UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

EFECTOS BENÉFICOS DE LA GUATILA (*Sechium edule*) EN LA SALUD: COMPUESTOS FENÓLICOS Y FIBRA DIETARIA EN LA PREVENCIÓN DE POSIBLES PATOLOGÍAS EN EL ORGANISMO HUMANO

Presentado por:

ALEJANDRA BUESAQUILLO SANABRIA

Universidad Nacional De Colombia
Facultad de Ciencias-Departamento de Química
Bogotá, D.C., Colombia

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

EFECTOS BENÉFICOS DE LA GUATILA (*Sechium edule*) EN LA SALUD: COMPUESTOS FENÓLICOS Y FIBRA DIETARIA EN LA PREVENCIÓN DE POSIBLES PATOLOGÍAS EN EL ORGANISMO HUMANO

Presentado por:

ALEJANDRA BUESAQUILLO SANABRIA

Monografía presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias-Química

Director
Carlos Eduardo Narváez Cuenca, PhD

Grupo de Investigación
Química de Alimentos

Universidad Nacional De Colombia
Facultad de Ciencias-Departamento de Química
Bogotá, D.C., Colombia
2019

Agradecimientos

Inicialmente quiero agradecerle a mi familia Buesaquillo Sanabria por el apoyo incondicional, por sus consejos, madrugadas y desvelos durante el acompañamiento de mi carrera profesional y formación personal. A mi tía Gloria Buesaquillo que desde la distancia siempre estuvo pendiente de mi proceso y depositó en mí la confianza absoluta para alcanzar esta meta.

Además quiero agradecerle a mi otra familia Quiroga Torres, a Doña Blanca por sus consejos, preocupación y amor. A Don Pedro por estar pendiente y brindarme su cariño. A Pocho Quiroga gracias por estar atento en cada proceso de mi carrera y por expresarme su cariño de una forma bastante particular. A mi novio Eduardo por su paciencia y dedicación durante estos años de trabajo. A mi cuñada Yudi Quiroga por escucharme durante largas horas y darme su apoyo para no desfallecer y salir adelante, siempre tuviste las palabras pertinentes para motivarme. A Estiven Mejía por escucharme, darme un voto de confianza y por estar atento ante cualquier situación. A Juliana Mejía Quiroga por ser otra motivación y por llenar mis días grises de alegría y mucho amor.

A mi querido director Carlos Eduardo Narváez Cuenca agradezco la oportunidad de trabajar con usted y enseñarme durante estos años no sólo química sino a mejorar el proceso de escritura. Gracias profe por todo el tiempo dedicado a la elaboración de este trabajo, por sus regaños y palabras de fortaleza para ser una excelente profesional. Agradezco cada consejo dado por usted, pues hoy en día me doy cuenta que es fundamental para tener un carácter más fuerte y no dejarme derrumbar ante las diferentes situaciones. Además profe es usted un ejemplo a seguir como persona y como docente, seguramente pondré en práctica cada una de sus enseñanzas.

A mis queridas amigas Luisa Medina y Liliana Melo por siempre ir de las manos juntas y sacar adelante cada uno de nuestros proyectos. En ustedes encontré un apoyo fundamental en los momentos de tristeza, carga académica y laboral. Gracias por estar pendientes durante este último semestre y siempre depositando sus mejores deseos para la culminación de este trabajo. Es para mí un orgullo compartir con colegas como ustedes porque de esa manera se disfruta de esta carrera y se alivianan las cargas ¡Las quiero demasiado!

Finalmente quiero agradecerle al Señor Enrique Flórez y directivas del Colegio Ateneo Integral Ana B de Flórez, por haberme brindado un espacio especial durante este semestre para poder culminar mis asignaturas. Gracias por sus atenciones y preocupaciones durante este tiempo para lograr capacitarme y poder brindarle al colegio mis conocimientos adquiridos.

Dedicatoria

En primer lugar quiero dedicar este trabajo a mis padres Mercedes Sanabria Díaz y César Buesaquillo Pabón quienes son los motores de mi vida y mi felicidad entera, gracias por apoyarme económicamente y moralmente para culminar esta etapa. A mi mamá Mercedes le doy gracias por su cariño, comprensión y palabras de ánimo en los momentos difíciles. En ti tengo el mejor ejemplo de mujer dedicada, luchadora y trabajadora para que esta familia saliera adelante, gracias por permitirme cumplir este sueño y nunca desfallecer ante las dificultades. Mamá este trabajo también es parte de tú esfuerzo y compañía durante estos años, te admiro y me siento orgullosa de ser tu hija. A mi papá César gracias por tú sabiduría, palabras de aliento y compañía para nunca dejarme sola. Siempre recuerdo nuestras largas charlas esperando este momento para celebrar y decir ¡Lo logramos¡ papá siempre serás el amor de mi vida y estaré eternamente agradecida por haberme moldeado tanto personal como profesionalmente. Gracias por llevarme de la mano durante estos años y darme tu voto de confianza.

En segundo lugar dedico este trabajo a mi novio Eduardo Quiroga, amor gracias por ser parte fundamental de este proceso y soñar juntos para alcanzar esta meta. Gracias por tú compañía, sabiduría y apoyo incondicional en los momentos de tristeza y grandes cargas académicas. Gracias por recordarme diariamente lo orgulloso que te sientes de mí y por expresarme tu cariño durante todo este tiempo. Amor gracias por caminar juntos en este camino, este trabajo también es fruto de tu esfuerzo !Te amo infinitamente!

En tercer lugar este trabajo va dedicado a mi pulga Juliana Mejía Quiroga, mi chiquita eres también el motivo de haber llegado hasta aquí. Gracias por tus ocurrencias, risas, compañía y amor, pues todo ello hace que las cargas sean más livianas y logremos alcanzar nuestros sueños. Mi Juli que este sea un espejo para ti y cuando seas más grande logres alcanzar cada una de tus metas sin importar las dificultades. Siempre recuerda que tendrás mi apoyo y que mi sueño es verte triunfar.

Finalmente este trabajo va dedicado a la memoria de mis abuelos Raquel Pabón y Jorge Buesaquillo, quienes hasta en sus últimos días de vida me decían que tenía que ser una gran profesional. Con la culminación de esta etapa cumplo mi palabra ante ustedes y me hubiese gustado tenerlos aquí presentes para darles las gracias por todo su amor y dedicación.

Resumen

La guatila (*Sechium edule*) ha sido de interés en la investigación sobre sus beneficios cuando se utiliza en la prevención de posibles patologías como la hipertensión, la arteriosclerosis y el cáncer. Además, la guatila es reconocida por regular los niveles de glucosa y triglicéridos en sangre. La búsqueda en la base de datos demostró que los beneficios atribuidos a la guatila se deben a la presencia de compuestos fenólicos (CF) y fibra dietaria (FD). Esta revisión de la literatura tuvo como objetivo recopilar información sobre los efectos benéficos de la guatila en la salud, en modelos con líneas celulares humanas y animales, y su relación con CF y FD que contribuyen a la prevención de posibles enfermedades crónicas y degenerativas en el organismo humano. Teniendo esto en cuenta, hay ensayos clínicos *in vitro* e *in vivo* donde evaluaron la relación entre CF y FD con los efectos de la guatila en animales y líneas celulares humanas. Por un lado, los estudios sobre CF se hicieron con extractos de guatila y se encontraron ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, flavonoides y estilbenos. Además, se demostró que el extracto de guatila mejoró patologías como la diabetes, la hipertensión, el cáncer, los niveles de glucosa y los triglicéridos. Por otro lado, los estudios sobre FD incluidos en guatila también tuvieron efectos positivos en la salud. Esta fruta tiene componentes de FD como pectina (ácido galacturónico, arabinosa, galactosa, ramnosa) y hemicelulosa (xilosa, manosa, ácido glucorónico, galactosa y glucosa). La FD de guatila reguló el peso corporal, mejoró la digestión de los animales y tuvo efectos en las células al regular los lípidos. Tras la revisión de literatura se concluyó que los CF y la FD presentes en la guatila son responsables de los posibles efectos en la salud, interviniendo en diferentes actividades metabólicas que contribuyen a la prevención de enfermedades. Si bien el título de esta revisión hace referencia a los efectos generados en el organismo humano, con los resultados obtenidos en los ensayos clínicos con células humanas y animales se abre paso a futuras investigaciones para complementar los datos obtenidos con ensayos en humanos.

Palabras clave: guatila; *Sechium edule*; patologías; compuestos fenólicos; fibra dietaria.

Abstract

Guatila (Sechium edule) has been of interest regarding its benefits when used in the prevention of diseases such as hypertension, arteriosclerosis, and cancer. Guatila is also recognized for regulating glucose and triglyceride levels in blood. Search in database revealed that the benefits attributed to guatila are due to the presence of phenolic compounds (PC) and dietary fiber (DF). The aim of this literature review was collecting information about the beneficial effects of guatila on health and its relationship with PC and DF that contributes to the prevention of chronicles and degenerative diseases in the human body. Bearing this in mind, there are clinical trials *in vitro* and *in vivo* where the relationship between PC and DF to guatila effects in animals and human cell lines. On the one hand, studies on PC using guatila extracts found hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids, flavonoids and stilbenes. Additionally, it was demonstrated that guatila extract improved pathologies such as diabetes, hypertension, cancer, glucose levels, and triglycerides. On the other hand, DF from guatila also had positive effects on health. This fruit has components of DF such as pectin (galacturonic acid, arabinose, galactose, rhamnose) and hemicellulose (xylose, mannose, glucoronic acid, galactose and glucose). The DF of guatila regulated body weight, improved digestion of animals, and had effects on cells by regulating lipids. After this review we, concluded that the PC and DF present in the guatila are responsible for potential effects on health, intervening in different metabolic activities, and contributing in the diseases prevention. Although the title of this review refers to the effects generated in the human organism, with the results obtained in trials with human cells and animals, it opens the way for future research to complement the data obtained with human trials.

Key words: guatila; *Sechium edule*; pathologies; phenolic compounds; dietary fiber.

Contenido

Pág.

Resumen 4

Lista de figuras 8

Lista de imágenes 9

Lista de tablas 10

Introducción 11

Capítulo 1. Características de la guatila 14
1.1 Generalidades de la guatila (*Sechium edule*) 14
1.2 Consumo y producción de guatila en el mundo 15
1.3 Requerimientos para el cultivo de guatila 18
1.4 Características morfológicas de la guatila 19
1.5 Índices de madurez fenológica 20
1.6 Formas de consumo de guatila 21

Capítulo 2. Compuestos fenólicos y estructura química 23
2.1 Estructura química de los compuestos fenólicos 24
2.2 Compuestos fenólicos de la guatila 27
2.2.1 Fenoles simples 27
2.2.2 Ácidos fenólicos: hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos 28
2.2.3 Flavonoides 29
2.2.4 Estilbenos 29

Capítulo 3. Estrategias para la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos en la guatila 31
3.1 Técnicas de separación cromatográficas 31
3.2 Cromatografía capa fina (CCF) o thin layer chromatography (TLC) 32
3.3 Cromatografía liquida de alta eficiencia o high performance liquid chromatography 34

Capítulo 4. Ensayos clínicos en el análisis con compuestos fenólicos presentes en la guatila
4.1 Ensayos clínicos con compuestos fenólicos presentes en la guatila 39
4.2 Ensayos clínicos con compuestos fenólicos puros 52
4.2.1. Ácidos hidroxibenzoicos 52
4.2.1.1 Ácido gálico (AG) 52
4.2.1.2 Ácido protocatecúico (APC) 53
4.2.1.3 Ácido vanílico (AV) 54
4.2.2. Ácidos hidroxicinámicos 55
4.2.2.1 Ácido cafeico (AC) 55
4.2.2.2 Ácido *p*-cumárico (APU) 56
4.2.2.3 Ácido cinámico (CINN) 57

4.2.2.4 Ácido clorogénico (ACG) 58
4.2.3 Flavonoides 59
4.2.3.1 Hesperetina (H) 59
4.2.3.2 Luteonina-7-*O*-glucósido (L7G) 60
4.2.3.3 Quecertina (Q) 61
4.2.3.4 Catequina (CQ) 62
4.2.3.5 Kaempferol (KF) 63
4.2.3.6 Naringenina (NA) 65
4.2.3.7 Rutina (R) 66
4.2.3.8 Vitexina (V) 68
4.2.3.9 Miricetina (MC) 69
4.2.3.10 Apigenina (APG) 70
4.2.3.11 Galangina (GA) 71
4.2.4 Estilbenos 72
4.2.4.1 Resveratrol (R) 72
4.3 Relación de los efectos positivos de la guatila en la salud con respecto a los efectos de los ensayos clínicos con compuestos fenólicos puros 73
4.3.1. Análisis de resultados de los ensayos clínicos 74

Capítulo 5. Fibra dietaria y clasificación 81
5.1 Clasificación de la fibra dietaria 81

Capítulo 6. Estrategias para evaluar fibra dietaria 84
6.1 Método enzimático-gravimétrico 84
6.2 Método enzimático-gravimétrico acoplado a HPLC 85
6.3 Método de aislamiento para las fracciones FDI y FS 85

Capítulo 7. Estudios de fibra dietaria en la guatila 88
7.1 Ensayos clínicos con fibra dietaria presente en guatila 88
7.2 Ensayos clínicos con fibra dietaria pura 93
7.3 Relación de los resultados de los ensayos clínicos realizados tanto con FD en guatila como FD pura 97

Capítulo 8. Conclusiones y recomendaciones 102
8.1 Conclusiones 102
8.2 Recomendaciones 104

Bibliografía 105

Lista de figuras

Pág.

Figura 1. Estructura química del fenol 24
Figura 2. Estructura química base de los fenoles simples 25
Figura 3. Estructura química base de los ácidos fenólicos 25
Figura 4. Estructura química base de los flavonoides 25
Figura 5. Estructura química de las chalconas 26
Figura 6. Estructura química base de los lignanos 26
Figura 7. Estructura química base de las catequinas 26
Figura 8. Estructura química base de los estilbenos 26
Figura 9. Estructura química base de los taninos 27
Figura 10. Estructura química del catecol, resorcinol e hidroquinona 27
Figura 11. Estructura química del ácido protocatecúico, ácido vanílico y ácido gálico 28
Figura 12. Estructura química del ácido cafeico y ácido *p*-cumárico 29
Figura 13. Estructura básica de los flavonoides en la guatila 29
Figura 14. Estructura básica de los estilbenos (*trans*-resveratrol) 30
Figura 15. Sistema para cromatografía TLC 33
Figura 16. Sistema para cromatografía HPLC 34
Figura 17. Instrumentación del detector UV-vis 35
Figura 18. Instrumentación del detector DAD 36
Figura 19. Instrumentación del detector MS 37
Figura 20. Clasificación fibra dietaria 82
Figura 21. Aspectos principales para el método enzimático gravimétrico 84
Figura 22. Método enzimático-gravimétrico acoplado a HPLC 85
Figura 23. Método para las fracciones FDI y FS 86
Figura 24. Resumen de las conclusiones del trabajo 103

Lista de imágenes

Pág.

Imagen 1. Fotografía de la guatila 15
Imagen 2. Distribución de la guatila en el mundo 17
Imagen 3. Fotografía de guatila enramada 18
Imagen 4. Morfología de la guatila 19
Imagen 5. Tipos de guatila 20
Imagen 6. Formas de consumo de guatila 21

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1. Estructuras y características de los compuestos fenólicos 25
Tabla 2. Características de diferentes técnicas de separación cromatográficas 32
Tabla 3. Ensayos clínicos con extractos de guatila (*Sechium edule*) 40
Tabla 4. Cuantificación de compuestos fenólicos presentes en guatila 78
Tabla 5. Ensayos clínicos con fibra dietaria presente en la guatila (*Sechium edule*) 88
Tabla 6. Ensayos clínicos con fibra dietaria pura 93

Introducción

En la actualidad uno de los intereses de la industria de alimentos es la relación entre el consumo de alimentos y los efectos en la salud. Este interés se debe a que los alimentos no sólo aportan al organismo constituyentes nutritivos esenciales (Palanca, Rodríguez, Señoráns & Reglero, 2006) sino que también contienen compuestos bioactivos que, aunque no se caracterizan por tener alguna función nutricional definida, generan un impacto positivo en el estado de salud y en la prevención de patologías (Martínez, Camacho & Martínez 2008).

Existen distintos compuestos bioactivos con estructuras químicas y funciones diferentes (Martínez, Camacho & Martínez, 2008). A modo de ejemplo autores como Drago, López & Sainz (2006) mencionan algunos compuestos bioactivos como los terpenos que tienen en su estructura química al menos una unidad de isopreno y son responsables de algunas coloraciones de los vegetales. También están, los azufrados que tienen en su estructura azufre y determinan una serie de olores característicos en las plantas (Martínez, Camacho & Martínez, 2008). Otros compuestos bioactivos son los compuestos fenólicos (CF) que están formados por un anillo aromático y se identifican por tener propiedades antioxidantes (Yaqub et al., 2016). Dentro de la composición de los compuestos bioactivos también hace parte la fibra dietaria (FD). La FD se define como la combinación de sustancias químicas de distinta composición y estructura, tales como celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina, inulina entre otras, que no son digeridas en el intestino delgado humano (Rodriguez, Jimenez, Fernández, Guillen, & Heredia, 2006; Saura, 2010; Vilcanqui & Vílchez, 2017). Una de las funciones de la FD es proporcionar sustratos para la fermentación por bacterias en el intestino grueso proceso fundamental en la fisiología humana. También, la FD exhibe efectos biológicos en el organismo que hacen posible el equilibrio y mantenimiento de la microflora y mejora el sistema inmune (Saura, 2010).

En la literatura científica existen investigaciones en compuestos CF y en FD, en donde se demuestra que ellos aportan beneficios para la salud (Vilcanqui & Vílchez, 2017; Yaqub et al., 2016). Los CF tienen diferentes beneficios en el organismo humano como antioxidantes, vasodilatadores, reductores de posibles inflamaciones en el organismo entre otros beneficios (Marín & Puerta, 2008; Robbins, 2003; Yaqub et al., 2016). La FD exhibe efectos biológicos en el organismo en el control de colesterol, glucosa, prevención contra el cáncer

de colón y enfermedades cardiovasculares (Saura, 2010; Vilcanqui & Vílchez, 2017).

Existen investigaciones en donde se reportan no solo CF y FD presentes en diferentes frutas y verduras sino también sus efectos positivos en el organismo humano. En la revisión por parte de Quirós et al. (2014) se mencionan diferentes estudios donde se ha evaluado la relación entre CF y la FD con la salud. Es el caso de las cáscaras de piña que fueron reportadas por su alto contenido de FD y además contienen una alta concentración de CF (principalmente miricitina) que exhiben actividad antioxidante en el organismo. También se reportó el mango como una fruta que ayuda a la dieta del organismo humano, ya que cuenta con alto contenido de FD y CF (Quirós et al., 2014). La FD y los CF presentes en el mango generan baja respuesta glucémica en el organismo. Adicionalmente, en la revisión de Rafiq et al. (2018) se menciona que las frutas cítricas como limón, naranja y mandarina son fuentes ricas de CF y FD. En conjunto los CF y la FD para el estudio de las frutas cítricas, presentaron efectos positivos en el organismo al modular el metabolismo de lípidos hepáticos.

Sumado a lo anterior, la guatila (*Sechium edule*) ha sido de interés en diferentes investigaciones, ya que se ha informado que es reconocida por sus beneficios al emplearse en la prevención de enfermedades como la hipertensión, arterioesclerosis y cáncer (Aguiñiga et al., 2017; Avendaño et al., 2010). También hay otros efectos positivos de la guatila que incluyen el control de glucosa y triglicéridos en sangre, control de obesidad, sobrepeso y enfermedad cardiovascular (Lalthansanga & Samanta, 2015; Modgil & Modgil, 2004). Existen algunas investigaciones en guatila que han empleado técnicas *in vitro e in vivo* con la finalidad de valorar los efectos en animales y células humanas por la presencia de CF (Yang et al., 2015) y FD (Lamothe, Srichuwong, Reas & Hamaker, 2015).

En concordancia con lo anterior, existen reportes en las diferentes bases de datos sobre los efectos benéficos de la guatila en animales y líneas celulares humanas ya sea por los CF o por la FD que están presentes, no obstante, la información que se registra en los diversos artículos está dispersa. Razón por la cual, en esta revisión bibliográfica se presenta información sobre los efectos benéficos de la guatila y su relación con los CF y FD.

La presente revisión bibliográfica está estructurada de la siguiente manera: En el **primer capítulo** se describen las características generales de la guatila, su consumo y producción

en el mundo, requerimientos para el cultivo, aspectos morfológicos del fruto, índices de madurez fenológica y formas de consumo de guatila en el mundo. El **segundo capítulo** hace referencia a la estructura química de los CF en general y se presentan algunos ejemplos de las estructuras químicas de los CF que se encuentran en la guatila. El **tercer capítulo** presenta las técnicas de identificación y cuantificación de los CF, esto con el objetivo de conocer las estrategias para evaluar este tipo de compuestos que son referenciados en las diferentes investigaciones con la guatila. El **cuarto capítulo** presenta estudios *in vitro e in vivo* con extractos de guatila en donde se evalúan los efectos de los CF tanto en animales como en células humanas. En el **quinto capítulo** se presentan las generalidades del concepto de FD y la clasificación con base en la solubilidad y viscosidad. El **sexto capítulo** involucra las estrategias para evaluar FD, ya que en las investigaciones realizadas con la guatila se han empleado diferentes métodos para el análisis de este tipo de bioactivo. El **séptimo capítulo** presenta estudios de FD en la guatila y ensayos *in vitro e in vivo* con guatila. Finalmente, en el **octavo capítulo** se presentan las conclusiones y recomendaciones del trabajo.

Capítulo 1. Características de la guatila

La guatila (*Sechium edule*) es una planta perenne de levantamiento con zarcillos, raíz tuberosa y con tallo delgado ramificado. Esta planta tiene hojas anchas con tres a cinco lóbulos, la flor es unisexual y el fruto es carnoso y tiene una sola semilla (Cadena et al., 2007). Este cultivo está ampliamente difundido en el mundo en los continentes de América, Europa, Asia y Oceanía. Esta planta es frecuentemente cultivada por sus frutos, tubérculos y brotes jóvenes y es usada para la alimentación humana y de animales (Moreno, 2010). Cabe mencionar que en la literatura se reporta que el fruto de la guatila es empleado para la alimentación humana, mientras que los tubérculos y los brotes se usan para la alimentación de animales. En este capítulo se va a presentar en primer lugar las generalidades de la guatila, por ejemplo, la descripción del fruto y los diversos nombres que recibe según la región donde es cultivada. En segundo lugar, se mencionan los países del mundo donde se consume la guatila y los valores de producción recientes teniendo en cuenta datos estadísticos proporcionados por las diferentes entidades agropecuarias para el año 2017. En tercer lugar, se presentan los requerimientos del cultivo de la guatila con la finalidad de conocer las condiciones climáticas y la forma de siembra para esta planta. En cuarto lugar, se presentan aspectos morfológicos y ecológicos de la guatila partiendo de su descripción morfológica y ejemplificando las diferentes etapas de crecimiento de esta planta. Finalmente, se presentan algunas formas de consumo de la guatila para la alimentación humana.

1.1 Generalidades de la guatila (*Sechium edule*)

El fruto de guatila puede presentar diferentes coloraciones como verde o amarilla y presencia o no de espinas dependiendo de la variedad de la misma (Lira, 1996). Como se ilustra en la **Imagen 1** la guatila tiene una corteza de coloración verde, con espinas y presenta una pulpa de color blanco con una sola semilla. La guatila hace parte de la familia de las cucurbitáceas que tiene aproximadamente 90 géneros y más de 700 variedades (Moreno, 2010). La guatila recibe diversos nombres dependiendo de las regiones donde es cultivada, por ejemplo, en México es conocida como chayote, en Argentina como papa del aire, en España como choco y en Colombia como cidra, papa pobre o guatila (Lira, 1996; Ramos, 2015).

Imagen 1. Fotografía de la guatila. **Autoría:** Ramos (2015).

La guatila es originaria de México, es consumida y cultivada ampliamente en diferentes países del mundo (Moreno, 2010). Como se evidencia en la **Imagen 2** la guatila está presente en el continente de América, Europa, Asia y Oceanía. Este fruto es un cultivo de interés alimenticio en las culturas de América, Europa, Asia y Australia ya que aporta beneficios para la salud (Lira, 1996). La guatila suele emplearse en la prevención de enfermedades como la hipertensión, arterioesclerosis y cáncer (Aguiñiga et al., 2017; Avendaño et al., 2010; Ramos, 2015). En Colombia este fruto es consumido por personas que viven en las laderas y que conservan las tradiciones de buscar comida sana y económica (Barrera, 1998). Los departamentos de Colombia en donde se cultiva guatila son Antioquia, Santander, Cundinamarca, Boyacá, Cauca y Nariño, tanto para consumo humano como animal (Barrera, 1998; Giraldo, 2012). En otros países la guatila es consumida en mayor proporción por personas que viven en zonas rurales con respecto a las personas que viven en zonas urbanas (Lira, 1996).

1.2 Consumo y producción de guatila en el mundo

La guatila es una planta que se desarrolla en altitudes entre 500 a 2.800 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m) específicamente en zonas con clima húmedo y donde prevalece la vegetación primaria (bosques-selvas) (Avendaño et al., 2010; Barrera, 1998). A continuación, en la **Imagen 2**, se presentan los países donde se consume la guatila con base a cuatro de los cinco continentes del mundo, puesto que no hay información en donde

se reporten específicamente los países de África donde se consume guatila.

El primer continente donde se consume guatila es América, en América del norte la guatila está distribuida en Canadá, Estados Unidos, en Centroamérica está en México, Guatemala, Honduras, Belice, Costa Rica, El Salvador, Jamaica, Haití, Cuba, Puerto Rico, República Dominicana y Nicaragua y en América del sur está en Argentina, Brasil, Bolivia, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa, Perú y Venezuela. El segundo continente es Europa y la guatila está distribuida en Alemania, España, Portugal, Italia, Rusia e Inglaterra. El tercer continente es Asia y la guatila está distribuida en Japón, China, Filipinas, Tailandia e India. El cuarto continente es Oceanía y la guatila está distribuida en Australia.

En la **Imagen 2** también se muestran datos estadísticos recientes específicamente del año 2017 para Costa Rica, Brasil y México, ya que en las diferentes bases de datos son los países que se reportan con mayor producción de guatila. En este orden de ideas Costa Rica tuvo un área de 700 hectáreas sembradas de guatila, con una producción total de 35.000 toneladas (SEPSA, 2018). México tuvo un área 2.396 hectáreas de guatila, con una producción total de 163.469 toneladas (SEDARPA, 2017). Brasil tuvo un área de 1.578 hectáreas sembradas de guatila, con una producción total de 60.342 toneladas (SEAB, 2017). En el caso de Colombia los datos reportados por el Fondo Nacional de Fomento Hortofrutícola (FNFH) no mencionan la producción de guatila de forma individual, sino que hacen un recaudo de hortalizas donde es incluida esta planta. De esta manera a finales del 2017 Colombia tuvo un área de 8.373 hectáreas sembradas de hortalizas y con una producción total de 72.974 toneladas (FNFH, 2017).

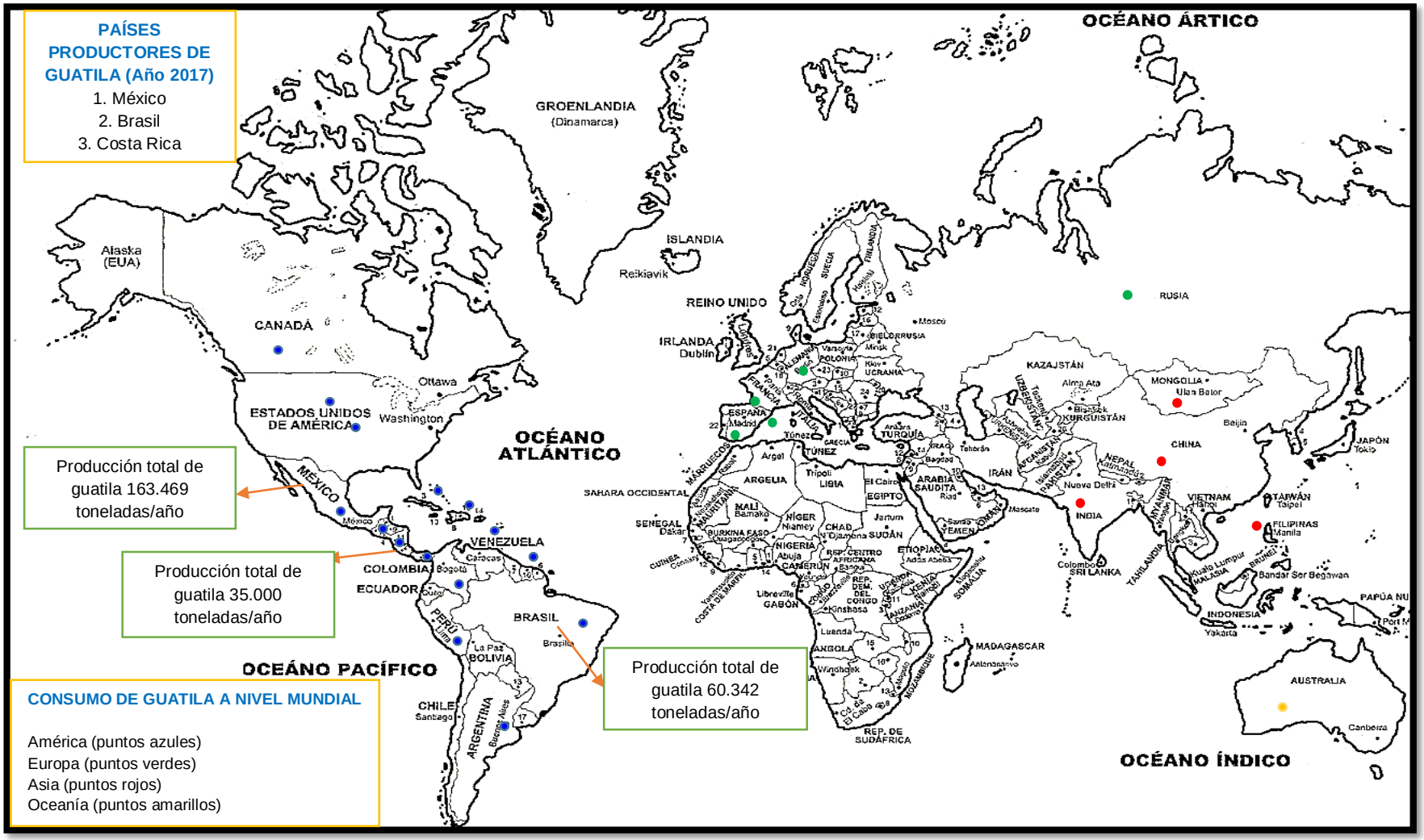


Imagen 2. Distribución de la guatila en el mundo. **Fuente**: SEPSA (2018); SEDARPA (2017) y SEAB (2017).

