ambos lotes de cáscara de litchi.

	<b>Cáscara de litchi (g)</b>	<b>Extracto seco (g)</b>	<b>Rendimiento (% p/p)</b>
<b>CL22</b>	35	2.8	$8 \pm 4$
<b>CL23</b>	35	2.3	$6.5 \pm 2^*$

Cada valor está dado como la media  $\pm$  SEM de las observaciones ( $n = 3$ ) \* $p < 0,05$

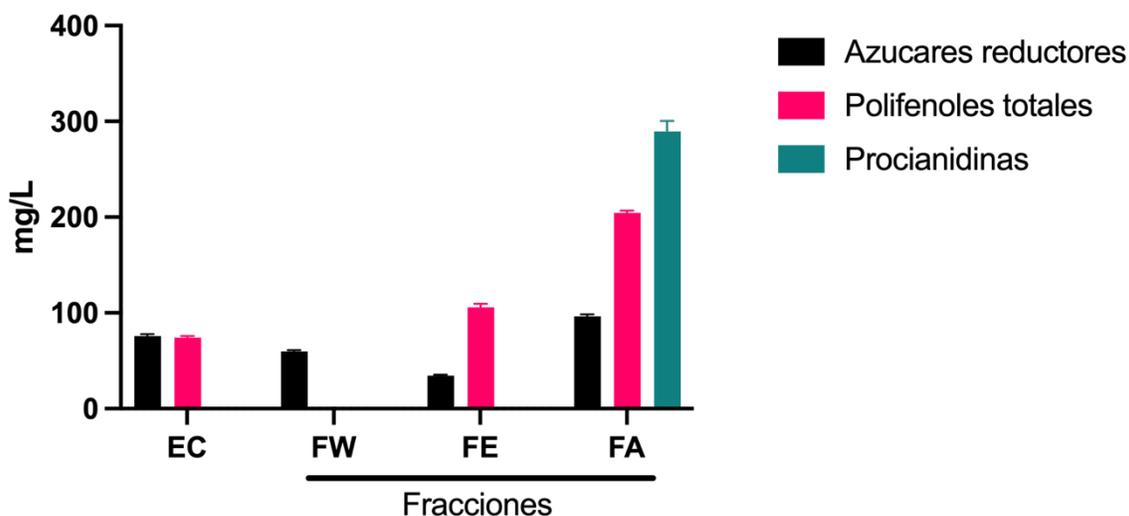
### 2.3.2. Caracterización química

#### 2.3.2.1. Determinación de AR, PT y PCs

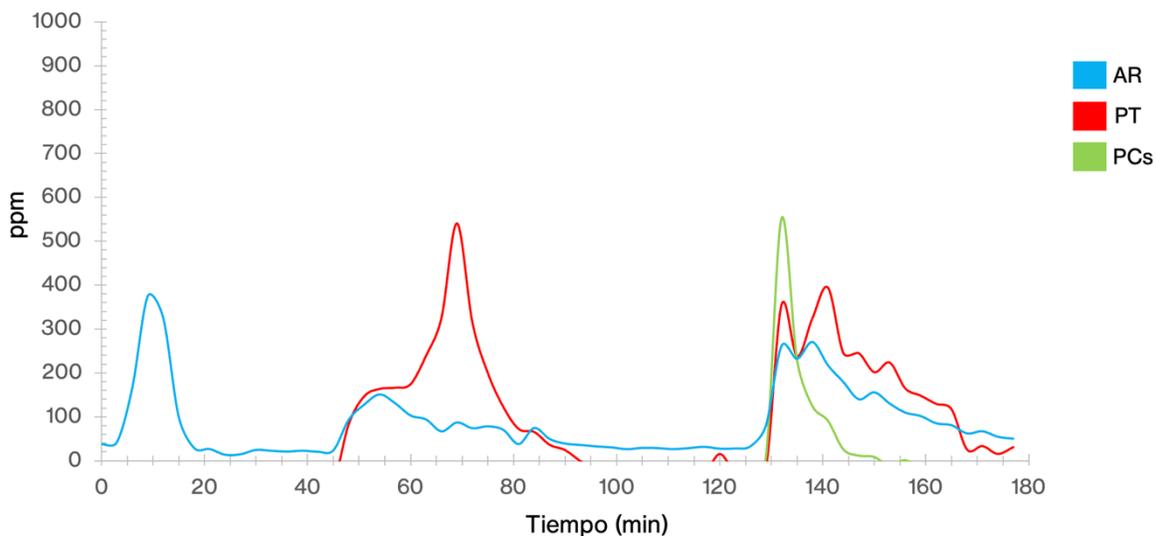
Se determinaron los AR, PT y PCs del EC22 y sus fracciones, la [Figura 3](#) muestra los resultados obtenidos. El EC tuvo un contenido de AR de  $75,9 \pm 2,9$  mg GE/L, un contenido de PT de  $74 \pm 3$  mg GAE/L, y no se detectaron PCs. La FW mostró un contenido de AR de  $59,9 \pm 2,1$  mg GE/L, sin PT ni PCs detectables. La FE tuvo un contenido de RS de  $34,4 \pm 1,5$  mg GE/L, un contenido de PT de  $105,9 \pm 6$  mg GAE/L

y no se detectaron PCs. La FA presentó los valores más altos, con un contenido de AR de  $96,5 \pm 2,9$  mg GE/L, un contenido de PT de  $204,7 \pm 2,9$  mg GAE/L, y un contenido de PCs de  $289,5 \pm 19,3$  mg PC1/L.

En el proceso de fraccionamiento del EC23 utilizando Sephadex LH-20, la monitorización de azúcares reductores, polifenoles totales y procianidinas reveló perfiles de separación distintos a lo largo del tiempo de elución (Figura 4). Se observaron picos de AR en las tres fracciones, concretamente a los 10, 55, 130 y 140 min, con una concentración máxima de  $375,8 \pm 52,1$  mg GE/L. Para PT, se detectaron picos significativos a los 70, 130 y 140 min, con una concentración máxima de  $540,5 \pm 72$  mg GAE/L, indicando la elución de compuestos polifenólicos sólo en FE y FA. Las PCs se detectaron exclusivamente en FA, concretamente a los 130 min, con una concentración máxima de  $552,2 \pm 114,5$  mg PC1/L, lo que indica la especial eficacia de la acetona en la extracción de estos compuestos. Esto pone de manifiesto la importancia de la elección del disolvente en el proceso de extracción, ya que la acetona solubiliza las procianidinas en comparación con otros disolventes utilizados.



**Figura 3.** AR, PT y PCs detectadas en el EC22 y sus fracciones



**Figura 4.** Perfiles de separación durante el tiempo de elución para AR, PT y PCs

#### 2.3.2.2. Determinaciones cualitativas

La diversidad de compuestos detectados en las diferentes fracciones del extracto de cáscara de litchi CL22 refleja la complejidad química del material vegetal (Tabla 4). Observamos una presencia significativa de insaturaciones en todas las fracciones, lo que sugiere que estos compuestos son extractables en una variedad de condiciones y pueden contribuir a las propiedades biológicas del extracto. La concentración de taninos y flavonoides es particularmente alta en la fracción acetónica (FA), lo que indica que este solvente es particularmente adecuado para extraer fenoles y polifenoles de la cáscara de litchi. Esto es importante ya que ambos grupos de compuestos son conocidos por sus propiedades. El perfil fitoquímico de CL23 (Tabla 4) muestra una ausencia de alcaloides en todas las fracciones, similar a CL22, lo que sugiere que estos compuestos no son predominantes en los extractos de cáscara de litchi o que los métodos de extracción y fraccionamiento empleados no favorecen su solubilización. La presencia constante de insaturaciones en todas las fracciones subraya una característica común entre los dos lotes. La presencia de taninos en las fracciones EC y FE, y de cumarinas en la fracción FE, es consistente con CL22, sugiriendo que estos compuestos se

extraen eficazmente con etanol. Sin embargo, la presencia de taninos en la fracción FA en CL23, que no se observó en CL22, podría reflejar una variabilidad en la composición de taninos o en la eficiencia de extracción entre lotes.

**Tabla 4.** Determinaciones cualitativas de CL22 y CL23

	<b>Compuesto químico</b>	<b>EC</b>	<b>FW</b>	<b>FE</b>	<b>FA</b>
<b>CL22</b>	<b>Alcaloides</b>	-	-	-	+
	<b>Insaturaciones</b>	++	+	+	++
	<b>Sesquiterpenlactonas</b>	+	-	-	+
	<b>Taninos</b>	+	-	+	++
	<b>Flavonoides</b>	+	-	++	++
	<b>Cumarinas</b>	+	-	++	++
<b>CL23</b>	<b>Alcaloides</b>	-	-	-	-
	<b>Insaturaciones</b>	+	+	+	+
	<b>Sesquiterpenlactonas</b>	+	-	++	-
	<b>Taninos</b>	+	-	+	+
	<b>Flavonoides</b>	+	-	+	-
	<b>Cumarinas</b>	+	-	+	-
(-) Ausencia, (+) Presencia mínima, (++) Presencia notable					

#### 2.3.2.3. Caracterización HPLC – ESI – MS

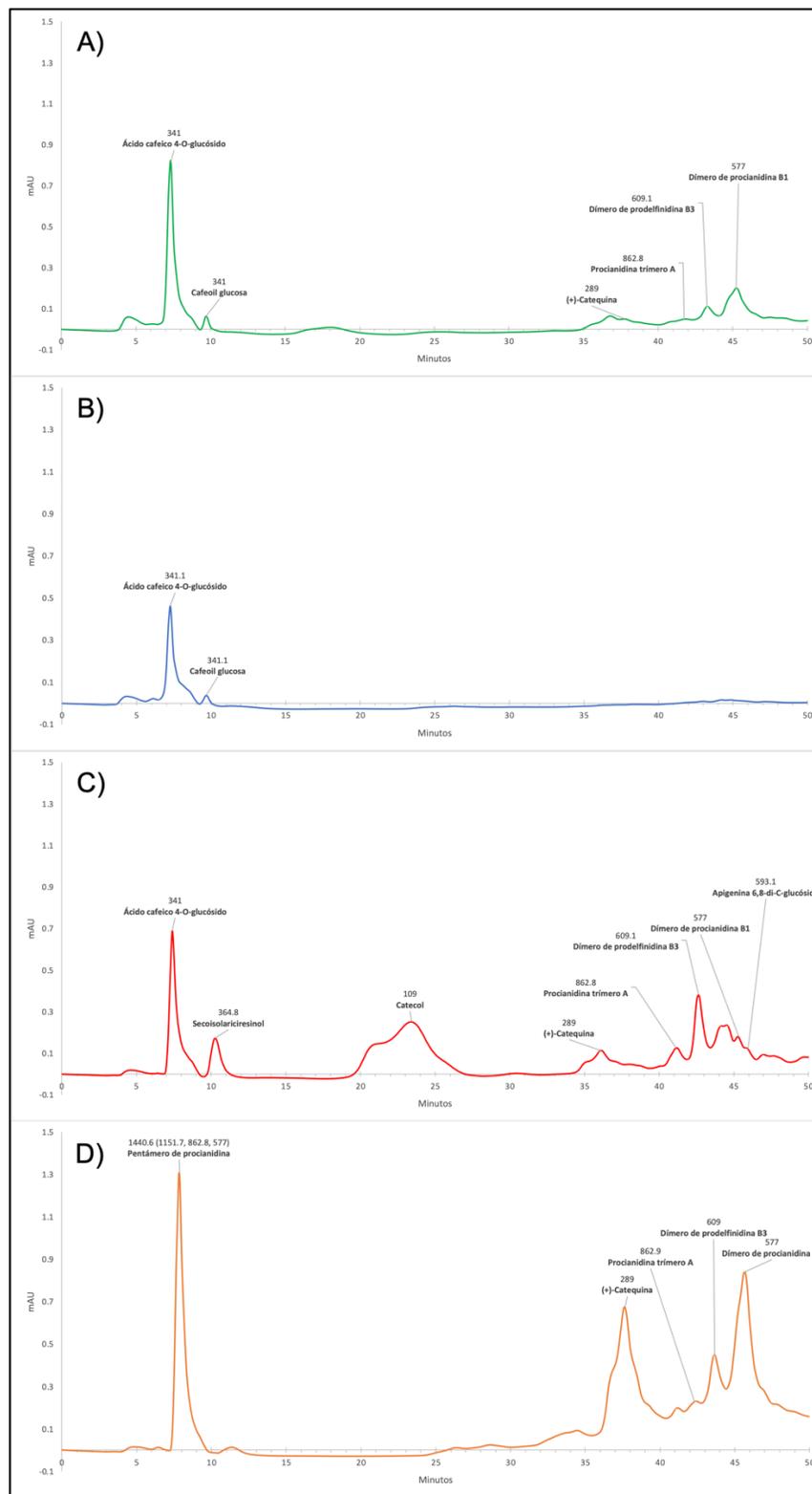
se identificaron diversos compuestos bioactivos en las diferentes fracciones del extracto etanólico de la cáscara de litchi. Las fracciones analizadas incluyeron el extracto crudo (EC), la fracción acuosa (FW), la fracción etanólica (FE) y la fracción acetónica (FA).

Para CL22 se identificaron los siguientes compuestos ([figura 5](#)), el cromatograma del EC reveló varios compuestos bioactivos, destacando el ácido cafeico 4-O-glucósido, identificado con un tiempo de retención de aproximadamente 6 min y un peso molecular de 341 m/z. También se identificaron la procianidina trímero A, con un peso molecular de 862.8 m/z, y la (+)-catequina, con un peso molecular de 289

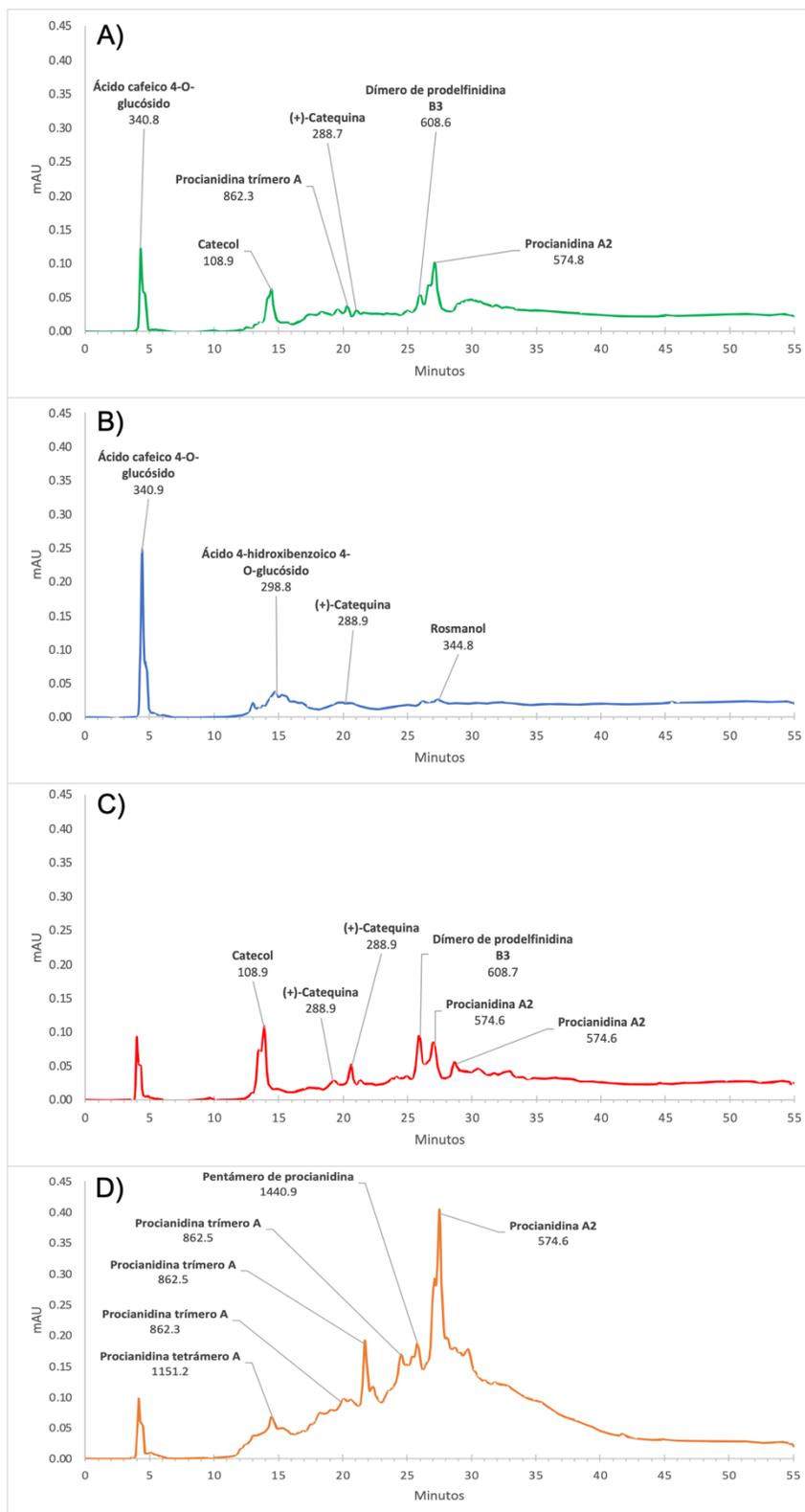
m/z. Otros compuestos importantes en el extracto crudo incluyeron el dímero de prodelfinidina B3 y el dímero de procianidina B1, con pesos moleculares de 609.1 m/z y 577 m/z, respectivamente. En la FW, el principal compuesto identificado fue el ácido cafeico 4-O-glucósido, con un peso molecular de 341.1 m/z y un tiempo de retención similar al del extracto crudo. La FE presentó una mayor diversidad de compuestos bioactivos. Entre ellos, se identificaron el ácido cafeico 4-O-glucósido, con un peso molecular de 341 m/z, el secoisolariciresinol, con un peso molecular de 364.8 m/z, y el catecol, con un peso molecular de 109 m/z. Además, se observaron procianidinas como el trímero A y dímeros como el de prodelfinidina B3 y el de procianidina B1, con pesos moleculares de 862.8 m/z, 609.1 m/z y 577 m/z, respectivamente. También se identificó la apigenina 6,8-di-C-glucósido, con un peso molecular de 593.1 m/z. La FA mostró un perfil distintivo, destacando la presencia del pentámero de procianidina, con un peso molecular de 1440.6 m/z, así como otros compuestos como el trímero de procianidina A y el dímero de prodelfinidina B3, con pesos moleculares de 862.8 m/z y 609.1 m/z, respectivamente. El ácido cafeico 4-O-glucósido también fue detectado en esta fracción.