1.3 Requerimientos para el cultivo de guatila

El cultivo de guatila es perenne y puede darse en cualquier momento del año, según datos suministrados por Bolaños (2001) se estima que una planta de guatila en buen estado produce cerca de 250 frutos por año. Por ejemplo, si se tienen 500 plantas por hectárea significa que la producción sería de unos 125.000 frutos. Con respecto a los periodos de siembra se recomienda realizarla durante los meses de mayor precipitación como los meses de abril, mayo, septiembre y octubre, pero si se dispone de riego, puede hacerse en cualquier época del año (Lira, 1996). Avendaño et al. (2010) indican que las condiciones para la siembra de guatila son: temperatura aproximada de 17 a 32 °C, humedad ambiental de 80 a 90% (g/m^3) y el suelo para el cultivo debe ser ligeramente ácido (pH entre 4,5 a 6,5), bien drenado y rico en humus.

Barrera (1998) indica que el cultivo de la guatila se realiza abriendo en el suelo una cavidad lo suficientemente grande para que permita que las raíces alcancen su máximo desarrollo. Cuando se tiene la cavidad junto a los sitios de siembra se puede preparar una enramada de madera para permitir que la planta trepe rápidamente sobre ella (**Imagen 3**) o también la siembra se puede realizar cerca de un árbol para los mismos propósitos. El cuidado de las plantas de guatila generalmente incluye limpieza o deshierbe (Lira, 1996).

Imagen 3. Fotografía de guatila enramada. **Fuente**: Lira (1996).

1.4 Características morfológicas de la guatila

En la **Imagen 4** se presenta la morfología de la guatila, sus hojas son anchas con tres a cinco lóbulos y pueden medir de 8 a 15 cm de largo. Los tallos son angulosos con surcos y tienen zarcillos de tres ramas finas que brotan opuestas a las hojas (Barrera, 1998; Avendaño et al., 2010). Dependiendo de la especie de guatila el fruto puede presentar coloraciones amarillas y verdes, el fruto se caracteriza por ser una baya piriforme que puede medir hasta 20 cm de largo y de 8 a 12 cm de ancho (Lira, 1996). Otras partes de la guatila son las flores, la semilla y la raíz, las primeras son unisexuales y tienen cinco pétalos de verde a blanco verdoso, la segunda es grande y plana formada principalmente por dos cotiledones blancos y la tercera es tuberosa y ramificada (Lira, 1996).

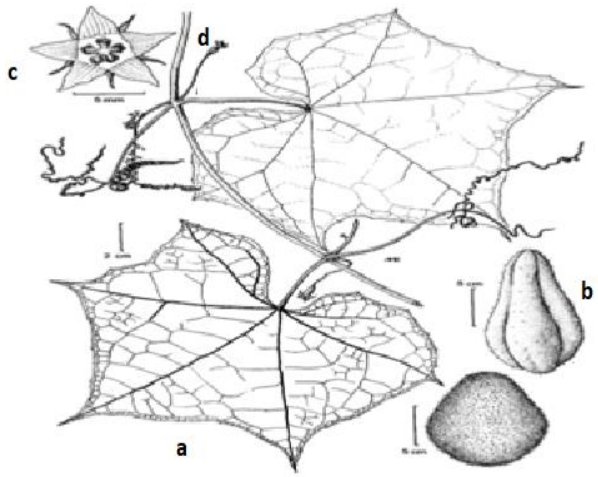


Imagen 4. Morfología de la guatila. (**a**) hojas, (**b**) fruto, (**c**) flor y (**d**) tallo.
Fuente: Lira (1996).

Otra característica a tener en cuenta sobre la guatila es que presenta polinización cruzada (transporte de polen de una planta a otra) lo que permite la existencia de diferentes variedades de esta planta con diversas formas, tamaños, colores, texturas y presencia o no de espinas (Avendaño et al., 2010). Todo ello, depende de la localización de la cosecha de esta planta por lo que la variación se convierte en un proceso dinámico y continuo que favorece la variación intraespecífica (Avendaño et al., 2010; Barrera, 1998). En la investigación realizada por Avendaño et al. (2010) se hallaron dos tipos de guatila como tipos cultivados (amarillas y verdes) y tipo silvestre (**Imagen 5**). La guatila de tipo amarillo

por lo general es lisa, sin espinas, con cinco surcos longitudinales; mientras que las de tipo verde y silvestre tienen más surcos longitudinales y en algunos frutos hay presencia de espinas.

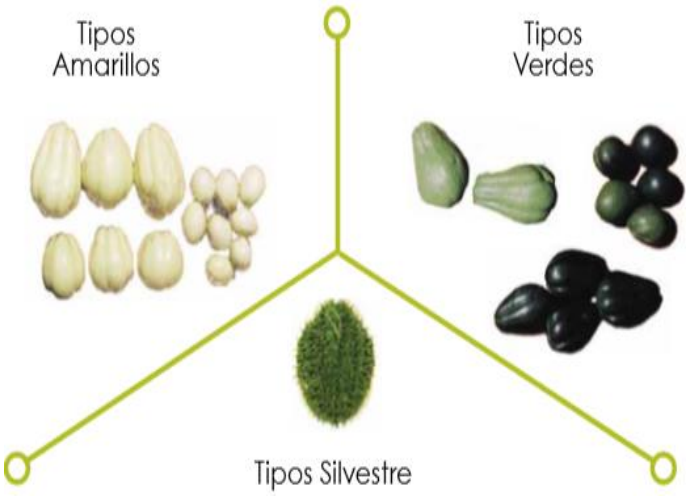


Imagen 5. Tipos de guatila. **Fuente:** Avendaño et al. (2010).

1.5 Índices de madurez fenológica de la guatila

Con respecto a la cosecha de la guatila para Avendaño et al. (2010) y Bolaños (2001) la madurez fenológica de este fruto se alcanza en la mayoría de las especies a los 18 ± 2 días después de antesis (periodo de floración) y corresponde a un fruto de tamaño medio. Existen tres tipos de índices utilizados para definir el estado de desarrollo de la guatila e identificar el estado en donde el fruto ha alcanzado su máxima calidad sensorial que lo hacen apto para el consumo humano (Avendaño et al., 2010). El primer índice es el cronológico el cual considera el tiempo y desarrollo del cultivo desde los días de plantación y floración de la planta. El segundo índice es el físico el cual considera las características como la forma, tamaño, color y rugosidad de la guatila, este índice se evidencia cuando el fruto es tierno con tamaño entre 10 a 15 cm. Finalmente, el tercer índice es el químico el cual considera los cambios en la composición química de algunas sustancias de la planta como azúcares, ácidos orgánicos y pigmentos en el cual el fruto ya es apto para consumo humano. Si bien, Avendaño et al. (2010) y Bolaños (2001) mencionan los índices para evaluar la madurez fenológica de la guatila, no se establece un seguimiento de los días en los que ocurre cada etapa. Además, no existen referencias que definan el índice de cosecha más adecuado, ya que todo depende de las condiciones del suelo, clima y región donde se

encuentre la especie.

Para conocer más información detallada sobre la madurez fenológica de la guatila desde la siembra hasta el consumo del fruto se presenta un ejemplo de caso por parte de Barrera & Ceron (1999) en condiciones de Palmira-Colombia a 1.050 m.s.n.m. La primera etapa hace referencia a la siembra de la semilla de guatila hasta alcanzar la planta con flores, en esta etapa se encontró que a los 15 días después de la siembra salen las primeras hojas y se distinguen los zarcillos. En la segunda etapa entre los 15 a 70 días continúa todo el desarrollo de la estructura vegetativa de la planta como tallos, hojas y a los 80-90 días aparecen las estructuras reproductivas. La tercera etapa es de la flor fecundada al fruto, en este proceso en la flor fecundada el ovario comienza a crecer hasta convertirse en un fruto maduro entre los 90 a 120 días.

Para concluir este segmento, una vez se conocen los índices de madurez fenológica de la guatila y un ejemplo sobre la fenología de la misma, es importante mencionar que la recolección de los frutos puede hacerse dentro de los 90 a 120 días luego de la siembra y debe hacerse cada tres días (Avendaño et al., 2010; Bolaños, 2001).

1.6 Formas de consumo de guatila

En la actualidad, la parte de la guatila que se emplea para el consumo humano según la literatura es el fruto y tiene diferentes modos de preparación (Ramos, 2015). El consumo de guatila como se presenta en la **Imagen 6** puede ser en forma de guiso, arequipe, jugo y sopa (Avendaño et al., 2010; Barrera, 1998; Ramos 2015).

Imagen 6. Formas de consumo de guatila**.**
Fuente: Avendaño et al. (2010); Barrera (1998) Ramos (2015).

Para concluir este capítulo, la guatila es una planta que se desarrolla en altitudes de 500 a 2.800 m.s.n.m específicamente en zonas con clima húmedo. La guatila tiene diferentes variedades debido a su polinización cruzada y se pueden encontrar frutos de colores amarillos y verdes con o sin espinas. La parte de la guatila que es empleada para la alimentación humana es el fruto, el cual es consumido en América, Asia, Europa y Oceanía. Adicionalmente, como reporta la literatura los países de mayor producción son Costa Rica (35.000 toneladas), México (163.469 toneladas) y Brasil (60,342 toneladas), valores reportados en cuanto a la producción de guatila para el año 2017.

Capítulo 2. Compuestos fenólicos y estructura química

Las plantas sintetizan una gran variedad de compuestos secundarios que contienen un grupo fenol (Ávalos & Urria, 2011). Estos compuestos reciben el nombre de CF o polifenoles y son la principal clase de metabolitos secundarios de las plantas (Isaza, 2007; Ávalos & Urria, 2011; Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila & Bravo, 2014). Durante la revisión bibliográfica se evaluó la pertinencia entre emplear el término de CF o polifenoles. Martínez, Periago & Ros (2000) y Tsimogiannis & Oreopoulou (2019) indican desde sus estudios que químicamente los CF son sustancias que poseen uno o más anillos aromáticos y con uno o más grupos hidroxilo. El término polifenoles se describe más desde el enfoque biológico de cómo intervienen en diferentes rutas metabólicas (Tsimogiannis & Oreopoulou, 2019). Teniendo en cuenta los aportes de Martínez, Periago & Ros (2000) y Tsimogiannis & Oreopoulou (2019) se evidencia que cualquier término es apropiado, ya que es importante tener en cuenta el enfoque químico y biológico para comprender las funcionalidades de estos metabolitos secundarios. De esta manera, en el presente trabajo se decide emplear el término CF.

Los CF al tener diferentes estructuras químicas cumplen con múltiples funciones, por ejemplo, algunos son responsables de las coloraciones de plantas y frutas (Martínez, Periago & Ros, 2000), en tanto que otros protegen a la planta contra microorganismos y ante situaciones de estrés de las células vegetales (Martínez, Periago & Ros, 2000; Tomas-Barberán, 2003). Las funciones mencionadas anteriormente pueden variar según la especie vegetal, la parte de la planta considerada y la estructura química que posean los CF (Quiñones, Miguel & Aleixandre, 2012).

En este capítulo se va a presentar en primer lugar la estructura química general de los CF partiendo de la clase y las características principales. En segundo lugar, se describen las estructuras químicas de algunos CF que se encuentran en la guatila según la revisión bibliográfica.

2.1 Estructura química de los compuestos fenólicos

En la naturaleza existen diferentes CF que presentan una estructura química básica caracterizada por la presencia de uno o varios anillos aromáticos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014). La diferencia de las estructuras químicas de los CF se define en función del número de anillos aromáticos que poseen y de los elementos estructurales o sustituyentes que presentan estos anillos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Villa & Bravo, 2014).

En la **Figura 1** se presenta la estructura del fenol, este CF tiene como estructura molecular básica un anillo aromático, además tiene un grupo hidroxilo como sustituyente. Es importante aclarar que el objetivo de la **Figura 1** es presentar la estructura química en común de los CF y sus derivatizaciones. Sin embargo desde el punto de vista biológico los fenoles de bajo peso molecular no tienen función biológica en el organismo porque son tóxicos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Villa & Bravo, 2014).

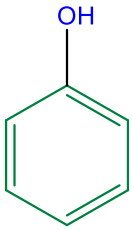


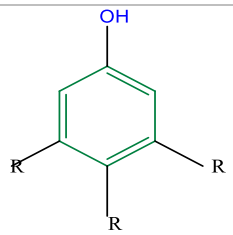
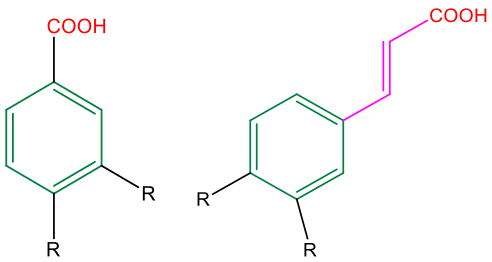
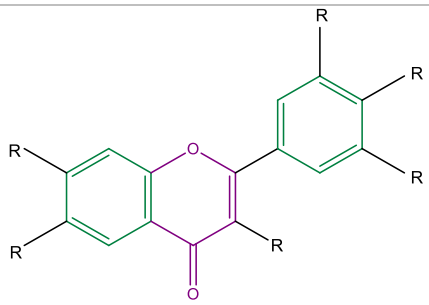
Figura 1. Estructura química del fenol.

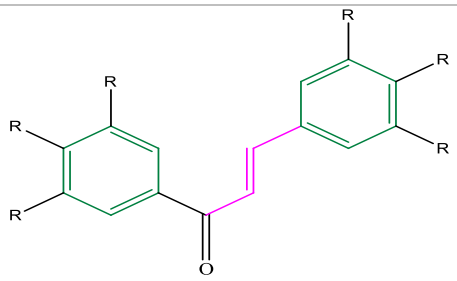
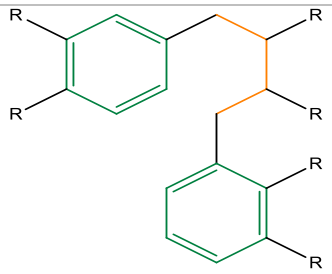
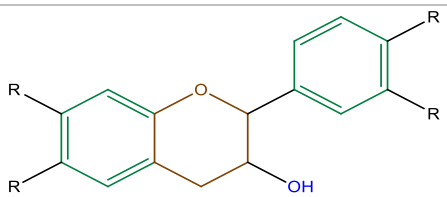
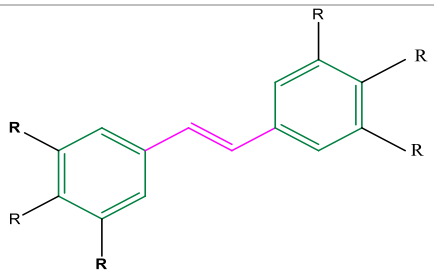
Los CF comprenden una amplia variedad de moléculas que incluyen desde compuestos altamente polimerizados, hasta moléculas simples con un solo anillo aromático en su estructura (Sakakibara et al., 2003; Tsimogiannis & Oreopoulou, 2019). En la **Tabla 1** se presentan las estructuras químicas y las características de los CF más representativos que son reportados en la literatura. Para facilitar la presentación de las estructuras químicas se hace uso de un código de colores, el cual permite identificar cada componente o elemento del CF. El presente código está organizado de la siguiente manera:

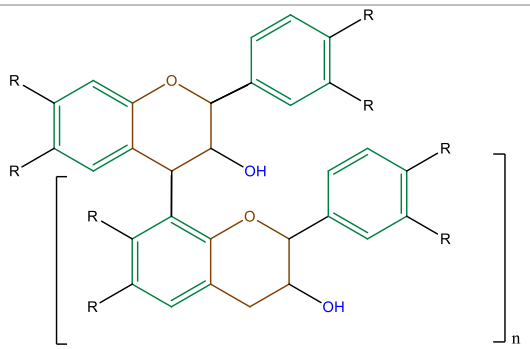
- Verde (anillo aromático)
- Azul (grupos hidroxilo)
- Morado (anillo de pirona)
- Rojo (ácido carboxílico)

- Rosado (grupo alifático insaturado)
- Naranja (cadena lateral)
- Café (dihidropirano)
- R (cualquier grupo sustituyente)

Tabla 1. Estructuras y características de los compuestos fenólicos.

Clase-estructura y característica	Estructura química
Fenoles simples (C_6): Son estructuras que contienen al menos un grupo fenol. Tienen dos o tres grupos hidroxilo como sustituyentes en el anillo aromático.	 **Figura 2**. Estructura química base de los fenoles simples.
Ácidos fenólicos (C_1-C_6 y C_3-C_6): Existen dos tipos de ácidos fenólicos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos. Los ácidos hidroxibenzoicos son compuestos que presentan un grupo carboxílico y grupos hidroxilo en un anillo aromático. Los ácidos hidroxicinámicos están formados básicamente por un grupo alifático insaturado y un ácido carboxílico en el extremo alifático.	 **Figura 3**. Estructura química base de los ácidos fenólicos. Ácido hidroxibenzoico (izquierda) y ácido hidroxicinámicos (derecha).
Flavonoides (C_6-C_3-C_6): Están formados por dos anillos aromáticos que pueden estar conectados con el anillo de pirona. Todos los flavonoides son estructuras hidroxiladas en sus anillos aromáticos y se pueden diferenciar por el número y la posición de los grupos hidroxilos.	 **Figura 4**. Estructura química base de los flavonoides.

Chalconas (C_6-C_3-C_6): Son flavonoides que tienen una cadena lineal para conectar los anillos aromáticos en lugar del anillo pirona. Las chalconas se diferencian por la sustitución en los anillos aromáticos.	 **Figura 5**. Estructura química de las chalconas.
Lignanos: Son dímeros de unidades de fenilpropano **C_6-C_3** enlazadas por el átomo central de su cadena lateral **C_8-C_8**. Los lignanos se diferencian por la sustitución en los anillos aromáticos.	 **Figura 6**. Estructura química base de los lignanos.
Catequina: Posee dos anillos aromáticos y un heterociclo dihidropirano con un grupo hidroxilo sobre el carbono 3. Las catequinas se diferencian por el número y la posición de los grupos hidroxilos como sustituyentes.	 **Figura 7**. Estructura química base de las catequinas.
Estilbenos (C_6 -C_2 -C_6): Son un grupo de fenilpropanoides caracterizados por tener un esqueleto de 1,2-difeniletileno. Se diferencian por los grupos sustituyentes que hay en los dos anillos aromáticos. Existen dos formas isómeras: el trans-1,2-difeniletileno y el cis-1,2-difeniletileno.	 **Figura 8**. Estructura química base de los estilbenos.

Taninos condensados $(C_6)n$, $(C_6-C_3)n$ y $(C_6-C_3-C_6)n$ (n>12): Los taninos son CF más o menos complejos que poseen masa molecular relativamente elevada. Presentan más de un anillo aromático y carecen de cualquier grupo funcional basado en nitrógeno en su expresión estructural más básica.	 **Figura 9**. Estructura química base de los taninos.

Adaptado de: Sakakibara et al. (2003) y Tsimogiannis & Oreopoulou (2019).

La **Tabla 1** permite reconocer las diferentes estructuras químicas de los CF presentes en la naturaleza. Adicionalmente cada una de esas estructuras puede presentar variaciones según los elementos sustituyentes que se encuentren en los anillos aromáticos, dando lugar a las subclases. Lo anterior, es importante de comprender ya que muchos de los CF presentes en la guatila tienen clase, subclase y compuestos individuales.

2.2 Compuestos fenólicos de la guatila

2.2.1 Fenoles simples

Los fenoles simples se caracterizan por tener un anillo aromático, este anillo tiene por lo menos un grupo hidroxilo como sustituyente (Martínez & Periago, 2000). Algunos de los fenoles simples encontrados en la guatila son el catecol, el resorcinol y la hidroquinona (**Figura 10**) (Sulaiman & Ooi, 2013; Zhang & Zhang, 2010).

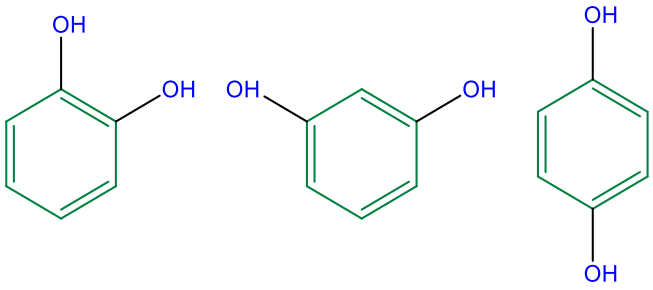


Figura 10. Estructura química del catecol (izquierda), resorcinol (centro) e hidroquinona (derecha).

2.2.2 Ácidos fenólicos: hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos

Los ácidos fenólicos se clasifican en ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos, tienen como estructura química una cadena lateral y el anillo aromático tiene como sustituyente el grupo funcional ácido carboxílico unido o no directamente al anillo aromático (Urías, Heredia, Muy- Rangel & Niño, 2016). Algunos de los ácidos hidroxibenzoicos encontrados en la guatila son el protocatecúico, vanílico y gálico, estos ácidos se hallaron en estado libre (**Figura 11**) (Yang, et al., 2015).

De esta forma como se presenta en la **Figura 11** los tres ácidos tienen en común la presencia del ácido carboxílico en el anillo aromático, sin embargo, se diferencian porque el ácido protocatecúico tiene en total dos grupos hidroxilo como sustituyentes en el anillo aromático, el ácido vanílico tiene como sustituyentes un grupo metoxilo y un hidroxilo, finalmente el ácido gálico tiene en total tres sustituciones con grupo hidroxilo en el anillo aromático.

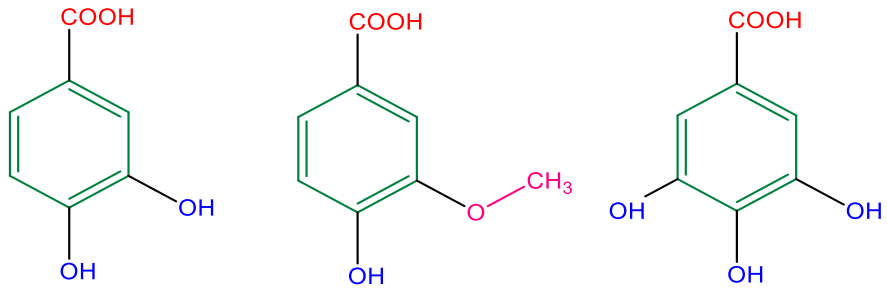


Figura 11. Estructura química del ácido protocatecúico (izquierda), ácido vanílico (centro) y ácido gálico (derecha).

Por otro lado, los ácidos hidroxicinámicos están formados básicamente por un grupo alifático insaturado y un ácido carboxílico en el extremo alifático. La diversidad de ácidos hidroxicinámicos está dada por el número y la posición de los grupos hidroxilo en el anillo aromático (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila & Bravo, 2014). En la guatila por ejemplo se han identificado ácidos hidroxicinámicos libres como cafeico y *p*-cumárico (**Figura 12**) (Lombardo et al., 2014). La diferencia entre estos dos ácidos es que el ácido cafeico tiene dos grupos hidroxilos como sustituyentes en el anillo aromático, y el ácido *p*-cumárico presenta un grupo hidroxilo como sustituyente en el anillo aromático.

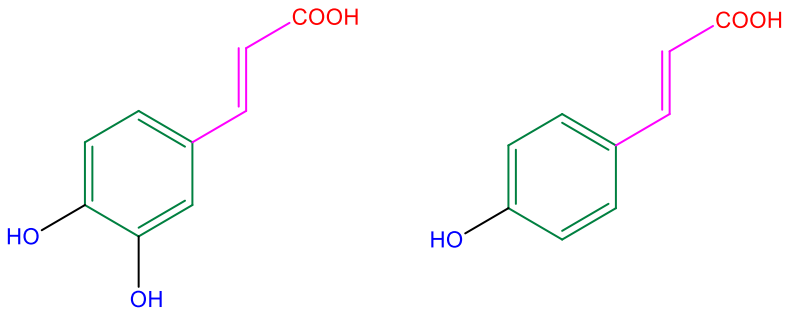


Figura 12. Estructura química del ácido cafeico (izquierda) y ácido *p*-cumárico (derecha).

2.2.3 Flavonoides

Los flavonoides se caracterizan por tener en común dos anillos aromáticos unidos a través de un anillo de pirona, estos anillos pueden tener múltiples sustituciones como se presenta en la **Figura 13**. En investigaciones como la de Ibarra et al. (2010) y Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009) se han encontrado diversos flavonoides en la guatila como quercetina, naringenina, galato de epilocatequina, apigenina , hesperetina, rutina, kaempferol, luteolina, miricetina y vitexina. Los flavonoides se pueden diferenciar porque los anillos aromáticos tienen diversos grupos funcionales como sustituyentes.

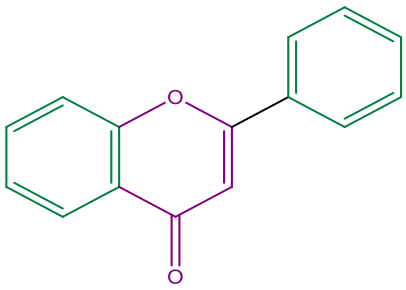


Figura 13. Estructura básica de los flavonoides en la guatila.

2.2.4 Estilbenos

Los estilbenos son un pequeño grupo de fenilpropanoides caracterizados por tener un esqueleto de 1,2-difeniletileno (Cassidy, Hanley & Lamuela, 2000). La mayoría de los estilbenos vegetales tienen como unidad básica el *trans*-resveratrol (3,5,4'-trihidroxi- *trans*-estilbeno) como se presenta en la **Figura 14**.

Los diferentes estilbenos se pueden diferenciar por los diferentes grupos funcionales (sustituyentes) que están en los anillos aromáticos. Un anillo aromático suele tener dos grupos hidroxilos en posición *meta* como sustituyentes, mientras que el otro anillo aromático puede tener diferentes grupos funcionales hidroxi y metoxi en posición *orto*, *meta* o *para* como sustituyentes (Cassidy, Hanley & Lamuela, 2000). En la investigación realizada por Yang et al. (2015) se halló resveratrol en el extracto de guatila.

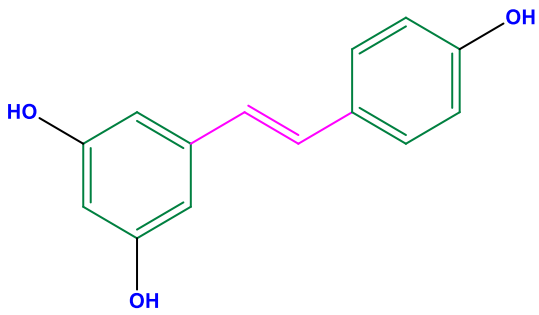


Figura 14. Estructura básica de los estilbenos (*trans*-resveratrol).

Para concluir este capítulo, los CF se caracterizan por presentar una estructura química básica de uno o varios anillos aromáticos. Los CF tienen diferentes estructuras químicas y se van a diferenciar en función del número de anillos aromáticos que poseen, cadenas de carbonos, número de átomos de carbono y los sustituyentes que presentan estos anillos por grupos funcionales como hidroxilo, ácido carboxílico, metoxilo entre otros. En la guatila se han encontrado fenoles simples, ácidos fenólicos como hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, flavonoides y estilbenos. De los CF hallados en guatila como ácidos fenólicos, flavonoides y estilbenos en la literatura se reportan efectos positivos de estos CF en la salud. Sin embargo en cuanto a los fenoles simples no se reporta en la literatura científica su actividad biológica en el organismo.

Capítulo 3. Estrategias para la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos en la guatila

Los CF presentes en la guatila se han identificado y cuantificado mediante diferentes técnicas analíticas. Las técnicas de separación cromatográfica que se reportan en las investigaciones para los CF en guatila son capa fina (TLC) y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) acoplada a diferentes detectores. Sin embargo, es importante mencionar que la técnica TLC es muy básica para la identificación de CF de alto peso molecular. Mientras que la técnica HPLC puede tener un poder de separación superior al de una columna simple, debido a los diferentes detectores que están acoplados. Por esta razón, en este capítulo se va a presentar en primer lugar las condiciones generales de las técnicas de separación cromatográfica en cuanto al proceso de separación. En segundo lugar, se describen las condiciones instrumentales de las técnicas de TLC y HPLC empleados en la identificación y cuantificación de CF en la guatila.

3.1 Técnicas de separación cromatográficas

La cromatografía se define como una técnica de separación en la cual los componentes de una mezcla se distribuyen entre dos fases. Las dos fases consisten en una fase móvil (líquida o gaseosa) y un lecho cromatográfico que contiene la fase estacionaria que puede ser líquida o sólida (Forgács & Cserháti, 2003). En este sentido, la separación de los componentes en una mezcla es consecuencia de las diferencias entre velocidades de desplazamiento por parte de los componentes de la mezcla a través de la interacción con las fases (Forgács & Cserháti, 2003). El proceso de separación cromatográfica de los componentes en una muestra está determinado por la interacción durante el movimiento de los componentes de una muestra arrastrados por la fase móvil a lo largo de la fase estacionaria (elución), generándose de esta forma la separación por diferencia en la distribución de los componentes de la mezcla (Forgács & Cserháti, 2003).

La fase móvil y fase estacionaria de las técnicas de separación cromatográfica pueden variar dependiendo del análisis que se quiera hacer de la muestra (Coskun, 2016). Los factores a tener en cuenta para la selección de las fases incluyen características moleculares como adsorción (líquido-sólido), partición (líquido-sólido, líquido-liquido),

afinidad o polaridad y diferencias entre los tamaños moleculares (Coskun, 2016; Nielsen, 2010). Sobre la base de la anterior perspectiva en la **Tabla 2** se presentan algunos ejemplos de estrategias en la selección de las fases dependiendo el análisis que se requiera:

Tabla 2. Características de diferentes técnicas de separación cromatográfica. **Adaptado:** Nielsen (2010).