Para CL23 se identificaron los siguientes compuestos ([figura 6](#)), El cromatograma del EC reveló varios compuestos bioactivos, destacando el ácido cafeico 4-O-glucósido, identificado con un tiempo de retención de aproximadamente 6 min y un peso molecular de 340.8 m/z. También se identificaron la procianidina trímero A, con un peso molecular de 862.3 m/z, y la (+)-catequina, con un peso molecular de 288.7 m/z. Otros compuestos importantes en el extracto crudo incluyeron el dímero de prodelfinidina B3 y el dímero de procianidina A2, con pesos moleculares de 608.6 m/z y 574.8 m/z, respectivamente. En la fracción acuosa, los compuestos principales identificados fueron el ácido cafeico 4-O-glucósido, con un peso molecular de 340.9 m/z y un tiempo de retención similar al del extracto crudo. También se detectaron el ácido 4-hidroxibenzoico 4-O-glucósido (298.8 m/z) y el rosmanol (344.8 m/z), así como la (+)-catequina (288.9 m/z). La fracción acuosa mostró un perfil más simple en comparación con las otras fracciones, indicando una menor cantidad de compuestos bioactivos detectables. La fracción etanólica

presentó una mayor diversidad de compuestos bioactivos. Entre ellos, se identificaron el ácido cafeico 4-O-glucósido, con un peso molecular de 340.9 m/z, el catecol, con un peso molecular de 108.9 m/z, y la (+)-catequina, con un peso molecular de 288.9 m/z. Además, se observaron procianidinas como el dímero de prodelfinidina B3 y el dímero de procianidina A2, con pesos moleculares de 608.7 m/z y 574.6 m/z, respectivamente. La fracción acetónica mostró un perfil distintivo, destacando la presencia del pentámero de procianidina, con un peso molecular de 1440.9 m/z, así como otros compuestos como el procianidina trímera A y la procianidina tetrámero A, con pesos moleculares de 862.5 m/z y 1151.2 m/z, respectivamente. También se detectó la procianidina A2 con un peso molecular de 574.6 m/z.



**Figura 5.** Cromatogramas CL22 del (A) extracto crudo. (B) Fracción agua, (C) Fracción etanol y (D) Fracción acetona.



**Figura 6.** Cromatogramas CL23 del (A) extracto crudo. (B) Fracción agua, (C) Fracción etanol y (D) Fracción acetona.

En la [tabla 5](#) se muestran los compuestos tentativos identificados en ambos lotes de cáscara de litchi.

**Tabla 5.** Lista de compuestos tentativos detectados en CL22 y CL23

Tiempo de retención	[M-H]-m/z	Compuesto tentativo	Familia	Referencias
<b>EC</b>				
8.48	341	Ácido cafeico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxicinámicos	(R. Zhang et al., 2013)
30.18	574.8	Procianidina A2	Proantocianidinas	(Sun et al., 2010)
38.28	289	(+)-Catequina	Catequinas	(R. Zhang et al., 2013)
42.48	862.8	Procianidina trímero A	Trímeros de proantocianidinas	(Sui et al., 2016)
44.77	609.1	Dímero de prodelfinidina B3	Dímeros de proantocianidinas	-
<b>FW</b>				
8.64	341.1	Ácido cafeico 4-O-glucósido	Ácidos hidroxicinámicos	(R. Zhang et al., 2013)
<b>FE</b>				
24.19	109	Catecol	Otros polifenoles	-
37.33	289	(+)-Catequina	Catequinas	(R. Zhang et al., 2013)
43.24	609.1	Dímero de prodelfinidina B3	Dímeros de proantocianidinas	-
<b>FA</b>				
9.82	1440.6	Pentámero de procianidina	Pentámeros de proantocianidinas	-
43.19	862.9	Procianidina trímero A	Trímeros de proantocianidinas	(Sui et al., 2016)

Los resultados obtenidos en la extracción de cáscara de litchi muestran diferencias significativas en los rendimientos de los lotes CL22 y CL23. El lote CL22 presentó un rendimiento de extracción del  $8 \pm 0.4\%$ , mientras que el lote CL23 tuvo un rendimiento del  $6.5 \pm 0.2\%$ . Estas diferencias pueden atribuirse a variaciones en la composición química de las cáscaras de litchi, posiblemente influenciadas por factores como la madurez del fruto, las condiciones de cultivo y las técnicas de procesamiento (Ibrahim & Mohamed, 2015). Además, los estudios sobre la

caracterización de la cáscara de litchi indican que estos compuestos son sensibles a las condiciones de extracción y almacenamiento, lo cual es consistente con las observaciones de la variabilidad entre los lotes CL22 y CL23 (Z. Zhang et al., 2004a).

La caracterización química de los extractos muestra una variedad de compuestos bioactivos, incluyendo flavonoides, taninos y procianidinas. Además, factores como la temperatura y el tiempo de extracción también juegan un papel crucial en la eficiencia del proceso, como lo han señalado estudios sobre la extracción de pigmentos y flavonoides de la cáscara de litchi (Cui-rong, 2006). Por lo tanto, la optimización de las condiciones de extracción es esencial para maximizar el rendimiento y la calidad del extracto en cuanto a su contenido de compuestos bioactivos. A pesar de obtener un rendimiento menor en CL23, sus fracciones demostraron los niveles más altos de azúcares reductores (AR), polifenoles totales (PT) y procianidinas (PCs), con  $375.8 \pm 52.1$  mg GE/L,  $540.5 \pm 72$  mg GAE/L y  $552.2 \pm 114.5$  mg PC1/L respectivamente. Los rendimientos y contenidos de compuestos bioactivos de los extractos son consistentes con datos previos que reportan altos niveles de flavonoides y otros polifenoles en la cáscara de litchi. Por ejemplo, un estudio de Feng-yan, (2010) optimizó la extracción de flavonoides de la cáscara de litchi utilizando etanol, obteniendo un rendimiento del 7.68%, similar a los resultados para CL22. La diversidad de compuestos detectados en las diferentes fracciones del extracto de cáscara de litchi CL22 refleja la complejidad química del material vegetal. La presencia significativa de insaturaciones en todas las fracciones sugiere que estos compuestos son extractables bajo diversas condiciones y pueden contribuir a las propiedades biológicas del extracto. Estudios previos han mostrado que la cáscara de litchi contiene varios compuestos bioactivos, como flavonoides, taninos y procianidinas, que poseen actividades antioxidantes y antiinflamatorias (C. Liu et al., 2020). La concentración de taninos y flavonoides es particularmente alta en la fracción acetónica (FA) de CL22, lo que indica que este solvente es especialmente adecuado para extraer fenoles y polifenoles de la cáscara de litchi. Este resultado es consistente con estudios que demuestran la efectividad de la

acetona para solubilizar procianidinas en comparación con otros disolventes (Z. Zhang et al., 2004b). La presencia constante de insaturaciones en todas las fracciones destaca una característica común entre los dos lotes (CL22 y CL23), lo que subraya la consistencia en la extracción de estos compuestos a pesar de las variaciones en el proceso de fraccionamiento. El perfil fitoquímico de CL23 muestra una ausencia de alcaloides en todas las fracciones, similar a CL22. Esto sugiere que estos compuestos no son predominantes en los extractos de cáscara de litchi o que los métodos de extracción y fraccionamiento empleados no favorecen su solubilización. La presencia de taninos en las fracciones EC y FE, y de cumarinas en la fracción FE, es consistente con los resultados de CL22, sugiriendo que el etanol es un solvente eficaz para extraer estos compuestos. Sin embargo, la presencia de taninos en la fracción FA en CL23, que no se observó en CL22, podría reflejar una variabilidad en la composición de taninos o en la eficiencia de extracción entre lotes (Sarni-Manchado et al., 2000). Los resultados del estudio confirman la presencia y variabilidad de compuestos bioactivos en los extractos de cáscara de litchi, con diferencias significativas entre los lotes CL22 y CL23. Estas diferencias pueden ser aprovechadas para optimizar los procesos de extracción y fraccionamiento, maximizando la obtención de compuestos de interés para aplicaciones terapéuticas y nutricionales. La relevancia de este estudio resalta la importancia de continuar investigando las propiedades y aplicaciones de la cáscara de litchi en diversas áreas de la salud y la industria.

### **3.4. Conclusiones**

Los resultados de este estudio proporcionan una caracterización detallada de los compuestos químicos presentes en los extractos de cáscara de litchi, destacando la diversidad de compuestos bioactivos, tales como flavonoides, taninos y procianidinas. La variabilidad observada entre los lotes CL22 y CL23 subraya la influencia de factores como la madurez del fruto, las condiciones de cultivo y las técnicas de procesamiento en la composición química de los extractos. La presencia de taninos y flavonoides, especialmente en las fracciones extraídas con etanol y acetona, destaca la capacidad de estos solventes para extraer compuestos con

actividades biológicas significativas. La cáscara de litchi se presenta como una fuente rica y viable de compuestos bioactivos con potenciales aplicaciones terapéuticas y nutricionales. La caracterización detallada de los extractos reveló una complejidad química que puede ser utilizada para el desarrollo de productos naturales y sostenibles. La extracción y fraccionamiento es esencial para maximizar la obtención de estos compuestos, lo que permitirá un uso más eficiente y efectivo de este recurso vegetal en la industria de la salud y la alimentación.

### 3.5. Referencias

Bello Gil, C., Bocourt, C., & Maqueira, D. (2006). ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña DeAzúcar*, XL(2), 45–50. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120664006>

Cerda-Cejudo, N. D., Buenrostro-Figueroa, J. J., Sepúlveda, L., Torres-Leon, C., Chávez-González, M. L., Ascacio-Valdés, J. A., & Aguilar, C. N. (2022). Recovery of ellagic acid from mexican rambutan peel by solid-state fermentation-assisted extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 134, 86–94. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2022.05.001>

Chukwuma, C. I., Izu, G. O., Chukwuma, M. S., Samson, M. S., Makhafola, T. J., & Erukainure, O. L. (2021). A review on the medicinal potential, toxicology, and phytochemistry of litchi fruit peel and seed. *Journal of Food Biochemistry*, 45(12). <https://doi.org/10.1111/JFBC.13997>

Cui-rong, Z. (2006). Study on the property and the ultrasound extraction of litchi peel pigment. *Journal of Henan University of Technology*. <https://doi.org/>

Harborne, J. B. (1980). *Phytochemical Methods*. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-5921-7>

Ibrahim, S. R. M., & Mohamed, G. A. (2015). Litchi chinensis: Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 174, pp. 492–513). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.054>

Jiang, Y., Duan, X., Joyce, D., Zhang, Z., & Li, J. (2004). Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. *Food Chemistry*, 3(88), 443–446. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.02.004>

Liu, C., Liu, J., Evrendilek, F., Xie, W., Kuo, J., & Buyukada, M. (2020). Bioenergy and emission characterizations of catalytic combustion and pyrolysis of litchi peels via TG-FTIR-MS and Py-GC/MS. *Renewable Energy*, 148, 1074–1093. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2019.09.133>

Porter, L. J., Hrstich, L. N., & Chan, B. G. (1985). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25(1), 223–230. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94533-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94533-3)

Raaman, N. (2006). Qualitative phytochemical techniques. *Phytochemical Techniques*, 19–24. [https://books.google.com/books/about/Phytochemical\\_Techniques.html?hl=es&id=6Gxp\\_nVK3ucC](https://books.google.com/books/about/Phytochemical_Techniques.html?hl=es&id=6Gxp_nVK3ucC)

Ramananda Singh, M., Gupta, P., & Gupta, K. (2019). The litchi (*Litchi Chinensis*) peels extract as a potential green inhibitor in prevention of corrosion of mild steel in 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 1035–1041. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2015.01.002>

Sarni-Manchado, P., Le Roux, E., Le Guernevé, C., Lozano, Y., & Cheynier, V. (2000). Phenolic composition of litchi fruit pericarp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 12(12), 5995–6002. <https://doi.org/10.1021/JF000815R>

Sui, Y., Zheng, Y., Li, X., Li, S., Xie, B., & Sun, Z. (2016). Characterization and preparation of oligomeric procyanidins from *Litchi chinensis* pericarp. *Fitoterapia*, 112, 168–174. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.06.001>

Sun, J., Jiang, Y., Shi, J., Wei, X., Xue, S. J., Shi, J., & Yi, C. (2010). Antioxidant activities and contents of polyphenol oxidase substrates from pericarp tissues of litchi fruit. *Food Chemistry*, 119(2), 753–757. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.07.025>

Torres-Castillo, J., Sinagawa-García, S., Martínez-Ávila, G., López-Flores, A., Sánchez-González, E., Aguirre-Arzola, V., Torres-Acosta, R., Olivares-Sáenz, E., Osorio-Hernández, E., & Gutiérrez-Díez, A. (2013). Moringa oleifera: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. *Phyton (Buenos Aires)*, 82(2), 193–202. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-56572013000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572013000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., Carrillo-Inungaray, M. L., López, L. I., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. (2015). Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(2), 104–111. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60299-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60299-6)

Zhang, R., Zeng, Q., Deng, Y., Zhang, M., Wei, Z., Zhang, Y., & Tang, X. (2013). Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China. *Food Chemistry*, 136(3–4), 1169–1176. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.09.085>

Zhang, Z., Xuequn, P., Yang, C., Ji, Z., & Jiang, Y. (2004a). Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarp. *Food Chemistry*, 84(4), 601–604. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.002>

Zhang, Z., Xuequn, P., Yang, C., Ji, Z., & Jiang, Y. (2004b). Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarp. *Food Chemistry*, 84(4), 601–604. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2003.05.002>

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES ZONA HUASTECA**



# **CAPÍTULO 3**

**Evaluación en un modelo murino de la actividad  
antidiarreica del extracto etanólico de la cáscara de  
litchi**

## Resumen

El litchi (*Litchi chinensis*), una fruta tropical ampliamente cultivada, ha sido utilizado en la medicina tradicional china para tratar diversas afecciones, incluida la diarrea. Este estudio evaluó la actividad antidiarreica del extracto etanólico de la cáscara de litchi en un modelo murino. La diarrea, una condición caracterizada por evacuaciones líquidas frecuentes, es una causa significativa de mortalidad infantil, especialmente en países en desarrollo. Los efectos secundarios de los tratamientos convencionales subrayan la necesidad de nuevos compuestos terapéuticos. Se utilizaron ratones Balb/c para evaluar la actividad antidiarreica y antinociceptiva del extracto. La actividad antioxidante del extracto se evaluó mediante los métodos DPPH, ABTS y FRAP, mostrando una capacidad significativa de eliminación de radicales libres. Para la actividad antidiarreica, el extracto se administró a ratones con diarrea inducida por aceite de ricino, demostrando un retraso significativo en el inicio de la diarrea y una reducción en la frecuencia de las deposiciones. El extracto también mostró una modulación efectiva de la motilidad gastrointestinal, aunque no inhibió la acumulación de líquido intestinal. Además, el extracto exhibió propiedades antinociceptivas comparables a las de analgésicos tradicionales en el modelo de retorcimiento inducido por ácido acético. Estos resultados sugieren que los compuestos bioactivos presentes en la cáscara de litchi, como los flavonoides y taninos, contribuyen a su actividad antidiarreica y antinociceptiva. La sinergia entre los componentes del extracto completo parece ser clave para su eficacia, destacando la importancia de no fraccionar en exceso estos compuestos. Este estudio apoya el uso del extracto de cáscara de litchi en la medicina tradicional y sugiere su potencial para desarrollar nuevos tratamientos naturales para la diarrea y el dolor.

Palabras clave: Extracto etanólico, actividad antidiarreica, actividad antinociceptiva, actividad antioxidante.

## Abstract

Litchi (*Litchi chinensis*), a widely cultivated tropical fruit, has been used in traditional Chinese medicine to treat various conditions, including diarrhea. This study evaluated the antidiarrheal activity of ethanolic extract of litchi peel in a murine model. Diarrhea, a condition characterized by frequent watery bowel movements, is a significant cause of infant mortality, especially in developing countries. The side effects of conventional treatments underscore the need for new therapeutic compounds. Balb/c mice were used to evaluate the antidiarrheal and antinociceptive activity of the extract. The antioxidant activity of the extract was evaluated by DPPH, ABTS and FRAP methods, showing a significant free radical scavenging capacity. For antidiarrheal activity, the extract was administered to mice with castor oil-induced diarrhea, demonstrating a significant delay in the onset of diarrhea and a reduction in stool frequency. The extract also showed effective modulation of gastrointestinal motility, although it did not inhibit intestinal fluid accumulation. In addition, the extract exhibited antinociceptive properties comparable to those of traditional analgesics in the acetic acid-induced writhing model. These results suggest that bioactive compounds present in litchi peel, such as flavonoids and tannins, contribute to its antidiarrheal and antinociceptive activity. The synergy between the components of the whole extract appears to be key to its efficacy, highlighting the importance of not over-fractionating these compounds. This study supports the use of litchi peel extract in traditional medicine and suggests its potential for developing new natural treatments for diarrhea and pain.

Key words: Ethanolic extract, antidiarrheal activity, antinociceptive activity, antioxidant activity.

## **Capítulo 3. Evaluación en un modelo murino de la actividad antidiarreica del extracto etanólico de la cáscara de litchi.**

### **3.1. Introducción**

El litchi (*Litchi chinensis*), un miembro de la familia Sapindaceae, es una fruta tropical y subtropical ampliamente cultivada en más de 20 países, especialmente en China e India, que son los mayores productores a nivel mundial. Conocido por su sabor dulce y su alto valor nutritivo, el litchi ha sido denominado el "Rey de las Frutas" en China debido a sus beneficios tanto culinarios como medicinales (Soni & Agrawal, 2017). El uso del litchi en la medicina tradicional china está bien documentado, donde se ha utilizado durante siglos para tratar una variedad de enfermedades. Las partes utilizadas incluyen las hojas, las flores, los frutos, las semillas y el pericarpio. Tradicionalmente, se ha empleado para tratar úlceras estomacales, diabetes, tos, diarrea, dispepsia, y para eliminar parásitos intestinales. Estos usos etnomédicos están respaldados por estudios que demuestran que el litchi posee actividades antioxidantes, hipoglucemiantes, hepatoprotectoras, hipolipemiantes, antiobesidad, anticancerígenas, antiateroscleróticas, hipotensivas, neuroprotectoras e inmunomoduladoras (Ibrahim & Mohamed, 2015). En particular, el litchi ha sido utilizado para aliviar trastornos gastrointestinales, incluida la diarrea, lo que subraya su potencial en el tratamiento de esta condición. La diarrea es una condición médica caracterizada por evacuaciones líquidas y frecuentes, a menudo acompañadas de dolor abdominal, fiebre y deshidratación. Esta enfermedad puede ser causada por infecciones bacterianas, virales o parasitarias, así como por factores no infecciosos como intolerancias alimentarias y enfermedades inflamatorias del intestino. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la diarrea es una de las principales causas de mortalidad infantil a nivel mundial, siendo responsable de aproximadamente 525,000 muertes de niños menores de cinco años cada año (WHO, 2020). En México, la diarrea sigue siendo un problema significativo de salud pública. Datos recientes del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) reportan que, aunque la mortalidad por enfermedades diarreicas ha disminuido en las últimas décadas, aún representa una carga considerable en

términos de morbilidad y uso de servicios de salud, especialmente en comunidades rurales y marginadas (INEGI, 2020). La búsqueda de nuevos compuestos bioactivos para el tratamiento de la diarrea es crucial debido a la creciente resistencia a los antibióticos y los efectos secundarios asociados con los tratamientos farmacológicos convencionales. Los compuestos bioactivos presentes en la cáscara de litchi, como los flavonoides, taninos y procianidinas, han mostrado propiedades antioxidantes y antiinflamatorias en diversos estudios, lo que sugiere su potencial para el desarrollo de nuevos tratamientos antidiarreicos (L. Wang et al., 2011). El uso de la cáscara de litchi como fuente de compuestos bioactivos no solo ofrece una solución sostenible al problema del desperdicio agroindustrial, sino que también proporciona una base para el desarrollo de tratamientos naturales y efectivos para la diarrea. La capacidad de estos extractos para mantener una actividad antioxidante y antiinflamatoria constante a lo largo de diferentes temporadas es crucial para su aplicación en la industria farmacéutica y alimentaria. Esta estabilidad estacional asegura que los productos derivados de estos extractos ofrezcan beneficios consistentes, independientemente del momento de la cosecha, lo cual es vital para garantizar la calidad y eficacia de los productos finales.

## **3.2. Materiales y Métodos**

### **3.2.1. Actividad antioxidante**

La actividad antioxidante de EC22 y EC23 se evaluó mediante tres métodos complementarios: DPPH (1, 1-difenil-2-picril-hidrazilo), ABTS (sal de 2,2'-azinobis [ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico]-diamonio) (Marc et al., 2004) y FRAP (2,4,6-tri[2-piridil]-1,3,5-triazina) (Pellegrini et al., 2003).

#### **3.2.1.1. Actividad de barrido de radicales libres medida por DPPH**

Se preparó una solución de 60  $\mu\text{M}$  de DPPH en metanol y se añadieron 2950  $\mu\text{L}$  de esta solución a 50  $\mu\text{L}$  de extracto resuspendido en agua destilada (1 g L<sup>-1</sup>). La mezcla se agitó enérgicamente y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 min. A continuación, se midió la absorbancia a 517 nm (espectrofotómetro Varian

50 Bio). La capacidad de eliminación del radical DPPH se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición(\%)} = (\text{Abs control} - \text{Abs muestra}) / (\text{Abs control}) \times 100$$

#### 3.2.1.2. Procedimiento de ensayo con ABTS

ABTS (96,02 mg) y persulfato de potasio (66,24 mg) se disolvieron cada uno en tampón de ácido acético a pH 4,5 para preparar dos soluciones madre separadas, cada una diluida a 25 mL y 100 mL, respectivamente. La concentración de persulfato de potasio en su solución fue de 2.45 mmol/L. Estas soluciones madre se combinaron en volúmenes iguales y se dejaron reaccionar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 12-16 h para formar la solución de reacción ABTS. A continuación, esta solución se diluyó de 2,80 mL a 65 mL en tampón acetato, obteniéndose la solución de trabajo de ABTS. La solución de trabajo se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min antes de medir su absorbancia a 734 nm, que se registró como  $0,74 \pm 0,03$ . Para el ensayo de ABTS, se añadieron 2000  $\mu\text{l}$  de esta solución de trabajo de ABTS y 100,0  $\mu\text{l}$  de la solución de muestra al tubo de ensayo, se mezclaron bien y se midió la absorbancia tras 7 min de incubación en la oscuridad. A continuación, se midió la absorbancia a 517 nm (espectrofotómetro Varian 50 Bio). La capacidad de eliminación del radical ABTS se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición(\%)} = (\text{Abs control} - \text{Abs muestra}) / (\text{Abs control}) \times 100$$

#### 3.2.1.3. Procedimiento de ensayo FRAP

Se preparó un tampón de ácido acético a pH 3,6 disolviendo 455,30 mg de acetato de sodio anhidro en 50 mL de agua destilada, añadiendo 3,97 mL de ácido acético glacial y diluyendo la mezcla hasta 250 mL para alcanzar una concentración de 0,30 mol/L. Para la solución de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), se disolvieron 156.20 mg de TPTZ en agua destilada, añadiendo 0.17 mL de ácido clorhídrico concentrado, y se diluyó a 100 mL para preparar una solución de 10 mmol/L. Del mismo modo, se disolvieron 270,03 mg de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y se diluyeron a 50 mL para

crear una solución de 20 mmol/L de FeCl<sub>3</sub>. Estas soluciones se combinaron en una proporción de 10:1:1 para formar la solución de trabajo FRAP, la cual se incubó a 37°C y se utilizó en 1-2 h. Para el ensayo FRAP, se añadieron 1800,0 µl de solución de trabajo FRAP y 50 µL de solución de muestra a un tubo de ensayo, se mezclaron bien y se incubaron a 37 °C durante 15 min en la oscuridad. A continuación, se midió la absorbancia de la mezcla a una longitud de onda de 593 nm. Trolox sirvió de patrón para generar una curva estándar en condiciones de absorbancia que oscilaban entre 0,2 y 0,8. Se utilizó agua destilada como control en blanco. El valor FRAP, que indica la capacidad antioxidante de la muestra, se calculó mediante una curva de calibración con trolox.

### 3.2.2. Animales

Los ratones machos Balb/c, con un peso de 25-35 g, procedían del animalario de la División de Ciencias Naturales y Exactas (Universidad de Guanajuato). Los animales se colocaron y alimentaron en condiciones estándar de laboratorio (temperatura de 23 ± 2 °C, humedad relativa de 52 ± 5%, ciclo de luz y oscuridad de 12:12 h, y agua ad libitum). Los experimentos se realizaron entre las 9:00 a.m. y las 4:00 p.m. Todos los procedimientos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con los procedimientos para la experimentación y cuidado de animales (SAGARPA, NOM-062-ZOO-1999, Ciudad de México, México) y bajo la aprobación ética del Comité de Ética Animal de la Universidad de Guanajuato (CIBIUG-P48-2022).

### 3.2.3. Tratamiento farmacológico

Para los modelos *in vivo*, y debido a la disponibilidad del extracto solo se utilizó el EC22. En los experimentos antidiarreicos, se privó a los ratones de alimento durante 16 h, pero se les dio acceso al agua, se agruparon (n = 7, controles y n = 3 en los tratamientos) y se les administró por vía oral solución salina (vehículo), EC (1-200 mg/kg p.o.) y sus fracciones (sólo para la prueba de diarrea inducida por aceite de ricino), un control positivo (1 mg/kg p.o. de loperamida) o atropina (2,5 mg/kg p.o.). En el experimento antinociceptivo, se agruparon ratones (n = 8) y se les administró por vía oral solución salina (vehículo), EC (10 - 200 mg/kg p.o.) y naproxeno (NPX)

a 100 mg/kg p.o. como control positivo. En todos los ensayos, los fármacos de control y los tratamientos se administraron 1 h antes del experimento.

#### 3.2.4. Toxicidad aguda

Se trató a ratones con EC22 (10-2000 mg/kg p.o.) y se los vigiló para detectar signos de toxicidad (es decir, inmovilidad, piloerección, anorexia, patrón respiratorio inusual, etc.) y mortalidad cada 24 h durante 14 días (*Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure*, 2022).

#### 3.2.5. Actividad antidiarreica

##### 3.2.5.1. *Diarrea inducida por aceite de ricino*

El EC22 y las fracciones obtenidas en el capítulo 3 se utilizaron para determinar cuál tenía una actividad biológica superior, con el fin de identificar el extracto o fracción más eficaz con fines antidiarreicos. A los ratones se les administró oralmente aceite de ricino (4 mL/kg). A continuación, se introdujo cada ratón en cilindros acrílicos con papel blanco. Durante 5 h, se midió el número de heces húmedas y se registró el inicio de la diarrea (Calignano et al., 1997).

##### 3.2.5.2. *Tránsito del intestino delgado*

Cada ratón se colocó individualmente en cilindros acrílicos con papel blanco. Después del tratamiento, cada ratón recibió 25 mL/kg de una solución compuesta de carbón vegetal (10% p/v) y goma arábiga (5% p/v). Después de 30 min, se practicó la eutanasia a los ratones y se obtuvo su intestino. Se registró la distancia recorrida por el carbón vegetal a lo largo del intestino. Para ello, se midió tanto la longitud total del intestino como la distancia específica recorrida por el carbón vegetal (Meli et al., 1990).

##### 3.2.5.3. *Enteropooling inducido por aceite de ricino*

Se administró aceite de ricino por vía oral a ratones (4 mL/kg). Cada ratón fue introducido en cilindros acrílicos. Después de 1 h, se practicó la eutanasia a los ratones, se obtuvo el intestino y se pesó la acumulación de líquido intestinal (Valle et al., 2000).

### 3.2.6. Actividad antinociceptiva

#### 3.2.6.1. Retorcimiento inducido por ácido acético

A cada grupo se le administraron 10 mL/kg de peso corporal de una solución acuosa de ácido acético (1,0%) por vía intraperitoneal. Inmediatamente, los ratones se colocaron individualmente en cilindros acrílicos y se observó el número de contorsiones y estiramientos abdominales, contados durante un periodo de 0 a 20 min (Koster et al., 1959).

### 3.2.7. Análisis estadístico

Todos los datos se expresan como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA unidireccional, seguido de la prueba de Tukey para comparaciones múltiples. Las diferencias se consideraron significativas en \* $p < 0,05$  frente al control negativo y \*\* $p < 0,05$  frente al control positivo, según lo determinado por ANOVA y la prueba post hoc de Tukey. En esta investigación se utilizó GraphPad Prism 9.

## 3.3. Resultados y Discusión

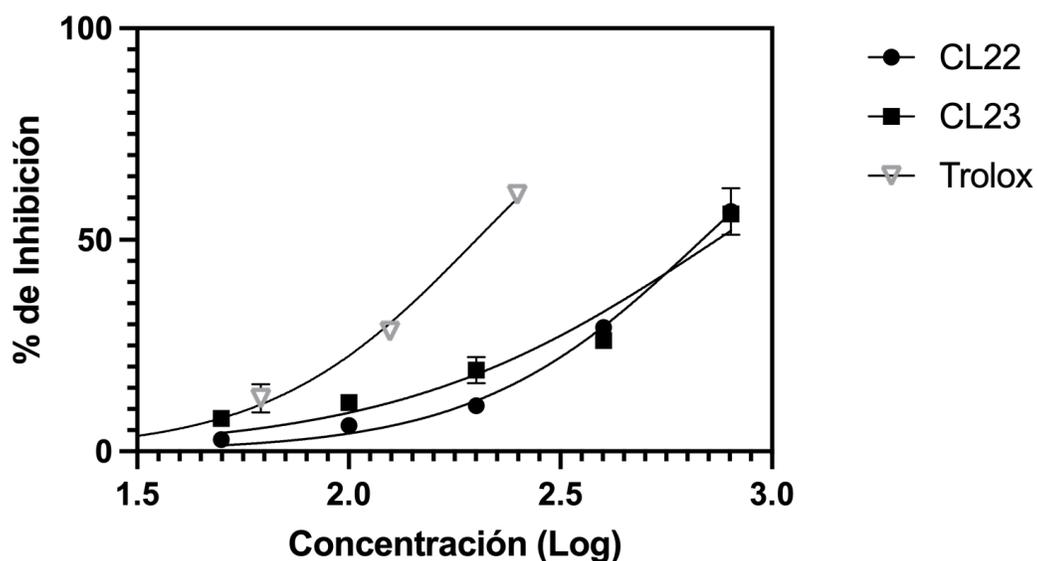
### 3.3.1. Actividad antioxidante

Se evaluó la actividad antioxidante de EC22 y EC23 mediante tres ensayos diferentes: DPPH, ABTS y FRAP, cada uno de los cuales mide la capacidad de barrido del extracto frente a diferentes radicales y reactivos.