Técnica de separación cromatográfica	**F. Móvil /F. Estacionaria**	**Tipo de interacción con soluto**
Cromatografía gas-líquido	gas/líquido	Tamaño molecular/polaridad
Cromatografía gas-sólido	gas/sólido	Tamaño molecular/polaridad
Cromatografía fase reversa	líquido polar/líquido no polar líquido polar/sólido no polar	Tamaño molecular/polaridad
Cromatografía fase normal	líquido no polar/líquido polar líquido no polar/sólido polar	Tamaño molecular/polaridad
Cromatografía intercambio iónico	líquido polar/sólido iónico	Carga molecular

Lo mencionado anteriormente, permite diferenciar algunas características de las técnicas cromatográficas que se reportan en los diferentes artículos para la identificación y cuantificación de CF presentes en la guatila. A continuación, se presenta el proceso de separación e instrumentos empleados en las técnicas de separación cromatográfica por TLC y HPLC descritas en las diferentes investigaciones realizadas con guatila.

3.2 Cromatografía capa fina (CCF) o thin layer chromatography (TLC)

La técnica de TLC es un tipo de cromatografía líquida que permite identificar y purificar los compuestos presentes en diferentes muestras (Martínez & Periago, 2000). El montaje y las condiciones de la técnica de TLC que se han realizado en los estudios con guatila se presentan en la **Figura 15** y se describen de la siguiente forma:

*Placas de TLC: En las investigaciones con guatila se reporta el procedimiento con una fase estacionaria polar (comúnmente sílica gel) adherida a una superficie sólida (Santiago & Strobel, 2013; Sulaiman & Ooi, 2013; Aguiñiga et al., 2017).

*Cámara o cubeta de TLC: La cámara o cubeta cromatográfica puede ser de vidrio y tiene la finalidad de mantener un ambiente uniforme en el interior para el desarrollo adecuado de las manchas en la placa de TLC.

*Fase móvil o eluyente: Comprende una mezcla de solventes que se depositan en la parte inferior de la cubeta cromatográfica cuya finalidad es transportar los solutos a través de la fase estacionaria. Para los análisis con guatila se han empleado fases móviles como el sistema ternario de *n*-butanol, ácido acético y agua (Sulaiman & Ooi, 2013), también se ha empleado fase móvil de sistema binario con ácido acético y metanol (Aguiñiga et al., 2017). La elección de la fase móvil se basa en la polaridad de la mezcla de solventes y se elige de acuerdo a la mezcla de compuestos que se desea separar (Santiago & Strobel, 2013).

Figura 15. Sistema para cromatografía TLC. **Fuente:** Forgács & Cserháti (2003).

Ahora bien, el procedimiento general de la técnica de TLC consiste en aplicar la muestra en la parte inferior de la placa y luego se sumerge la placa en un pequeño volumen de la fase móvil (Santiago & Strobel, 2013). De esta forma, a medida que la mezcla de disolventes asciende por capilaridad en la fase estacionaria va arrastrando los componentes apolares y aquellos más polares son retenidos por la fase estacionaria, este sistema de fase estacionaria polar y fase móvil apolar se ha empleado en las diferentes investigaciones con extracto de guatila, en cuyo caso la separación cromatográfica es fase normal (Aguiñiga et al., 2017).

Una vez que se presenta la interacción de los componentes con las fases se generan bandas cromatográficas. En algunos casos las bandas no se pueden observar a simple vista por lo se emplean algunos métodos para visualizarlas (Santiago & Strobel, 2013). Por ejemplo, se pueden utilizar reveladores como yodo o permanganato de potasio donde ocurre una reacción química entre el reactivo revelador y los componentes separados para

desarrollar coloración en las manchas (Santiago & Strobel, 2013). Otro procedimiento consiste en llevar la placa resultante bajo luz UV a las longitudes de onda de 254 y 365 nm para observar el número de compuestos que fluorescen (Santiago & Strobel, 2013).

3.3 Cromatografía liquida de alta eficiencia (CLAE) o high performance liquid chromatography (HPLC)

Esta técnica ha demostrado ser la mejor herramienta en la separación e identificación de CF en varios alimentos (Martínez & Periago, 2000).

En la **Figura 16** se presentan algunas partes del montaje de la técnica cromatográfica HPLC. Una primera parte del sistema de HPLC consta de una fase móvil la cual deber ser líquida. Una segunda parte es la bomba, la cual es considerada como el corazón de la técnica, debido a que esta bomba tiene la función de suministrar un flujo constante de la fase móvil a través de la columna (Forgács & Cserháti, 2003). La tercera parte del sistema es el inyector que se coloca al lado de la bomba y permite introducir la muestra en el flujo del eluyente. La cuarta parte del sistema es la columna, que tiene la fase estacionaria la cual queda soportada en el interior de la columna (Forgács & Cserháti, 2003). En la columna de HPLC ocurre el proceso de separación de los componentes de una mezcla al interactuar con la fase estacionaria. El proceso de separación se da por la naturaleza química de los componentes (polar-apolar, características de afinidad, cargas entre otras) y las características de la fase móvil y estacionaria (Forgács & Cserháti, 2003). En los estudios realizados con guatila se han empleado fases estacionarias en fase reversa que incluyen C-18 (Phenomenex, Altima HP), YMC (Thermo Scientific) y RP-18 (Mightysil) (Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla, 2009; Ibarra et al., 2010; Wu et al., 2014; Yang et al., 2015; Lombardo et al., 2014 y Salazar et al., 2017). La quinta parte es el detector, que permite identificar y cuantificar los componentes de una mezcla. Finalmente, la sexta parte del sistema es el software que recopila y analiza los resultados suministrados por los detectores de cromatografía (Forgács & Cserháti, 2003).

Figura 16. Sistema para cromatografía HPLC. **Fuente:** Forgács & Cserháti (2003).

En las investigaciones de Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009); Ibarra et al. (2010); Wu et al. (2014); Yang et al. (2015); Lombardo et al. (2014) y Salazar et al. (2017) algunos de los detectores empleados en el análisis de CF presentes en la guatila son:

Detector ultravioleta y visible (UV-vis): La técnica de HPLC-UV-Vis ha sido una técnica de amplio uso y está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (entre 160 a 780 nm) por una molécula (Swartz, 2010). Como se muestra en la **Figura 17** el detector UV-vis emplea una lámpara de deuterio en combinación con tungsteno como fuente de luz. La luz de la lámpara brilla sobre la rejilla de difracción y se dispersa según la longitud de onda. Consecuentemente, una vez la luz de referencia (espejos medios) es dividida en la celda de flujo, se puede determinar la intensidad entre la parte posterior y la parte delantera de la celda de flujo (García & Yusá, 2016). Finalmente, la relación existente entre la señal producida y la concentración de una sustancia permite el análisis cuantitativo.

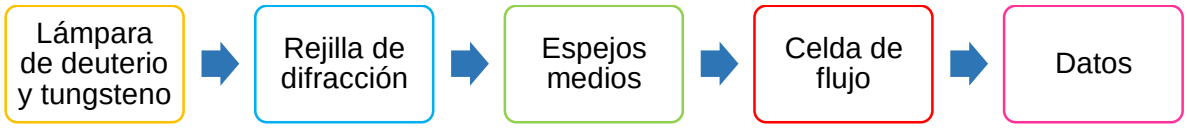


Figura 17. Instrumentación del detector UV-vis.
Fuente: García & Yusá (2016).

Cuando una radiación incide sobre una muestra se produce una absorción parcial de esta radiación lo que produce una transición entre los niveles de energía de la sustancia de interés, y el resto de la radiación es transmitida (Swartz, 2010). De esta forma, la cantidad de radiación absorbida o transmitida es proporcional a la concentración de la muestra con lo que también se puede hacer un análisis cuantitativo (Swartz, 2010). El detector UV-vis en las investigaciones en guatila fue empleado por Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009); Wu et al. (2014); Yang et al. (2015); Salazar et al. (2017) y Aguiñiga et al. (2017).

Detector con arreglo de diodos (DAD): La técnica DAD consiste en un arreglo bidimensional de diodos y un prisma que se utiliza para detectar diferentes compuestos orgánicos a un amplio rango de longitudes de onda (García & Yusá, 2016). La instrumentación del DAD como se muestra en la **Figura 18** consta en primer lugar de dos fuentes de radiación (deuterio y tungsteno) para la zona UV y visible que permite el paso de luz a la celda de flujo que contiene la muestra de interés. En segundo lugar, está la celda de flujo en la cual

pasa la luz que es dispersada por la rejilla de difracción. La cantidad de luz dispersada se estima para cada longitud de onda. Finalmente, el detector convierte el voltaje leído en señal digital y transmite los datos al ordenador (García & Yusá, 2016). Con este detector se adquieren los datos de absorbancia sobre el intervalo total UV-visible y, por lo tanto, proveen al analista varias longitudes de onda seleccionadas y espectros de los picos eluidos. El detector DAD en las investigaciones en guatila fue empleado por Ibarra et al. (2010) y Lombardo et al. (2014).

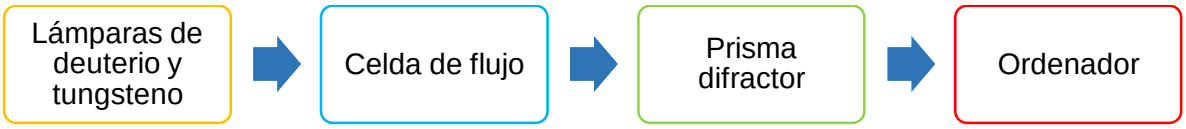


Figura 18. Instrumentación del detector DAD.
Fuente: García & Yusá (2016).

Detectores de espectrometría de masas (MS): La técnica de MS está basada en la obtención de diferentes iones que se forman al atravesar campos eléctricos y magnéticos (Romero, Fernández, Plaza, Garrido & Martínez, 2007). Como se muestra en la **Figura 13** en primer lugar hay un sistema de entrada de la muestra que permite la volatilización de la misma. En segundo lugar, está la fuente de ionización que convierte los componentes de la muestra en iones proceso que se logra a partir del bombardeo con electrones, moléculas o fotones. En tercer lugar, está el analizador de masas cuya función es la separación de los iones en función de la relación entre masa/carga (*m/z*). Una de las características fundamentales de los analizadores es que sean capaces de distinguir entre diferencias muy pequeñas de masa (Romero, Fernández, Plaza, Garrido & Martínez, 2007). Como mencionan Abián, Carrascal & Gay (2008) existen diferentes analizadores de masa como:

- Cuadrupolo: Consiste en cuatro barras paralelas a las que se aplica un potencial de corriente continua y de radiofrecuencia que crean en su interior un campo denominado cuadrupolar. Los iones generados atraviesan longitudinalmente las barras para incidir en el detector. Estos iones que ingresan al analizador van a tener un valor con relación a su *m/z*.

- Tiempo de vuelo (TOF): Hace referencia a que los iones acelerados por un campo eléctrico adquieren distintas velocidades según el valor de su relación m/z y por

tanto tardan distinto tiempo en recorrer una determinada distancia. A diferencia del analizador cuádruplo, el TOF detecta en una escala de tiempo (tiempo de vuelo) el paquete completo de iones procedente de la fuente.

- Trampa de iones: Permite el encierro de iones dentro de una cámara de pequeño tamaño empleando campos eléctricos. Este analizador almacena, selecciona y analiza los iones formados.

Teniendo en cuenta lo anterior, los analizadores pueden trabajar en dos modalidades según el estudio que se requiera. Por un lado la modalidad full scan que consiste en hacer barridos entre dos masas para tener una información total del contenido de la muestra a analizar. Por otro lado la modalidad SIM que consiste en una monitorización selectiva de iones característicos de los compuestos presentes en una muestra (Romero, Fernández, Plaza, Garrido & Martínez, 2007).

Atendiendo a la **Figura 19** , en cuarto lugar están los detectores encargados de convertir el haz de los iones en una señal eléctrica que puede ser procesada y almacenada, a partir de ese dato se calcula la relación de masa carga (Romero, Fernández, Plaza, Garrido & Martínez, 2007).

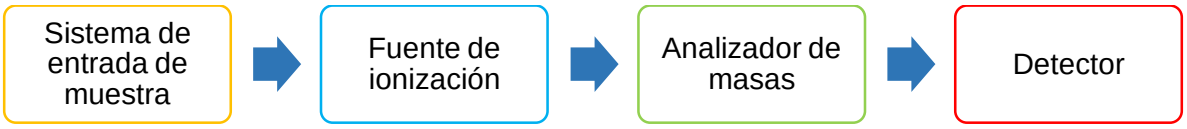


Figura 19. Instrumentación del detector MS.
Adaptado de: Abián, Carrascal & Gay (2008).

El procedimiento general de la técnica HPLC consiste en que la fase móvil interactúa constantemente con la fase estacionaria y con los analitos de interés. Cuando se introduce la muestra en la corriente de la fase móvil cada componente de la mezcla se desplazará a lo largo del sistema con velocidades diferentes. Esas velocidades están influenciadas por la interacción de los componentes con las fases (Forgács & Cserháti, 2003). Esto supone que una vez terminado el recorrido de la muestra por la columna, los componentes de la mezcla eluirán con tiempos diferentes dando lugar a la separación. Posteriormente los componentes separados llegan al detector y la información se transforma en un

cromatograma producido por el software (Forgács & Cserháti, 2003). El detector MS en las investigaciones en guatila fue empleado por Lombardo et al. (2014).

Para concluir este capítulo, existen diferentes técnicas de separación cromatográfica con características diversas entre la fase móvil y fase estacionaria que se seleccionan según el análisis que se requiera. Adicionalmente, se puede evidenciar que la técnica HPLC es más completa o permite la identificación y cuantificación de CF en un amplio espectro, debido a que puede acoplarse a diferentes detectores como UV-vis, DAD y MS.

Capítulo 4. Ensayos clínicos en el análisis con compuestos fenólicos presentes en la guatila

En los últimos años la guatila ha sido reconocida por sus efectos benéficos en la salud del organismo humano. La guatila se usa en el tratamiento de la hipertensión, arterioesclerosis y en el tratamiento del cáncer (Avendaño et al., 2010). También hay otros efectos positivos de la guatila que incluyen el control de glucosa y triglicéridos en sangre, control de obesidad, sobrepeso y enfermedad cardiovascular (Lalthansanga & Samanta, 2015). Los anteriores efectos han sido tema de interés en diferentes investigaciones, donde se concibe que dichos beneficios se deben a los CF y a la FD presentes en la guatila. No obstante, en esta revisión bibliográfica se considera pertinente abordar por un lado un subcapítulo de ensayos clínicos de CF y por otro lado un subcapítulo de FD. Lo anterior permite asociar o verificar los efectos benéficos que se le han atribuido a la guatila.

4.1 Ensayos clínicos con compuestos fenólicos presentes en la guatila

En este capítulo se presentan ensayos clínicos *in vitro* e *in vivo* realizados con guatila, con el objetivo de evaluar la relación de los CF y los efectos tanto en animales como en líneas celulares humanas al tratarse con extracto de guatila. La información con respecto a los ensayos clínicos se presenta en la **Tabla 3**, la cual está organizada de la siguiente forma:

- Autor de la investigación
- Parte de la planta que fue empleada en el experimento
- Técnicas de separación cromatográfica empleada en el experimento
- Objetivo, metodología, resultados y conclusiones del experimento

Adicionalmente, se complementa la información con otras referencias bibliográficas en donde se han realizado experimentos con CF puros y los efectos generados en animales y en líneas celulares humanas.

Tabla 3. Ensayos clínicos con extractos de guatila (*Sechium edule*).

<table>
<tr><td colspan="2">Autor: Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009).</td></tr>
<tr><td>Partes de la planta
Hojas</td><td rowspan="2">Compuestos fenólicos identificados

Flavonoide: luteolina-7-O-glucósido</td></tr>
<tr><td>Técnica de separación cromatográfica
HPLC-UV</td></tr>
<tr><td colspan="2">Objetivo del experimento: Los autores deseaban saber si el extracto etanólico de guatila (SEE) obtenido de las hojas, era efectivo en el tratamiento de diferentes cepas bacterianas y hongos causantes de infecciones en la piel. Además, los autores deseaban obtener una formulación por medio de un hidrogel hecho a base del SEE para valorar la estabilidad, la actividad microbiana (cepas bacterianas y hongos) y la actividad antioxidante.

Metodología: Para evaluar las actividades antibacteriana y antifúngica los autores realizaron un método de dilución en serie doble (concentración de SEE de 10 a 800 µg/mL) analizando los posibles cambios en cepas bacterianas (Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Enterobacter cloaca, Serratia marcenscens, Morganella morganii, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aerugino, Stenotrophomonas maltophilia y Providencia stuartii) y hongos miceliales (Candida albicans, Candida glabrata, Candida tropicalis, Candida krusei, Candida parasilopsis y Aspergillus). Con este método los autores evaluaron las actividades inhibitorias del SEE sobre el crecimiento bacteriano y fúngico de una manera dependiente de la dosis. En la segunda parte, los autores prepararon el hidrogel donde se añadió lentamente una cantidad apropiada de polvo de Carbopol® y agua con agitación constante con un agitador helicoidal a temperatura ambiente. A las preparaciones de gel se les añadió sulfato de gentamicina (antibiótico para erradicar infecciones contra bacterias) 0,1% (m/m) o nitrato de miconazol (medicamento empleado para el tratamiento de hongos de la piel) 2% (m/m) o extracto fluido de hojas de guatila 0,24% (v/v). Los autores evaluaron varios parámetros del hidrogel como la estabilidad (conservación del hidrogel) o capacidad que tiene un medicamento de mantener por determinado tiempo sus propiedades originales, la actividad microbiana contra bacterias y hongos y la actividad antioxidante del hidrogel específicamente aplicado en tejido de piel.</td></tr>
</table>

Resultados: En la primera parte del estudio, se halló que el SEE tuvo actividades inhibitorias sobre el crecimiento bacteriano de una manera dependiente de la dosis. Esta capacidad inhibitoria del SEE se logró entre 20 y 800 µg/mL. En la segunda parte la preparación que contenía SEE fue estable durante 1 año a temperatura ambiente, es decir durante ese tiempo el hidrogel hecho a base de SEE pudo mantener sus propiedades originales o principio activo. En la actividad microbiana se halló que el hidrogel de SEE fue efectivo al inhibir el crecimiento de las cepas bacterianas y hongos. En la actividad antioxidante se encontró que el SEE inhibe la lipoperoxidación. Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009) mencionan que el SEE tiene alto contenido de luteolina-7-*O*-glucósido a una concentración de 0,75 mg/g en base seca. **Conclusiones:** En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos antibacterianos y antifúngicos del SEE en diferentes cepas bacterias y hongos. Además de obtener un hidrogel a base de SEE para evaluar estabilidad, actividad antimicrobiana y antioxidante. Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009) indican que el SEE tiene una notable actividad antimicrobiana contra una gama de bacterias resistentes a los antibióticos y hongos. Además, los autores concluyen que el SEE por su actividad antimicrobiana y sus propiedades antioxidantes podría usarse para preparar una formulación farmacéutica contra las infecciones de la piel.

Autor: Ibarra et al. (2010).	
Partes de la planta Tallos y hojas	**Compuestos fenólicos identificados**
Técnica de separación cromatográfica HPLC-DAD-UV	Flavonoides: hesperitina, quercetina, catequina, kaempferol y rutina
Objetivos del experimento: Los autores deseaban saber si el SEE de tallos y hojas de guatila era efectivo en el tratamiento de ratas con enfermedad cardiovascular. **Metodologías**: En la primera parte del estudio se emplearon ratas Wistar las cuales fueron tratadas con SEE, seguidamente las ratas fueron sacrificadas para extraer la aorta torácica. Esto con la finalidad de realizar una caracterización farmacológica preliminar para determinar el mecanismo de acción involucrado en el efecto vasorrelajante provocado por el SEE. En la segunda parte, se evaluó la actividad antioxidante por medio del método	

1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), la actividad de captación de radicales se expresó como la concentración inhibitoria media (IC50) y capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC).

Resultados: En la primera parte del estudio se halló que el SEE fue uno de los extractos en comparación con los otros extractos de plantas medicinales que generó efecto vasodilatador en las ratas, al liberar compuestos como el óxido nítrico (ON). El compuesto ON es considerado como el vasodilatador más potente con efectos beneficiosos en el campo cardiovascular. Además, con el SEE se logró la reducción de la producción endógena de especies reactivas de oxígeno mejorando la función endotelial en las ratas. En la segunda parte del estudio se halló que el SEE fue capaz de eliminar los radicales que disminuyen la biodisponibilidad de ON. En la investigación Ibarra et al. (2010) no mencionan la concentración de cada uno de los flavonoides presentes en el SEE.

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos del SEE en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares en ratas. Ibarra et al. (2010) indican que al tratar las ratas con SEE se lograron efectos vasorrelajantes y antioxidantes, al causar vasodilatación dependiente del endotelio a través de la liberación de ON. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la reducción del estrés oxidativo inducida por SEE contribuye a un efecto de relajación de los vasos sanguíneos.

<table>
<tr><td colspan="2">Autor: Maity, Firdous & Debnath (2013).</td></tr>
<tr><td>Partes de la planta
Fruto</td><td rowspan="2">Compuestos fenólicos identificados
Flavonoides: Los autores en esta parte no especifican los flavonoides identificados, sino que lo mencionan a nivel general.</td></tr>
<tr><td>Técnica de separación cromatográfica
No reporta</td></tr>
<tr><td colspan="2">Objetivo del experimento: Los autores deseaban saber si el SEE de fruto de guatila era efectivo en el tratamiento de ratas diabéticas e hiperglucémicas.

Metodologías: Para este estudio se emplearon ratas Wistar, las cuales fueron inducidas a diabetes por medio del fármaco Alloxan. En la primera parte del estudio se evaluó el efecto tóxico del SEE en las ratas al tratarse con dosis oral única 2000 mg/kg de SEE. En este caso se observaron las ratas individualmente donde se incluyó la evaluación de</td></tr>
</table>

diferentes parámetros como cambios en la piel y el pelaje, los ojos, la membrana mucosa (nasal), la frecuencia respiratoria, circulatoria (frecuencia cardíaca y presión arterial), autonómica (salivación, lagrimeo, transpiración, incontinencia urinaria y defecación) y central. También, se evaluaron los cambios en el sistema nervioso (somnolencia, marcha, temblores y convulsiones) y la posible la mortalidad de estos animales. En la segunda parte del estudio, se escogieron 30 ratas las cuales se dividieron en cinco grupos de seis animales. El primer grupo (control normal) de ratas fue tratado con solo agua, el segundo grupo fue tratado con Alloxan monohidrato 150 mg/kg, el tercer grupo fue tratado con glibenclamida (medicamento hipoglucemiante) 5 mg/kg más Alloxan monohidrato 150 mg/kg, el cuarto grupo fue tratado con SEE 200 mg/kg + Alloxan monohidratado 150mg/kg y finalmente el quinto grupo fue tratado con SEE 100 mg/kg + Alloxan monohidratado 150 mg/kg. Lo anterior se realizó para analizar los efectos del SEE a diferentes concentraciones en ratas con diabetes e hiperglucemia. En la tercera parte del estudio, al día 21 se extrajo sangre de la vena orbital de las ratas para la estimación de varios parámetros bioquímicos como glucosa sérica, colesterol total, suero triglicéridos, colesterol LDL, colesterol HDL y colesterol VLDL. Maity, Firdous & Debnath (2013) no indican los flavonoides presentes en el SEE.

Resultados: En la primera parte del estudio se encontró que los animales no presentaron toxicidad hasta una dosis máxima de 2000 mg/kg del SEE y no hubo cambios en el patrón de comportamiento de los animales. En la segunda parte del estudio hubo una disminución significativa en el peso corporal de ratas control diabéticas en comparación con el control normal. El segundo grupo de ratas tuvo un aumento significativo en los niveles de glucosa en sangre en comparación con el control normal (Grupo I). El tercer grupo mostró una disminución en los niveles de glucosa. En el caso de los grupos cuatro y cinco hubo una reducción significativa de los niveles de glucosa en sangre. En la tercera parte del estudio, como resultado hubo un aumento significativo en el colesterol sérico, triglicéridos, LDL-C y VLD-C en ratas diabéticas. Aquellas ratas tratadas con SEE redujeron significativamente los niveles de HDL-C, triglicéridos, LDL-C y VLD-C.

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos del SEE, en el tratamiento de la diabetes e hiperglucemia en ratas. Maity, Firdous & Debnath (2013) indican que al tratar las ratas con SEE se logra una disminución de la glucosa en sangre en ratas hiperglucémicas inducidas por Alloxan. También, se halló una

disminución del colesterol total, triglicéridos, LDL-C, VLDL-C y mejora la condición de la diabetes. Lo que supone que el SEE en principio sería un buen antidiabético.

<table>
<tr><td colspan="2">Autor: Wu et al. (2014).</td></tr>
<tr><td>Partes de la planta
Hojas</td><td>Compuestos fenólicos identificados</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Técnica de separación cromatográfica
HPLC-UV</td><td>Ácidos hidroxibenzoicos: gálico, protocatecúico

Ácidos hidroxicinámicos: cafeico

Flavonoides: quercetina, naringenina, galactocatequina, rutina</td></tr>
<tr><td colspan="2">Objetivo del experimento: Los autores deseaban saber si el extracto acuoso de guatila (SWE) hecho a partir de hojas, era efectivo en el tratamiento contra la acumulación de lípidos en la línea celular de cáncer de hígado humano (HepG2).

Metodologías: El hígado graso tiene una fuerte relación positiva con los brotes de hepatitis, cirrosis y cáncer (Wu et al., 2014). Por lo tanto, la línea celular HepG2 es un modelo adecuado para estudiar lípidos en hepatocitos humanos. En la primera parte del estudio, se evalúo la viabilidad celular de las células HepG2 al ser expuestas a diferentes concentraciones del SWE. En la segunda parte, las células HepG2 se trataron con SWE en presencia de ácido oleico (AO) para inducir la sobrecarga de ácido graso durante 24 h, con la finalidad de conocer si el SWE prevenía la acumulación de lípidos en las células hepáticas. En la tercera parte, se analizó el efecto de SWE en la expresión de proteínas relacionadas con la síntesis de colesterol y los cambios de la hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMGCoR), esterol proteína de unión 2 (SREBP-2) y receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL-R). Esta parte del estudio se realizó con la finalidad de probar si había una reducción de lípidos en las células HepG2 tratadas con SWE. En la cuarta parte del estudio, se evaluó el efecto de SWE en la fosforilación de la proteína quinasa activada (AMPK), importante en el mecanismo del metabolismo del azúcar y la grasa.

Resultados: En la primera parte del estudio se halló que al tratar las células HepG2 con concentraciones de 1 y 5 mg/mL de SWE no se generó ningún daño en su viabilidad. En la segunda parte, las células HepG2 con 0,6 mM AO y con SWE (1 y 5 mg/mL) mostraron</td></tr>
</table>

una reducción del contenido de lípidos entre 84,25 a 92,10%. En la tercera parte, se halló que la expresión de HMGCoR, SREBP-2 y LDL-R se redujo notablemente con el tratamiento con SWE (1 o 5 mg/mL) regulando la síntesis de colesterol. Finalmente, en la cuarta parte se encontró que a las concentraciones con las que se trabajó el SWE fue capaz de activar la AMPK y, por lo tanto, redujo la síntesis de lípidos en las células. Wu et al. (2014) indican que el SWE tiene un alto contenido de CF, por ejemplo, ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, flavonoides. Las concentraciones que reportaron los autores de los CF presentes en SWE fueron: ácido gálico (4,41 mg/mL del extracto), protocatecúico (3,56 mg/mL del extracto), ácido cafeico (4,42 mg/mL del extracto), quecertina (3,32 mg/mL del extracto), naringenina (11,28 mg/mL del extracto), galactocatequina (11,06 mg/mL del extracto) y rutina (1,14 mg/mL del extracto).

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos del SWE, en el tratamiento de la acumulación de lípidos en el hígado humano. Wu et al. (2014) indican que al tratar las células HepG2 con el SWE se lograron disminuir los niveles de lípidos en el hígado ya que el SWE activó la enzima AMPK reguladora de las vías biosintéticas de los lípidos. También, el SWE logró reducir la expresión de proteínas de la SREBP-1(factor de transcripción lipogénico) que regula la expresión génica de enzimas lipogénicas lo que lleva a la inhibición de la lipogénesis hepática. Adicionalmente, los autores concluyen que el SWE puede suprimir la acumulación de grasa en el hígado y podría desarrollarse como un posible tratamiento terapéutico para reducir la formación de un hígado graso.

Autor: Lombardo et al. (2014).	
Partes de la planta Raíces	**Compuestos fenólicos identificados**
Técnica de separación cromatográfica HPLC-MS-DAD	Ácidos hidroxicinámicos: *p*-cumárico y cinámico Flavonoides: vitexina
Objetivo del experimento: Los autores deseaban saber si el extracto hidroalcohólico de raíces de guatila (SeHRA), extracto de raíces en acetona (SRAce) y extracto de raíces en metanol (SeMeOH) eran efectivos en el tratamiento ratas hipertensivas.	

Metodologías: Para este estudio se emplearon ratas albinas Sprague-Dawley macho. En la primera parte del estudio las ratas fueron inducidas a hipertensión con angiotensina II (AG II) (hormona que genera aumento de la presión arterial). Posteriormente, se midió la presión arterial (PA) y a todos los animales se les administraron cloruro de hexametonio (agente bloqueador de ganglios). Después de la estabilización de la PA, se administraron dosis crecientes de 0,5, 1 y 2 µg/kg de AG II para establecer una curva dependiente de la dosis. La PA se registró cada 20 s durante 8 min después de cada dosis. Después de registrar la PA, se administraron únicamente tres dosis de SeHRA 50, 100 y 200 mg/kg, los demás extractos no fueron empleados. Lo anterior con la finalidad de observar los cambios en el organismo de las ratas al estar inducidas a hipertensión y luego analizar los resultados en el organismo de los animales al ser tratados con SeHRA. En la segunda parte del estudio, se indujo a hipertensión a las ratas donde fue necesario aplicar una dosis de AG II suficiente para elevar la PA sistólica (PAS) y la PA diastólica (PAD) por encima de los parámetros normales (120/70 mmHg). La dosis óptima definida fue 1 µg/kg de AG II. En esta parte se realizó un análisis bioguiado con SeHRA, SeRAce y SeMeOH a una concentración de 50 mg/kg cada uno, lo anterior con el objetivo de analizar qué extracto tenía mayor actividad antihipertensiva. En la tercera parte, se evaluaron los anillos de aorta de las ratas que se trataron con diferentes concentraciones de AG II durante 10 min. Los tejidos se preincubaron únicamente con SeHRA (150, 300 y 600 µg/mL). Esto se hizo con la finalidad de analizar el efecto relajante en la contracción vascular máxima de las ratas antes y después de la adición de muestras.