#### 3.3.1.1. Actividad depuradora de radicales DPPH

El ensayo DPPH reveló un aumento dependiente de la dosis en la actividad de barrido de radicales. El EC22 demostró un porcentaje medio de inhibición que oscilaba entre el 2,3% en la concentración más baja (50 ppm) y el 77,3% en la concentración más alta probada (800 ppm). El valor de  $CI_{50}$ , que indica la concentración a la que se elimina el 50% de los radicales DPPH, se calculó en  $683,7 \pm 72,4 \mu\text{g/mL}$ . El EC23, demostró un porcentaje medio de inhibición que oscilaba entre el 3,5% en la concentración más baja (50 ppm) y el 83,4% en la concentración más alta probada (800 ppm). El valor  $CI_{50}$  se calculó en  $741,7 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ . En cuanto a los valores de  $CI_{50}$  de ambos extractos, no se encontraron diferencias

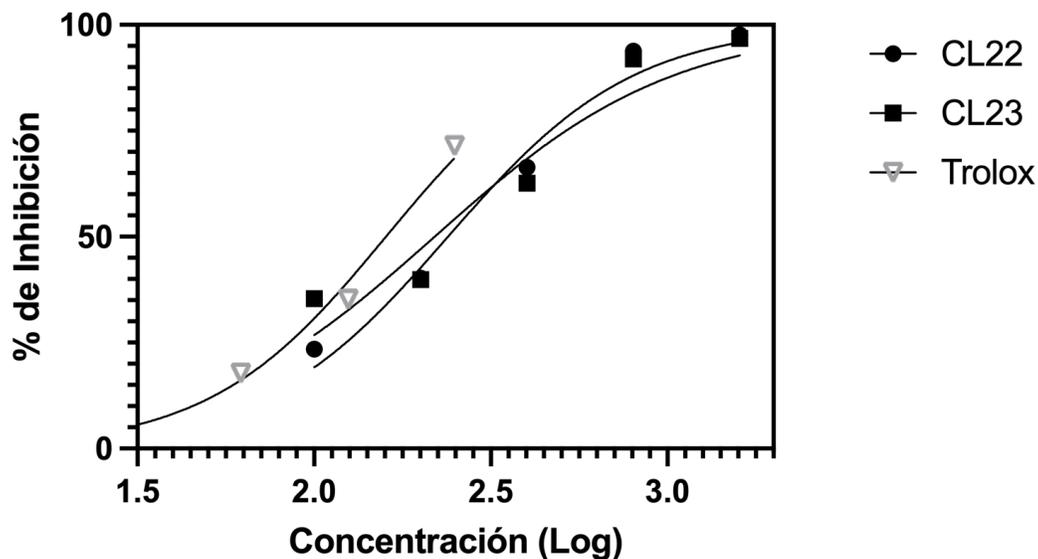
significativas en su actividad antioxidante. Sin embargo, al utilizar trolox como control positivo, con un valor de  $Cl_{50}$  de  $200.1 \pm 2.7 \mu\text{g/mL}$ , se observó una mayor actividad antioxidante, presentando diferencias significativas en comparación con los extractos crudos, como se muestra en la [Figura 5](#).



**Figura 7.** Evaluación de la actividad antioxidante por DPPH

### 3.3.1.2. Ensayo del catión radical ABTS

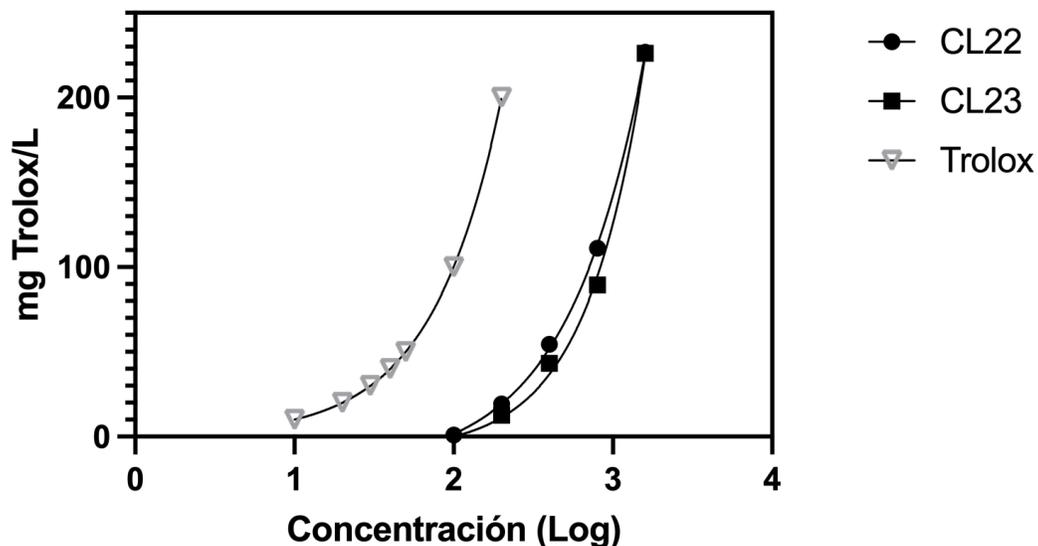
El ensayo ABTS mostró una respuesta dependiente de la dosis, con porcentajes de inhibición para EC22 que aumentaron del 23,5% (100 ppm) al 97,6% (1600 ppm). El valor  $IC_{50}$  para la decoloración del catión radical ABTS se determinó en  $239,2 \pm 2,9 \mu\text{g/mL}$ . Los porcentajes de inhibición del EC23 aumentaron del 35,4% (100 ppm) al 96,8% (1600 ppm). El valor  $Cl_{50}$  para la decoloración del catión radical ABTS se determinó en  $219.3 \pm 17.5 \mu\text{g/mL}$ . Sin embargo, al utilizar trolox como control positivo, con un valor de  $Cl_{50}$  de  $159.7 \pm 6.3$ , se observó una mayor actividad antioxidante, presentando diferencias significativas en comparación con EC22, como se muestra en la [Figura 6](#).



**Figura 8.** Evaluación de la actividad antioxidante por ABTS

### 3.3.1.3. Ensayo FRAP

En el ensayo FRAP, las medidas de absorbancia se correlacionaron positivamente con las concentraciones, indicando un aumento proporcional del poder antioxidante férrico reductor. Para el EC22 se obtuvieron 728.18 mg Trolox/L de actividad antioxidante. Mientras que para el EC23 se obtuvieron 796.45 mg Trolox/L de actividad antioxidante. Sin embargo, al utilizar trolox como control positivo, con un valor de 100 mg Trolox/L, se observó una mayor actividad antioxidante, presentando diferencias significativas en comparación con los extractos, como se muestra en la [Figura 7](#).



**Figura 9.** Evaluación de la actividad antioxidante por FRAP

### 3.3.2. Toxicidad aguda

La toxicidad aguda del EC dio lugar a una dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) superior a 2000 mg/kg p.o., y los ratones no mostraron signos visibles de toxicidad (es decir, inmovilidad, piloerección, anorexia, patrón respiratorio inusual, etc.) durante 14 días tras una única administración de EC.

### 3.3.3. Actividad antidiarreica

La actividad antidiarreica del EC y sus fracciones se evaluó utilizando el modelo de diarrea inducida por aceite de ricino como prueba de escrutinio (Tabla 6). El EC y sus fracciones administrados oralmente a 100 mg/kg mostraron diferentes tasas de inhibición de la diarrea que oscilaron entre 46,15 y 70,8%. El EC mostró la mayor actividad antidiarreica. Por lo tanto, se llevaron a cabo más experimentos sólo con EC. Además, FW (100 mg/kg p.o.) y EC (200 mg/kg p.o.) retrasaron ( $p < 0,05$ ) el inicio de la diarrea con un efecto similar al mostrado por 2 mg/kg de loperamida. Por el contrario, las dosis bajas de EC (1 y 10 mg/kg) retrasaron el inicio de la diarrea, en comparación con el grupo del vehículo, pero con una eficacia inferior a la mostrada por 2 mg/kg de loperamida. El EC disminuyó de forma dosis-dependiente

la frecuencia de las deposiciones. La dosis eficaz 50 (ED<sub>50</sub>) calculada para el EC fue de 1,56 mg/kg p.o. Debido a la inhibición superior de la diarrea por el EC, se realizaron estudios posteriores sólo con el EC y no con las fracciones.

Para investigar más a fondo las propiedades antidiarreicas, se estudió el efecto del EC sobre el tránsito gastrointestinal y la acumulación de líquido intestinal (Tabla 7 y 8). La administración del EC a una dosis de 100 mg/kg redujo significativamente ( $p < 0,05$ ) el tránsito gastrointestinal monitorizado con carbón vegetal (59,2 %). Sin embargo, este efecto fue menos pronunciado que el del grupo de control positivo tratado con 2,5 mg/kg de atropina (78,8 %). El EC ralentizó el tránsito intestinal, aunque en menor medida que la atropina, lo que indica un posible efecto modulador sobre la motilidad gastrointestinal. Sin embargo, el EC (100 mg/kg) no mostró un efecto positivo sobre la acumulación de líquido intestinal en comparación con el control positivo 2,5 mg/kg de loperamida, que mostró una inhibición del 67% de la acumulación de líquido. Por lo tanto, el EC no inhibió el enteropooling inducido por el aceite de ricino.

**Tabla 6.** Actividad antidiarreica del extracto crudo y las fracciones

Grupo experimental (mg/kg)	Inicio (min)	Frecuencia de las deposiciones	Inhibición (%)
Control (vehículo)	31.3 ± 2.2	9.3 ± 0.6	-
Loperamida (2)	246 ± 17	1.14 ± 0.14	87.7±1.5
EC	(1)	91 ± 7.4**	5.4 ± 0.7
	(10)	90.71 ± 18**	3 ± 0.3
	(100)	158 ± 45*	2.71 ± 0.8
	(200)	209 ± 25*	2.67 ± 0.6
FW (100)	210 ± 49*	5 ± 2.5	46.15±27.1*
FE (100)	145.6 ± 13.2	4.3 ± 0.8	53.3±9.5*
FA (100)	125.3 ± 6.6	3.67 ± 0.8	60.5±9.5*

Cada valor está dado como la media ± SEM de las observaciones (n = 7 ratones por grupo) \* $p < 0,05$  vs control negativo, \*\* $p < 0,05$  vs control positivo mediante ANOVA y la prueba post hoc de Tukey.

**Tabla 7.** Tránsito intestinal delgado del extracto crudo

Grupo experimental (mg/kg)	Índice peristáltico (%)	Inhibición (%)
Control (vehículo)	92.9 ± 0.9	7.1±0.9
Atropina (2.5)	21.16 ± 2.8	78.84±2.8
EC (100)	40.8 ± 2.8	59.2±2.8*,**

Cada valor está dado como la media ± SEM de las observaciones (n = 7 ratones por grupo) \*p < 0,05 vs control negativo, \*\*p < 0,05 vs control positivo mediante ANOVA y la prueba post hoc de Tukey.

**Tabla 8.** Enteropooling inducido por aceite de ricino del extracto crudo

Grupo experimental (mg/kg)	Acumulación de fluidos (mg/cm)	Inhibición (%)
Control (vehicle)	16.3 ± 1.83	-
Loperamide (1)	5.38 ± 0.86	67.01±5.32
EC (100)	26.68 ± 2.69	0*

Cada valor está dado como la media ± SEM de las observaciones (n = 7 ratones por grupo) \*p < 0,05 vs control negativo, \*\*p < 0,05 vs control positivo mediante ANOVA y la prueba post hoc de Tukey.

### 3.3.4. Actividad antinociceptiva

En el modelo de retorcimiento inducido por ácido acético, el EC redujo significativamente, de forma dosis-dependiente, el número de contorsiones abdominales, mostrando inhibición ( $p < 0,05$ ) del dolor abdominal. Las dosis de 100 y 200 mg/kg de EC fueron diferentes y estadísticamente significativas con el control negativo (vehículo). EC 200 mg/kg demostró una inhibición de la nocicepción ( $59 \pm 8\%$ ) comparable a la eficacia observada con NPX 100 mg/kg ( $54 \pm 4\%$ ) (Tabla 9). El valor  $DE_{50}$  calculado para el EC fue de 160,27 mg/kg. Dado que el EC mostró mayor potencia en la actividad antidiarreica que en la antinociceptiva, no se realizaron más experimentos de efectos antinociceptivos.

**Tabla 9.** Contorsiones abdominales inducidas por ácido acético del extracto crudo

Grupo experimental (mg/kg)	Número de contorsiones	Inhibición (%)
Control (vehículo)	48 ± 3	-
Naproxeno (100)	22 ± 2	54±4
EC (10)	33 ± 8	31±16
EC (100)	30 ± 4	37±9*
EC (200)	20 ± 4	59±8*

Cada valor está dado como la media ± SEM de las observaciones (n = 7 ratones por grupo) \*p < 0,05 vs control negativo, \*\*p < 0,05 vs control positivo mediante ANOVA y la prueba post hoc de Tukey.

La actividad antioxidante del EC22 mostró un aumento dependiente de la dosis en los ensayos DPPH, ABTS y FRAP. Los valores de  $CI_{50}$  fueron  $683,7 \pm 72,43 \mu\text{g/mL}$  para DPPH y  $239,23 \pm 2,85 \mu\text{g/mL}$  para ABTS, lo que indica una fuerte capacidad de eliminación de radicales. El ensayo FRAP demostró un poder reductor sustancial, con 728.18 mg Trolox/L a una concentración de 100 ppm probada. Para la actividad antioxidante del EC23 los valores de  $CI_{50}$  fueron  $741.7 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$  para DPPH y  $219.3 \pm 17.5 \mu\text{g/mL}$  para ABTS, lo que indica una fuerte capacidad de eliminación de radicales. El ensayo FRAP demostró un poder reductor sustancial, con 796.45 mg Trolox/L a una concentración de 100 ppm probada. Estos resultados coinciden con los de estudios anteriores sobre las propiedades antioxidantes del litchi, que también mostraron importantes capacidades de eliminación de radicales y de reducción. Un estudio realizado por H. C. Wang et al., (2011) sobre las actividades antioxidantes de la cáscara de litchi encontró valores  $CI_{50}$  de  $440 \mu\text{g/mL}$  para DPPH y FRAP superior ( $38,2 \text{ mmol g}^{-1} \text{ DW}$ ), lo que indica una actividad antioxidante más fuerte que la observada en el presente estudio. Un extracto hidrometanólico del fruto del litchi mostró un poder reductor eficaz y una actividad de eliminación de radicales libres con valores de  $CI_{50}$  de  $100 \mu\text{g/mL}$  para DPPH (Anjani & Kumar, 2018). Estas diferencias pueden atribuirse a las variaciones en los métodos de extracción y las partes específicas de la planta utilizadas. La capacidad de los extractos de cáscara de litchi para mantener una actividad antioxidante constante a lo largo de diferentes

temporadas es crucial para su aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica (Bharai et al., 2020). La estabilidad estacional asegura que los productos derivados de estos extractos ofrezcan beneficios antioxidantes consistentes, independientemente del momento de la cosecha (Queiroz et al., 2015). La actividad antioxidante se evaluó específicamente porque el estrés oxidativo está implicado en las vías inflamatorias, que a menudo están relacionadas con trastornos gastrointestinales como la diarrea. Esto proporciona una base para explorar el potencial del extracto en el tratamiento de afecciones relacionadas con la inflamación. Se ha demostrado que el estrés oxidativo afecta a la motilidad gastrointestinal y agrava afecciones como la diarrea al favorecer cambios fenotípicos del músculo liso hacia un fenotipo sintético, contribuyendo aún más a la disfunción gastrointestinal (Vona et al., 2021).

La medicina tradicional china documenta el uso de la cáscara de lichi para tratar varias enfermedades, incluidos el dolor y los trastornos gastrointestinales como la diarrea (Ibrahim y Mohamed, 2015). Este estudio examinó la actividad antidiarreica y antinociceptiva de un extracto etanólico de cáscara de lichi. Según los resultados, el extracto de cáscara de litchi mostró propiedades antidiarreicas y antinociceptivas en modelos animales.

Este estudio evaluó la eficacia antidiarreica del EC y sus fracciones (FW, FE, FA) en un modelo de diarrea inducida por aceite de ricino como prueba de escrutinio. Los resultados demostraron una actividad antidiarreica significativa del EC y sus fracciones, mostrando un retraso en la aparición de la diarrea y una reducción de la frecuencia de las deposiciones cuando se utilizaron dosis elevadas (100 y 200 mg/kg). EC mostró potencial antidiarreico ( $DE_{50}=1,56$  mg/kg p.o.) con menor actividad a loperamida ( $DE_{50}= 0,2$  mg/kg p.o., reportado por Alonso-Castro et al., (2017) y mostró actividad similar retrasando el inicio de la diarrea ( $209 \pm 25$  min) en comparación con loperamida ( $246 \pm 17$  min). EC mostró una tendencia a una mayor inhibición de la diarrea en comparación con sus fracciones, indicando que probablemente un efecto sinérgico de los compuestos debido a la presencia de múltiples fitoquímicos podría potenciar su eficacia. A pesar de las altas

concentraciones de AR, PT y PC's encontradas en las fracciones de EC, éste aún demostró una actividad antidiarreica global superior, confirmando la importancia de los efectos sinérgicos de múltiples compuestos. La sinergia entre componentes es clave en la actividad biológica de los extractos crudos. El fraccionamiento puede conducir a la pérdida de la actividad original debido a la separación de compuestos que actúan conjuntamente. El estudio sobre el aceite volátil de *Angelica sinensis* demostró que el fraccionamiento puede conducir a la pérdida de efectos sinérgicos, donde se requieren múltiples componentes presentes juntos para una actividad completa (Yeh et al., 2012). Durante la purificación puede producirse una pérdida de compuestos bioactivos, ya sea por degradación, evaporación o porque algunos compuestos no se recuperan en las fracciones. Un estudio demostró que la actividad total del extracto crudo de *Backhousia myrtifolia* estaba ligeramente más conservada que la cantidad de todas las fracciones secuenciales, lo que indica un principio aditivo más que sinérgico (Mathew et al., 2023).