Resultados: En la primera parte del estudio, se halló que una vez que se administró la dosis más alta de AG II (2,0 µg/kg) en los tratamientos con SeHRA se produjo una caída proporcional en la PA. En la segunda parte, se encontró que SeHRA y SeRMeOH fueron capaces de reducir la PA al administrar AG II (1,0 µg/kg), sin embargo, la fracción más activa fue SeHRA. En la tercera parte, se halló que el SeHRA tuvo actividad farmacológica donde disminuyó la PA en las ratas cuando se trataron con AG II ejerciendo actividad hipotensiva al modular el receptor AT1 de AG II. Lombardo et al. (2014) hallaron que los tres extractos tiene CF como ácidos hidroxicinámicos y flavonoides. En este caso los autores no reportan las concentraciones de los CF presentes en los extractos.

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos de SeHRA, SeRAce y SeMeOH en el tratamiento en ratas con hipertensión. Lombardo et

al. (2014) indican que el SeHRA tiene mayor actividad antihipertensiva en comparación con los otros extractos, además puede tener una actividad antagonista de AG II al modular el receptor AT1 de AG II.

Autor: Yang et al. (2015).	
Partes de la planta	**Compuestos fenólicos identificados**
Brotes y hojas frescas	Ácidos hidroxibenzoicos: protocatecúico
Técnica de separación cromatográfica HPLC-UV	Ácidos hidroxicinámicos: cafeico, *p*-cumárico Flavonoides: quercetina, naringenina, catequina, hesperetina Estilbenos: resveratrol

Objetivo del experimento: Los autores deseaban saber si el extracto acetato de etilo (SAE) de brotes y hojas frescas de guatila tenía algún efecto en el tratamiento de ratas con obesidad. En este estudio se evaluaron los siguientes parámetros: peso corporal, tejido adiposo, contenido de lípidos hepáticos, acumulación de lípidos inducida por AO en la línea celular HepG2 en ratas Wistar.

Metodologías: En la primera parte del estudio se emplearon ratas Wistar que fueron alimentadas con una dieta rica en grasas (HFD). La composición del HFD era de sebo de carne, caseína, almidón de maíz, sacarosa, celulosa, mezcla mineral y mezcla de vitaminas. Las ratas se dividieron en cuatro grupos de la siguiente manera: El primer grupo de ratas fue alimentado con concentrado, el segundo grupo fue alimento con solo HFD, el tercer grupo de ratas fue alimentado con HFD+0,5% (*m/m*) de SAE y el cuarto grupo tenía en su dieta HFD + 1,0% (*m/m*) de SAE. Este procedimiento se realizó durante 12 semanas y la ingesta de alimentos fue controlada de igual forma para cada grupo y se analizaron los cambios en el peso corporal de los animales. En la segunda parte del estudio se recogió hígado fresco para la extracción y cuantificación de lípidos de cada uno de los grupos de ratas. En la tercera parte, se evaluaron los efectos del SAE sobre los perfiles de lipoproteínas (triacilgliceridos, colesterol y ácidos grasos libres) de las ratas inducidos por una HFD. Esta parte del estudio se realizó con la finalidad de analizar el contenido hepático de colesterol y triacilgliceridos en el hígado.

Resultados: En la primera parte se halló que el primer y segundo grupo de ratas aumentó de peso durante todo el experimento, el tercer y cuarto grupo de ratas tratadas bajaron de peso significativamente en las semanas 11 y 12. En la segunda parte del estudio se halló que el peso del hígado de las ratas de los grupos uno y dos aumentó por la acumulación de lípidos, mientras que los grupos tres y cuatro mostraron una disminución significativa en el tejido adiposo del hígado. En la tercera parte se halló que las ratas tratadas con SAE efectivamente revirtieron los perfiles de lipoproteínas sin afectar el hígado. Los niveles de triacilgliceridos y colesterol del hígado en ratas alimentadas con SWE fueron más bajos que los contenidos de triacilgliceridos y colesterol del hígado en ratas alimentadas con HFD. Los autores indican que los resultados obtenidos anteriormente se dan por la capacidad del SAE de activar el complejo AMPK y la acetil-CoA carboxilasa (ACC). Tanto la AMPK como la ACC son enzimas importantes en el metabolismo de lípidos en el hígado. Yang et al. (2015) mencionan que SAE tiene un alto contenido de CF en base seca (dw) como ácido protocatecúico (6,14 mg/g de guatila dw), ácido cafeico (45,74 mg/g de guatila dw), ácido *p*-cumárico (12,61 mg/g de guatila dw), quercetina (7,21 mg/g de guatila dw), naringenina (23,65 mg/g de guatila dw), catequina (2,03 mg/g de guatila dw) y hesperetina (40,41 mg/g de guatila dw) y resveratrol (1,05 mg/g de guatila dw).

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos del SAE en el tratamiento de la diabetes y en la línea celular HepG2 en ratas. Yang et al. (2015) indican que el SAE mejoró varios parámetros relacionados con los lípidos (peso corporal, tejido adiposo, homeostasis de ácidos grasos) en ratas Wistar y citotoxicidad de HepG2 debido a la presencia de los CF mencionados anteriormente. Finalmente, los autores Yang et al. (2015) afirman que el SAE se desarrollaría como un tratamiento terapéutico potencial para reducir la progresión de un hígado graso y la obesidad.

<table>
<tr><td colspan="2">Autor: Salazar et al. (2017).</td></tr>
<tr><td>Partes de la planta
Fruto</td><td rowspan="2">Compuestos fenólicos identificados

Flavonoides: quercetina, rutina, miricetina, naringenina, apigenina y galangina</td></tr>
<tr><td>Técnica de separación cromatográfica
HPLC-UV</td></tr>
<tr><td colspan="2">Objetivos del experimento: Los autores deseaban saber si el extracto metanolico del fruto de guatila (SME) era efectivo en el tratamiento de cáncer cervical de ratón,</td></tr>
</table>

específicamente con la línea celular de cáncer cervical HeLa (P-388).

Metodologías: En la primera parte se evaluó el efecto del SME en la línea celular HeLa, para ello las células HeLa se trataron durante 72 h con SME a diferentes concentraciones (1,25; 1,56; 1,85; 2,55 y 10 µg/mL). En esta parte se valoró el efecto del SME en la proliferación celular. En la segunda parte se compararon los efectos del SME y del medicamento Cisplatin™ (medicamento ampliamente utilizado contra el cáncer en particular con el cáncer de cuello uterino), al aplicarse en la línea celular.

Resultados: En la primera parte del estudio se halló que, el SME tuvo un efecto de inhibición en la línea celular de cáncer HeLa con un valor de IC50 de 1,85 µg/mL. Estos datos sugieren que el SME fue selectivo con el tipo de célula y que tuvo actividad biológica en la eliminación de células malignas sin afectar células normales. En la segunda parte se halló que a una concentración de 0,72 µg/mL de Cisplatin™ no afectaba células normales de los ratones ya que la concentración utilizada en este estudio fue demasiado baja para ejercer un efecto citotóxico en las células. Sin embargo, el medicamento Cisplatin™ no afectó la proliferación de células HeLa. Con el SME se tuvieron efectos citotóxicos en las células cancerosas induciendo a apoptosis de las células leucémicas. Salazar et al. (2017) mencionan que el SME tiene un alto contenido de flavonoides con las siguientes concentraciones: quecertina (0,25 µg/mL del extracto), rutina (0,34 µg/mL del extracto), miricetina (1,85 µg/mL del extracto), naringenina (2,26 µg/mL del extracto, apigenina (0,18 µg/mL del extracto) y galangina (0,43 µg/mL del extracto).

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos del SME en el tratamiento de cáncer cervical en ratones. Salazar et al. (2017) indican que el SME es anticancerígeno debido a que su IC50 es inferior al valor máximo de 20 µg/mL según lo establecido por el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos.

Autor: Aguiñiga et al. (2017).	
Partes de la planta Fruto	**Compuestos fenólicos identificados** Ácidos hidroxibenzoicos: gálico, vanílico
Técnica de separación cromatográfica Prueba preliminar TLC	Ácidos hidroxicinámicos: cafeico, *p*-cumárico y clorogénico

HPLC-UV	Flavonoides: naringenina, apigenina

Objetivo del experimento: Los autores deseaban saber si el SME era efectivo en el tratamiento de la leucemia P-388 y células de médula ósea.

Metodologías: Este estudio se realizó en ratones CD1 hembras y machos. En la primera parte del estudio, los investigadores trataron las células leucémicas P-388 y las células de médula ósea totales de ratones CD-1 con diferentes concentraciones del SME. Esto con la finalidad de evidenciar el efecto del SME en la proliferación de las células. En la segunda parte se evaluó la toxicidad aguda en ratones (efectos adversos que se manifiestan tras la administración de una sustancia) al tratarlos con diferentes concentraciones de SME. Para ello, se usaron diez grupos de cinco ratones tratados con SME a concentraciones de (0, 8, 16, 40, 160, 400, 800,1600, 2900, 5000 mg/kg) por vía intraperitoneal. Posteriormente, los ratones fueron monitoreados cada 3, 6, 9 y 12 h durante las primeras 24 h posteriores al tratamiento para detectar signos de toxicidad y muerte. También, se determinó la dosis letal media (LD50) con los datos obtenidos. En la tercera parte, a los ocho días después del tratamiento con SME, los ratones fueron pesados para evidenciar posibles cambios en los órganos como el bazo, el timo y el hígado.

Resultados: En la primera y segunda parte del estudio se halló que el SME inhibió la proliferación tanto de las células P-388 leucémicas como de las células de médula ósea, aunque la inhibición de la proliferación fue más marcada en las células leucémicas. Además, el SME en la línea leucémica indujo a la apoptosis, pero no afectó las células de la médula ósea. En la segunda parte del estudio se halló que el SME no fue citotóxico para las células de la médula ósea a dosis de 800 mg/kg. En la tercera parte del estudio se halló que el SME a una concentración de 800 mg/kg no produjo cambios en el índice de bazo, hígado o timo. Aguiñiga et al. (2017) mencionan que el SME tiene un alto contenido de CF con las siguientes concentraciones: ácido gálico (0,072 mg/g de guatila dw), ácido vanílico (0,032 mg/g de guatila dw), ácido cafeico (0,091 mg/g de guatila dw), ácido *p*-cumárico (0,032 mg/g de guatila dw), clorogénico (0,823 mg/g de guatila dw), naringenina (1,556 mg/g de guatila dw) y apigenina (0,292 mg/g de guatila dw).

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos del SME en el tratamiento de la línea celular de leucemia P-388 y células de médula ósea. Aguiñiga et al. (2017) indican que el SME inhibió el crecimiento de células tumorales y

protege las células de la médula ósea. Por lo tanto, el SME puede usarse para el tratamiento de cáncer de leucemia sin efectos secundarios dañinos.

Discusión general: Con base en las investigaciones que se presentan en la **Tabla 3** se evidencia científicamente que los extractos de guatila obtenidos de hojas, tallos, raíces y frutos tienen efectos positivos en animales y células humanas. Sin embargo hacen falta estudios evaluando los efectos de la guatila directamente en humanos. Para ello habría que evaluar en un primer momento los efectos en humanos después de la ingesta regular de la parte más consumible de la guatila específicamente el fruto. La razón de estudiar el fruto es porque hasta el momento es la parte que contiene los aportes nutricionales necesarios en una dieta, además de ser asimilado más fácil por el organismo humano. De esta forma artículos científicos, como los de Maity, Firdous & Debnath (2013); Salazar et al. (2017) & Aguiñiga et al. (2017) son la base para posteriores investigaciones, puesto que sus estudios demostraron que el fruto presenta actividad antidiabética y anticancerígena.

Para concluir este capítulo, en esta parte de la revisión bibliográfica se recopilaron estudios sobre CF presentes en la guatila y los efectos en animales y células humanas. Dichos estudios se han realizado con extractos obtenidos con diferentes solventes (agua, acetato de etilo, etanol y metanol) a partir de las hojas, tallos, frutos y raíces de la guatila. Consecuentemente, en cada uno de los estudios se realizaron ensayos clínicos a partir de experimentos *in vitro* e *in vivo*, evaluando los efectos del extracto de guatila tanto en animales como en algunas líneas celulares humanas. Los resultados de las investigaciones muestran que la guatila tiene efectos positivos, ya que puede ser un fruto con propiedades antibacterianas y antimicóticas. También, la guatila presenta actividad antihipertensiva, antidiabética y anticancerígena (líneas celulares de canceres de hígado, cervical, de mama entre otros). Este fruto mejora varios parámetros relacionados con los lípidos (peso corporal, tejido adiposo, homeostasis de ácidos grasos) y regula los niveles de glucosa en la sangre. Finalmente, los autores en las diferentes investigaciones mencionan que los efectos positivos de la guatila en la salud se deben a la presencia de CF, ya que muestran diversas actividades biológicas beneficiosas. Los CF presentes en la guatila que se reportan en los diferentes estudios son ácidos hidroxibenzoicos (gálico, protocatecúico y vanílico), ácidos hidroxicinámicos (cafeico, *p*-cumárico, cinámico y clorogénico), flavonoides (luteolina-7-*O*-glucósido, hesperitina, quercetina, catequina, kaempferol y rutina, naringenina, vitexina, miricetina, apigenina, galangina) y estilbenos (resveratrol).

4.2 Ensayos clínicos con compuestos fenólicos puros

Como se mencionó en el Ítem anterior existen estudios clínicos que han establecido una relación entre los CF presentes en la guatila con la prevención de varias enfermedades crónicas. Aunque existen evidencias científicas que ratifican los efectos positivos de la guatila, en este ítem del trabajo se complementa la información a partir de ensayos clínicos con CF puros (son aquellos que no son empleados como extractos o constituyentes de algún alimento, sino que se aplican directamente en el objeto de estudio). Lo anterior tiene como finalidad verificar si realmente son los CF presentes en la guatila que tienen dichos efectos (**Tabla 3**), o por el contrario hay otros compuestos causantes de los beneficios.

Teniendo en cuenta lo anterior, en este capítulo se presentan algunos ensayos clínicos con CF puros, con base a los que están presentes en la guatila según los diferentes estudios mencionados en la **Tabla 3.**

4.2.1. Ácidos hidroxibenzoicos

4.2.1.1 Ácido gálico (AG): Sourani, Pourgheysari, Beshkar, Shirzad & Shirzad (2016) querían conocer los efectos del AG sobre la línea celular de leucemia linfoblástica (células Jurkat-C121). La línea celular Jurkat-C121 consiste en un aumento anormal de linfoblastos en las personas, estos linfoblastos no llegan a su proceso de evolución normal por lo que ocasionan problemas defensivos del cuerpo humano. Estos problemas pueden generar infecciones, disminución de glóbulos rojos y blancos lo que finalmente produce anemia o posibles sangrados (Sourani, Pourgheysari, Beshkar, Shirzad & Shirzad, 2016).

Para evaluar los diferentes efectos del AG sobre las células Jurkat C-121, los autores hicieron recolección de las células y luego las trataron con diferentes concentraciones de AG (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 µM) para observar los cambios en las mismas durante 24, 48 y 72 h. En la primera parte del estudio se evaluó la viabilidad celular mediante el ensayo MTS. Este ensayo permitió identificar las alteraciones de la membrana y del estado metabólico de las células al tratarse con AG. En la segunda parte, se evaluó la inducción con el kit Anexina V para observar los cambios en el ambiente de las células Jukart C-121. En la tercera parte se evaluó la apoptosis utilizando el kit de anexina V-FITC/

PI y el análisis de citometría de flujo, esto con la finalidad de medir el grado de destrucción o muerte celular al tratar las células con AG.

En la primera parte se halló que las células tratadas con AG mejoraron su viabilidad a una concentración de 20 µM. En la segunda y tercera parte del estudio se encontró mayor apoptosis de las células Jurkat-C121 al ser tratadas con AG en comparación con el grupo control.

Sourani, Pourgheysari, Beshkar, Shirzad & Shirzad (2016) hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos del AG sobre la línea celular Jurkat-C121. Los autores demostraron que al tratar las células Jukart-C121 con AG hubo inhibición de la proliferación e inducción de la apoptosis en la línea celular, lo que es favorable para los tratamientos contra el cáncer.

4.2.1.2 Ácido protocatecúico (APC): Lende et al. (2011) querían conocer los efectos del APC en ratas y ratones con problemas inflamatorios.

Para este estudio, se escogieron ratas Wistar y ratones albinos los cuales fueron tratados con dieta estándar y agua, luego los animales fueron inducidos a trastornos inflamatorios por medio de la carragenina (componente extraído de algas rojas). Posteriormente las ratas se dividieron en cinco grupos de la siguiente manera: Las ratas de los grupos uno, dos y tres se trataron con diferentes dosis de APC 25, 50 y 100 mg/kg respectivamente, mientras que las ratas del grupo cuatro recibieron 15 mg/kg de Diclofenaco (fármaco antiinflamatorio) y el grupo cinco 0,5% (*v/v*) de carboximetilcelulosa (CMC) (medicamento empleado para tratar la irritación). En la primera parte del estudio se evaluó la actividad antiinflamatoria en ratas, las cuales se indujeron a edema de la pata. Esto con la finalidad de valorar el volumen de la pata trasera en las ratas antes y después del tratamiento con APC. En la segunda parte del estudio se evaluó el granuloma inducido con la finalidad de valorar los cambios morfológicos del mismo. En la tercera parte se evaluó la artritis inducida en ratas por medio de la medición de varios parámetros biológicos como el edema de la pata trasera, la fuerza de la función de agarre, la motilidad de las articulaciones del tobillo y el umbral del dolor. En la cuarta parte, se evaluó la actividad analgésica por medio del retorcimiento inducido por ácido acético en ratones. Los ratones fueron tratados con una concentración de ácido acético 0,3% (*v/v*). El análisis del retorcimiento inducido consistió en valorar a los animales

teniendo en cuenta sus movimientos de retorcimiento (estiramiento de las extremidades posteriores y flexión del tronco) durante 30 min. Los ratones se dividieron aleatoriamente en cinco grupos. Los ratones del grupo uno, dos y tres se trataron con diferentes dosis de APC (35, 70 y 140 mg/kg), el grupo cuatro recibió Diclofenaco (15 mg/kg, por vía oral) y el grupo cinco recibió 0,5% (*v/v*) de CMC.

En la primera parte del estudio se halló que el APC a concentraciones de 50 y 100 mg/kg y Diclofenaco inhibieron la formación del edema de las patas. En la segunda parte se encontró que APC fue capaz de inhibir la formación de granuloma al suprimir eventos vitales como la angiogénesis (formación de vasos sanguíneos). En la tercera parte se halló que el APC a concentraciones de 50 y 100 mg/kg y Diclofenaco redujeron significativamente la hinchazón de la pata en ratas artríticas. En la cuarta parte se halló que, el tratamiento con APC provoca una inhibición dependiente de la dosis de los movimientos de retorcimiento inducidos por el ácido acético en ratones.

Lende et al. (2011) hicieron diferentes mediciones, para evaluar los efectos del APC en las actividades antiinflamatorias, antiartríticas y analgésicas en ratas. Los autores indican que el APC tiene actividad antiinflamatoria prometedora en los modelos agudos y crónicos de inflamación de ratas. Lende et al. (2011) concluyen que la actividad antiinflamatoria de APC se puede atribuir a su propiedad antioxidante.

4.2.1.3 Ácido vanílico (AV): Kumar, Prahalathan & Raja (2011) querían conocer el efecto del AV en ratas con hipertensión.

Para evaluar los efectos de la hipertensión se escogieron ratas Wistar, las cuales fueron inducidas a hipertensión con nitro-1-arginina metil éster (L-NAME) y se dividieron en seis grupos de seis animales cada uno. El grupo uno fue el grupo control, el segundo grupo fue tratado con AV que se disolvió en solución salina al 0,9% (*V/V*), el tercer grupo fue tratado con L-NAME, los grupos cuatro, cinco y seis fueron tratados con L-NAME y dosis de AV de 25, 50 y 100 mg/kg respectivamente. Adicionalmente, los autores realizaron estudios bioquímicos analizando la función hepática y renal. También, se hizo un estudio histopatológico en el tejido del corazón, para valorar los cambios en las fibras musculares cardíacas y afluencia de células inflamatorias de las ratas tratadas con L-NAME y AV.

Como resultado de la investigación, se halló que las ratas tratadas con L-NAME mostraron aumento en los niveles de PAS y PAD. Los grupos de ratas que fueron tratadas solamente con AV no mostraron cambios en la PA. Aquellas ratas tratadas con L-NAME y AV regularon la PA alcanzando un nivel normal con la concentración de 50 mg/kg de AV. En cuanto a los resultados obtenidos de la función hepática y renal, se observó que las ratas que recibieron L-NAME tuvieron una disminución en el suero hepático y marcadores fisiopatológicos renales en comparación con las ratas hipertensas. La disminución del suero hepático indicó que las células del hígado de las ratas no mostraron alteraciones o daños. Finalmente, en el examen histopatológico se encontró que las ratas tratadas con AV a 50 mg/kg no presentaron cambios en la morfología del corazón con ausencia de necrosis en comparación con las ratas no tratadas con AV e inducidas con L-NAME.

Kumar, Prahalathan & Raja (2011) autores hicieron diferentes mediciones para evaluar el efecto del AV al tratar ratas con hipertensión. Los autores concluyen que la administración de AV logró disminuir significativamente las concentraciones séricas de marcadores renales como la úrea, el ácido úrico y la creatinina en ratas hipertensas. Esto muestra que la AV conserva parcialmente la capacidad funcional del riñón de los efectos adversos del L-NAME.

4.2.2. Ácidos hidroxicinámicos

4.2.2.1 Ácido cafeico (AC): Zaitone et al. (2019) querían conocer el efecto del AC en la modulación de la disfunción locomotora en ratones con Parkinson.

En este estudio se emplearon 35 ratones albinos machos suizos que fueron inducidos a Parkinson por medio de la rotenona (insecticida), luego se organizaron en grupos de siete. El primer grupo fue el grupo control, el segundo grupo recibió rotenona 1mg/kg, los grupos tres a cinco recibieron rotenona más AC a concentraciones de 2, 5 y 10 mg/kg cada 48 h. A cada uno de uno de los grupos de ratones se les evaluaron parámetros como la función locomotora, actividad locomotora en campo abierto (cuadrados de arena), actividad espontanea (contando el número de pasos), trastornos en el aparato locomotor y prueba de velocidad (coordinación motora). Las anteriores mediciones, se hicieron con la finalidad de comparar los cambios en la función locomotora y comportamientos en los ratones que fueron inducidos con rotenona y luego tratados con AC.

En primer lugar se halló que al final del día 18 los grupos tratados con AC mostraron 100% de supervivencia, sin embargo, los otros grupos de estudio mostraron 85% de supervivencia (6 de 7 ratones). En segundo lugar, se encontró que los ratones inducidos con rotenona mostraron pérdida de su locomoción. Sin embargo, el grupo de ratones tratado con 10 mg/kg de AC tuvo un incremento en la actividad locomotora. En tercer lugar, en la actividad espontánea se encontró que los ratones tratados con rotenona usaron más el miembro anterior que el posterior, mientras que los tratados con AC no tuvieron diferencia entre su actividad. En cuarto lugar, los resultados arrojados para el trastorno en el aparato locomotor mostraron que los ratones que tenían rotenona tuvieron mala coordinación.

Zaitone et al. (2019) hicieron diferentes mediciones para evaluar los cambios neuronales en los ratones con Parkinson al ser tratados con AC. Los autores manifiestan que el AC tiene la propiedad de neuroprotección mejorando las partes locomotoras y de coordinación en ratas con Parkinson.

4.2.2.2 Ácido *p*-cumárico (APU): Guven et al. (2015) querían conocer el efecto del APU en ratas con isquemia cerebral focal.

En este estudio se emplearon ratas Sprague–Dawley, las cuales fueron inducidas a isquemia cerebral mediante un modelo de oclusión de monofilamento intraluminal (MCAO). Posteriormente las ratas fueron tratadas con APU a una concentración de 100 mg/kg por 5 min después de la aplicación de MCAO. Las ratas se dividieron en cuatro grupos de la siguiente manera: El primer grupo de ratas fue de control, el segundo grupo de ratas sólo tenían isquemia cerebral, el tercer grupo de ratas tuvo isquemia cerebral y fueron sacrificadas 6 h después del tratamiento y el cuarto grupo de ratas tuvo isquemia cerebral y fueron sacrificadas 24 h después del tratamiento. Consecuentemente, se hicieron valoraciones bioquímicas en las ratas, por ejemplo, con la evaluación de los niveles de superóxido dismutasa (SOD), malonilaldehído (MDA) y el factor respiratorio nuclear 1 (NRF1). El SOD es importante como defensa antioxidante en la mayoría de las células expuestas al oxígeno, y el MDA es el producto final de la peroxidación lipídica y de la actividad de la catalasa (enzima protectora), el cual actúa como biomarcador de daño oxidativo. El NRF1 activa la expresión de algunos genes metabólicos clave que regulan el crecimiento celular y los genes nucleares necesarios para la respiración. Los valores de SOD, MDA y NRF-1 se utilizaron para evaluar los resultados bioquímicos del tratamiento

con APU en el tejido isquémico después de una lesión cerebral. Se sabe que la isquemia eleva la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el tejido cerebral. Los ROS pueden causar daño celular a través de la oxidación de los lípidos de la membrana, las proteínas celulares esenciales y el ADN (Guven et al., 2015). También se hizo una evaluación funcional del grado de déficit funcional (afectación en la movilidad de los animales).

Como resultado de la investigación, en principio todas las ratas mostraron debilidad en el lado izquierdo (girando alrededor de sus propios ejes y/o cayendo hacia la izquierda) cuando despertaron de la anestesia. También se encontró un aumento en los valores de SOD en los grupos dos, tres y cuatro en comparación con el grupo uno. En cuanto al marcador de peroxidación lipídica, se halló que los niveles de MDA aumentaron significativamente en el grupo dos en comparación con el grupo control. En los grupos dos, tres y cuatro los niveles de MDA disminuyeron significativamente. Adicionalmente, hubo un aumento significativo en la actividad de SOD en los grupos dos, tres y cuatro en comparación con el grupo control, lo que apunta a posibles efectos neuroprotectores y antioxidantes de la APU en el tejido cerebral isquémico. Finalmente, en la valoración del déficit funcional se encontró que las ratas tratadas con APU pudieron mejorar el déficit neurológico.

Guven et al. (2015) hicieron diferentes mediciones para evaluar los cambios neuronales en los ratones con isquemia cerebral al ser tratados con APU. De esta forma los autores concluyen que el APU tiene altos efectos neuroprotectores en el organismo de las ratas.

4.2.2.3 Ácido cinámico (CINN) : Zhang et al. (2014) querían conocer el efecto y el mecanismo de acción del CINN sobre la proliferación y la apoptosis de las células leucémicas.

Para este estudio se emplearon líneas celulares de leucemia humana K562, estas células fueron tratadas con tres dosis de CINN a concentraciones de 1, 3 y 6 mg/mL. Las células sin tratamiento farmacológico se designaron como grupo de control. En primer lugar, se observaron cambios morfológicos de las células tratadas con CINN en concentraciones de 1, 3 y 6 mg/mL durante 24, 48, 72 y 96 h. En segundo lugar, se hizo un ensayo MMT (ensayo colorimétrico para evaluar la actividad metabólica celular) tanto en las células control como

en las células tratadas con CINN en concentraciones de 1, 3 y 6 mg/mL. En tercer lugar, se analizó la citometría de flujo (análisis de las características de células) o formación de colonias de células leucémicas.

En primer lugar se halló que, con el aumento de la dosis y el tiempo prolongado de tratamiento con CINN las células tuvieron las siguientes características: la naturaleza de apilamiento de las células durante el crecimiento desapareció, las células proliferaron lentamente se encogieron, los gránulos citoplasmáticos aumentaron y algunas células se redondearon y se hincharon. En segundo lugar, el CINN en concentraciones de 1, 3 y 6 mg/mL inhibió el crecimiento de las células leucémicas. En tercer lugar, después del tratamiento con CINN la formación de colonias de las células de leucemia se redujo y resultó ser más baja que la del grupo control.

Zhang et al. (2014) hicieron diferentes mediciones para evaluar los cambios en la línea celular de cáncer de leucemia humana K562 al tratarse con CINN. Los autores explican que el CINN tiene la capacidad de inhibir el crecimiento y la proliferación de células K562 de manera dependiente del tiempo y la dosis. Finalmente, Zhang et al. (2014) indican que el CINN es un agente antitumoral y que podría ayudar a lograr una terapia eficaz contra el cáncer, reduciría o evitaría el dolor en los pacientes con cáncer causado por los efectos tóxicos de los tratamientos tradicionales y facilitaría nuevas vías de tratamiento del cáncer.

4.2.2.4 Ácido clorogénico (ACG) : Yamagata, Izawa, Onodera & Tagami (2018) querían conocer el efecto del ACG en células de cáncer de pulmón humano A549, mediante las expresiones de varios marcadores de células madre como factor de transcripción (OCT4), proteína de la región del sexo determinante Y-caja (SOX2), glicoproteína transmembrana (CD44) y factor transcripcional que ayuda a las células madre embrionarias (NANOG). Las anteriores expresiones son importantes de evaluar ya que en el cáncer de pulmón pueden tener resistencia a un determinado fármaco. Por lo tanto, una alteración en algunos de esos parámetros permite la renovación o no de células malignas.

En este estudio se usó la línea celular de adenocarcinoma humano A549, así como las células Lu65 y Lu135 que se derivaron de tejido de cáncer de pulmón. En la primera parte del estudio se examinaron los efectos del ACG en un tumor a concentraciones de 30 o 50 µM en las células A549 durante 24 h utilizando el ensayo MTT (Yamagata, Izawa, Onodera

& Tagami, 2018). En la segunda parte del estudio se valoró el estado de la apoptosis mediante la unión de anexina V marcada con fluoresceína para valorar la apoptosis en células tratadas con ACG.

En la primera parte del estudio se halló que la presencia de ACG disminuyó la proliferación celular medida por la actividad de MTT. En la segunda parte se halló que el ACG incrementó la expresión de anexina V, es decir se logró un aumentó en la apoptosis celular. El ACG redujo los niveles de expresión génica de los marcadores asociados a células madre NANOG, POU5F1 y SOX2, es decir con el tratamiento de ACG las células malignas no pudieron tener división celular.

Yamagata, Izawa, Onodera & Tagami (2018) hicieron diferentes mediciones para evaluar los cambios en la línea celular de cáncer de pulmón humano A549 al tratarse con ACG. En este trabajo los autores indican que el ACG puede mejorar los niveles de expresión de varios genes que juegan un papel en la apoptosis de las células A549.

4.2.3 Flavonoides

4.2.3.1 Hesperetina (H): Samie, Sedaghat, Baluchnejadmojarad & Roghani (2018) querían conocer el efecto de la H en ratas con posibles daños testiculares a causa de la diabetes.

En este estudio se emplearon 32 ratas, las cuales fueron alimentadas con concentrado. Seguidamente las ratas fueron separadas en cuatro grupos de la siguiente manera: El primer grupo de ratas fue de control, el segundo grupo de ratas fue tratado con H (50 mg/kg por día), el tercer grupo fue de ratas diabéticas y el cuarto grupo fue de ratas diabéticas tratadas con H (50 mg/kg por día). Las ratas del grupo de control recibieron diariamente el Kolliphor® (medicamento que induce a diabetes) a una dosis de 60 mg/kg. Consecuentemente, a los diez días después de la inyección se tomaron muestras de sangre en ayunas y se determinó el nivel de glucosa en suero. Las ratas con un índice de glucosa sérica mayor a 250 mg/dL se consideraron como diabéticas. El tratamiento con H comenzó 10 días después de la inyección de Kolliphor® y continuó durante 46 días. En la primera parte del estudio al finalizar la octava semana se recolectó sangre para determinar el nivel de testosterona en las ratas, lo anterior se hizo por medio del test Kit ELISA que permitió la identificación de posibles alteraciones en los niveles de testosterona. En la segunda parte

se evaluaron diferentes parámetros bioquímicos como: estrés oxidativo en las células de las ratas mediante el estudio de MDA y SOD. La actividad de la catalasa se valoró respecto al método de Claiborne (permitió valorar los niveles de catalasa). La catalasa está contenida en los peroxisomas de eritrocitos, médula ósea, mucosas, riñón e hígado. Su función es la descomposición de peróxido de hidrógeno formado por acción de la oxidasa. En la tercera parte se evaluó la apoptosis por medio de la actividad de la caspasa 3, que se produce con mayor intensidad en ratas diabéticas y se midió mediante algunos índices relacionados de apoptosis en tejido testicular, incluida la fragmentación del ADN. En la cuarta parte se evaluaron los parámetros espermáticos de las ratas y finalmente se realizó una evaluación histológica de los testículos de las ratas. Esto con la finalidad de mirar la viabilidad de los espermatozoides de las ratas después de tratarse con H.

En la primera parte del estudio se halló que, en la semana antes de la inducción de diabetes en ratas no hubo diferencias significativas en el peso corporal entre los grupos. Las ratas diabéticas tratadas con H mostraron una disminución significativa del peso corporal y este parámetro fue mayor en la semana octava en comparación con el grupo diabético. En la segunda parte se halló que, las ratas no tratadas con H aumentaron el estrés oxidativo y los sistemas antioxidantes enzimáticos disminuyeron (actividad de la catalasa), mientras que las ratas tratadas con H regularon los niveles MDA, SOD y catalasa. En la tercera parte se encontró que las ratas diabéticas y no tratadas con H mostraron mayor fragmentación del ADN en comparación con las ratas que recibieron H en su organismo. En la cuarta parte se encontró que el grupo diabético mostró un nivel significativamente menor de recuento de espermatozoides, motilidad espermática y viabilidad espermática en comparación con el control. Además, el tratamiento con H del grupo diabético produjo una mejoría significativa del conteo de espermatozoides, la motilidad y la viabilidad en comparación con los diabéticos.

Samie, Sedaghat, Baluchnejadmojarad & Roghani (2018) hicieron diferentes mediciones para evaluar el efecto de la H en ratas diabéticas y daños testiculares al tratarlas con H. Los autores concluyen que la H podría aliviar el daño testicular, al menos a través de la inhibición de la apoptosis, el estrés oxidativo y la inflamación.

4.2.3.2 Luteonina-7-*O*-glucósido (L7G) : Joung et al. (2016) querían conocer el efecto del L7G en la infección en la piel por cepa de la bacteria *Staphylococcus aureus* piel (MRSA).

Para este estudio se emplearon cinco cepas de MRSA, las cuales fueron clasificadas de la siguiente forma: El primer grupo de cepas tratadas con sólo L7G (62,5 µg/mL,) el segundo grupo de cepas tratadas con Ampicilina (antibiótico usado contra infecciones) (AM), el tercer grupo de cepas tratadas con Oxacilina (antibiótico usado contra bacterias) (OX), el cuarto grupo de cepas tratadas con Gentamicina (antibiótico empleado contra infecciones) (GT) y el quinto grupo de cepas tratadas con L7G combinado con uno de los tres antibióticos AM, OX y GT. En la primera parte del estudio se evaluó el efecto sinérgico, esto con la finalidad de analizar si al tratar las cepas con L7G se genera algún efecto antimicrobiano. En la segunda parte se evaluaron los efectos sinérgicos de la L7G y los antibióticos a lo largo del tiempo, es decir la muerte celular de las cepas bacterianas.

En la primera parte del estudio se halló que las cepas fueron resistentes a los antibióticos AM, OX y GT en comparación con aquellas cepas tratadas con L7G que mostraron reducción en su crecimiento. En la segunda parte se encontró que las cepas tratadas con sólo antibiótico no redujeron el número de cepas, mientras que las que fueron tratadas con L7G redujeron notablemente las cepas inhibiendo completamente el crecimiento de *S. aureus* después de 16 h.

Joung et al. (2016) demostraron que el compuesto fenólico L7G fue un potente inhibidor del crecimiento de MRSA. El uso de tres antibióticos diferentes AM, OX y GT en combinación con L7G suprimió claramente el crecimiento de MRSA, lo que permitió reducir la dosis de antibióticos. Los autores concluyen que L7G tiene la capacidad de aumentar los efectos antibacterianos, lo que refuerza la posibilidad de reducir sustancialmente el uso de los antibióticos existentes.

4.2.3.3 Quecertina (Q): Zhou et al. (2017) querían conocer el efecto de la Q sobre modelo de murino (ratones) portadores de tumor HepG2 (línea celular de cáncer de hígado).

Para este estudio se emplearon 60 ratones los cuales fueron inoculados (introducir algo que crecerá y se reproducirá) con células HepG2 por vía subcutánea. Luego fueron divididos aleatoriamente en dos grupos. El primer grupo de ratones fue el de control (inoculados) y el segundo grupo de ratones inoculados y tratados con Q. En la primera parte del estudio se evaluaron los comportamientos de los ratones, para analizar los cambios en

los animales a medida que crecía el tumor en el organismo de los mismos. En la segunda parte se evaluó la tasa de crecimiento tumoral y la supervivencia de los ratones, para valorar el impacto del tumor en los ratones a medida que éste iba creciendo. En la tercera parte se realizó un examen histológico del tumor, esto con el objetivo de observar el aumento o no del número de células malignas.

En la primera parte se halló que los ratones en el grupo control tuvieron un rápido crecimiento del tumor y cambios significativos en sus comportamientos diarios, presentando apatía, mala alimentación y ataxia (daños en el cerebro). En algunos casos se observó manía e hiperactividad. Los ratones tratados con Q mostraron tasas de crecimiento tumoral lentas y sin cambios de comportamiento significativo. En la segunda parte se halló que los ratones de control mostraron tasa de crecimiento tumoral más rápida en comparación con los ratones tratados con Q. En cuanto a la supervivencia de animales, los ratones del grupo control comenzaron a morir el día 28, mientras que los ratones tratados con Q al día 41. En la tercera parte se encontró que en el grupo control las células tumorales se dividieron en comparación con el grupo tratado con Q que redujo el número de células malignas.
Zhou et al. (2017) hicieron diferentes mediciones para valorar el efecto de la Q en el tratamiento de ratas con tumor HepG2. Los autores demostraron que la Q inhibe la proliferación de células cancerosas en el hígado e induce la apoptosis de las células HepG2. También se halló que los ratones tratados con Q el crecimiento del tumor se retrasó significativamente y la supervivencia del animal se prolongó en comparación con el grupo de control. Zhou et al. (2017) concluyen que el tratamiento con Q tuvo un gran impacto en los hábitos de vida, las actividades diarias de los ratones. Además de tener efectos potenciales en la mejoría del organismo de los ratones.

4.2.3.4 Catequina (CQ) : Addepalli & Suryavanshi (2018) querían conocer el efecto de la CQ en ratas con neuropatía diabética.

Para este estudio se emplearon ratas Sprague Dawley las cuales fueron alimentadas con concentrado y agua, posteriormente las ratas fueron inducidas a diabetes mediante una dosis única de Estreptozotocina (STZ) (55 mg/kg). Los animales se organizaron en diferentes grupos de la siguiente manera: El primero grupo de ratas fue de control y recibió 0,5% (*m/v)* de CMC, el segundo y tercer grupo de ratas recibieron CQ a concentraciones de 25 mg/kg y 50 mg/kg. En la primera parte del estudio se midió el peso final de los

animales con la finalidad de conocer si hubo cambios después de tratarlas con CQ. En la segunda parte se evaluaron los niveles de glucosa en plasma que permitió medir la glucemia en el organismo de las ratas. En la tercera parte se evaluó la frecuencia cardiaca como medida en el cambio de los latidos de corazón. En la cuarta parte se evaluó el estrés oxidativo por medio del análisis de los niveles de MDA, glutationa (GSH) y actividad de la catalasa. Finalmente, en la quinta parte se realizaron estudios histopatológicos específicamente de los nervios de los animales.

En la primera parte del estudio se halló que, el peso corporal aumentó significativamente en animales inducidos por diabetes y aquellos que se trataron con CQ a dosis de 25 y 50 mg/kg redujeron significativamente el peso corporal en comparación con los animales de control enfermos. Además, el peso relativo del corazón aumentó significativamente en los animales diabéticos en comparación con los animales control normales que indicaban hipertrofia del corazón. Aquellos animales tratados con CQ a 25 mg/kg mostraron reducción significativa en el peso relativo de los órganos. En la segunda parte del estudio los animales diabéticos mostraron aumento significativo en los niveles de glucosa en plasma, mientras que aquellos tratados con CQ disminuyeron los niveles de glucosa en plasma. En la tercera parte los animales diabéticos mostraron una disminución significativa en la frecuencia cardíaca, la PAS del ventrículo izquierdo y un aumento significativo en la PAD del ventrículo izquierdo en comparación con los animales normales. En cuanto a la variabilidad cardiaca el grupo de ratas diabéticas mostró reducción en los latidos del corazón. En la cuarta parte del estudio, las ratas tratadas con CQ mostraron mejoría en cada uno de los parámetros en comparación con los animales enfermos. En la quinta parte los animales enfermos o diabéticos mostraron lesiones en las células de Schwann (células tejido nervioso), mientras que las ratas tratadas con CQ no presentaron daños neuronales. El tratamiento con CQ redujo todas las lesiones mencionadas y redujo la degeneración neuronal.

Addepalli & Suryavanshi (2018) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto en ratas con neuropatía diabética al tratarse con CQ. En este trabajo los autores concluyen que la CQ mejoró significativamente la neuropatía autonómica diabética inducida por STZ en ratas.

4.2.3.5 Kaempferol (KF): Zhao, Tian, Wang & Ding (2017) querían conocer el efecto de KF en las líneas celulares de cáncer de ovario humano OVCAR-3 y SKOV-3.

Para este estudio se emplearon las líneas celulares de cáncer de ovario humano OVCAR-3 y SKOV-3. En la primera parte del estudio se evaluó la viabilidad celular (procedimiento que mide la proporción de células vivas luego de un procedimiento), para ello las células se expusieron a diversas concentraciones de KF (20 a 100 µM) durante 24 h. En la segunda parte se evaluó la apoptosis de las células OVCAR-3 y SKOV-3 al tratarse con concentraciones de KF de 25, 50 y 100 µM por medio del ensayo del kit Live /Dead. En la tercera parte se hizo un análisis de la apoptosis de las células OVCAR-3 y SKOV-3, mediante el ensayo por anexina V. Para esta parte del estudio se trataron las células con KF a concentraciones de 50 y 100 µM y también se trataron con TRAIL (factor de necrosis tumoral que induce específicamente la apoptosis en las células cancerosas y muestra efectos insignificantes en las células normales) a 25 ng/mL durante 24 h. Finalmente, en la cuarta parte se hizo un análisis de la expresión en la superficie celular de los receptores de muerte DR4 y DR5 (proteínas de la superficie que se unen a la proteína llamada TRAIL, que puede destruir células cancerosas) en las células de carcinoma de ovario tratadas con KF a concentraciones de 50 y 100 µM durante 24 h utilizando DR4 o DR5 de ratón.

En la primera parte del estudio se halló que las células tratadas con KF en concentraciones de 20 a 100 µM inhibieron eficazmente la proliferación de células de cáncer de ovario OVCAR-3 y SKOV-3. En la segunda y tercera parte se encontró que el KF fue capaz de mejorar efectivamente la apoptosis de las células OVCAR-3 y SKOV-3 inducida por TRAIL. La exposición a una concentración de 100 µM de KF dio como resultado un 73,19% de apoptosis en células OVCAR-3 y un 78,90% en células SKOV-3 en comparación con dosis más bajas de 25 o 50 µM. Esto indicó que a medida que aumentó la concentración de KF se indujo a apoptosis mayor de las células malignas. En la cuarta parte del estudio se halló que la exposición a KF dio lugar a un aumento significativo en la expresión de DR4 y DR5 de una manera dependiente de la dosis.

Zhao, Tian, Wang & Ding (2017) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto en las líneas celulares de cáncer de ovario humano OVCAR-3 y SKOV-3 al tratarse con diferentes concentraciones de KF. Para Zhao, Tian, Wang & Ding (2017) los cánceres de ovario en los últimos años han mostrado resistencia a TRAIL a través de diversos eventos moleculares. Es así como en su investigación demostraron que el KF fue capaz de sensibilizar células de cáncer de ovario humano SKOV-3 y OVCAR-3 a TRAIL, lo que

sugiere su eficacia antiproliferativa. El KF posiblemente podría emplearse en la terapia combinada con TRAIL en el tratamiento de tumores resistentes a TRAIL.

4.2.3.6 Naringenina (NA): Wang et al. (2019) querían conocer el efecto de NA en células de cáncer de mama MDA-MB-231.

Para este estudio se empleó la línea celular MDA-MB-231 de cáncer de mama. En la primera parte del estudio se usó el ensayo de MTT. Las células MDA-MB-231 se trataron con 0, 10, 20, 40 y 60 µg/mL de NA durante 24 a 48 h. En la segunda parte se hizo el ensayo de formación de colonias que permitió evaluar si las células fueron capaces de dividirse y formar una colonia, luego de haber sido expuestas al tratamiento. De esta forma, las células se trataron con 40 y 80 µg/mL de NA o sin NA. En la tercera parte se valoró la actividad enzimática de lactato deshidrogenasa (LDH) para estimar el efecto de la citotoxicidad de la NA en las células. Para ello, la línea celular MDA-MB-231 se trató con 0, 10, 20, 40 y 80 µg/mL de NA. En la cuarta parte se realizó el ensayo del ciclo celular importante para medir la formación de nuevas células. Las células se trataron con NA a 0, 40 y 80 µg/mL durante 24 h. Finalmente, en la quinta parte del estudio se evaluó el efecto de la NA sobre la actividad de las enzimas caspasa-3 y caspasa-9, ya que estas enzimas intervienen en el proceso de apoptosis de líneas celulares.

En la primera, segunda y tercera parte del estudio se halló que, NA inhibió las células MDA-MB-23 dependiente de la dosis. El tratamiento con NA a 40 µg/mL durante 24 a 48 h redujo la viabilidad celular en un 30 a 45% en comparación con el grupo no tratado con NA. En la cuarta parte se encontró que el tratamiento con NA causó un aumento significativo en el porcentaje de células apoptóticas en comparación con el grupo no tratado con NA. En este caso las células MDA-MB-231 fueron detenidas por NA en la fase mitótica de crecimiento celular (G2/M) (período de rápido crecimiento celular y síntesis de proteínas durante el cual la célula se prepara para la mitosis). En la quinta parte la actividad de las enzimas caspasa-3 y caspasa-9 aumentó significativamente después del tratamiento con NA dependiente de las dosis. De esta forma al tratar células con NA aumentó la actividad de las enzimas caspasas generando apoptosis de células malignas.

Wang et al. (2019) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto en la línea celular MDA-MB-23 de cáncer de mama al tratarse con diferentes concentraciones de NA. Los

autores definen que la NA disminuyó la viabilidad celular de las células de cáncer de mama. Wang et al. (2019) indican que NA presenta un efecto anticancerígeno sobre la capacidad de las células individuales para crecer en colonias, ya que las células de cáncer de mama tratadas con NA mostraron una disminución en la formación de colonias.

4.2.3.7 Rutina (R): Wang et al. (2018) querían conocer el efecto cardioprotector de R en ratas con problemas cardíacos.

Para este estudio se emplearon 66 ratas Wistar las cuales fueron inducidas a cardiotoxicidad por medio del medicamento Pirarubicina (18 mg/kg). Luego los animales se clasificaron en diversos grupos de la siguiente forma: El grupo uno de ratas fue de control, el segundo grupo de ratas fue tratado con Pirarubicina, el tercer grupo de ratas fue tratado con Dexrazoxano (medicamento para evitar efectos tóxicos en el corazón) 180mg/kg más Pirarubicina, el cuarto grupo de ratas fue tratado con R a 25 mg/kg más Pirarubicina, el quinto grupo de ratas fue tratado con R a 50 mg/kg más Pirarubicina y el sexto grupo de ratas fue tratado con R a 100 mg/kg más Pirarubicina. En la primera parte del estudio se evaluaron los efectos de R sobre los marcadores séricos de lesión cardíaca como péptido natriurético cerebral (BNP), creatina quinasa (CK-MB), troponina cardiaca (CTnT) y LDH. Los anteriores marcadores séricos fueron importantes de evaluar porque ayudaron a establecer un diagnóstico de infarto de miocardio o síndromes coronarios agudos. En la segunda parte se evaluaron los efectos de la R sobre los marcadores séricos del estrés oxidativo desde el análisis de SOD y MDA. En la tercera parte los autores valoraron los efectos de R en alteraciones histopatológicas en tejidos cardíacos, con la finalidad de analizar cambios en las características de los tejidos y funciones del mismo. En la cuarta parte se practicó un electrocardiograma en las ratas después del tratamiento con R para evaluar posibles alteraciones o anomalías en el ritmo cardiaco. En la quinta parte se evaluaron los efectos de R sobre los parámetros hemodinámicos cardíacos como PAS y PAD. Los parámetros hemodinámicos permitieron obtener información sobre el funcionamiento cardiovascular. Finalmente, en la sexta parte del estudio se evaluaron los efectos de R en la expresión de proteínas JNK, Bax, BCl-2 y caspasa-3. La proteína JNK ayuda a regenerar tejidos en un organismo. La proteína Bax actúa como reguladora anti pro-apoptótica que participa en una amplia variedad de actividades celulares (Wang et al., 2018). La proteína BCl-2 regula los procesos de permeabilización mitocondrial y constituyen un punto clave en la vía intrínseca de apoptosis celular (Wang et al., 2018). La proteína

caspasa-3 es importante en el metabolismo del organismo porque juega un papel central en la fase de ejecución de la apoptosis celular (Wang et al., 2018).

En la primera parte se halló que los animales tratados con Pirarubicina mostraron altos niveles de BNP, CK-MB, CTnt y LDH, en comparación con aquellas ratas tratadas con R y Dexrazoxano. Sin embargo, aquellas ratas tratadas con R tuvieron un efecto protector elevado frente a la toxicidad cardiaca a una dosis de 50mg/kg. En la segunda parte se encontró que los animales tratados con Pirarubicina solo produjeron una disminución en los niveles de SOD en comparación con el grupo control. El tratamiento con R resultó en un aumento en los niveles de SOD comparado con el grupo tratado solo con Pirarubicina. Los niveles de MDA aumentaron significativamente en el grupo tratado solo con Pirarubicina en comparación con los del grupo control normal. Las ratas tratadas con R mostraron regulación en los niveles de SOD y MDA en comparación con el grupo tratado con Pirarubicina sola. En la tercera parte se halló que los animales del grupo control no presentaron alteraciones en los tejidos cardíacos, mientras que las ratas tratadas con Pirarubicina mostraron en los tejidos espacios intracelulares y desarreglos en las células del músculo cardiaco. Las alteraciones histopatológicas del miocardio se atenuaron notablemente en ratas tratadas con Dexrazoxano y diferentes dosis de R. En particular, el tratamiento previo con R a una dosis de 50 mg/kg atenuó las alteraciones de los tejidos cardiacos. En la cuarta parte se halló que las ratas del grupo control no mostraron cambios evidentes en la frecuencia cardíaca y aquellas ratas tratadas con Pirarubicina solo mostraron frecuencia cardíaca más baja. En la quinta parte se encontró que los animales tratados con Pirarubicina aumentaron los parámetros de PAS y PAD en comparación con el grupo control. El tratamiento con R a una dosis de 50 a 100 mg/kg aumentó significativamente PAS y PAD en comparación con el grupo tratado solo con Pirarubicina. En la sexta parte del estudio se encontró que los animales tratados con Dexrazoxano aumentaron significativamente los niveles de proteína JNK, caspasa-3 y disminuyeron las proteínas Bax y BCl-2. El tratamiento con R y Dexrazoxano se asoció con un aumento en la relación de las proteínas Bax, JNK y los niveles de proteína caspasa-3 en comparación con el grupo tratado solamente con Pirarubicina. Esta parte de la investigación de toxicidad cardíaca crónica mostró que las ratas tratadas con R regularon los niveles de Bax, BCl-2 y niveles reducidos de proteína JNK y Caspasa-3.

Wang et al. (2018) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto de la R en ratas con problemas cardiovasculares. En este estudio los autores demostraron que la R a dosis de 25 a 100 mg/kg tiene efectos benéficos en el tratamiento contra enfermedades cardiovasculares.

4.2.3.8 Vitexina (V): Che et al. (2016) querían conocer el efecto de V en el tratamiento de ratas con isquemia.

Para este estudio se emplearon 48 ratas Sprague-Dawley las cuales fueron expuestas a un modelo de lesión crónica por isquemia y/o reperfusión (I/R) (flujo sanguíneo tisular que es esencial para prevenir el daño celular) miocárdica. Después de dos semanas de I/R, se midió la función cardíaca para evaluar la lesión. Estas ratas se dividieron al azar en seis grupos: grupo simulado, grupo I/R, grupos tratados con vitexina a concentraciones de 1, 3 y 6 mg/kg y grupo Breviscapina (flavona). En la primera parte del estudio se analizó el electrocardiograma (ECG), esto con la finalidad de valorar la viabilidad miocárdica o posibles afectaciones en el corazón. En la segunda parte se realizó la evaluación funcional cardiaca PAS, PAD y la tasa de aumento/caída máxima de la presión del ventrículo izquierdo. La evaluación funcional cardiaca se midió para conocer posibles problemas en las funciones del corazón. Finalmente, en la tercera parte se evaluaron parámetros de NADPH, SOD y MDA en suero.

En la primera parte se halló que los grupos uno y dos tuvieron alteraciones en ECG en comparación con los grupos tratados con V a 3 y 6 mg/kg, lo que muestra que el tratamiento con V reguló el ritmo cardiaco. Adicionalmente, el grupo tratado con Breviscapina también mejoró el ritmo cardiaco. En la segunda parte se encontró que los grupos uno y dos redujeron la PAS y PAD, pero aquellas ratas tratadas con V mejoraron PAD a concentraciones de 3 y 6 mg/kg. En la tercera parte se evidenció que el grupo dos aumentó los niveles de MDA y redujo significativamente las actividades de NADPH y SOD, pero aquellas ratas tratadas con V y Breviscapina redujeron MDA y aumentaron NADPH y SOD en comparación con el grupo I/R. Los resultados muestran que V redujo la lesión miocárdica al inhibir la peroxidación lipídica. Para Che et al. (2016) los resultados positivos en el organismo de las ratas se deben a que la V inhibe la sobrecarga de calcio (Ca^{2+}) que puede producir daños celulares en el miocardio y la supresión de la apoptosis miocárdica.

Che et al. (2016) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto de la V en ratas con isquemia. En esta investigación los autores indican que V es un excelente cardioprotector contra la lesión I/R miocárdica crónica en ratas, y los mecanismos subyacentes podrían estar asociados con la mejora del sistema de defensa antioxidante y la inhibición de la apoptosis. Además, la V podría emplearse como medicina en pacientes con enfermedad coronaria.

4.2.3.9 Miricetina (MC): Zheng, Chen, Zhao & Feng (2017) querían conocer los efectos de la MC en las líneas celulares de cáncer de ovario A2780 y OVCAR3.

Para este estudio se emplearon líneas celulares de cáncer de ovario A2780 y OVCAR3. En la primera parte del estudio se analizó la viabilidad a través de un ensayo MTT, para ello se trataron las células a diversas concentraciones de MC (0, 5, 10, 25, 50 y 100 µM). En la segunda parte se analizó el efecto de citotoxicidad inducida por MC en células A2780 y OVCAR3 usando un kit ELISA de apoptosis de ADN. En la tercera parte del estudio se evaluó la migración celular A2780 y OVCAR3 con la presencia y ausencia de MC, esto con la finalidad de analizar el proceso de cómo las células se desplazan ya sea por tejídos o placa de cultivo. Para ello, las células OVCAR3 se trataron con varias concentraciones de MC a 0, 10 y 25 µM.

En la primera parte se halló que las células A2780 y OVCAR3 tratadas con MC indujeron citotoxicidad y hubo pérdida gradual de la viabilidad celular en el tratamiento. En la segunda parte se encontró que las células A2780 y OVCAR3 tratadas con MC tuvieron apoptosis en comparación con el grupo que no recibió MC. A nivel celular también se encontró que la MC reguló la expresión de diferentes proteínas que están asociadas a las células de cáncer de ovario como la proteína X (BAX), BCl-2 y caspasa-3. En la tercera parte del estudio se observó inhibición en la migración celular por MC en dosis dependiente de la concentración tanto para células A2780 como OVCAR3.

Zheng, Chen, Zhao & Feng (2017) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto de la MC en las líneas celulares de cáncer de ovario A2780 y OVCAR3. Zheng, Chen, Zhao & Feng (2017) concluyen que la MC podría ser un agente es capaz de aumentar el potencial quimioterapéutico en células de cáncer de ovario.

4.2.3.10 Apigenina (APG): Stump et al. (2017) querían conocer los efectos antiproliferativos y apoptóticos de la APG en las líneas celulares de glioblastoma (GBM) U1242 MG y U87 MG y los astrocitos H normales (NHA). El GBM corresponde a un tumor cerebral altamente proliferativo y resistente a los tratamientos actuales de muerte de células tumorales apoptóticas inducidas por la quimioterapia y la radiación (Stump et al., 2017).

Para este estudio se emplearon las líneas celulares U1242 MG y U87 MG. En la primera parte del estudio se evaluó la proliferación y viabilidad celular mediante el ensayo MTT. Para el ensayo MTT se tuvo en cuenta el tratamiento de las células U1242 MG y U87 MG con APG a concentraciones de 0 a 80 µM y Erlotinib (medicamento para tratar el cáncer) a 10 µM. En la segunda parte se evaluó la apoptosis celular con el ensayo de LDH que sirve para determinar daños tisulares, en este caso se hizo el análisis de las células tratadas con APG a concentraciones de 0 a 80 µM durante 72 h. Además, en esta parte del estudio se valoraron los efectos morfológicos en los NHA al tratarse con APG. En la tercera parte del estudio se realizó el análisis citométrico de flujo en el ciclo celular.

En la primera parte se halló que los efectos de APG sobre las líneas celulares U1242 MG y U87 MG fueron dependientes de la concentración y del tiempo. A medida que la concentración de APG aumentó la viabilidad celular disminuyó. Además, las células tratadas con Erlotinib tuvieron inhibición de la proliferación celular mediada por factor de crecimiento epidérmico (EGFR). El EGFR es un factor que se ve alterado en la GBM que conduce a un tumor altamente proliferativo y resistente al tratamiento. En la segunda parte se halló que las células tratadas con APG mostraron efecto citoprotector al exhibir un bajo porcentaje de liberación de LDH en comparación con el grupo de células de control. En la tercera parte del estudio la APG causó la detención del ciclo celular en la fase G2/M del ciclo celular y evitó la progresión a la fase S (replicación del ADN) de las células cancerosas entre un 60 a 70%. Finalmente, en los NHA no se observaron cambios morfológicos en las células tratadas con APG en comparación con las células de control, lo que sugiere que la APG tuvo una actividad biológica más pronunciada en las células cancerosas. Para Stump et al. (2017) los anteriores efectos positivos en las células se produjeron porque la APG fue capaz de intervenir en la ruta de señalización AKT/mTOR, asociada con la promoción de la tumorigénesis y la angiogénesis en diversos cánceres.

Stump et al. (2017) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto de la APG en las líneas celulares U1242 MG y U87 MG. Los autores concluyen que APG tuvo potentes efectos inhibitorios en las vías involucradas en la proliferación y supervivencia de GBM y podría potencialmente utilizarse como una sustancia terapéutica para GBM.