El posible mecanismo por el cual el EC ejerce su actividad antidiarreica se evaluó utilizando el tránsito del intestino delgado y los modelos de enteropooling inducido por aceite de ricino. El EC (100 mg/kg) redujo ( $59,2 \pm 2,8\%$ ) el tránsito gastrointestinal de la comida con carbón vegetal con una actividad similar en comparación con 2,5 mg/kg de atropina ( $78,84 \pm 2,8\%$ ). Esta reducción del tránsito intestinal sugiere un efecto modulador de la motilidad gastrointestinal. Sin embargo, el EC no inhibió significativamente la acumulación de líquido intestinal. El principal mecanismo antidiarreico del EC puede ser la reducción de la motilidad más que la secreción de fluidos. Estudios anteriores han demostrado actividades antidiarreicas significativas en especies de plantas relacionadas. El extracto acuoso de *Galla chinensis* exhibió actividad en un modelo de diarrea inducida por aceite de ricino en ratones, mostrando una notable reducción de los síntomas de diarrea (Yang et al., 2017), que es paralela a los hallazgos en la cáscara de litchi. La cáscara de litchi demostró inhibición y retrasos significativos en la aparición de diarrea y reducciones en el tránsito gastrointestinal, lo que se alinea bien con las propiedades farmacológicas establecidas del litchi y extractos de plantas similares, verificando

científicamente la evidencia encontrada en la medicina tradicional (Yang et al., 2017).

La actividad antinociceptiva del EC se evaluó utilizando el modelo de retorcimiento inducido por ácido acético en ratones, un método bien establecido para evaluar la eficacia de la reducción del dolor. El EC redujo significativamente el número de contorsiones abdominales de forma dosis-dependiente, con una  $DE_{50}$  de 160,27 mg/kg. Esta actividad fue inferior a la del fármaco de referencia naproxeno ( $ED_{50}$ = 33,7 mg/kg p.o., reportado por Alonso-Castro et al., (2017).

A 200 mg/kg, el EC demostró una inhibición de la nocicepción del  $59 \pm 8\%$ , comparable a la reducción del  $54 \pm 4\%$  observada con 100 mg/kg de NPX. Estos hallazgos sugieren que el extracto de cáscara de litchi tiene propiedades antinociceptivas abdominales. Como ya se ha mencionado, no existen pruebas científicas de las actividades antidiarreicas y antinociceptivas de la cáscara de litchi y, por lo que sabemos, éste es el primer informe al respecto. Los efectos antinociceptivos observados coinciden con los hallazgos de otras plantas medicinales. Por ejemplo, un estudio sobre el extracto metanólico de las hojas de *Schisandra chinensis* reportó actividad antinociceptiva inhibiendo las respuestas de retorcimiento inducidas por ácido acético, atribuidas a la presencia de flavonoides y taninos, compuestos que también se encuentran en el extracto de cáscara de litchi (Lee et al., 2022). Estos fitoquímicos modulan las vías del dolor al inhibir la síntesis de prostaglandinas y otros mediadores inflamatorios, reduciendo así el dolor y la inflamación (Guabiraba et al., 2010; Pinho-Ribeiro et al., 2015). La actividad antinociceptiva del extracto de cáscara de litchi puede atribuirse a su rico contenido en compuestos polifenólicos, incluidos flavonoides y taninos (Guabiraba et al., 2010; Megersa et al., 2023; Pinho-Ribeiro et al., 2015).

Los polifenoles, como los identificados en la cáscara de litchi, inhiben la producción de óxido nítrico y prostaglandinas, implicados en la respuesta inflamatoria que exacerba la diarrea (Denis et al., 2016). Los polifenoles reducen la inflamación y la secreción intestinal, mitigando la diarrea y el dolor a través de estas vías.

### 3.4. Conclusiones

Este estudio ha demostrado que los extractos crudos y fraccionados de cáscara de litchi poseen actividades antioxidantes, antidiarreicas y antinociceptivas significativas. Los resultados indican que tanto el EC22 como el EC23 tienen una capacidad notable para eliminar radicales libres y reducir el estrés oxidativo. La actividad antidiarreica del extracto crudo fue superior a la de sus fracciones, sugiriendo la importancia de los efectos sinérgicos de los compuestos bioactivos presentes en el extracto completo. Además, el EC mostró una modulación efectiva de la motilidad gastrointestinal y una actividad antinociceptiva comparable a la de analgésicos tradicionales. Estos resultados subrayan el potencial terapéutico del extracto de cáscara de litchi, apoyando su uso en la medicina tradicional y sugiriendo aplicaciones futuras en la industria farmacéutica y alimentaria. La estabilidad estacional de sus propiedades bioactivas también asegura la consistencia y calidad de los productos derivados, aunque aún faltan estudios para poder confirmar la estabilidad estacional. En resumen, el extracto de cáscara de litchi es una fuente rica en compuestos bioactivos con beneficios antioxidantes, antidiarreicos y antinociceptivos en modelos murinos, lo que justifica una mayor investigación y desarrollo en este campo.

### 3.5. Referencias

Alonso-Castro, A. J., González-Chávez, M. M., Zapata-Morales, J. R., Verdinez-Portales, A. K., Sánchez-Recillas, A., Ortiz-Andrade, R., Isiordia-Espinoza, M., Martínez-Gutiérrez, F., Ramírez-Morales, M. A., Domínguez, F., Juache-Flores, M. E., & Martínez, R. (2017). Antinociceptive Activity of Ent-Dihydrocucumanoic Acid Isolated from *Gymnosperma glutinosum* Spreng Less. *Drug Development Research*, 78(7), 340–348. <https://doi.org/10.1002/DDR.21397>

Anjani, K., & Kumar, H. (2018). Antioxidant potential and hepatoprotectivity of hydromethanolic extract of *Litchi chinensis* fruits: In vivo and in vitro studies. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 14(04), 1–9. <https://doi.org/10.20546/IJCMAS.2018.704.277>

Bharai, P., Rakholiya, K., & Kaneria, M. (2020). Comparative Assessment of Antioxidant Activity and Phytochemical Analysis of Plants Peels Belongs to Rutaceae Family Using Different Extraction Techniques. SSRN Electronic Journal. <https://doi.org/10.2139/SSRN.3598102>

Calignano, A., La Rana, G., Beltramo, M., Makriyannis, A., & Piomelli, D. (1997). Potentiation of anandamide hypotension by the transport inhibitor, AM404. *European Journal of Pharmacology*, 337(1). [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(97\)01297-1](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(97)01297-1)

Censo de Población y Vivienda 2020. (n.d.). Retrieved July 6, 2024, from <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/>

Denis, M. C., Roy, D., Yeganeh, P. R., Desjardins, Y., Varin, T., Haddad, N., Amre, D., Sané, A. T., Garofalo, C., Furtos, A., Patey, N., Delvin, E., Tremblay, E., Murette, A., Beaulieu, J. F., & Levy, E. (2016). Apple peel polyphenols: a key player in the prevention and treatment of experimental inflammatory bowel disease. *Clinical Science*, 130 23(23), 2217–2237. <https://doi.org/10.1042/CS20160524>

Guabiraba, R., Campanha-Rodrigues, A. L., Souza, A. L. S., Santiago, H. C., Lugnier, C., Alvarez-Leite, J., Lemos, V. S., & Teixeira, M. M. (2010). The flavonoid dioclein reduces the production of pro-inflammatory mediators *in vitro* by inhibiting PDE4 activity and scavenging reactive oxygen species. *European Journal of Pharmacology*, 633 1-3(1–3), 85–92. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2010.01.021>

Ibrahim, S. R. M., & Mohamed, G. A. (2015). *Litchi chinensis*: Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 174, pp. 492–513). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.054>

Koster, R., Anderson, W., & Beer, E. (1959). Acetic Acid for Analgesic Screening. *Federation Proceedings*, 18, 412–417.

Lee, Y. M., Son, E., Kim, S. H., & Kim, D. S. (2022). Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Schisandra chinensis* Leaf Extracts and Monosodium Iodoacetate-Induced Osteoarthritis in Rats and Acetic Acid-Induced Writhing in Mice. *Nutrients*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/NU14071356>

Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004). [Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation in food]. *Medicine Sciences : M/S*, 20(4), 458–463. <https://doi.org/10.1051/MEDSCI/2004204458>

Mathew, S., Raju, R., Zhou, X., Bodkin, F., Govindaraghavan, S., & Münch, G. (2023). A Method and Formula for the Quantitative Analysis of the Total Bioactivity of Natural Products. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7). <https://doi.org/10.3390/IJMS24076850>

Megersa, A., Dereje, B., Adugna, M., Getahun, K. A., & Birru, E. M. (2023). Evaluation of Anti-Diarrheal Activities of the 80% Methanol Extract and Solvent Fractions of *Maesa lanceolata* Forssk (Myrsinaceae) Leaves in Mice. *Journal of Experimental Pharmacology*, 15, 391–405. <https://doi.org/10.2147/JEP.S429403>

Meli, R., Autore, G., di Carlo, G., & Capasso, F. (1990). Inhibitory action of quercetin on intestinal transit in mice. *Phytotherapy Research*, 4(5), 201–202. <https://doi.org/10.1002/PTR.2650040509>

NOM 062 ZOO 1999 | Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria | Gobierno | gob.mx. (n.d.). Retrieved July 6, 2024, from <https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-062-zoo-1999>

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *The Journal of Nutrition*, 133(9), 2812–2819. <https://doi.org/10.1093/JN/133.9.2812>

Pinho-Ribeiro, F. A., Hohmann, M. S. N., Borghi, S. M., Zarpelon, A. C., Guazelli, C. F. S., Manchope, M. F., Casagrande, R., & Verri, W. A. (2015). Protective effects of the flavonoid hesperidin methyl chalcone in inflammation and pain in mice: role of TRPV1, oxidative stress, cytokines and NF-κB. *Chemico-Biological Interactions*, 228, 88–99. <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2015.01.011>

Queiroz, E. de R., de Abreu, C. M. P., Oliveira, K. da S., Ramos, V. de O., & Fráguas, R. M. (2015). Bioactive phytochemicals and antioxidant activity in fresh and dried lychee fractions. *Revista Ciencia Agronomica*, 46(1), 163–169. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902015000100019>

Soni, R., & Agrawal, S. (2017). Litchi chinensis: Taxonomy, Botany and Its Cultivars. *Lychee Disease Management*, 191–215. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-4247-8\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-10-4247-8_12)

Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure. (2022). <https://doi.org/10.1787/9789264071049-EN>

Valle, L., Puig, M. M., & Pol, O. (2000). Effects of  $\mu$ -opioid receptor agonists on intestinal secretion and permeability during acute intestinal inflammation in mice. *European Journal of Pharmacology*, 389(2–3), 235–242. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00871-7](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00871-7)

Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., & Matarrese, P. (2021). The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders. *Antioxidants*, 10(2), 1–26. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10020201>

Wang, H. C., Hu, Z. Q., Wang, Y., Chen, H. Bin, & Huang, X. M. (2011). Phenolic compounds and the antioxidant activities in litchi pericarp: Difference among cultivars. *Scientia Horticulturae*, 129(4), 784–789. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.05.042>

Wang, L., Lou, G., Ma, Z., & Liu, X. (2011). Chemical constituents with antioxidant activities from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) seeds. *Food Chemistry*, 126(3), 1081–1087. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.11.133>

WHO. (n.d.). Enfermedades Diarreicas. Retrieved November 27, 2022, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>

Yang, Y., Luo, H., Song, X., Yu, L., Xie, J., Yang, J., Jia, R., Lin, J., Zou, Y., Li, L., Yin, L., He, C., Liang, X., Yue, G., & Yin, Z. (2017). Preparation of *Galla Chinensis* Oral Solution as well as Its Stability, Safety, and Antidiarrheal Activity Evaluation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1851459>

Yeh, J. C., Garrard, I. J., Cho, C. W. C., Annie Bligh, S. W., Lu, G. hua, Fan, T. P., & Fisher, D. (2012). Bioactivity-guided fractionation of the volatile oil of *Angelica sinensis* radix designed to preserve the synergistic effects of the mixture followed by identification of the active principles. *Journal of Chromatography. A*, 1236, 132–138. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2012.03.013>

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES ZONA HUASTECA**



# **CAPÍTULO 4**

**Estudio de acoplamiento molecular (docking) con al menos un compuesto bioactivo identificado en la cáscara de litchi**

## Resumen

El litchi (*Litchi chinensis*) es una fruta tropical ampliamente utilizada en la medicina tradicional china para tratar enfermedades gastrointestinales como la diarrea. Los compuestos bioactivos presentes en la cáscara de litchi, como flavonoides, taninos y procianidinas, han demostrado un gran potencial terapéutico. En este estudio se evaluó la interacción de tres compuestos bioactivos identificados en la cáscara de litchi (ácido cafeico 4-O-glucósido, procianidina A2 y prodelfinidina B3) con diversas proteínas diana implicadas en la diarrea mediante acoplamiento molecular (docking) utilizando el software AutoDock Vina. Los resultados mostraron que el ácido cafeico 4-O-glucósido exhibió afinidades de unión significativas con las enzimas M3 muscarinico ( $\Delta G = -7.8$  kcal/mol) y COX-1 ( $\Delta G = -8.6$  kcal/mol), formando interacciones clave con los residuos TYR148, TYR 506, SER536 y ALA238 en M3 muscarinico y con SER530, GLY526 Y MET522 en COX-1. La procianidina A2 mostró una fuerte afinidad de unión con 5-LOX ( $\Delta G = -8.5$  kcal/mol), mientras que la prodelfinidina B3 demostró una alta afinidad con el receptor  $\mu$ -opioide ( $\Delta G = -10.1$  kcal/mol) Y COX-2 ( $\Delta G = -6.2$  kcal/mol), sugiriendo un alto potencial para impactar en la conformación del receptor a través de interacciones con ASP147, SER55 Y SER339, GLN178 Y GLN 336 respectivamente. Estos resultados indican que los compuestos bioactivos de la cáscara de litchi pueden modular la actividad de proteínas clave involucradas en la inflamación y la motilidad gastrointestinal, ofreciendo un enfoque prometedor para el tratamiento de la diarrea. La investigación continua de estos compuestos podría conducir al desarrollo de nuevos tratamientos naturales y efectivos.

Palabras clave: *Litchi chinensis*, compuestos bioactivos, acoplamiento molecular.

## Abstract

Litchi (*Litchi chinensis*) is a tropical fruit widely used in traditional Chinese medicine to treat gastrointestinal diseases such as diarrhea. Bioactive compounds present in litchi peel, such as flavonoids, tannins and procyanidins, have shown great therapeutic potential. In this study, the interaction of three bioactive compounds identified in litchi peel (caffeic acid 4-O-glucoside, procyanidin A2 and prodelphinidin B3) with various target proteins involved in diarrhea was evaluated by molecular docking using AutoDock Vina software. The results showed that caffeic acid 4-O-glucoside exhibited significant binding affinities with the enzymes M3 muscarinic ( $\Delta G = -7.8$  kcal/mol) and COX-1 ( $\Delta G = -8.6$  kcal/mol), forming key interactions with residues TYR148, TYR 506, SER536 and ALA238 in M3 muscarinic and with SER530, GLY526 and MET522 in COX-1. Procyanidin A2 showed strong binding affinity for 5-LOX ( $\Delta G = -8.5$  kcal/mol), while prodelphinidin B3 showed high affinity for the  $\mu$ -opioid receptor ( $\Delta G = -10.1$  kcal/mol) AND COX-2 ( $\Delta G = -6.2$  kcal/mol), suggesting a high potential to impact receptor conformation through interactions with ASP147, SER55 AND SER339, GLN178 AND GLN 336 respectively. These results indicate that bioactive compounds from litchi peel may modulate the activity of key proteins involved in inflammation and gastrointestinal motility, offering a promising approach for the treatment of diarrhea. Continued research into these compounds could lead to the development of new natural and effective treatments.