4.2.3.11 Galangina (GA): Aloud, Chinnadurai, Govindasamy, Alsaif & Al-Numair (2018) querían conocer el efecto de GA en ratas con hiperglucemia.

Para este estudio se emplearon ratas Wistar albinas macho, las cuales fueron alimentadas con una dieta normal de pellets. Los animales fueron inducidos con STZ a 40 mg/kg. Posteriormente los animales se dividieron en siete grupos de la siguiente forma: El grupo uno de ratas sanas fue de control, el grupo dos de ratas sanas fue tratado con 16 mg/Kg de GA, el grupo tres tenía hiperglucemia inducidas por STZ, los grupos cuatro a seis de ratas tenían hiperglucemia y fueron tratadas con GA a concentraciones de 4, 8 y 16 mg/kg respectivamente y el grupo siete de ratas tenía hiperglucemia y fue tratado con Glibenclamida (medicamento hipoglucemiante oral) a 600 µg/kg. En la primera parte del estudio se evaluó el efecto de GA en hiperglucemia e hiperinsulinemia en plasma y los niveles de insulina en las ratas. Los niveles de hiperglucemia e hiperinsulinemia fueron importantes de medir porque señales altas de algunos de estos parámetros biológicos indicaban diabetes. En la segunda parte se evaluó el efecto de la GA en los perfiles lipídicos en el hígado y en el corazón como colesterol total (TC), triglicéridos (TG), ácidos grasos libres (FFA) y fosfolípidos (PL) en los tejidos del hígado y corazón de ratas sanas e hiperglucémicas normales. Los análisis de los perfiles lipídicos permitieron verificar los niveles de lípidos en el organismo indicando el riesgo de padecer alguna enfermedad.

En la primera parte se halló que las ratas hiperglucémicas mostraron un aumento en los niveles de glucosa y una disminución en los niveles de insulina en comparación con las ratas sanas normales. Sin embargo, el tratamiento de ratas hiperglucémicas con GA restauró la glucosa y la insulina a niveles casi normales. De las diferentes dosis administradas a las ratas, la de 8 mg/kg de GA mostró la mejoría máxima en los niveles de glucosa e insulina. En la segunda parte se halló que los niveles de TC, TG, FFA y PL en los tejidos del hígado y del corazón de ratas sanas e hiperglucémicas fueron más altos. Los niveles anormales de lípidos en tejidos de ratas hiperglucémicas se restauraron a niveles similares a ratas sanas después del tratamiento con GA y Glibenclamida.

Aloud, Chinnadurai, Govindasamy, Alsaif & Al-Numair (2018) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto de GA en ratas con hiperglucemia. Aloud, Chinnadurai, Govindasamy, Alsaif & Al-Numair (2018) indican que la administración de GA reduce la hiperlipidemia relacionada con el riesgo de complicaciones diabéticas y podría ser beneficiosa para los pacientes diabéticos con hiperlipidemia. El efecto reductor de glucosa en el organismo por parte de GA se debe a una mayor secreción de la insulina y una mejor captación de glucosa por el tejido adiposo.

4.2.4 Estilbenos

4.2.4.1 Resveratrol (RESV): Yan, Sun & Xu (2018) querían conocer el efecto de RESV en ratas con problemas cardiovasculares.

Para este estudio se emplearon 46 ratas Sprague Dawley, de las cuales 40 ratas se indujeron a infarto de miocardio (DRMI) con STZ y 6 ratas se dejaron como grupos normales. Las ratas con DRMI se dividieron aleatoriamente en dos grupos, grupo de modelos DRMI y grupo tratado con RESV. Las ratas en el grupo de RESV se trataron con 0,75 mg/kg de RESV tres veces al día a intervalos de 8 h durante cuatro semanas, y el grupo modelo DRMI se trató con una cantidad equivalente de solución salina. En la primera parte del estudio se evaluaron los efectos del RESV sobre la glucosa en sangre y el peso corporal de las ratas. Esto con la finalidad de evaluar las variaciones en las ratas en los niveles de glucosa y del peso corporal al tratarlas con RESV. En la segunda parte de valoraron los niveles de TG en plasma, frecuencia cardíaca, relación alanino aminotrasferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) e insulina plasmática total. En la tercera parte se evaluó el estrés oxidativo por medio del ensayo con MDA y SOD.

En la primera parte el estudio se halló que los niveles de glucosa en sangre en ratas con STZ-DRMI eran significativamente más altos en comparación con el grupo control, y el peso corporal promedio de ratas con STZ-DRMI disminuyó en comparación con el grupo de control. Sin embargo, el tratamiento con RESV pudo revertir significativamente los efectos de STZ-DRMI sobre el peso corporal y la glucosa en sangre en ratas. En la segunda parte se observaron aumentos significativos en los niveles de TG en plasma, la frecuencia cardíaca y la relación AST/ALT en ratas con STZ-DRMI en comparación con el grupo de control. Además, la insulina plasmática total fue significativamente menor en ratas con STZ-

DRMI en comparación con el grupo control. En la tercera parte se observó un aumento significativo de MDA y una disminución significativa de SOD en ratas con STZ-DRMI en comparación con ratas de control, además que el tratamiento de ratas mejoró los niveles de MDA y SOD. Los resultados positivos en las ratas tratadas con RESV se generaron ya que el RESV fue capaz de suprimir significativamente la expresión P38, que desempeña un papel crítico en varias vías de señalización que regulan la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis celular (Yan, Sun & Xu, 2018).

Yan, Sun & Xu (2018) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto de RESV en ratas con problemas cardiovasculares. Como conclusión de este trabajo los autores explican que la administración temprana de RESV fue capaz de mejorar la función cardiovascular en ratas con diabetes, ejerciendo propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.

Como se presentó en este capítulo existen evidencias científicas donde se demuestran que los CF que se reportan en la guatila al aplicarse de forma pura en animales y células humanas tienen efectos positivos. En los resultados de las diferentes investigaciones se demostró que se los CF tienen propiedades antiinflamatorias, antiartríticas, antidiabéticas, antihipertensivas, antitumorales, antioxidantes, anticancerígenas y analgésicas.

4.3 Relación de los efectos positivos de la guatila en la salud con respecto a los efectos de los ensayos clínicos con compuestos fenólicos puros

En este ítem se muestra la relación entre los CF y sus efectos positivos del extracto de guatila con los efectos obtenidos en los ensayos con CF puros. Esto con la finalidad de asociar los efectos positivos que se le han atribuido a la guatila.

Este análisis se tiene en cuenta por medio de los siguientes parámetros:

- Concentración de los CF reportados en los ensayos realizados con extractos de guatila.
- Participación de los CF en la regulación de algunas proteínas y enzimas presentes en el metabolismo de animales y células.

4.3.1 Relación de resultados de los ensayos clínicos

Caso 1: Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009) demostraron que el SEE fue efectivo en el tratamiento de diferentes cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Enterobacter cloaca, Serratia marcenscens, Morganella morganii, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aerugino, Stenotrophomonas maltophilia y Providencia stuartii) y* hongos miceliales (*Candida albicans, Candida glabrata, Candida tropicalis, Candida krusei, Candida parasilopsis y Aspergillus*) causantes de infecciones en los tejidos de la piel. En esta investigación el SEE tuvo un alto contenido L7G a una concentración de 0,75 mg/g en base seca. Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009) indican que al aplicar el SEE en las cepas bacterianas se logró un efecto inhibidor sobre el crecimiento de patógenos. Además, que el SEE permitió la reducción de infecciones de la piel y partes blandas de la misma. Este resultado se puede asociar con lo que se reporta en la investigación de Joung et al. (2016) donde demostraron que el CF L7G fue un potente inhibidor de cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* que crece en la nariz, piel humana y es un patógeno importante en las infecciones de la piel y tejidos blandos. Para Joung et al. (2016) al tratar las infecciones de la piel con L7G se aumentaron los efectos antibacterianos lo que refuerza la posibilidad de reducir sustancialmente el uso de los antibióticos existentes. De esta manera se demuestra que el CF L7G presente en la guatila tiene efectos antibacteriano y antifúngico, lo que permite emplearse en el tratamiento de infecciones de la piel.

Caso 2: Maity, Firdous & Debnath (2013) demostraron que el SEE fue efectivo en el tratamiento de ratas diabéticas e hiperglucémicas. En esta investigación los autores reportaron CF presentes en el SEE como flavonoides, sin embargo, no especifican los flavonoides ni la concentración de cada uno. Maity, Firdous & Debnath (2013) indican que al tratar ratas con SEE se mejoró el peso corporal y se controlaron parámetros como glucosa sérica (medición de cuánta glucosa circula en la sangre), colesterol total, TG, colesterol LDL, colesterol HDL y colesterol VLDL importantes en el control de diabetes e hiperglucemia. Este resultado se puede asociar con lo que se reporta en la investigación de Samie, Sedaghat, Baluchnejadmojarad & Roghani (2018) donde demostraron que la H al aplicarse en ratas diabéticas controló el peso corporal de las ratas y mejoró los niveles de MDA, SOD y catalasa. La identificación y medición de parámetros como MDA, SOD y catalasa es importante porque un desequilibrio de estos tres parámetros genera estrés

oxidativo y por lo tanto provoca diabetes e hiperglucemia (Samie, Sedaghat, Baluchnejadmojarad & Roghani, 2018). Otro flavonoide que también presenta actividad biológica en el control de la diabetes es la CQ. En la investigación de Suryavanshi (2018) se demostró que al tratar ratas diabéticas con CQ pura se disminuyeron los niveles de glucosa en plasma y los parámetros como MDA y SOD. De esta forma se demuestra que varios de los CF presentes en la guatila, por ejemplo L7G, H, Q, CQ, KF, R, NA, V, MC, APG, GA, AG, AV, AC, APC, CINN, ACG, APU y RESV tienen actividades antidiabéticas y antiglucemiantes (Ibarra et al., 2010; Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla, 2009)

Caso 3: Ibarra et al. (2010) y Lombardo et al. (2014) demostraron que SEE, SeHRA, SRAce y SeMeOH son efectivos en el tratamiento de ratas y ratones con enfermedades cardiovasculares. En la investigación de Ibarra et al. (2010) se reportaron CF presentes en el SEE como H, Q, CQ, KF y R. En el estudio de Lombardo et al. (2014) se reportaron CF como APC, CINN y V. En ambas investigaciones no se mencionan las concentraciones de los CF. Para Ibarra et al. (2010) el SEE tiene la capacidad de liberar compuestos vasorrelajantes mejorando el tejido endotelial y produciendo un efecto relajante en las ratas. Uno de los compuestos liberados es el ON, el cual es el encargado de mejorar las funciones cardiacas. También otro de los efectos hallados por Ibarra et al. (2010) es que el SEE tiene capacidad antioxidante al controlar o eliminar especies oxidativas que disminuyen la biodisponibilidad de ON. En el caso de Lombardo et al. (2014) se demostró que SeHRA, SRAce y SeMeOH lograron controlar la PA de las ratas con hipertensión, ya que tienen actividad biológica antagonista de los flujos de Ca^{2+} que son los causantes de la vasodilatación.

Los anteriores resultados se asocian con el aporte de Wang et al. (2018) donde demostraron que la R pura al aplicarse en ratas con enfermedades cardiovasculares redujo histopatológicamente las alteraciones de los tejidos cardiacos. Adicionalmente, demostraron que la R también intervino en el metabolismo de marcadores séricos como SOD y MDA importantes en la regulación de daños cardiovasculares. Para Wang et al. (2018) el estrés oxidativo es un mediador común en la patogenicidad de los factores de riesgo cardiovasculares, por lo tanto, identificar y medir SOD y MDA resulta importante en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Finalmente, está el estudio de Che et al. (2016) donde demostraron que la V aplicada directamente en ratas con enfermedades cardiovasculares (isquemia) redujo la lesión miocárdica al inhibir la peroxidación lipídica.

Para Che et al. (2016) los resultados positivos en el organismo de las ratas se deben a que la V inhibió la sobrecarga de Ca^{2+} que puede producir daños celulares en el miocardio y la supresión de la apoptosis miocárdica. Los CF presentes en la guatila permiten entonces liberar en el organismo ON mejorando las funciones cardiacas, además pueden actuar como vasodilatadores regulando el flujo de calcio al corazón y en las paredes de los vasos sanguíneos lo que disminuye la PA.

Caso 4: Wu et al. (2014) y Yang et al. (2015) demostraron que el SWE y el SAE fueron efectivos en el tratamiento de la obesidad y en la regulación de lípidos en la línea celular de cáncer de hígado humano (HepG2). En el estudio de Wu et al. (2014) se reportaron CF presentes en SWE como AG (4,41 mg/mL del extracto), APC (3,56 mg/mL del extracto), AC (4,42 mg/mL del extracto), Q (3,32 mg/mL del extracto), NA (11,28 mg/mL del extracto), CQ (11,06 mg/mL del extracto) y R (1,14 mg/mL del extracto). En el estudio de Yang et al. (2015) los CF presentes en SAE en base seca (dw) fueron: APC (6,14 mg/g de guatila dw), AC (45,74 mg/g de guatila dw), APU (12,61 mg/g de guatila dw), Q (7,21 mg/g de guatila dw), NA (23,65 mg/g de guatila dw), CQ (2,03 mg/g de guatila dw), H (40,41 mg/g de guatila dw) y RESV (1,05 mg/g de guatila dw). Para Wu et al. (2014) al tratar la línea celular de cáncer de hígado con SWE y con esas concentraciones de CF se lograron disminuir los niveles de lípidos en el hígado. También Wu et al. (2014) encontraron que el SWE activó la enzima proteína quinasa activada (AMPK) reguladora de las vías biosintéticas de los lípidos (Wu et al., 2014). La AMPK es importante en las rutas metabólicas del organismo ya que regula eventos en el hígado, tejido adiposo y páncreas (Lukitasari, Nugroho & Widodo, 2018). En el caso de Yang et al. (2015) indican que el SAE mejoró varios parámetros relacionados con los lípidos (peso corporal, tejido adiposo, homeostasis de ácidos grasos) en ratas Wistar y citotoxicidad de HepG2. Yang et al. (2015) afirman que el SAE fue efectivo en el tratamiento para reducir la progresión de un hígado graso y la obesidad.

Los anteriores efectos se pueden asociar por ejemplo con el aporte que hizo Zhou et al. (2017) en su investigación en donde demostraron que la Q pura aplicada en ratones portadores de HepG2 eliminó las células causantes del cáncer de hígado. Además, concluyen que la Q controla el crecimiento de las células cancerosas a través de la regulación de varias vías de señalización que son importantes para controlar la acumulación de lípidos en el organismo. De esta forma se demuestra que los CF presentes en la guatila tienen actividad para regular la obesidad y acumulación de lípidos tanto en el hígado como

en células humanas. Los CF intervienen en la actividad de proteínas como la AMPK que es importante para regular la acumulación de lípidos en el hígado, tejido adiposo y páncreas.

Caso 5: Salazar et al. (2017) y Aguiñiga et al. (2017) demostraron que SME fue efectivo en el tratamiento de diversas líneas de cáncer como cáncer cervical HeLa (P-388) y cáncer de leucemia. En el estudio de Salazar et al. (2017) se reportaron CF presentes en SME como Q (0,25 µg/mL del extracto), R (0,34 µg/mL), MC (1,85 µg/mL del extracto), NA (2,26 µg/mL APG (0,18 µg/mL del extracto) y GA (0,43 µg/mL). En el estudio de Aguiñiga et al. (2017) los CF presentes en SME fueron AG (0,072 mg/g de guatila dw), AV (0,032 mg/g de guatila dw), AC (0,091 mg/g de guatila dw), APU (0,032 mg/g de guatila dw), ACG (0,823 mg/g de guatila dw), NA (1,556 mg/g de guatila dw) y APG (0,292 mg/g de guatila dw). Para Salazar et al. (2017) y Aguiñiga et al. (2017) el SME tiene efectos positivos para tratar cualquier tipo de cáncer, ya que puede inhibir el crecimiento de células tumorales y proteger las células normales de la médula ósea.

Los anteriores efectos se pueden asociar por ejemplo con el aporte que hizo Yamagata, Izawa, Onodera & Tagami (2018) donde demostraron que el ACG tuvo efectos positivos en el tratamiento de cáncer de pulmón. En este caso se encontró que el ACG reguló varios marcadores de células madre como factor de OCT4, SOX2, CD44 y NANOG (Yamagata, Izawa, Onodera y Tagami, 2018). Otro estudio es el de Wang et al. (2019) en donde demostraron que la NA tuvo efectos positivos en el tratamiento de cáncer de mama. En este estudio también se demostró que la NA logra activar las enzimas caspasa-3 y caspasa-9 importantes para la apoptosis o la muerte de células infectadas (Wang et al., 2019). De esta forma se demuestra que varios de los CF presentes en la guatila tienen actividad anticancerígena.

Discusión general: Durante el capítulo cuatro se presentaron ensayos clínicos evaluando los efectos en animales y células humanas al ser tratados con los extractos de guatila y CF puros. Los resultados obtenidos en las diferentes investigaciones permiten verificar que estos compuestos intervienen en diferentes rutas metabólicas. Ahora bien, hasta este punto se han presentado las propiedades beneficiosas de los CF en la prevención de algunas enfermedades, sin embargo mencionar que estos compuestos son la cura total sería algo apresurado. Los CF constituyen una fracción compleja formada por un número muy grande de compuestos, por lo tanto se requieren estudios de los efectos de los CF presentes en un

alimento y sus efectos en el organismo desde el punto de vista de la biodisponibilidad. Para Quiñones, Miguel & Aleixandre (2012) la biodisponibilidad se define como la cantidad de una sustancia que se absorbe y alcanza la circulación sistémica, donde se distribuye por lo tejidos hasta alcanzar los lugares donde ejerce su efecto biológico. Hasta el momento se conoce poco sobre la absorción, biodisponibilidad y metabolismo de los CF en el organismo y es probable que cada grupo tenga un comportamiento diferente (velocidad de absorción, naturaleza de los metabolitos y modo de eliminación).

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, para futuras investigaciones en guatila se pueden retomar los resultados presentados en la **Tabla 3** y las concentraciones de los CF presentes en los extractos (**Tabla 4**). Todo ello, permite evaluar cuáles son los CF que mejor se absorben en el organismo, caracterizar la actividad biológica y analizar las diferentes formas de eliminación de estos metabolitos. Con el presente trabajo se puede mencionar que el hecho de que existan ensayos clínicos (*in vivo* e *in vitro)* con guatila y con resultados satisfactorios en animales y células humanas, demuestra que algunos CF presentes son biodisponibles.

Tabla 4. Cuantificación de compuestos fenólicos presentes en guatila.

Autor- parte de la planta empleada	**Concentraciones de los compuestos fenólicos**
Ordoñez, Ordoñez, Zampini & Isla (2009) Hojas	Luteolina-7-*O*-glucósido 0,75 mg/g dw
Ibarra et al. (2010) Tallos y hojas	Hesperitina, quercetina, catequina, kaempferol y rutina
Maity, Firdous & Debnath (2013) Fruto	Flavonoides (no se reporta)
Wu et al. (2014) Hojas	Ácido gálico (4,41 mg/mL del extracto), protocatecúico (3,56 mg/mL del extracto), ácido cafeico (4,42 mg/mL del extracto), quecertina (3,32 mg/mL del extracto), naringenina (11,28 mg/mL del extracto), galactocatequina (11,06 mg/mL del extracto) y rutina (1,14 mg/mL del extracto).

Lombardo et al. (2014) Raíces	Ácidos hidroxicinámicos (*p*-cumárico y cinámico) y Flavonoide (vitexina)
Yang et al. (2015) Brotes y hojas	Ácido protocatecúico (6,14 mg/g de guatila dw), ácido cafeico (45,74 mg/g de guatila dw), ácido *p*-cumárico (12,61 mg/g de guatila dw), quercetina (7,21 mg/g de guatila dw), naringenina (23,65 mg/g de guatila dw), catequina (2,03 mg/g de guatila dw) y hesperetina (40,41 mg/g de guatila dw) y resveratrol (1,05 mg/g de guatila dw).
Salazar et al. (2017) Fruto	Quecertina (0,25 µg/mL del extracto), rutina (0,34 µg/mL del extracto), miricetina (1,85 µg/mL del extracto), naringenina (2,26 µg/mL del extracto, apigenina (0,18 µg/mL del extracto) y galangina (0,43 µg/mL del extracto).
Aguiñiga et al. (2017) Fruto	Ácido gálico (0,072 mg/g de guatila dw), ácido vanílico (0,032 mg/g de guatila dw), ácido cafeico (0,091 mg/g de guatila dw), ácido *p*-cumárico (0,032 mg/g de guatila dw), clorogénico (0,823 mg/g de guatila dw), naringenina (1,556 mg/g de guatila dw) y apigenina (0,292 mg/g de guatila dw).

Finalmente, por medio de esta revisión bibliográfica se genera un interrogante de discusión que sería importante de analizar para futuras investigaciones ¿Durante los procesos de obtención de los extractos de guatila se obtuvieron solamente CF?. Esta pregunta surge específicamente por las metodologías empleadas para obtener los extractos de guatila, en donde se emplearon diferentes solventes como agua, acetato de etilo, etanol y metanol. Al tener solventes con diferentes polaridades pueden quedar durante los procesos otro tipo de compuestos como las diferentes fracciones de FD que sean solubles. Por lo tanto se recomienda verificar si en realidad los CF presentes en la guatila son los únicos compuestos que generan efectos positivos o por el contrario si están asociados a otros compuestos.

Para concluir este ítem, se hizo una relación entre los ensayos clínicos de guatila con CF puros. Este análisis demuestra que la guatila tiene efectos positivos en la prevención de diversas patologías. Además que los CF presentes en la guatila intervienen en la regulación de proteínas como la AMPK (importante en el control de lípidos), activación de las capasas (importantes en la muerte de células cancerosas) y liberación de compuestos como el ON. Es importante mencionar que los ensayos se han realizado en animales y células humanas,

pero eso no quiere decir que no se puedan relacionar los resultados obtenidos con los efectos en el organismo humano. Desde las evidencias científicas con los ensayos en células humanas se puede predecir el comportamiento *in vivo* en humanos, sin embargo se necesitan análisis más profundos para valorar los efectos.

Capítulo 5. Fibra dietaria y clasificación

En la investigación de Falcon et al. (2011) el término de FD hace referencia a los constituyentes no digeribles que componen la pared celular de las plantas. Sin embargo, el término de FD ha evolucionado hasta el punto de definirse como la combinación de sustancias químicas de distinta composición y estructura, tales como celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina, inulina entre otras que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano y con una fermentación parcial o completa en el intestino grueso (Vilcanqui & Vílchez, 2017; Rodríguez et al., 2006). Teniendo en cuenta el concepto general dado en las diferentes referencias bibliográficas, en este capítulo se va a presentar la clasificación de la FD desde el punto de vista de la solubilidad y viscosidad.

5.1 Clasificación de la fibra dietaria

Para Falcon et al. (2011) y Macagnan, Da Silva & Hecktheuer (2016) existen diferentes formas de clasificar la FD como su origen (plantas, animales, nativos o sintéticos), estructura molecular (lineales o no lineales), solubilidad y viscosidad. Sin embargo, la solubilidad y la viscosidad son las clasificaciones que más se reportan en la literatura en comparación con las mencionadas anteriormente. Por ello en este ítem se hará mención de la clasificación de la FD respecto a la solubilidad y viscosidad.

Las propiedades de solubilidad y viscosidad tienen efectos en la funcionalidad de la FD durante el procesamiento de alimentos y en el trayecto gastrointestinal (Vilcanqui & Vílchez, 2017). La solubilidad hace referencia a cómo la FD se dispersa o no en el agua. El hecho de que la FD pueda enlazar una gran cantidad de agua la hace altamente útil desde el punto de vista fisiológico, ya que esta aumenta el volumen de la fase acuosa del bolo alimenticio y disminuye la absorción de nutrientes en el intestino (Falcon et al., 2011). La viscosidad se describe como la resistencia al flujo o a las deformaciones graduales cuando se aplica un esfuerzo de corte (Vilcanqui & Vílchez, 2017).

Como se muestra en la **Figura 20** desde el punto de vista de la clasificación de solubilidad y viscosidad existe una relación entre estas dos propiedades, ya que determinan las características de la FD y el metabolismo en el organismo. Acorde a la clasificación establecida de solubilidad y viscosidad a continuación se presentan los tipos de FD:

- Fibra dietaria soluble (FDS): La FDS es soluble en agua y presenta gran viscosidad. La FDS está compuesta por pectinas, gomas, mucilagos y algunas hemicelulosas (Falcon et al., 2011; Dai & Chau, 2017). También se han incluido otros componentes como almidones resistentes (AR), inulina, fructo-oligosacáridos (FOS) y los galacto-oligosacáridos (GOS) (García & Velasco, 2007). La FDS en contacto con el agua forma soluciones de gran viscosidad en forma de gel, lo que facilita que la FDS pueda ser descompuesta por los fluidos gastrointestinales y liberar ciertos gases (Dai & Chau, 2017).

- Fibra dietaria insoluble (FDI) o poco soluble: La FDI no se disuelve en agua y presenta poca viscosidad. La FDI está compuesta por lignina, celulosa y algunas hemicelulosas (Falcón et al., 2011). La FDI en contacto con el agua forma soluciones de poca viscosidad, esto produce un aumento de la masa fecal (Dai & Chau, 2017).

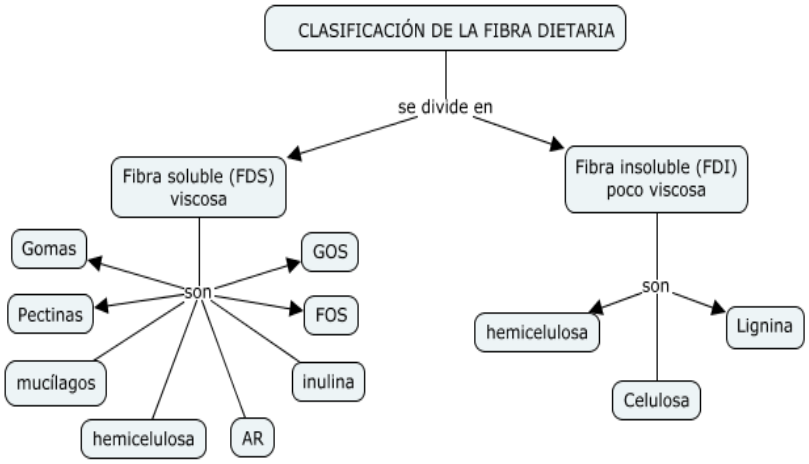


Figura 20. Clasificación fibra dietaria.
Adaptado: García & Velasco (2007).

Para concluir, en este capítulo se presentó la definición de FD y su clasificación con respecto a la solubilidad y viscosidad. En la naturaleza se pueden encontrar dos tipos de FD: FDS-viscosa y la FDI poco soluble-poca viscosidad. Esta relación entre la solubilidad y viscosidad permite la comprensión desde una perspectiva funcional, ya que no todas las fibras tienen los mismos efectos en la salud. Es importante mencionar que los efectos funcionales de la FD en el organismo no sólo tienen que ver con las propiedades de solubilidad y viscosidad, sino que también con otras propiedades como capacidad de

fermentación, características de superficie, capacidad de hidratación y mecanismos moleculares de la FDS en el tracto gastrointestinal (Vilcanqui & Vílchez, 2017; Espinal, 2016). La capacidad de fermentación es importante en el organismo ya que al mantenimiento y desarrollo de la flora bacteriana. Las características de superficie de la FD determina el comportamiento reológico de la FD en el organismo. La capacidad de hidratación determina en gran medida el destino de la FD en el tracto digestivo (Vilcanqui & Vílchez, 2017). Los mecanismos moleculares de la FDS hacen referencia a las actividades que tienen los componentes de la FD sobre el organismo. Por ejemplo el control de la enzimas digestivas (inhibición la lipasa pancreática), modificación de las propiedades reológicas de los fluidos gastrointestinales y la floculación de los lípidos (Espinal, 2016; Aguilera, Espinal & Narváez, 2018).

Capítulo 6. Estrategias para evaluar fibra dietaria

En la literatura científica se pueden encontrar varios métodos analíticos que permiten evaluar la FD, estos métodos están establecidos por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) (Macagnan, Da Silva & Hecktheuer, 2016). Los métodos clásicos hasta aproximadamente el año 2005 fueron AOAC 985.29 y 991.43, las cuales eran metodologías oficiales recomendadas para el análisis de FD en alimentos. El primer método evalúa directamente la FD total de un alimento y el segundo método logra diferenciar las fracciones solubles e insolubles de la FD (Macagnan, Da Silva & Hecktheuer, 2016), estos dos métodos tienen en común la cuantificación de los componentes de la FD de alto peso molecular. Desde el año 2009 el CODEX estableció estrategias que permiten también evaluar la FD con aquellos componentes de bajo peso molecular, como es el caso del método enzimático-gravimétrico acoplado a HPLC. A continuación, se presentan las estrategias más empleadas para evaluar FD en alimentos.

6.1 Método enzimático-gravimétrico

Una de las estrategias para cuantificar FD es mediante el uso de enzimas y precipitación con solventes conocido como el método de la AOAC 985.29. En la **Figura 21** se muestran los aspectos principales para el método enzimático-gravimétrico en la de determinación de FD. Este método consiste en tomar duplicado de muestras previamente desecadas, seguidamente el almidón se ataca con α-amilasa y luego se hace digestión enzimática con proteasa y amiloglucosidasa para eliminar proteínas. Posteriormente, se adiciona etanol y se deja precipitar y filtrar los residuos (FDS + FDI). Finalmente, un residuo se emplea para el análisis de proteínas y el otro residuo se emplea para determinar cenizas.

Figura 21. Aspectos principales para el método enzimático gravimétrico. **Fuente**: AOAC 985.29 (1995).

6.2 Método enzimático-gravimétrico acoplado a HPLC

Este proceso se conoce como el método para la determinación de la FD total (AOAC 2009.01) y mide la fracción de FD de alto peso molecular mediante técnicas enzimáticas-gravimétricas y en la cuantificación de FD de bajo peso molecular por cromatografía HPLC (Macagnan, Da Silva & Hecktheuer, 2016). Este método fue establecido por el CODEX en año 2009 y consiste en aislar los residuos de FD por acción enzimática y en liberar por hidrólisis ácida los azúcares neutros que constituyen los polisacáridos de la FD para luego medirlos por cromatografía HPLC (Macagnan, Da Silva & Hecktheuer, 2016).

Como se presenta en la **Figura 22** la muestra se incuba durante 16 h y se trata con la enzima α-amilasa a 37 °C. Durante este paso, el almidón no resistente se solubiliza y se hidroliza a glucosa y maltosa. Luego la proteína es digerida por la enzima proteasa a 60 ºC. Para la cuantificación de FD de alto peso molecular se agrega etanol, se calienta y se pesa. Las FD no precipitadas o de bajo peso molecular que se encuentran en el filtrado (solución de etanol) son desalinizadas en una columna de resina, nuevamente se concentra en etanol y se cuantifican por medio de la técnica de separación cromatográfica por HPLC.

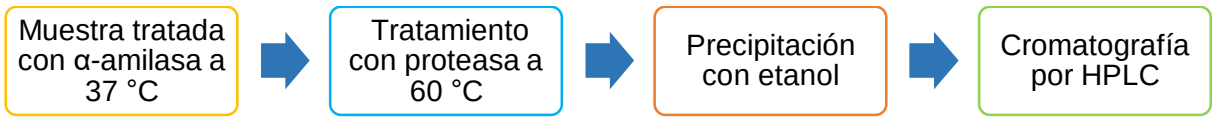


Figura 22. Método enzimático-gravimétrico acoplado a HPLC.
Fuente: Macagnan, Da Silva & Hecktheuer (2016).

6.3 Método de aislamiento para las fracciones FDI y FDS

El método de aislamiento para las fracciones de FDI y FDS (AOAC 991.43) es el método general para medir la FD total en la mayoría de alimentos. La diferencia entre el método AOAC 991.43 con respecto a los métodos enzimáticos-gravimétricos mencionados anteriormente, radica en que los enzimáticos-gravimétricos pueden aplicarse para realizar evaluaciones complementarias de otros componentes o fracciones de FD que no son cuantificados por los métodos generales debido a su solubilidad en alcohol (Lamothe et al., 2015). Mientras que el método AOAC 991.43 da resultados satisfactorios en relación con

los alimentos que no contienen ni oligosacáridos no digeribles adicionados, ni fracciones de almidón resistente que no son cuantificados con los citados métodos AOAC.

Como se presenta en la **Figura 23** en primer lugar la muestra se desengrada y se suspende en agua en porción 1:10 (*m/v*). En segundo lugar, se combina la muestra con α-amilasa (0,2 mL/g) y se calienta a 90 °C con agitación constante durante 20 min. En tercer lugar, las suspensiones se enfrían a 60 °C y se añade la enzima amiloglucosidasa (0,1 mL/g). En cuarto lugar, se ajusta el pH a 6,0 con HCl 1N y se añade proteasa neutra a las suspensiones. En quinto lugar, se hace el proceso de digestión con las enzimas α-amilasa y amiloglucosidasa por segunda vez. En sexto lugar, las suspensiones tratadas enzimáticamente se filtran y los sólidos de FDI y FDS se transfieren a diferentes recipientes. En séptimo lugar, tanto la FDS como la FDI se tratan nuevamente con α-amilasa y amiloglucosidasa. En octavo lugar los sólidos de FDI se filtran para eliminar porciones de agua y luego se seca en horno a 50 °C. En el caso de los sólidos FDS se filtran y se enfrían a temperatura ambiente. Finalmente, los contenidos tanto de FDI como de FDS se centrifugan y el sobrenadante se liofiliza.

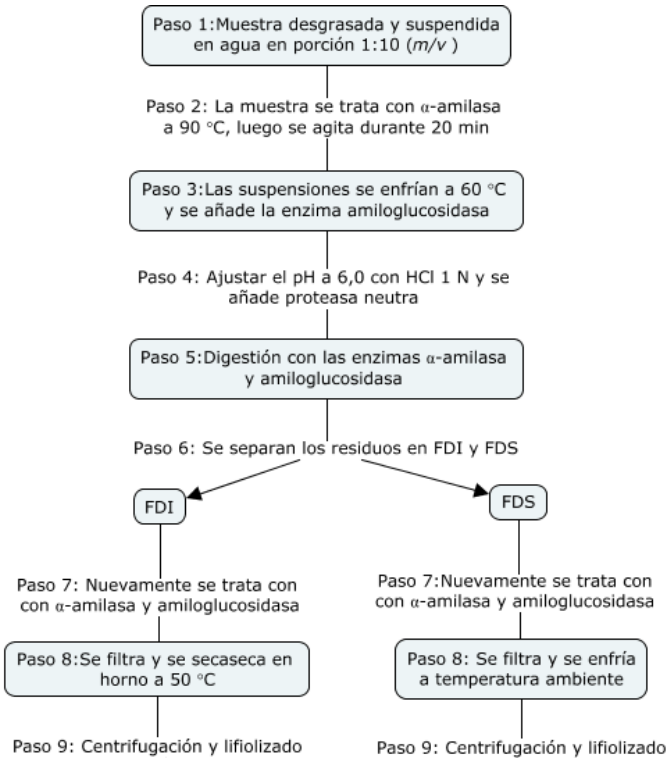


Figura 23. Método para las fracciones FDI y FS.

Adaptado: Lamothe et al. (2015).

Para concluir, en este capítulo se presentaron las diferentes estrategias para evaluar FD. Los métodos clásicos hasta aproximadamente el año 2005 fueron AOAC 985.29 y 991.43 que tienen en común la cuantificación de los componentes de la FD de alto peso molecular. Sin embargo desde el año 2009 el CODEX estableció estrategias como el método enzimático-gravimétrico acoplado a HPLC que permite evaluar la FD con aquellos componentes de bajo peso molecular. Con estas estrategias presentadas a lo largo del capítulo se logran establecer semejanzas y diferencias entre los mismos. Por ejemplo los métodos AOAC 985.29 y AOAC 2009.01 se emplean para hacer análisis complementarios de otros componentes de FD que no son cuantificados por los métodos generales debido a su solubilidad en alcohol (etanol). En el caso del método AOAC 991.43 se logran análisis de alimentos que no contienen oligosacáridos, ni fracciones de almidón resistente que no son cuantificados por otros métodos.

Capítulo 7. Estudios de fibra dietaria en la guatila

Si bien los CF contribuyen a la salud de las personas, la FD de la guatila también puede tener efectos positivos en la salud (Lalthansanga & Samanta, 2015). El consumo de alimentos con FD ayuda al organismo a prevenir enfermedades como diverticulosis, estreñimiento, cáncer de colon y diabetes (Del Ángel, García, García & De la Cruz, 2017).

En el trabajo de Vieira, Pinho, Ferreira & Delerue-Matos (2018) encontraron que la guatila tiene FD en base seca entre 0,40 a 7,60 (*m/m* dw), las raíces tienen entre 0,17 a 0,40 (*m/m* dw). En el caso de los tallos el contenido de FD está entre 1,20 a 21,7 (*m/m* dw) y las hojas tienen entre 1,10 a 12,1 (*m/m* dw).

7.1 Ensayos clínicos con fibra dietaria presentes en la guatila

Existen diferentes investigaciones que se han realizado con FD de guatila con la finalidad de analizar los efectos en el organismo. Dichos estudios se han realizado tanto en animales como en líneas celulares humanas. A continuación, se presentan los resultados obtenidos (**Tabla 5**).

Tabla 5. Ensayos clínicos con fibra dietaria presente en la guatila (*Sechium edule*).

Autor: Modgil & Modgil (2004).
Objetivo del estudio: Modgil & Modgil (2004) deseaban saber si la FD de la guatila y la calabaza causaban alguna alteración en la alimentación y peso corporal en ratas albinas. **Metodología:** La guatila y la calabaza fueron cortadas en trozos pequeños y se secaron en un deshidratador durante 6 h. Luego se molieron en un molino Willy para pasar a través de un tamiz de malla y los residuos se guardaron para el análisis. La FD se determinó por medio del método estándar de la A.O.A.C (1990). En la primera parte del estudio se preparó una dieta para las ratas que contenía caseína, aceite de cacahuate, sacarosa, celulosa, minerales, vitaminas y almidón. Posteriormente un grupo de animales fue tratado con guatila (2,5 *m/m*) y otro grupo de ratas con calabaza (1,5 *m/m*), para valorar los efectos

en la dieta y peso corporal. Para este estudio se emplearon 60 ratas albinas que fueron divididas en seis grupos y alimentadas durante 40 días. Es importante mencionar que en el artículo no se mencionan las diferencias en la alimentación de los grupos de ratas seleccionadas. Los parámetros evaluados en este trabajo fueron: Índice de eficiencia proteica (PER), índice de conversión de alimento (FER), digestibilidad en materia seca (DMD) y utilización neta de proteínas (NPU). El parámetro PER hace referencia al aumento de peso de un individuo debido a la ingesta de una proteína durante el período de prueba. El parámetro FER es una relación o índice de tasa de eficiencia con que los cuerpos convierten el alimento de animales en el producto deseado. El parámetro DMD indica cómo las macromoléculas que componen la materia seca de los alimentos se transforman en unidades absorbibles por el organismo. El parámetro NPU es la proporción de aminoácidos convertidos en proteínas a la proporción de aminoácidos suministrados.

Resultados: En este estudio se encontró que las ratas tratadas con la FD de guatila y calabaza mostraron disminución en el peso corporal. En el parámetro PER se encontró que las ratas tratadas tanto con calabaza y guatila mostraron una relación de eficiencia en PER porque disminuyeron su peso. En los parámetros FER y DMD se encontró que en las ratas control hubo mayor digestibilidad comparadas con aquellas ratas tratadas con guatila y calabaza. En cuanto al parámetro NPU se encontró un aumentó en el grupo control y menor en los grupos tratadas con guatila y calabaza. Cabe mencionar que en este trabajo los autores afirman que las ratas tratadas con guatila tuvieron mejores resultados en los parámetros evaluados. Para Modgil & Modgil (2004) esto se debe a que los componentes de la FD tienen mejores efectos en la microflora de las ratas.

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos en la alimentación de ratas tratadas con FD de guatila y calabaza. Modgil & Modgil (2004) concluyeron que la guatila en comparación con la calabaza tiene mejor metabolismo en el organismo de las ratas por los constituyentes de la FD y que puede emplearse en la regulación del peso corporal. Los anteriores efectos se deben a los componentes de la FD de la guatila. En este caso se puede analizar que al tener mayor porcentaje de FD de guatila con respecto a la calabaza, se produce un impacto mayor en el metabolismo de las ratas.

Autor: Lalthansanga & Samanta (2015).

Objetivo del estudio: En la investigación de Lalthansanga & Samanta (2015) deseaban saber si el contenido de FD en harina de guatila tenía algún efecto en el peso corporal y en la digestión de nutrientes en cerdos indígenas de Mizoram, al ser tratados con diferentes niveles de harina de guatila (fruto y hojas en proporción 4:1).

Metodología: Para este estudio se emplearon 24 cerdos, los cuales fueron tratados inicialmente con concentrado. El concentrado consistió en una mezcla de maíz amarillo 55% (*m/m*), salvado de trigo 20% (*m/m*), cacahuate 16% (*m/m*), harina de pescado 7% (*m/m*), mezcla mineral 1,5% (*m/m*) y sal común 0,5% (*m/m*). A los cerdos se les cambió la dieta de concentrado por harina de guatila que contenía 15,10% (*m/m*) de materia seca; 5,87% (*m/m*) de ceniza total; 11,73% de FD; 55,53% (*m/m*) de extracto libre de nitrógeno y 13,62% (*m/m*) proteína bruta. Posteriormente los cerdos se dividieron en cuatro grupos de la siguiente manera: El primer grupo de cerdos fue tratado con 0% (*m/m*) de harina, el segundo grupo de cerdos tratado con 20% (*m/m*) de harina, el tercer grupo de cerdos tratado con 30% (*m/m*) de harina y el cuarto de grupo de cerdos tratado con 40% (*m/m*) de harina. Como procedimiento experimental, se realizó un período de adaptación ambiental y dietética de diez días y luego se hizo un ensayo de alimentación de 90 días. Durante este período, se registró la ingesta diaria de materia seca. El peso corporal de los animales se registró antes del inicio de la prueba de alimentación y en un intervalo de siete días durante el período experimental. Se llevó a cabo un ensayo de digestión de cinco días tomando tres animales de cada grupo. En la primera parte del estudio, se evaluó el consumo de la harina de guatila por parte de los cerdos, esto con el objetivo de valorar el aumento o disminución en la preferencia en el consumo de harina de guatila como reemplazo del concentrado normal. En la segunda parte, se evaluó el rendimiento de crecimiento de los cerdos, esto con la finalidad de analizar los cambios en el peso corporal de los cerdos durante las 14 semanas del período experimental al tratarlos con la harina de guatila. En la tercera parte del estudio se evalúo la digestibilidad de nutrientes en los cerdos, este parámetro es importante de valorar porque la ingesta excesiva de harina de guatila puede causar menor digestibilidad.

Resultados: En la primera parte del estudio se halló que hubo pequeños cambios en las preferencias de los cerdos entre el consumo de harina de guatila con respecto al grupo no tratado. La reducción numérica de la ingesta en los grupos tres y cuatro pudo atribuirse a

la naturaleza más voluminosa de la comida de harina de guatila. El alto contenido de humedad del alimento experimental lo hizo bastante voluminoso durante la alimentación, lo que pudo haber activado el centro de saciedad del cerebro. En la segunda parte, se encontró que el grupo uno aumentó el peso corporal, el grupo dos no tuvo cambios significativos en el peso corporal y los grupos tres y cuatro disminuyeron el peso corporal a medida que aumentaba la concentración de harina de guatila. También se encontró, que hubo una tendencia creciente de los valores de eficiencia de conversión de alimento cuando los cerdos se alimentaron con una mayor cantidad de harina de guatila. Lalthansanga & Samanta (2015) indicaron que los cerdos alimentados con dietas que incluyen harinas de hojas tienen una baja retención de nitrógeno, lo que podría explicar la disminución en el peso corporal. En la tercera parte del estudio se encontró que no hubo cambios significativos en los grupos alimentados con harina de guatila con respecto al grupo uno que no recibió harina de guatila.

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos de la harina de guatila en la dieta de cerdos. Lalthansanga & Samanta (2015) demostraron que los cerdos alimentados con la harina de guatila tuvieron reducción en el peso corporal.

Autor: Castro, Shiga & Do Nascimento (2019).

Objetivo del estudio: Castro, Shiga & Do Nascimento (2019) deseaban saber si la FDS de la guatila era efectiva en la regulación de formación de células espumosas inducidas por cristales de colesterol (CC) y la activación del inflamasoma NLRP3 (complejo multiproteico) en células THP-1 (analiza líneas celulares de leucemia) similares a macrófagos.

Metodología: Para este estudio en la primera parte se hizo una extracción y caracterización del polisacárido no almidón soluble de la FDS de guatila. Para ello se tomó la pulpa de guatila liofilizada, se incubó en metanol y se trató con enzimas como la amilasa y proteasa para hidrolizar el almidón. Posteriormente la FDS de guatila se precipitó y se lavó con etanol hasta obtener una concentración del 80% (*v/v*). En la segunda parte se fabricaron los catalizadores de ataques cardíacos y accidentes cerebrovasculares con la finalidad de propiciar la inflamación de las células normales. En la tercera parte se empleó la línea celular THP-1 las cuales fueron tratas con FDS de guatila, esto con la finalidad de evidenciar el cambio en el metabolismo de las células con CC al recibir FDS de guatila.

En la cuarta parte se evaluó el contenido de lípidos intracelular por medio del ensayo Oil red, que se utiliza para la detección de grasas neutras o gránulos de polietileno en tejidos histológicos. En la quinta parte se evaluó la liberación de interleucina (IL)-1β utilizando el kit OptEIA. La (IL)-1β es liberada en el organismo y tiene acciones estimuladoras e inhibitorias sobre diversos tipos celulares e incluso promueve la apoptosis de otras (Castro, Shiga & Do Nascimento, 2019). Además se evaluó la activación del inflamosoma NLRP3. Los inflamosomas son complejos proteicos localizados en el citoplasma de las células, que actúan como sensores y son mediadores del desarrollo de la inflamación. La activación descontrolada del NLRP3 pueden causar daño lisosomal y tisular.

Resultados: En la primera parte del estudio se halló que FDS de guatila tiene componentes como galactosa (23% en moles), ácido galacturónico (20% en moles), glucosa (16% en moles) y arabinosa (16% en moles) con cantidades menores de xilosa, ramnosa, manosa, fucosa y ácido glucurónico. En la segunda, tercera, cuarta y quinta parte se encontró que las células THP-1 tratadas con 400 µg/mL de FDS de guatila mostraron reducción en la acumulación de lípidos. Además se halló que en las células THP-1 se liberó la IL-1β. La IL-1β se produce en grandes cantidades como respuesta a infecciones o cualquier tipo de lesión o estrés. Castro, Shiga & Do Nascimento (2019) mencionaron que los anteriores efectos se deben a que la FDS de guatila es capaz de aumentar la expresión del gen LXRα (regulador clave de la función de los macrófagos, controlando la homeostasis lipídica y la inflamación). También se encontró la FDS de guatila inhibe la activación del inflamasoma NLRP3 en células similares a los macrófagos. De esta manera, afectó el flujo de salida de potasio y los niveles de proteasa lisosómica, dos elementos necesarios para promover el ensamblaje del inflamasoma NLRP3 inducido por CC y, por lo tanto, la activación de caspasa-1 en células pretratadas con CC.

Conclusiones: En este trabajo se hicieron diferentes mediciones para valorar los efectos de FDS de guatila en la formación de células espumosas inducidas por CC y la activación del inflamasoma NLRP3 en células THP-1. Castro, Shiga & Do Nascimento (2019) concluyeron que la FDS de guatila reduce la expresión de los genes NLRP3 e IL-1β en células, además FDS de guatila inhibe la inflamasoma NLRP3. La activación del NLRP3 es dependiente de la transformación de pro-caspasa-1 a caspasa-1, que aumenta la liberación de IL-1β una forma inflamatoria de la muerte celular programada. Los anteriores efectos positivos hacen que FDS de guatila sea un alimento funcional.

Para concluir este capítulo, en esta parte de la revisión bibliográfica se recopilaron estudios sobre FD de la guatila y los efectos tanto en animales como líneas celulares humanas. Los resultados de las investigaciones muestran que la FD de guatila tiene efectos positivos, ya que regula el peso corporal de animales. También, la FD de la guatila tiene efectos positivos en líneas celulares humanas en la regulación de lípidos al intervenir en el metabolismo de la expresión de los genes NLRP3 y liberación de IL-1β. Es importante mencionar que si bien existen artículos donde reportan la composición nutricional de la guatila e involucran datos sobre FD de cada una de sus partes (hojas, tallos, raíces y fruto) la información respecto a ensayos clínicos con FD de guatila es limitada de ahí que solo en este capítulo se presentaron tres investigaciones.

7.2 Ensayos clínicos con fibra dietaria pura

En este ítem se presentan ensayos clínicos con FD evaluando los efectos en animales y células humanas. Esto con la finalidad de asociar los resultados obtenidos en los diferentes ensayos clínicos con FD de guatila y los obtenidos con FD pura. A continuación, se presentan investigaciones con FD pura (**Tabla 6**).

Tabla 6. Ensayos clínicos con fibra dietaria pura.

Autor: Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis, 2012).
Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis (2012) deseaban conocer los efectos de diferentes fracciones de FD sobre la motivación de la alimentación en cerdas adultas. Para este estudio se emplearon 16 cerdas adultas, las cuales fueron organizadas en pares y se trataron con cuatro dietas. Las cerdas se asignaron a cuatro tratamientos dietéticos que difirieron en el tipo de FD: lignocelulosa (LC), almidón resistente (AR), pectina (PEC) y un control sin FD. Las diferentes fracciones de FD se seleccionaron en función de las diversas propiedades fisicoquímicas y sus efectos en el tracto gastrointestinal (pueden relacionarse posteriormente con la saciedad). Para estudiar las relaciones dosis-respuesta, cada grupo de cerdas se trató a dos niveles de inclusión de las fracciones de FD, es decir, un nivel de inclusión bajo (L) durante los primeros siete días y un nivel de inclusión alto (H) durante los últimos siete días de cada período. Los niveles empleados en la dieta de las cerdas fueron: 50 g/kg y 100 g/kg de LC, 197 g/kg y 394 g/kg de AR y 75 g/kg y 149 g/kg de PEC. En la primera parte del estudio se evaluaron

los efectos de las diferentes fracciones de FD sobre la motivación de la alimentación a través de observaciones de comportamiento de las cerdas en su corral y a través de dos pruebas de motivación de la alimentación: una prueba operante y una pista. La prueba operante consistió en hacer que las cerdas giraran un dispensador que contenía las diferentes FD, esta prueba se realizó para valorar la motivación de las cerdas al adquirir las fracciones de FD. Cuanto mayor era el número de giros realizados, mayor era la motivación de alimentación de estos animales. La prueba de pista consistió en hacer caminar a las cerdas en una pista, para ello se valoró la velocidad al caminar o correr hacia la comida, esta prueba se hizo con el objetivo de relacionar la motivación por parte de las cerdas con las fracciones de FD. En la segunda parte se evaluó el comportamiento de las cerdas con base a los siguientes parámetros: posturas (acostadas o de pie), comportamiento exploratorio (olfatear), masticar, comportamiento dirigido (trepar, husmear, comer) y comportamiento manipulador dirigido a compañeras (mordisquear, chupar o masticar cualquier parte del cuerpo de otra cerda).

En la primera del estudio se halló que las cerdas tratadas con dietas de PEC y LC aumentaron los números de giros del dispensador a medida que se aumentó el nivel de FD. En el caso de las cerdas tratadas con dietas de C y AR no se evidenció ningún cambio motivacional. Para la prueba de pista se encontró que las cerdas tratadas con PEC y LC tuvieron mayor velocidad para adquirir PEC y LC en comparación con las cerdas que recibieron C y AR cuya velocidad fue menor por parte de las cerdas. En la segunda parte se halló que las cerdas que recibieron en su dieta PEC tendieron a pasar más tiempo en la masticación que los cerdos en la dieta C, LC y AR. Además, otro parámetro que se vio afectado fue el comportamiento manipulador, donde las cerdas alimentadas con alto nivel de PEC pasaron más tiempo manipulando a sus compañeras.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de esta investigación, Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis (2012) realizaron los siguientes análisis entre los resultados obtenidos con respecto a cada fracción de FD:

PEC: La PEC en el organismo induce a la saciedad al retrasar el vaciado gástrico y el tránsito intestinal lo que prolonga el tiempo de digestión enzimática. Este proceso afecta la liberación de hormonas relacionadas con la saciedad intestinal como péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) y péptido YY (PYY). En la investigación los resultados fueron

contradictorios ya que las cerdas alimentadas con PEC mostraron una mayor motivación para la alimentación en la pista y pruebas operantes en comparación con las cerdas alimentados con otras dietas. Para Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis (2012) las cerdas que tuvieron mayor preferencia por PEC, posiblemente lo hicieron por la forma física de la dieta (alimentación sólida) puede haber evitado los efectos saciantes de la PEC en las cerdas. Esta variación puede explicarse por el aumento de la viscosidad al ser mayor en dietas líquidas en comparación con dietas sólidas.

LC: La LC tiene una alta capacidad de retención de agua y, por lo tanto, se considera una FD voluminosa. Las FD voluminosas pueden aumentar la distensión estomacal y de igual manera la saciedad. La prueba operante confirmó que no hubo preferencias de LC por parte de las cerdas, esto se dió por el aumento en la capacidad de retención de agua en el estómago de las cerdas al recibir LC en su dieta, lo que retrasó la velocidad de vaciado gástrico. En el caso de la prueba de pista el efecto fue contradictorio ya que las cerdas mostraron una motivación de alimentación aparente más alta que las cerdas alimentadas con la dieta C. Para Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis (2012) un alto nivel de inclusión de LC reduce la motivación de alimentación, a pesar de un suministro de energía más bajo en comparación con la dieta C.

AR: El AR es altamente fermentable y su ingestión da como resultado la producción de ácidos grasos de cadena corta con niveles relativamente altos de butirato en la parte distal del tracto gastrointestinal. Como consecuencia, se genera un efecto de saciedad a largo plazo (más de 3 h después de la comida). Estos efectos fueron corroborados en la investigación, ya que las cerdas tanto en la prueba de operación como de pista no tuvieron preferencia por AR.

Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis (2012) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto de las diferentes fracciones de FD en la motivación de alimentación en cerdas. De esta forma los autores concluyeron que, a pesar de un menor suministro de energía disponible, la LC y el AR no dieron como resultado una mayor motivación para la alimentación en comparación con la dieta C. En el caso de las cerdas alimentadas con dieta PEC aumentaron la motivación para la alimentación en las pruebas operantes y de pista, además tuvieron cambios en comportamiento dirigido por el alimentador, masticación estereotipada y comportamiento manipulador durante las

observaciones conductuales. Esto significa que la PEC fue la FD menos apetecida por las cerdas, mientras que tanto la LC como el AR lograron superar los efectos de un suministro de energía disponible reducido en comparación con la dieta C, posiblemente debido a sus propiedades voluminosas y de fermentación. Para Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis (2012) los mecanismos fisiológicos por los cuales el volumen y la fermentación reducen la motivación de la alimentación y promueven la saciedad, y los efectos a largo plazo de la ingesta de FD sobre la ingesta voluntaria de energía y el peso corporal merecen investigación adicional.

Autor: Wu et al. (2018).

Wu et al. (2018) deseaban conocer el efecto de la FD en el rendimiento del crecimiento, la digestibilidad de los nutrientes y el desarrollo intestinal en cerdos. Para este estudio emplearon 32 cerdos machos, los cuales fueron destetados a los 21 días y divididos en cuatro grupos. El primer grupo de cerdos fue tratado con una dieta sin FD, el segundo grupo de cerdos fue tratado con 5,1% (*m/m*) de celulosa (CEL), el tercer grupo de cerdos fue tratado con 5,2% (*m/m*) de arabinoxilano (XYL) y el cuarto grupo de cerdos fue tratado con 5,83% (*m/m*) de β-glucano (GLU). La dieta experimental fue formulada sobre la base de los requerimientos de nutrientes establecidos por el National Research Council para cerdos de 7 a 25 kg. En la primera parte del estudio se evaluó el efecto de las diferentes fracciones de la FD sobre el crecimiento de los cerdos, con la finalidad de conocer posibles cambios en los animales. En la segunda parte se evaluó el efecto de la FD sobre la digestibilidad fecal de los cerdos, esta técnica fue importante de evaluar porque relaciona lo ingerido por los animales y lo excretado por medio de las heces. En la tercera parte se valoró el efecto de las diferentes fracciones de FD sobre parámetros bioquímicos séricos, ya que estos parámetros indican el funcionamiento general del organismo. Los parámetros evaluados fueron SOD, GSH y MDA.

Como resultado de la investigación en la primera parte se halló que los cerdos alimentados con CEL y XYL no tuvieron cambios en el crecimiento, pero el grupo de cerdos tratado con GLU disminuyó su crecimiento y el consumo diario de alimento (ADFI). Este es probablemente el resultado de las diferencias en las estructuras de las FD, ya que el XYL y el GLU son más solubles y altamente fermentables, lo que no solo aumenta la viscosidad, sino que también aumenta la producción de ácidos grasos de cadena corta en el intestino grueso y altera el metabolismo. En la segunda parte se halló que el grupo

tratado sin FD tuvo mayor digestibilidad en comparación con los grupos tratados con CEL y GLU. Aquellos animales tratados con XYL no se vieron afectados en la digestibilidad fecal. Wu et al. (2018) indican que los resultados obtenidos en la segunda parte de la investigación se deben a que los componentes de FD desempeñaban un papel importante en el manejo de la pérdida de peso, y este efecto está asociado con la influencia potencial de la FD en varios aspectos de la ingesta de alimentos y la disponibilidad de nutrientes. Los cerdos tratados con CEL tuvieron la digestibilidad más baja lo que probablemente se deba a que las fracciones de FDI (celulosa) lo que reduce el tiempo de retención en el tracto gastrointestinal. En la tercera parte se encontró que las concentraciones de SOD fueron significativamente más altas en los grupos XYL y GLU que en los grupos sin FD y CEL. Además, los cerdos tratados con GLU tenían una concentración de GSH más alta que otros grupos. En el caso de los niveles de MDA se encontró que la suplementación con CEL redujo significativamente la concentración de MDA en cerdos destetados en comparación con los cerdos alimentados con XYL. Estos resultados indican que algunas fracciones de FD pueden tener propiedad antioxidante.

Wu et al. (2018) realizaron diferentes mediciones para evaluar el efecto de las diferentes fracciones de FD en un modelo de cerdos. En esta investigación los autores indicaron que las diferentes fracciones de FD tienen efectos diferentes en las cerdas y que todo depende de la estructura química de la FD.

7.3 Relación de los resultados de los ensayos clínicos realizados tanto con FD en guatila como FD pura

Como se presentó a lo largo de este capítulo existen evidencias científicas donde se evalúo la relación entre la FD y sus efectos benéficos en la salud. Por un lado, se presentó la sección de ensayos clínicos con FD de guatila y por otro lado ensayos clínicos con FD pura para valorar los efectos en animales y en líneas celulares humanas. A continuación, se muestra un análisis general de los resultados obtenidos en los ensayos clínicos tanto con FD de guatila como de FD:

Caso 1: Modgil & Modgil (2004) y Lalthansanga & Samanta (2015) demostraron los efectos de la FD de la guatila en la alimentación, regulación del peso corporal y mejoramiento de las funciones del sistema digestivo en ratas y cerdos. Para Lalthansanga & Samanta (2015)

una reducción en el peso corporal se debe a la baja retención de nitrógeno en el organismo y para Modgil & Modgil (2004) el mejoramiento del sistema digestivo se debe a que las diferentes fracciones de la FD de guatila son más digeribles en el organismo. Los resultados obtenidos anteriormente se pueden asociar con la investigación de Wu et al. (2018) donde evaluaron el efecto de la FD pura en el rendimiento del crecimiento, la digestibilidad de los nutrientes y el desarrollo intestinal en cerdos. Para esta investigación los cerdos fueron tratados con diferentes fracciones de FD como celulosa (CEL), arabinoxilano (XYL) y β-glucano (GLU). Wu et al. (2018) demostraron que las diferentes fracciones de FD no generaron aumento en el peso corporal de los animales y mejoraron el funcionamiento del sistema digestivo de los animales. Los autores también indican que las funciones de las diferentes fracciones de la FD en el organismo dependen de las propiedades fisicoquímicas de las sustancias. Por ejemplo, los cerdos tratados con CEL tuvieron la digestibilidad más baja, este efecto se debe a que la CEL al ser una FDI reduce el tiempo de retención en el tracto gastrointestinal y aumenta la materia fecal de los cerdos.