Key words: *Litchi chinensis*, bioactive compounds, molecular docking.

## **Capítulo 4. Estudio de acoplamiento molecular (docking) con al menos un compuesto bioactivo identificado en la cáscara de litchi**

### **4.1. Introducción**

El litchi (*Litchi chinensis*) es un fruto tropical y subtropical que ha sido ampliamente utilizado en la medicina tradicional china para tratar diversas enfermedades. Desde hace más de 2,300 años, el litchi se ha cultivado en China y su uso se ha extendido a otros países del sudeste asiático, debido a sus beneficios nutricionales y medicinales. En la medicina tradicional china, el litchi se ha empleado para aliviar trastornos gastrointestinales, incluyendo la diarrea, así como para tratar úlceras estomacales, diabetes, tos, dispepsia y para eliminar parásitos intestinales (Ibrahim & Mohamed, 2015). Los frutos del litchi son valorados no solo por su sabor dulce y aromático, sino también por sus propiedades nutricionales y terapéuticas.

Los compuestos bioactivos presentes en la cáscara de litchi incluyen principalmente flavonoides, taninos y procianidinas. Estos compuestos bioactivos pueden interactuar en diversas rutas bioquímicas que están involucradas en la diarrea. Por ejemplo, la inhibición de la vía TLR4/NF- $\kappa$ B por los polifenoles del litchi puede reducir la inflamación intestinal, un factor clave en la patogénesis de la diarrea (Y. Lee, 2017). La diarrea es una condición caracterizada por deposiciones líquidas frecuentes, que puede ser causada por infecciones, inflamaciones o desórdenes funcionales del intestino. Los síntomas incluyen deshidratación, dolor abdominal y malestar general, afectando gravemente la calidad de vida de las personas.

La búsqueda de nuevos compuestos bioactivos para el tratamiento de la diarrea es crucial. Los compuestos presentes en la cáscara de litchi, como los flavonoides y las procianidinas, muestran un gran potencial en la modulación de rutas bioquímicas claves implicadas en la inflamación y la motilidad gastrointestinal. La inhibición del receptor muscarínico M3 por estos compuestos puede disminuir la motilidad gastrointestinal, reduciendo así los síntomas de la diarrea (Bharucha et al., 2010). Además, la modulación de la actividad del receptor opioide M también puede

contribuir a este efecto, ya que los opioides son conocidos por su capacidad para reducir la motilidad intestinal y aumentar la absorción de líquidos (Said et al., 2017).

Los estudios de acoplamiento molecular (docking) se han convertido en una herramienta esencial para identificar y evaluar la interacción de compuestos bioactivos con proteínas diana específicas. Estos estudios permiten predecir la afinidad y los modos de unión de los compuestos a las proteínas, proporcionando información valiosa sobre su posible eficacia biológica (Ma et al., 2017). La cáscara de litchi no solo es un subproducto agroindustrial con valor agregado, sino también una fuente rica en compuestos bioactivos que pueden tener aplicaciones significativas en la medicina moderna. La investigación continua sobre estos compuestos, apoyada por técnicas avanzadas como el docking molecular, podría conducir al desarrollo de nuevos tratamientos naturales y efectivos para la diarrea, mejorando así la salud y la calidad de vida de las personas afectadas por esta condición.

## **4.2. Materiales y métodos**

### **4.2.1. Docking Molecular**

A partir de los resultados de la evaluación *in vivo*, se seleccionaron tres compuestos identificados en el EC. Se obtuvieron del Protein Data Bank los receptores implicados en la diarrea, para evaluar la afinidad hacia los compuestos seleccionados. Se empleó AutoDock Vina para predecir la afinidad de unión del ácido cafeico 4-O-glucósido, la procianidina A2 y la prodelfinidina B3 con el receptor COX-1 (ciclooxigenasa) (PDB id: 7JXT, resolución de 3,35 Å), el receptor COX-2 (PDB id: 3LN1, resolución de 2,40 Å) y el receptor 5-LOX (lipooxigenasa) (PDB id: 6NLF, resolución de 2,87 Å). 40 Å), receptor 5-LOX (lipooxigenasa) (PDB id: 6NLF, resolución de 2,87 Å), receptor muscarínico M3 (PDB id: 5ZHP, resolución de 3,10 Å) y receptor  $\mu$  opioide (PDB id: 5C1M, resolución de 2,07 Å). Las cuadrículas de acoplamiento se centraron en las coordenadas cristalográficas del 2-[4,5-bis(2-clorofenil)-1H-imidazol-2-il]-6-(prop-2-en-1-il)fenil metoxiacetato (W8M; center\_x =

38,258, center\_y = 164,871, center\_z = 23. 581), 4-[5-(4-metilfenil)-3-(trifluorometil)-1h-pirazol-1-il]bencenosulfonamida (CEL; center\_x = 30,036, center\_y = -22,392, center\_z = -15. 953), ácido (3alfa,8alfa,17alfa,18alfa)-3-(acetiloxi)-11-oxours-12-en-23-oico (AF7; center\_x = 12,514, center\_y = -22,147, center\_z = -19. 459), ácido (1R,2R,4S,5S,7S)-7-([4-fluoro-2-(tiofen-2-il)fenil]carbamoil)oxi)-9,9-dimetil-3-oxa-9-azatriciclo[3.3.1.0]nonano-9-io (9EC; center\_x = -22,816, center\_y = -48,525, center\_z = 196. 034) y (2R,3S,3aR,5aR,6R,11bR,11cS)-3a-metoxi-3,14-dimetil-2-fenil-2,3,3a,6,7,11c-hexahidro-1H-6,11b-(epiminoetano)-3,5a-metanonaftol[2,1-g]indol-10-ol (BU72; center\_x = 2. 279, center\_y = 12.683, center\_z = -58.610) para COX-1, COX-2, 5-LOX, receptores muscarínicos M3 y  $\mu$ -opioides respectivamente. Las dimensiones de la cuadrícula se fijaron en 25 × 25 × 25, 24 × 24 × 24, 22 × 22 × 22, 22 × 22 × 22 y 22 × 22 × 22 puntos con un espaciado predeterminado, respectivamente. La visualización de todas las estructuras se facilitó utilizando PyMOL v1.9 (The PyMol Molecular Graphics System, versión 1.9, Schrödinger, LLC) y Discovery Studio Visualizer, versión 21.1.0.20298.

### 4.3. Resultados y Discusión

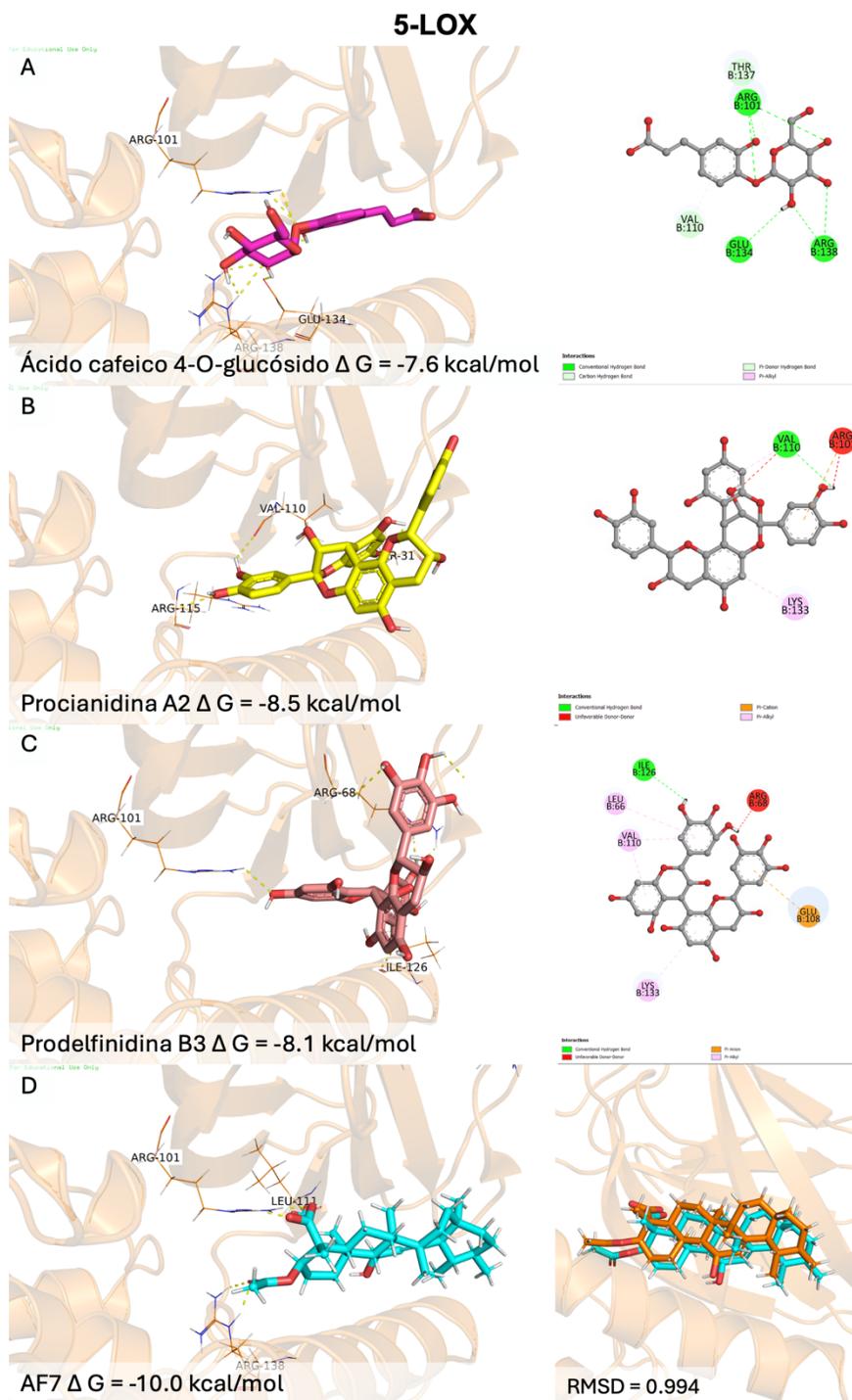
#### 4.3.1. Estudios de acoplamiento

Los estudios de acoplamiento se llevaron a cabo para evaluar la afinidad de unión y los patrones de interacción de tres compuestos polifenólicos: ácido Cafeico 4-O-glucósido, procianidina A2, y prodelfinidina B3, con una serie de proteínas diana implicadas en las vías inflamatorias y muscarínicas.

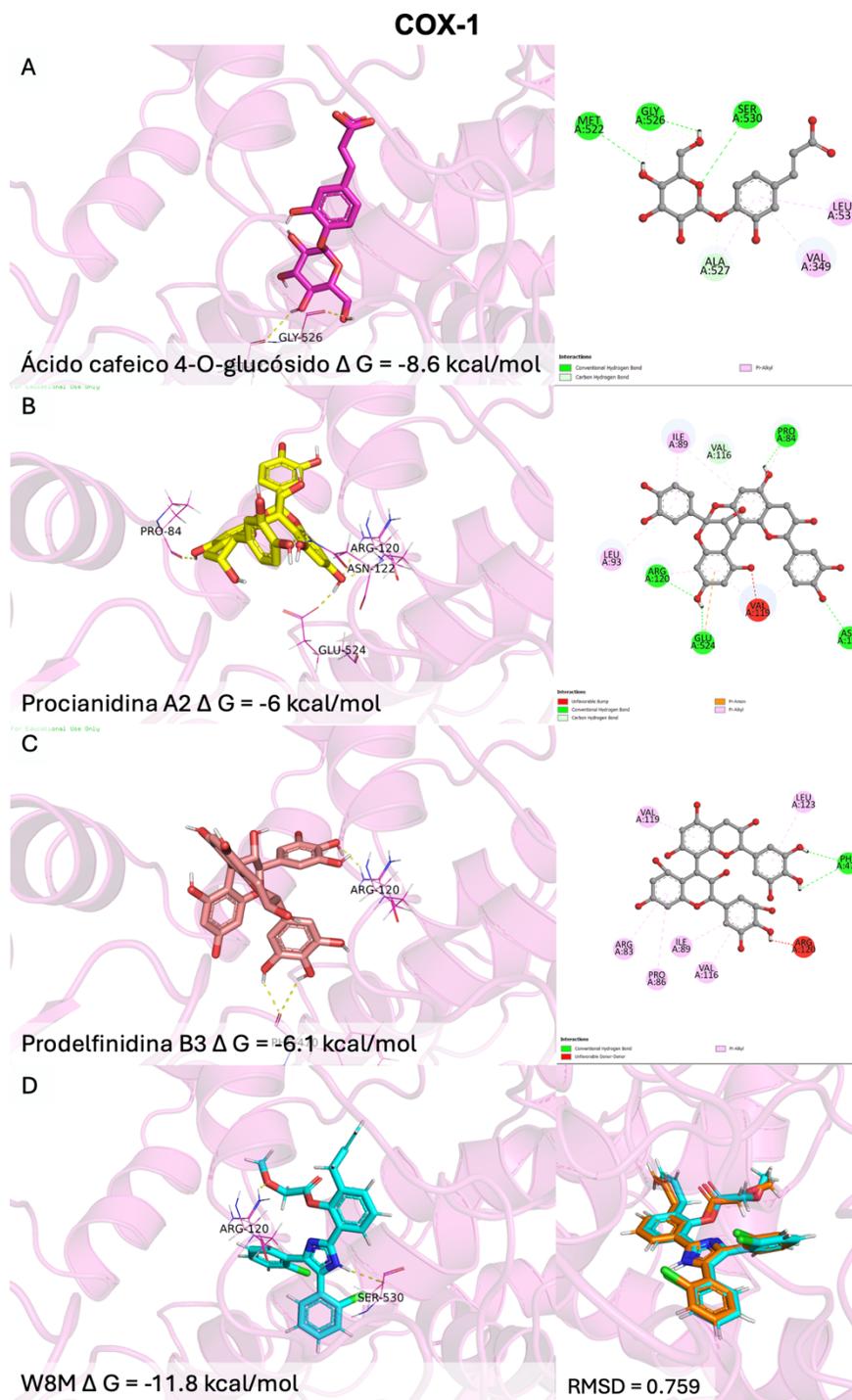
Se realizaron estudios de acoplamiento para evaluar la afinidad de unión y los patrones de interacción de tres compuestos encontrados en la caracterización del EC: ácido cafeico 4-O-glucósido, procianidina A2 y prodelfinidina B3, con una serie de proteínas diana implicadas en la diarrea.

El ácido cafeico 4-O-glucósido exhibió una afinidad de unión moderada a la enzima 5-LOX, con una energía libre de unión ( $\Delta G$ ) calculada en -7.6 kcal/mol, principalmente formando interacciones con los residuos ARG101 y GLU134. Procianidina A2 demostró una afinidad de unión mejorada ( $\Delta G = -8.5$  kcal/mol) a

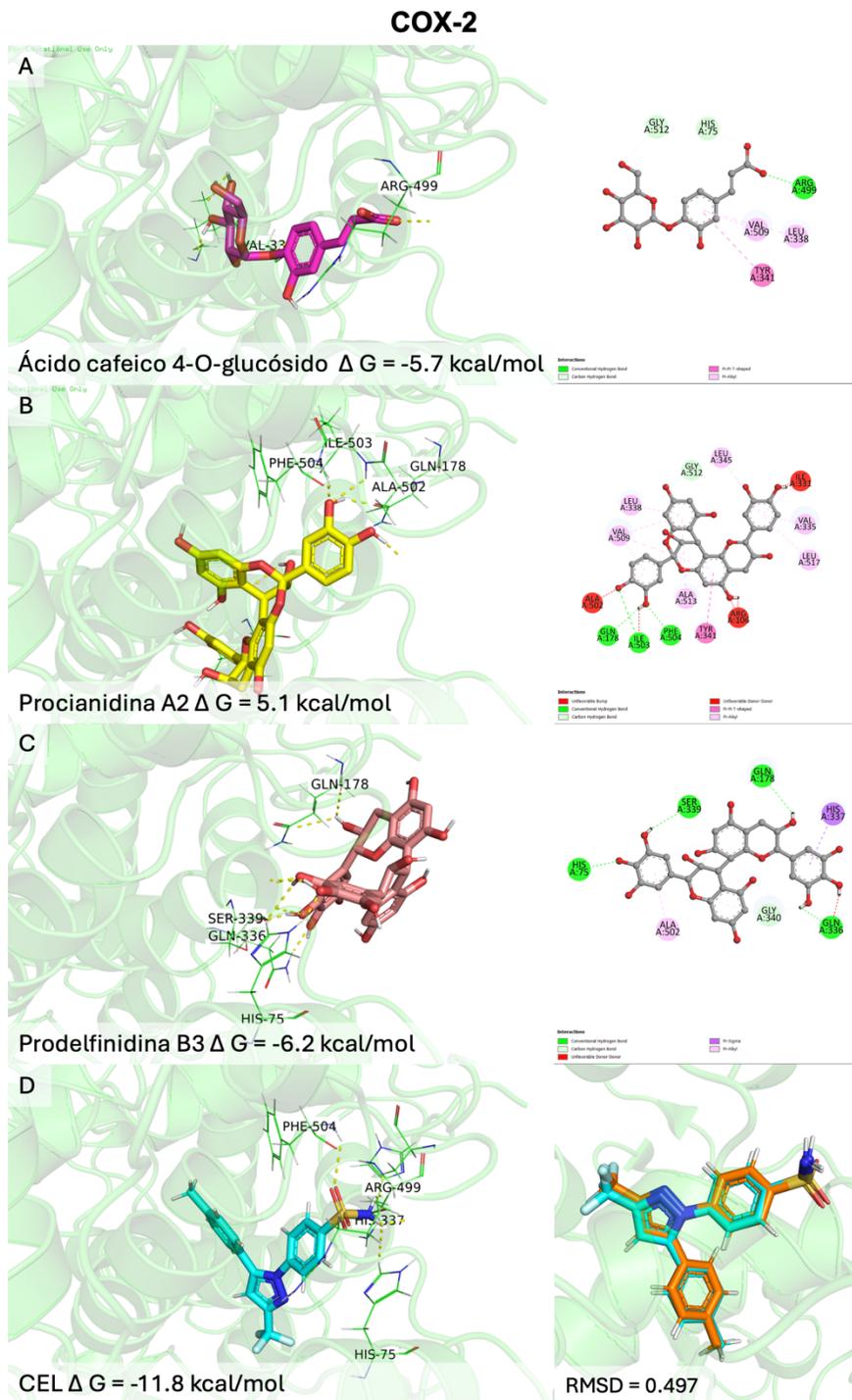
través de contactos con VAL10 y ARG138, sugiriendo un potencial inhibitor más fuerte. Prodelfinidina B3 mostró una unión significativa ( $\Delta G = -8.1$  kcal/mol), engancho ARG101 y ARG68. Notablemente, el ligando nativo mostró un RMSD de 0.994, estableciendo una línea de base para el ajuste molecular (Figura 8). Dentro de la proteína COX-1, el ácido cafeico 4-O-glucósido se unió con una  $\Delta G$  de -8,6 kcal/mol, interactuando con SER530 y GLY526, lo que indica un potencial de inhibición competitiva. Procianidina A2 reveló un  $\Delta G$  de -6 kcal/mol, sugiriendo una afinidad de unión moderada. Prodelfinidina B3 mostró un  $\Delta G$  de -6.1 kcal/mol, con ARG120 siendo un sitio de interacción significativo. El ligando nativo presentó un RMSD de 0.759 (Figura 9). Las interacciones de la enzima COX-2 demostraron que el ácido cafeico 4-O-glucósido tenía una  $\Delta G$  de -5,7 kcal/mol, con ARG499 como punto de interacción notable. Procianidina A2 tuvo una afinidad de unión más alta ( $\Delta G = -5.1$  kcal/mol) involucrando PHE504 y GLN178. Prodelfinidina B3 mostró la unión más fuerte ( $\Delta G = -6.2$  kcal/mol), potencialmente debido a la interacción con SER336 y GLN336. La RMSD del ligando nativo se midió en 0,497 (Figura 10). Para el receptor muscarínico M3, el ácido cafeico 4-O-glucósido mostró una unión con una  $\Delta G$  de -7.8 kcal/mol, que puede afectar a la actividad del receptor dada la interacción con TYR506. Procianidina A2 mostró un  $\Delta G$  de -3.7 kcal/mol, sugiriendo una unión de afinidad más baja. Prodelfinidina B3, sin embargo, mostró un  $\Delta G$  de -6.2 kcal/mol, con impacto potencial en la conformación del receptor. La molécula co-cristalizada exhibió un RMSD de 1.135 (Figura 11). Para el receptor opioide M, el ácido cafeico 4-O-glucósido demostró una unión con una  $\Delta G$  de -8,2 kcal/mol, lo que indica una fuerte interacción que afecta potencialmente a la actividad del receptor a través de GLN-124 y TYR-326. Procianidina A2 mostró una  $\Delta G$  de -6.4 kcal/mol, sugiriendo una unión de afinidad moderada involucrando LYS-233 y LEU-232. Prodelfinidina B3 mostró un  $\Delta G$  de -10.1 kcal/mol, indicando un alto potencial para el impacto en la conformación del receptor a través de interacciones con ASP-147 y SER-55. El análisis de acoplamiento de la molécula nativa reveló un RMSD de 0.854, lo que sugiere conformaciones de acoplamiento precisas (Figura 12).



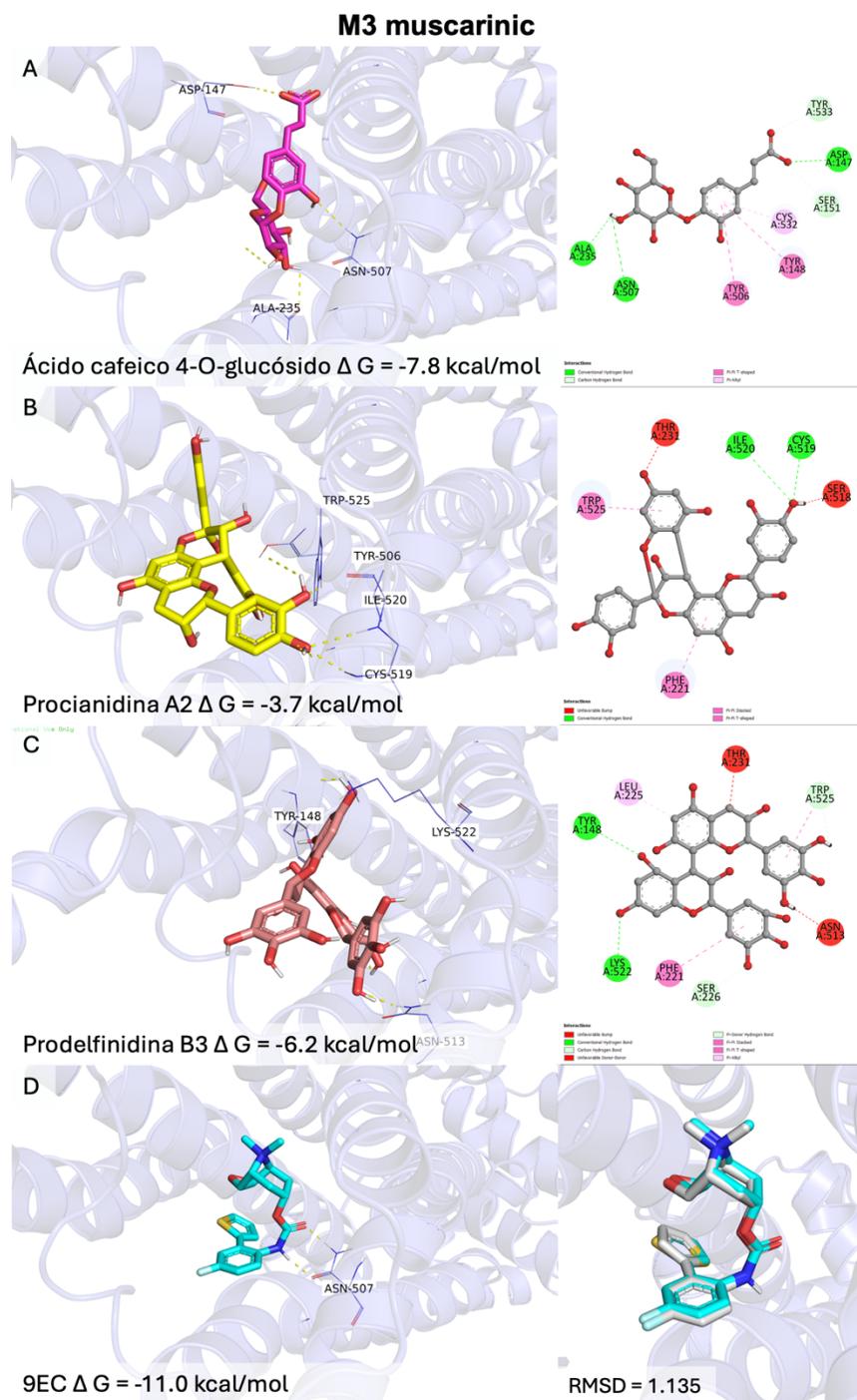
**Figura 10.** Complejo de acoplamiento 5-LOX con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de AF7 (ligando co-cristalizado) y la pose re-acoplada de validación. Figura creada en PyMOL v1.9 y Discovery Studio Visualizer.



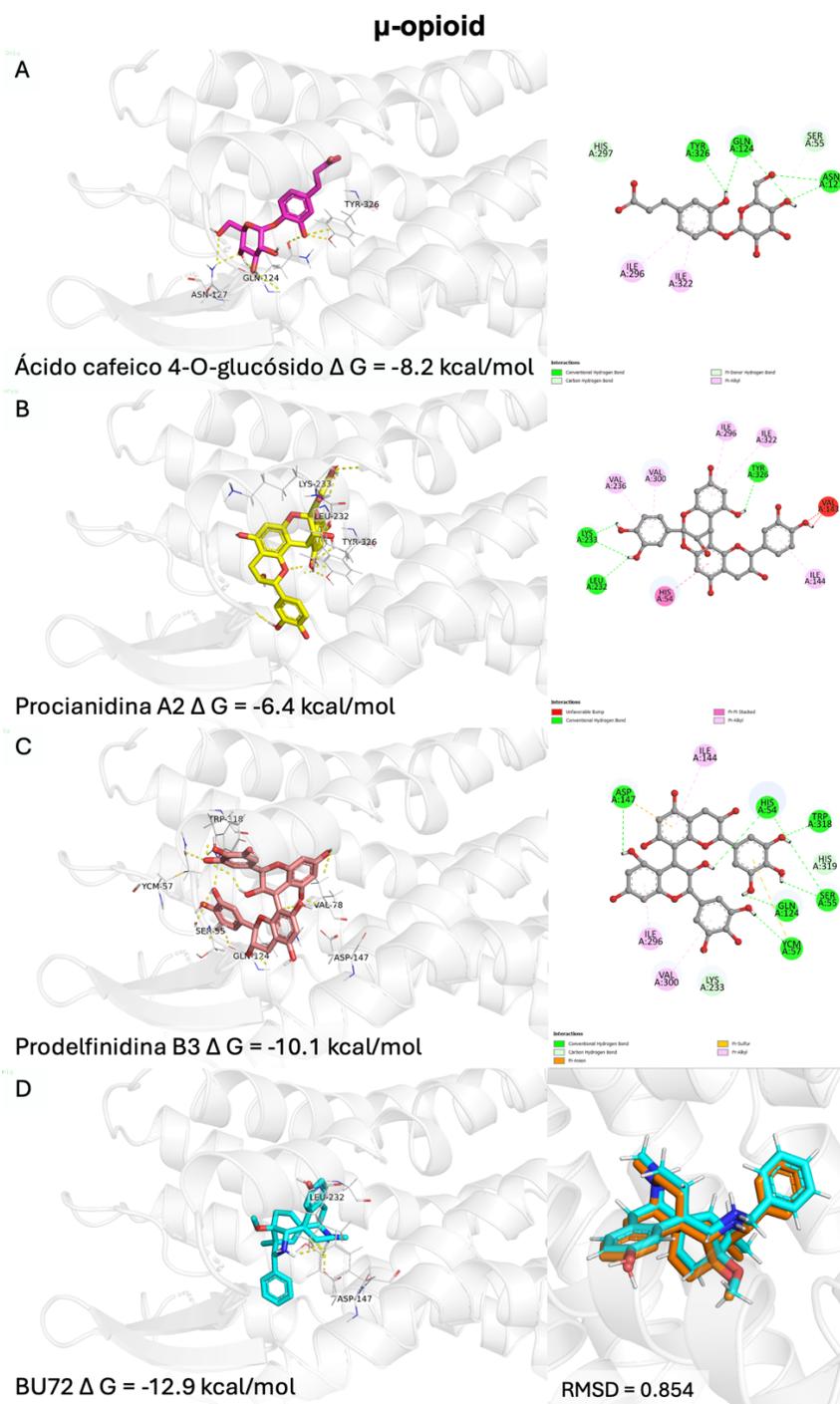
**Figura 11.** Complejo de acoplamiento COX-1 con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de W8M (ligando co-cristalizado) y la pose re-acoplada de validación. Figura creada en PyMOL v1.9 y Discovery Studio Visualizer.



**Figura 12.** Complejo de acoplamiento COX-2 con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de CEL (ligando co-cristalizado) y la pose re-acoplada de validación. Figura creada en PyMOL v1.9 y Discovery Studio Visualizer.



**Figura 13.** Complejo de acoplamiento muscarínico M3 con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de 9EC (ligando co-cristalizado) y la pose re-ocupada de validación. Figura creada en PyMOL v1.9 y Discovery Studio Visualizer.



**Figura 14.** Complejo de acoplamiento  $\mu$ -opioido con (A) Ácido cafeico 4-O-glucósido, (B) Procianidina A2, (C) Prodelfinidina B3 y sus representaciones visuales 2D. (D) Interacciones de BU72 (ligando co-cristalizado) y la pose re-ocupada de validación. Figura creada en PyMOL v1.9 y Discovery Studio Visualizer.

Las afinidades de unión de tres compuestos principales del extracto de cáscara de litchi, ácido cafeico 4-O-glucósido, procianidina A2 y prodelfinidina B3, con varias proteínas implicadas en las vías diarreicas, se evaluaron mediante estudios *in silico*. La 5-LOX produce leucotrienos, mediadores inflamatorios que contribuyen a la inflamación intestinal y la diarrea, mientras que la procianidina A2 mostró la mayor afinidad de unión a la enzima 5-LOX, lo que indica su potencial como potente agente antiinflamatorio (Che et al., 2016). La inhibición de la 5-LOX podría reducir la producción de leucotrienos, disminuyendo la inflamación y la secreción intestinal excesiva asociada a la diarrea. La COX-1 y la COX-2 participan en la síntesis de prostaglandinas, que regulan la inflamación y la motilidad intestinal. El ácido cafeico 4-O-glucósido exhibió la mayor afinidad de unión para la enzima COX-1, lo que sugiere su papel en el mantenimiento de la integridad gastrointestinal a través de la inhibición competitiva (Omar et al., 2018). Por otro lado, prodelfinidina B3 demostró la afinidad de unión más fuerte con la enzima COX-2, destacando su eficacia potencial en la reducción de la inflamación (Omar et al., 2020). La inhibición de estas enzimas podría reducir la producción de prostaglandinas inflamatorias, aliviando la inflamación y la diarrea.

El receptor muscarínico M3 regula la motilidad gastrointestinal. La inhibición de este receptor disminuye la motilidad excesiva que acompaña a la diarrea. El ácido cafeico 4-O-glucósido mostró la mayor afinidad de unión para el receptor M3 (Magalhães et al., 2021), lo que sugiere su capacidad para reducir la motilidad intestinal excesiva y mejorar los síntomas diarreicos. El receptor  $\mu$ -opioide es crucial para la modulación del dolor y la motilidad gastrointestinal. La prodelfinidina B3 exhibió la afinidad de unión más fuerte para este receptor, lo que indica su potencial para aliviar el dolor asociado con la inflamación intestinal y la diarrea (P et al., 2018). Estas interacciones subrayan el potencial terapéutico de estos compuestos para tratar afecciones inflamatorias y diarreicas.

Estos resultados sugieren que los compuestos polifenólicos presentes en la cáscara de litchi pueden modular la actividad de diversas proteínas clave involucradas en la inflamación y la motilidad gastrointestinal, ofreciendo un enfoque multifacético para

el tratamiento de la diarrea. Los compuestos como las proantocianidinas y los ácidos hidroxicinámicos han sido ampliamente estudiados por su capacidad para modular diversas rutas inflamatorias y de señalización celular, incluyendo la inhibición de la vía TLR4/NF- $\kappa$ B. Las proantocianidinas, que son polifenoles abundantes en frutas como las uvas y los arándanos, han demostrado inhibir significativamente la señalización mediada por TLR4 y la activación de NF- $\kappa$ B, lo cual es crucial en la regulación de la inflamación. En un estudio, las proantocianidinas de semilla de uva mostraron una capacidad para reducir la expresión de citocinas proinflamatorias y enzimas como iNOS y COX-2 en células hepáticas estimuladas con LPS, a través de la inhibición de las vías MAPK, Akt y NF- $\kappa$ B (J. W. Lee et al., 2017).

Los ácidos hidroxicinámicos, como el ácido cafeico, también han mostrado efectos inhibitorios sobre la activación de NF- $\kappa$ B, que es un factor de transcripción clave en la expresión de genes inflamatorios. Un estudio sobre el extracto de corteza de canela identificó que compuestos como la cinamaldehído y el ácido cafeico pueden inhibir la actividad de NF- $\kappa$ B y la expresión de COX-2 en macrófagos activados por LPS (Reddy et al., 2004). Esta inhibición es significativa porque NF- $\kappa$ B regula una serie de genes implicados en la respuesta inflamatoria, incluyendo TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y otras citocinas proinflamatorias.

Además, se ha demostrado que las proantocianidinas pueden modular la respuesta inmune a través de la regulación de los receptores tipo toll (TLR). Por ejemplo, en estudios con extracto de semilla de uva, se observó que estas proantocianidinas pueden mitigar el daño hepático inducido por nanopartículas de dióxido de titanio mediante la inhibición de la señalización TLR-4/NF- $\kappa$ B, lo que suprime la producción de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  (Mohammed & Safwat, 2020). Este efecto se traduce en una disminución de la inflamación y del estrés oxidativo, dos factores clave en la patogénesis de muchas enfermedades inflamatorias.

Las proteínas diana como 5-LOX, COX-1 y 2 juegan roles cruciales en la inflamación y en la producción de mediadores inflamatorios como leucotrienos y prostaglandinas, respectivamente (Canali et al., 2009; Martel-Pelletier et al., 2003). La inhibición de estas proteínas puede reducir significativamente la inflamación y la

respuesta inmune que contribuyen a la diarrea, la inhibición del receptor muscarínico M3 puede disminuir la motilidad gastrointestinal, reduciendo así los síntomas de la diarrea. Estudios han demostrado que los antagonistas específicos del receptor M3, como el darifenacina, pueden retrasar significativamente el tránsito gastrointestinal y colónico, lo que subraya el papel crucial de estos receptores en la regulación de la motilidad intestinal (Bharucha et al., 2010). La modulación de la actividad del receptor opioide M también puede contribuir a este efecto, ya que los opioides son conocidos por su capacidad para reducir la motilidad intestinal y aumentar la absorción de líquidos. La activación de los receptores opioides M en el sistema nervioso entérico disminuye la motilidad y la secreción intestinal, proporcionando un efecto antidiarreico potente (Said et al., 2017). Los compuestos polifenólicos de la cáscara de litchi muestran un potencial significativo para inhibir la diarrea a través de la modulación de las proteínas diana clave evaluadas en este capítulo.

#### **4.4. Conclusiones**

Los estudios *in silico* revelaron que los compuestos polifenólicos presentes en la cáscara de litchi, específicamente el ácido cafeico 4-O-glucósido, la procianidina A2 y la prodelfinidina B3, tienen una alta afinidad de unión a varias proteínas diana implicadas en las vías inflamatorias y muscarínicas relacionadas con la patogénesis de la diarrea. Estos compuestos demostraron una significativa capacidad para inhibir la actividad de enzimas clave como 5-LOX y COX-2, así como la modulación de los receptores muscarínicos M3 y opioides M, sugiriendo un potente efecto antiinflamatorio y modulador de la motilidad gastrointestinal. Estos resultados son consistentes con estudios previos que han mostrado la eficacia de los polifenoles en la inhibición de rutas inflamatorias y en la regulación de la motilidad intestinal, lo que refuerza su potencial como agentes terapéuticos naturales para el tratamiento de la diarrea. La capacidad de estos compuestos para mantener una actividad antioxidante y antiinflamatoria constante subraya su viabilidad para aplicaciones en

la industria alimentaria y farmacéutica. Estos resultados no solo amplían el conocimiento sobre los mecanismos moleculares detrás de las propiedades antidiarreicas de la cáscara de litchi, sino que también proporcionan una base sólida para el desarrollo de nuevas terapias basadas en compuestos naturales. La continuidad en la investigación de estos compuestos polifenólicos podría llevar a tratamientos más efectivos y seguros para la diarrea, ofreciendo una alternativa viable y natural a los medicamentos convencionales.

#### 4.5 Referencias

Bharucha, A. E., Ravi, K., & Zinsmeister, A. R. (2010). Comparison of selective M3 and nonselective muscarinic receptor antagonists on gastrointestinal transit and bowel habits in humans. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 299 1(1), 215–219. <https://doi.org/10.1152/AJPGI.00072.2010>

Bijvelds, M. J. C., Tresadern, G., Hellemans, A., Smans, K., Nieuwenhuijze, N. D. A., Meijssen, K. F., Bongartz, J. P., Donck, L. Ver, De Jonge, H. R., Schuurkes, J. A. J., & De Maeyer, J. H. (2018). Selective inhibition of intestinal guanosine 3',5'-cyclic monophosphate signaling by small-molecule protein kinase inhibitors. *The Journal of Biological Chemistry*, 293(21), 8173–8181. <https://doi.org/10.1074/JBC.RA118.002835>

Canali, R., Comitato, R., Schonlau, F., & Virgili, F. (2009). The anti-inflammatory pharmacology of Pycnogenol in humans involves COX-2 and 5-LOX mRNA expression in leukocytes. *International Immunopharmacology*, 9 10(10), 1145–1149. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2009.06.001>

Che, X. H., Chen, C. L., Ye, X. L., Weng, G. Bin, Guo, X. Z., Yu, W. Y., Tao, J., Chen, Y. C., & Chen, X. (2016). Dual inhibition of COX-2/5-LOX blocks colon cancer proliferation, migration and invasion in vitro. *Oncology Reports*, 35(3), 1680–1688. <https://doi.org/10.3892/OR.2015.4506/DOWNLOAD>

Ibrahim, S. R. M., & Mohamed, G. A. (2015). Litchi chinensis: Medicinal uses, phytochemistry, and pharmacology. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 174, pp. 492–513). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.054>

Lee, J. W., Kim, Y. II, Kim, Y., Choi, M., Min, S., Joo, Y. H., Yim, S. V., & Chung, N. (2017). CharacGrape seed proanthocyanidin inhibits inflammatory responses in hepatic stellate cells by modulating the MAPK, Akt and NF-κB signaling pathways. *International Journal of Molecular Medicine*, 40(1), 226–234. <https://doi.org/10.3892/IJMM.2017.2997/DOWNLOAD>

Lee, Y. (2017). Cancer Chemopreventive Potential of Procyanidin. *Toxicological Research*, 33(4), 273. <https://doi.org/10.5487/TR.2017.33.4.273>

Ma, S., Yada, K., Lee, H., Fukuda, Y., Iida, A., & Suzuki, K. (2017). Taheebo Polyphenols Attenuate Free Fatty Acid-Induced Inflammation in Murine and Human Macrophage Cell Lines As Inhibitor of Cyclooxygenase-2. *Frontiers in Nutrition*, 4. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2017.00063/PDF>

Magalhães, D. de A., Batista, J. A., Sousa, S. G., Ferreira, J. dos S., da Rocha Rodrigues, L., Pereira, C. M. C., do Nascimento Lima, J. V., de Albuquerque, I. F., Bezerra, N. L. S. D., Monteiro, C. E. da S., Franco, A. X., da Costa Filho, H. B., Ferreira, F. C. S., Havt, A., Di Lenardo, D., Vasconcelos, D. F. P., de Oliveira, J. S., Soares, P. M. G., & Barbosa, A. L. dos R. (2021). McN-A-343, a muscarinic agonist, reduces inflammation and oxidative stress in an experimental model of ulcerative colitis. *Life Sciences*, 272, 119194. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2021.119194>

Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Reboul, P., & Pelletier, J. P. (2003). Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 62(6), 501–509. <https://doi.org/10.1136/ARD.62.6.501>

Mohammed, E. T., & Safwat, G. M. (2020). Grape Seed Proanthocyanidin Extract Mitigates Titanium Dioxide Nanoparticle (TiO<sub>2</sub>-NPs)–Induced Hepatotoxicity

Through TLR-4/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Biological Trace Element Research*, 196(2), 579–589. <https://doi.org/10.1007/S12011-019-01955-5>

Omar, Y. M., Abdel-Moty, S. G., & Abdu-Allah, H. H. M. (2020). Further insight into the dual COX-2 and 15-LOX anti-inflammatory activity of 1,3,4-thiadiazole-thiazolidinone hybrids: The contribution of the substituents at 5th positions is size dependent. *Bioorganic Chemistry*, 97. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2020.103657>

Omar, Y. M., Abdu-Allah, H. H. M., & Abdel-Moty, S. G. (2018). Synthesis, biological evaluation and docking study of 1,3,4-thiadiazole-thiazolidinone hybrids as anti-inflammatory agents with dual inhibition of COX-2 and 15-LOX. *Bioorganic Chemistry*, 80, 461–471. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2018.06.036>

P, J. J., Manju, S. L., Ethiraj, K. R., & Elias, G. (2018). Safer anti-inflammatory therapy through dual COX-2/5-LOX inhibitors: A structure-based approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 121, 356–381. <https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2018.06.003>

Pham, T. H., Gao, X., Singh, G., & Hardwidge, P. R. (2013). Escherichia coli Virulence Protein NleH1 Interaction with the v-Crk Sarcoma Virus CT10 Oncogene-like Protein (CRKL) Governs NleH1 Inhibition of the Ribosomal Protein S3 (RPS3)/Nuclear Factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) Pathway\*. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(48), 34567–34574. <https://doi.org/10.1074/JBC.M113.512376>

Reddy, A. M., Seo, J. H., Ryu, S. Y., Kim, Y. S., Kim, Y. S., Min, K. R., & Kim, Y. (2004). Cinnamaldehyde and 2-methoxycinnamaldehyde as NF-kappaB inhibitors from Cinnamomum cassia. *Planta Medica*, 70 9(9), 823–827. <https://doi.org/10.1055/S-2004-827230>

Said, A. H., Hu, S., Abutaleb, A., Watkins, T., Cheng, K., Chahdi, A., Kuppusamy, P., Saxena, N., Xie, G., & Raufman, J. P. (2017). Interacting post-muscarinic

receptor signaling pathways potentiate matrix metalloproteinase-1 expression and invasion of human colon cancer cells. *The Biochemical Journal*, 474 5(5), 647–665.  
<https://doi.org/10.1042/BCJ20160704>

# Anexos



MAESTRÍA EN  
CIENCIAS  
BIOQUÍMICAS



Ciudad Valles, S.L.P., 10 de julio de 2024

**Christian Iván Cano Gómez**  
**Alumno de la Maestría en Ciencias Bioquímicas**  
P r e s e n t e

En relación con la solicitud de registro de tema de tesis y la conformación del Comité Tutelar le comunico que el Comité Académico del PMCB el día 17 de mayo del año en curso, aprobó:

**1. Su propuesta del tema de tesis:**

“Evaluación antidiarreica y estudio del acoplamiento molecular de los compuestos bioactivos de la cáscara de *Litchi chinensis*”

**2. Su propuesta del Comité Tutelar conformado por:**

**Director de Tesis:** Dr. Jorge Enrique Wong Paz

**Codirector de Tesis:** Dr. Ángel Josabad Alonso Castro

**Asesora:** Dra. Candy Carranza Álvarez

Sin otro particular por el momento, le envié un saludo cordial.



**MAESTRIA  
EN CIENCIAS  
BIOQUÍMICAS**



FACULTAD DE  
ESTUDIOS PROFESIONALES  
ZONA HUASTECA  
UASLP

Romualdo del Campo 501  
Fracc. Rafael Curiel  
C.P. 79060  
Cd. Valles, S.L.P.  
Tel. (481) 381 2348,  
381 2349, 382 3644 y  
382 8210

c.c.p. Dr. Jorge Enrique Wong Paz– Director de tesis  
c.c.p. Dr. Ángel Josabad Alonso Castro– Codirector de tesis  
c.c.p. Dra. Candy Carranza Álvarez – Asesora de tesis.  
c.c.p. Archivo

Romualdo del Campo No. 501, Frac. Rafael Curiel, 79060 Ciudad Valles, S.L.P. México.  
TELS. (482) 381-23-48 Ext. 105

Review

# Advancements in *Litchi chinensis* Peel Processing: A Scientific Review of Drying, Extraction, and Isolation of Its Bioactive Compounds

Christian Iván Cano-Gómez <sup>1</sup>, Angel Josabad Alonso-Castro <sup>2</sup>, Candy Carranza-Alvarez <sup>1</sup>  
and Jorge E. Wong-Paz <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Cd. Valles, San Luis Potosí 79080, Mexico; a363206@alumnos.uaslp.mx (C.I.C.-G.); candy.carranza@uaslp.mx (C.C.-A.)

<sup>2</sup> Departamento de Farmacia, Universidad de Guanajuato, Noria Alta, Colonia Noria Alta Guanajuato, Guanajuato 36250, Mexico; angeljosabad@ugto.mx

\* Correspondence: jorge.wong@uaslp.mx

**Abstract:** This article systematically reviews the advancements in processing litchi peel (*Litchi chinensis*), emphasizing drying, extraction, purification methods, and the potential of bioactive compounds obtained from litchi peel. This work also highlights the impact of various drying techniques on phytochemical profiles, focusing on how methods such as hot air and freeze-drying affect the preservation of bioactive compounds. The study delves into extraction methods, detailing how different solvents and techniques influence the efficiency of extracting bioactive compounds from litchi peel. Furthermore, the purification and characterization of active compounds, showcasing the role of chromatographic techniques in isolating specific bioactive molecules, is discussed. Biological properties and mechanisms of action, such as antioxidant, antihyperglycemic, cardioprotective, hepatoprotective, anti-atherosclerotic, and anticancer activities, are reviewed, providing insight into the potential health benefits of litchi peel compounds. This review highlights the importance of optimizing and selecting accurate drying and extraction methods to maximize the therapeutic effects of litchi peel and its bioactive compounds. This review also reveals the broad pharmacological potential of the isolated compounds, underscoring the need for further research to discover their specific actions and health benefits.

**Keywords:** *Litchi chinensis*; bioactive compounds; drying methods; biological properties



**Citation:** Cano-Gómez, C.I.; Alonso-Castro, A.J.; Carranza-Alvarez, C.; Wong-Paz, J.E. Advancements in *Litchi chinensis* Peel Processing: A Scientific Review of Drying, Extraction, and Isolation of Its Bioactive Compounds. *Foods* **2024**, *13*, 1461. <https://doi.org/10.3390/foods13101461>

Received: 11 April 2024

Revised: 2 May 2024

Accepted: 4 May 2024

Published: 9 May 2024



**Copyright:** © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Litchi (*Litchi chinensis*), a tropical fruit native to China, is cultivated worldwide in warm climates and is an important fruit crop with an export potential playing a significant role in its economy [1,2]. The residues generated from litchi harvest or processing represent a source of phytochemical compounds with biological activities [3]. Litchi peel is used for the empirical treatment of diarrhea, cough, fever, hypertension, and other diseases [4]. Originating as a by-product of the litchi fruit, often discarded as waste, the peel has emerged as a significant source of active compounds. Extensive research reveals its rich phytochemical diversity, which includes simple flavonols, sesquiterpenes, phenolic acids, and proanthocyanidins, contributing to its wide range of medicinal properties such as antioxidative, antidiabetic, cancer preventive, and anti-inflammatory effects [5]. Finding bioactive compounds derived from plant sources, particularly those found in the litchi peel, represents a frontier in the quest for natural antioxidants, antihyperglycemic agents, cardioprotective compounds, and other medicinal uses. This journey begins with the extraction of a complex mixture of phytochemicals, which necessitate the isolation and purification of compounds with pharmacological interest [6,7]. Litchi peel, often discarded as waste, emerges as a significant source of active compounds, with studies revealing its



La Red de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos  
otorga el presente

# RECONOCIMIENTO

a:

**Cano-Gómez, C.I., Carranza-Alvarez, C.,  
Ascacio-Valdes, J.A., Alonso-Castro, A.J.,  
Wong-Paz, J.E.**

Por su valiosa participación en la **presentación presencial de póster científico**  
con el trabajo titulado "Evaluación de la actividad antinociceptiva y caracterización  
química de cáscara de *Litchi chinensis* cultivado en México"

Nuevo Vallarta, Nayarit; 12 al 14 de noviembre de 2023

**Gustavo A. González Aguilar**  
Líder de la Red  
Alfanutra

**Aarón F. González Córdova**  
Coordinador  
de la Red Alfanutra

**Janet Alejandra Gutiérrez Uribe**  
Comité técnico  
académico de  
la Red Alfanutra

**Sonia Guadalupe Sáyago Ayerdi**  
Comité organizador  
del 6º Congreso

**Adrián Hernández Mendoza**  
Comité científico  
del 6º Congreso



Sostenibilidad como eje estratégico  
para el desarrollo de alimentos  
funcionales y nutraceuticos