La CEL es un polisacárido construido a partir de unidades de glucosa repetitivas, se caracteriza por tener múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas de glucosa haciéndolas insolubles en agua (Mudgil, 2017). Para Mudgil (2017) la CEL al ser insoluble en agua es resistente a la acción enzimática en el intestino delgado humano, lo que incrementa el tamaño de las heces y acelera el tránsito intestinal. El XYL es un tipo importante de hemicelulosa, que se clasifica como FDI y se compone de xilosa y arabinosa. El XYL puede ser hidrolizado en el colon de los animales y humanos, por efecto de la microbiota endógena o natural, que produce enzimas como endo-β-D-xilanasa, β-D-xilosidasa y feruloil esterasa (Mudgil, 2017). A nivel biológico el XYL puede tener diferentes efectos en el organismo. La GLU es soluble en agua y se caracteriza por tener moléculas lineales de unidades de glucopiranosa unidas a β (1-3) y β (1-4) (Mudgil, 2017). La GLU además de ser soluble en agua presenta naturaleza viscosa. La viscosidad de GLU en el tracto gastrointestinal disminuye la absorción de ácidos biliares y aumenta la excreción de los mismos, lo que da como resultado una mayor síntesis de colesterol hepático debido a la mayor necesidad de síntesis de ácidos biliares. La viscosidad también puede retrasar la absorción de glucosa en la sangre mejorando los niveles de glucosa (Mudgil, 2017). Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, es importante comprender las propiedades fisicoquímicas de las diferentes fracciones de FD como CEL, XYL y GLU, ya que cada una tiene un mecanismo molecular en el organismo. De esta forma se lograron

relacionar los resultados obtenidos en los estudiados de Modgil & Modgil (2004) y Lalthansanga & Samanta (2015), donde los animales tratados con FDI aumentaron la materia fecal y redujeron el tránsito intestinal lo que generó pérdida de peso de los animales evaluados. Adicionalmente las fracciones de FDS regularon la acumulación de grasas en el organismo, mejorando los parámetros como el peso corporal de los animales y el control de lípidos.

En la investigación de Lalthansanga & Samanta (2015) también se encontró que los cerdos no tuvieron una mayor motivación por buscar el alimento de harina de guatila en comparación con la dieta de concentrado. Este resultado se asocia por lo reportado en la investigación de Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis (2012) donde demostraron que algunas fracciones de FD por sus propiedades voluminosas y de fermentación reducen la motivación de la alimentación y promueven la saciedad. Por ejemplo el AR está definido como la suma del almidón y los productos de degradación de todos los almidones no absorbidos en el intestino delgado (Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis, 2012). La molécula AR al ingresar al tracto intestinal debe ser "partida" en pequeñas moléculas (glucósidos) más simples que sí son asimilables por el organismo. Este proceso promueve una disminución en la velocidad de vaciamiento gástrico y un mantenimiento de glicemias más estables a través del tiempo, lo que se ha relacionado con un aumento de la saciedad (Da Silva, Van den Borne, Gerrits, Kemp & Bolhuis, 2012).

Caso 2: Con los resultados obtenidos por parte de Castro, Shiga & Do Nascimento (2019) no se puede hacer una relación entre estudios, ya que no se encontraron investigaciones similares a la de estos autores. Sin embargo, con Castro, Shiga & Do Nascimento (2019) se identificaron componentes de PEC (ácido galacturónico, arabinosa, galactosa, ramnosa) y hemicelulosa (xilosa, manosa, ácido glucorónico, galactosa y glucosa). Además, se demostró que la FDS de guatila regula la acumulación de lípidos en las células (THP-1) y participa en la expresión del gen LXRα (regulador de los macrófagos, controlando la homeostasis lipídica y la inflamación).

Teniendo en cuenta los resultados de las diferentes investigaciones en FD de guatila y FD pura, se puede plantear que las diferentes fracciones de FD tienen efectivamente un número de funciones fisiológicas pero dependen de sus propiedades fisicoquímicas. Espinal (2016) indica que es importante tener en cuenta los mecanismos moleculares por

los cuales la FD es capaz de tener diferentes funciones en el organismo, pero esos mecanismos siguen siendo desconocidos para la mayoría de las fuentes de FD.

Los resultados obtenidos en las investigaciones de Modgil & Modgil (2004); Lalthansanga & Samanta (2015) y Castro, Shiga & Do Nascimento (2019) con respecto a la reducción de peso corporal de animales y reducción de acumulación de lípidos en células, se pueden relacionar por ejemplo con el mecanismo molecular de la PEC. Se ha sugerido que la PEC es capaz de restringir la digestión de grasas por varios mecanismos, como la inhibición de la actividad de la lipasa pancreática, modificación de las propiedades reológicas de los fluidos gastrointestinales entre otros mecanismos (Espinal, 2016 y Aguilera, Espinal & Narváez, 2018). La inhibición de la actividad de las enzimas por las pectinas ingeridas podría jugar un papel importante en la reducción de la cantidad de ácidos grasos libres que pueden ser absorbidos a nivel del tracto gastrointestinal (Espinal, 2016). En la investigación de Espinal (2016) se demostró que la PEC tiene efecto inhibitorio no competitivo al unirse a la lipasa pancreática en una posición diferente a la del sitio activo, de esta manera regula la conversión de lípidos en moléculas más simples y digeribles en el organismo. Otro de los mecanismos de la PEC es la estimulación de la floculación de los lípidos lo que restringe la hidrolisis de los lípidos por la enzima lipasa (Espinal, 2014 y Aguilera, Espinal & Narváez, 2018).

Discusión general: Durante el capítulo siete se presentaron ensayos clínicos realizados en animales y células humanas evaluando los efectos de la FD en los mismos. Tanto en las investigaciones de FD en guatila como FD pura se logró verificar que este compuesto bioactivo interviene en procesos metabólicos. Las fracciones de FD tienen diferentes mecanismos moleculares, por ejemplo generan saciedad, inhiben la actividad de algunas enzimas y restringen la hidrólisis de lípidos. Lo anterior permite comparar los resultados obtenidos en las investigaciones en cuanto a la pérdida de peso en animales y menos acumulación de lípidos tanto en animales como células humanas.

No obstante al igual que en los CF, algunas de las estrategias empleadas para evaluar FD emplean solventes (etanol) que no sólo pueden extraer las diferentes fracciones de FD, sino que pueden quedar otros compuestos. De esta forma para futuras investigaciones sería pertinente abordar los CF y FD de la guatila en conjunto para valorar los efectos de estos compuestos bioactivos en animales, humanos y células.

Para concluir esta parte de la revisión bibliográfica se hizo una relación entre los ensayos clínicos de guatila con FD pura. Este análisis permite verificar que la guatila tiene efectos positivos en la prevención de diversas patologías. Por ejemplo regula el peso corporal de animales y controla los niveles de lípidos. Adicionalmente, es importante estudiar los mecanismos moleculares de todas las fracciones de la FD para evidenciar sus funcionalidades en el organismo. Al igual que los ensayos clínicos de CF en guatila, en el caso de la FD no se han realizado estudios directamente en humanos. Sin embargo, con los análisis tanto en animales como células humanas se abre paso para posteriores investigaciones.

Capítulo 8. Conclusiones y recomendaciones

A continuación se presentan las conclusiones y recomendaciones obtenidas a lo largo de la revisión bibliográfica. Lo anterior tiene como finalidad dar continuidad a este trabajo para futuras investigaciones.

8.1 Conclusiones

Con la elaboración de este trabajo se logró recopilar información sobre los efectos benéficos de la guatila y su relación con los CF y FD que contribuyen en la prevención de enfermedades crónicas y degenerativas. En primer lugar se concluye que este fruto tiene CF como ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y estilbenos (resveratrol) en diferentes concentraciones. En segundo lugar este fruto tiene fracciones de FD como PEC (ácido galacturónico, arabinosa, galactosa, ramnosa) y hemicelulosa (xilosa, manosa, ácido glucorónico, galactosa y glucosa). En tercer lugar se concluye que existe una relación entre los CF y la FD con los efectos de la guatila en la salud, ya que por medio de los diferentes estudios se evidenció que la guatila previno algunas patologías como la hipertensión, diabetes, control de triglicéridos, niveles de glucosa, cáncer, enfermedades bacterianas en la piel y obesidad (**Figura 24**). Los anteriores efectos se corroboraron por medio de evidencias científicas al realizar ensayos *in vivo* e *in vitro* en animales y células humanas. Finalmente, se concluye que los compuestos bioactivos como CF y FD presentes en la guatila pueden intervenir en la regulación de diferentes proteínas, enzimas, genes y rutas metabólicas. Si bien el título de esta revisión hace referencia a los efectos de la guatila generados en el organismo humano, con los resultados obtenidos en los ensayos clínicos con células humanas y animales se abre paso a futuras investigaciones para complementar los datos obtenidos con ensayos en humanos. Para ello se requieren análisis de parámetros de biodisponibilidad.

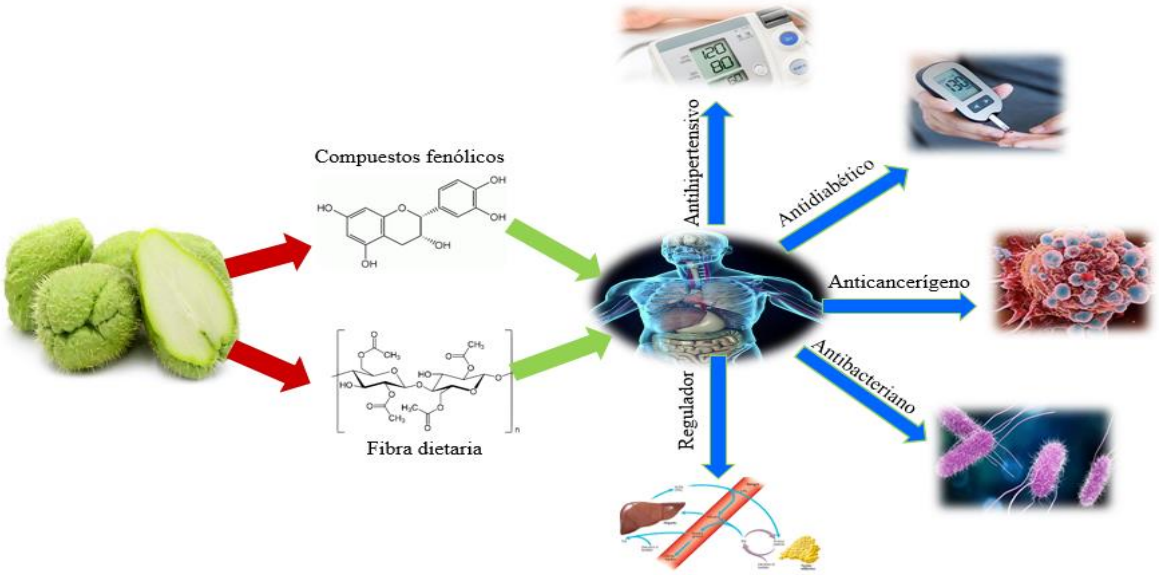


Figura 24. Resumen de las conclusiones del trabajo.

Este trabajo me permitió aprender diversos aspectos tanto en la parte química como en la parte de escritura. En primer lugar aprendí algunos mecanismos bioquímicos en los cuales intervienen los CF y la FD para generar diferentes efectos en animales y células humanas. De esta forma comprender que cualquier investigación que se enfoque en la relación entre el consumo de alimentos con efectos en la salud también requiere de conocimientos bioquímicos para interpretar las funciones fisiológicas. En segundo lugar, el proceso de escritura es algo que se va construyendo diariamente y que es indispensable no sólo para nuestro diario vivir sino también para expresar ideas o conocimiento científico. Con la escritura de este trabajo comprendí que es indispensable ser coherente, puntual y consecuente con la información que se brinda para que sea un trabajo llamativo, ordenado y entendible para cualquier persona que tenga acceso al documento. Finalmente, con la realización de este trabajo me generó motivación para estudiar, investigar y escribir más sobre los efectos de este fruto en la salud. En varias culturas del mundo la guatila es subvalorada por su aspecto (poco llamativa), desconocimiento de la fruta y en algunos casos no es rentable económicamente para los países. No obstante, es importante que desde la ciencia se potencie su consumo ya que no es costosa y genera impactos positivos en la salud para la prevención de posibles patologías.

8.2 Recomendaciones

A lo largo de esta revisión bibliográfica se evidenció que los CF y la FD presentes en la guatila son generalmente estudiados por separado, probablemente debido a las diferencias en sus estructuras químicas, propiedades fisicoquímicas y actividades biológicas. Sin embargo, se recomienda que para próximas investigaciones se estudien conjuntamente CF y FD. Lo anterior se menciona, ya que en las estrategias empleadas para evaluar estos compuestos bioactivos se emplearon por ejemplo solventes de diferentes polaridades, lo que puede provocar que no solo se obtengan los compuestos de interés sino que durante los procesos de extracción queden residuos de CF o de FD en conjunto.

Sería también adecuado incluir dentro de los estudios las concentraciones de todos los CF y de FD en la guatila, esto con la finalidad de profundizar los análisis entre cada concentración con su actividad biológica. Si bien en las investigaciones halladas se reportaron los efectos en animales y células humanas, también sería pertinente evaluar los efectos en el organismo humano. Los efectos se pueden valorar desde los diferentes parámetros de biodisponibilidad como velocidad de absorción, naturaleza de los metabolitos y modo de eliminación.

También se sugiere que se realicen más investigaciones sobre FD en la guatila, ya que en las diferentes bases de datos la información fue limitada. Por ejemplo sólo se encontraron tres ensayos clínicos de FD en guatila en animales y células humanas (regulación peso corporal y acumulación de lípidos), pero no se hallaron resultados en el organismo humano. Igualmente la información frente a las fracciones de FD en guatila fue limitada porque solo un artículo describió algunas fracciones, para ello se requieren estudios en la identificación y cuantificación de las diferentes fracciones de FD de la guatila, tratamiento en animales, células y humanos para evidenciar los efectos en cada uno. En la parte bioquímica es importante profundizar los mecanismos moleculares de cada una de las fracciones de FD en guatila, pues en las diversas investigaciones solo se mencionaron los efectos pero no de los mecanismos moleculares de las diferentes fracciones de FD. Finalmente, sería importante realizar estudios con guatila cocinada valorando de igual manera los efectos en la salud y su relación con CF y FD, ya que en todos los artículos reportados en esta revisión se hicieron con guatila cruda. De esta forma poder comparar si se tienen mayores o menores efectos en la salud dependiendo de la forma de consumo de este fruto.

Bibliografía

• Abián, J., Carrascal, M., & Gay, M. (**2008**). Introducción a la Espectrometría de masas para la caracterización de péptidos y proteínas en proteómica. *Journal of Proteomics*, 2, 16-35.

• Addepalli, V., & Suryavanshi, S. (**2018**). Catechin attenuates diabetic autonomic neuropathy in streptozotocin induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 1517-1523.

• Aguilera, E., Espinal, M., Narváez, C. (**2018**). Pectic polysaccharides with different structural characteristics as inhibitors of pancreatic lipase. *Food Hydrocolloids*, 229-238.

• Aguiñiga, I., Cadena, J., Santiago, E., Gómez, G., Mendoza, V., Rosado, J., Ruíz, M., Cisneros, V., Ledesma, E., & Delgado, A. (**2017**). Chemical analyses and in vitro and in vivo toxicity of fruit methanol extract of Sechium edule var. nigrum spinosum. *Pharmaceutical Biology*, 55, 1638-1645.

• Aloud, A., Chinnadurai, V., Govindasamy, C., Alsaif, M., & Al-Numair, K. (**2018**). Galangin, a dietary flavonoid, ameliorates hyperglycaemia and lipid abnormalities in rats with streptozotocin-induced hyperglycaemia. *Pharmaceutical Biology*, 56, 302-308.

• AOAC. (**1990**). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists.

• AOAC. (**1995**). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists.

• Ávalos, A., & Urria, E. (**2011**). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2, 119-145.

• Avendaño, C., Cadena, J., Arévalo, M., Campos, E., Cisneros, V., Aguirre, J. (**2010**). Las variedades del chayote mexicano. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. *Grupo interdisciplinario de investigación*, 1-88.

• Barrera, N. (**1998**). La cidra papa, chayote o guatila (*Sechium edule* (Jacq.). Swartz). *Universidad Nacional De Colombia*, 2-12.

• Barrera, N., & Cerón, R. (**1999**). Fenología de la cidra papa (*Sechium edule*). *Universidad Nacional De Colombia*, 1-12.

• Bolaños, H. (**2001**). Introducción a la olericultura. Librería Euned Costa Rica, 1-380.

• Cadena, J., Arévalo, L., Avendaño, C., Soto, M., Ruiz, L., Santiago, E., Acosta, M., Cisneros, V. M., Aguirre, J. F., & Ochoa, D. (**2007**). Production, genetics, postharvest management and pharmacological characteristics of Sechium edule (Jacq.) Sw. *Fresh produce*, 1, 41-53.

• Cassidy, A., Hanley, B., & Lamuela, R. (**2000**). Isoflavones, lignans and stilbenes: Origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1044-1062.

• Castro, V., Shiga, T., & Do Nascimento, J. (**2019**). Polysaccharides from chayote enhance lipid efflux and regulate NLRP3 inflammasome priming in macrophage-like THP-1 cells exposed to cholesterol crystals. *International Journal of Biological Macromolecules*, 127, 502-510.

• Coskun, O. (**2016**). Separation techniques: Chromatography. *Journal ListNorth Clin Istanb*, 2, 156–160.

• Che, X., Wang, X., Zhang, J., Peng, C., Zhen, Y., Shao, X., Zhang, G., & Dong, L. (**2016**). Vitexin exerts cardioprotective effect on chronic myocardial ischemia/reperfusion injury in rats via inhibiting myocardial apoptosis and lipid peroxidation. *American Journal of Translational Research*, 8, 3319-3328.

• Da Silva, C., Van den Borne, J., Gerrits, W., Kemp, B., & Bolhuis, J. (**2012**). Effects of dietary fibers with different physicochemical properties on feeding motivation in adult female pigs. *Physiology & Behavior*, 107, 218-230.

• Dai, F., & Chau, C. (**2017**). Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25, 37-42.

• Del Ángel, O., García, R., García, H., & De la Cruz, J. (**2017**). Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health. *Fruit and Vegetable Phytochemicals*, 2, 972-992.

• Drago, M., López, M., & Sainz, T. (**2006**). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 58-68.

• Espinal, M. (**2016**). Efecto de la pectina sobre la actividad de algunas enzimas digestivas y la digestión de lípidos. *Universidad Nacional de Colombia*, 1-245.

• Falcón, M., Barrón, J., Romero, A., & Domínguez, M. (**2011)**. Efecto adverso en la calidad proteica de los alimentos de dietas con alto contenido de fibra dietaria. *Revista Chilena de Nutrición*, 38, 356-367.

• FNFH. (**2017**). Informe de gestión desarrollada año 2017. In www.asohofrucol.com.co/LeyTransparencia/Informe_Gestion_2017_FNFH.pdf).

• Forgács, E., & Cserháti, T. (**2003**). Chromatigraphy | Principles. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 2, 1259-1267.

• García, A., & Yusá, D. (**2016**). HPLC Instrumental. In E. U. P. d. València (Ed.), HPLC Instrumental, 1-358.

• García, P., & Velasco, C. (**2007**). Evolution in the knowledge on fiber. *Nutrición Hospitalaria*, 22, 20-25.

• Giraldo, J. (**2012**). Potencial nutricional de la cidra (*Sechium edule*) para la alimentación animal sostenible. *Universidad nacional De Colombia Abierta y a Distancia*, 1-56.

• Guven, M., Aras, A., Akman, T., Sen, H., Ozkan, A., Salis, O., Sehitoglu, I., Kalkan,Y., Silan, C., & Deniz, M. (**2015**). Neuroprotective effect of p-coumaric acid in rat model of embolic cerebral ischemia. *Iranian journal of Basic Medical Sciences*, 18, 356-363.

• Ibarra, C., Rojas, A., Mendoza, S., Bah, M., Gutiérrez, D., Hernández, L., & Martínez, M. (**2010**). Vasoactive and antioxidant activities of plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of cardiovascular diseases. *Pharmaceutical Biology*, 48, 732-739.

• Isaza, M. (**2007**). Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia et Technica*, 1, 13-18.

• Joung, D., Kang, O., Seo, Y., Zhou, T., Lee, Y., Han, S., Mun, S., Kong, R., Song, H., & Shin, D. (**2016**). Luteolin potentiates the effects of aminoglycoside and β-lactam antibiotics against methicillin-resistant Staphylococcus aureus *in vitro*. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 11, 2597-2601.

• Kumar, S., Prahalathan, P., & Raja, B. (**2011**). Antihypertensive and antioxidant potential of vanillic acid, a phenolic compound in L-NAME-induced hypertensive rats: a dose-dependence study. *Redox Report*, 16, 208-215.

• Lalthansanga, J., & Samanta, A. (**2015**). Effect of feeding chayote (Sechium edule) meal on growth performance and nutrient utilization in indigenous pig (Zovawk) of Mizoram. *Veterinary World*, 8, 918-923.

• Lamothe, L., Srichuwong, S., Reuhs, B., & Hamaker, B. (**2015**). Quinoa (Chenopodium quinoa W.) and amaranth (Amaranthus caudatus L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. *Food Chemistry*, 167, 490-496.

• Lende, A., Kshirsagar, A., Deshpande, A., Muley, M., Patil, R., Bafna, P., & Naik, S. (**2011**). Anti-inflammatory and analgesic activity of protocatechuic acid in rats and mice. *Inflammopharmacology*, 19, 255-263.

• Lira, R. (**1996**). Chayote, *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Bioversity International. IPGRI, 12-57.

• Lombardo, G., Roman, R., Zamilpa, A., Herrera, M., Rosas, G., Tortoriello, J., & Jiménez, E. (**2014**). Extracts and fractions from edible roots of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. with antihypertensive activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.

• Lukitasari, M., Nugroho, D., & Widodo, N. (**2018**). Chlorogenic acid: the conceivable chemosensitizer leading to cancer growth suppression. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 23, 1-6.

• Macagnan, F., Da Silva, L., & Hecktheuer, L. (**2016**). Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. *Food Research International*, 85, 144-154.

• Maity, S., Firdous, S., & Debnath, R. (**2013**). Evaluation of antidiabetic activity of ethanolic extract of *Sechium edule* fruits in alloxan-induced diabetic rats. *World Journal Pharm Pharm Science*, 2, 3612-3621.

• Marín, C., & Puerta, G. (**2008**). Contenido de ácidos clorogénicos en granos de Coffea arabica L y C canephora según el desarrollo del fruto. *Cenicafé*, 59, 7-28.

• Martínez, I., Periago, M., & Ros, G. (**2000**). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50, 5-18.

• Martínez, N., Camacho, M., & Martínez, J. (**2008**). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 12, 64-68.

• Modgil, R., & Modgil, M. (**2004**). Effect of feeding chayote (*Sechium edule*) and bottle gourd (Lageneria siceraria) as source of fiber on biological utilization of diet in rats. *Journal of Human Ecology*, 15, 109-111.

• Moreno, A. (**2010**). *Sechium edule* (jacq.) Swartz y los fitoesteroles como agentes antihiperlipidémicos y antihipertensivos. *Revista Waxapa*, 2, 15-26.

• Mudgil, D. (**2017**). The interaction between insoluble and soluble fiber. *Academic Press*, Chapter 3, 35-39.

• Nielsen, S, (**2010**). Compositional analysis of foods. *Springer US,* 1-602.

• Ordoñez, A., Ordoñez, R., Zampini, I., & Isla, M. (**2009**). Design and quality control of a pharmaceutical formulation containing natural products with antibacterial, antifungal and antioxidant properties. *International Journal of Pharmaceutics,* 378, 51-58.

• Palanca, V., Rodríguez, E., Señoráns, J., & Reglero, G. (**2006**). Scientific bases for the development of functional meat products with combined biological activity. *Nutrición Hospitalaria*, 21, 199-202.

• Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (**2014**). Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química*, 31, 68-81.

• Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (**2012**). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 76-89.

• Quirós, A., Palafox, H., Sáyago, S., Ayala, J., Bello, L., Alvarez, E., De La Rosa, L., Gonzalez, A., & Gonzalez, G. (**2014**). Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: Interaction and possible effect after ingestion. *Food & Function,* 5, 1063-1072.

• Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S., Bashir, N., Nazir, F., & Nayik, G. (**2018**). Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17, 351-358.

• Ramos, L. (**2015**). La papa del aire (*Sechium edule*) un aporte saludable en la alimentación. *INTA-EEA*, 2-24.

• Robbins, R. (**2003**). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,51, 2866-2887.

• Rodríguez, R., Jimenez, A., Fernández, J., Guillen, R., & Heredia, A. (**2006**). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 3-15.

• Romero, R., Fernández, J., Plaza, P., Garrido, A., & Martínez, J. (**2007**). Empleo de la espectrometría de masas como herramienta para la determinación de tóxicos en alimentos: hacia la seguridad alimentaria. *Revista Española de salud pública*, 81,461-474.

• Salazar, S., Ruiz, L., Cadena, J., Soto, M., Santiago, E., Aguiñiga, I., Rivera, A., &

Aguirre, J. (**2017**). *Sechium edule* (Jacq.) Swartz, A new cultivar with antiproliferative potential in a human cervical cancer HeLa cell line. *Nutrients*, 9, 1-15.

• Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., & Kanazawa, K. (**2003**). Simultaneous Determination of All Polyphenols in Vegetables, Fruits, and Teas. Journal of Agricultural and Food Chemistry,51, 571−581.

• Samie, A., Sedaghat, R., Baluchnejadmojarad, T., & Roghani, M. (**2018**). Hesperetin, a citrus flavonoid, attenuates testicular damage in diabetic rats via inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Life Sciences*, 210, 132-139.

• Santiago, M., & Strobel, S. (**2013**). Thin Layer Chromatography. *Methods in Enzymology*, 53, 303-324.

• Saura, F. (**2010**). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 43-49.

• SEAB. (**2017**). Olericultura - Análise da Conjuntura Agropecuária. Departamento de Economia Rural. In http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2018/Olericultura_2017_18.pdf).

• SEDARPA. (**2017**). Veracruz Estadísticas Agrícolas. Cierre 2017 estadísticas agrícolas. In http://www.veracruz.gob.mx/agropecuario/estadisticas-agricolas/).

• SEPSA. (**2018**). Boletín estadístico agropecuario. In http://www.infoagro.go.cr/BEA/BEA28.pdf.

• Sourani, Z., Pourgheysari, B., Beshkar, P., Shirzad, H., & Shirzad, M. (**2016**). Gallic acid inhibits proliferation and induces apoptosis in lymphoblastic leukemia cell line (C121). *Iranian Journal of Medical Sciences*, 41, 525-530.

• Stump, T. A., Santee, B. N., Williams, L. P., Kunze, R. A., Heinze, C. E., Huseman, E. D., Gryka, R. J., Simpson, D. S., & Amos, S. (**2017**). The antiproliferative and apoptotic effects of apigenin on glioblastoma cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 69, 907-916.

• Swartz, M. (**2010)**. HPLC detectors: A brief review. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33, 9-12.

• Sulaiman, S., & Ooi, K. (**2013**). Antioxidant and α-glucosidase inhibitory activities of cucurbit fruit vegetables and identification of active and major constituents from phenolic-rich extracts of Lagenaria siceraria and *Sechium edule*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 10080-10090.

• Tomás Barberán, F. (**2003**). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación, Nutrición y Salud*, 10, 41-53.

• Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (**2019**). Chapter 16 - Classification of phenolic compounds in plants. Polyphenols in Plants (Second Edition) Isolation, Purification and Extract Preparation, 263-284.

• Urias, V., Basilio, J., Muy-Rangel, D., & Nino, G. (**2016**). Phenolic acids with antioxidant activity in maize bran and wheat bran. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3, 43-50.

• Vieira, E., Pinho, O., Ferreira, I., & Delerue-Matos, C. (**2018**). Chayote (*Sechium edule*): A review of nutritional composition, bioactivities and potential applications. *Food Chemistry*, 275, 557-568.

• Vilcanqui, F., & Vílchez, C. (**2017**). Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 67, 146-156.

• Wang, R., Wang, J., Dong, T., Shen, J., Gao, X., & Zhou, J. (**2019**). Naringenin has a chemoprotective effect in MDA-MB-231 breast cancer cells via inhibition of caspase-3 and-9 activities. *Oncology Letters*, 17, 1217-1222.

• Wang, Y., Zhang, Y., Sun, B., Leng, X., Li, Y., & Ren, L. (**2018**). Cardioprotective effects of rutin in rats exposed to pirarubicin toxicity. *Journal of Asian Natural Products Research*, 20, 361-373.

• Wu, C., Ou, T., Chang, C., Chang, X., Yang, M., & Wang, C. (**2014**). The polyphenol extract from *Sechium edule* shoots inhibits lipogenesis and stimulates lipolysis via activation of AMPK signals in HepG2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 62, 750-759.

• Wu, X., Chen, D., Yu, B., Luo, Y., Zheng, P., Mao, X., Yu, J., & He, J. (**2018**). Effect of different dietary non-starch fiber fractions on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal development in weaned pigs. *Nutrition*, 51, 20-28.

• Yamagata, K., Izawa, Y., Onodera, D., & Tagami, M. (**2018**). Chlorogenic acid regulates apoptosis and stem cell marker-related gene expression in A549 human lung cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 441, 9-19.

• Yan, F., Sun, X., & Xu, C. (**2018**). Protective effects of resveratrol improve cardiovascular function in rats with diabetes. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 15, 1728-1734.

• Yang, M., Chan, K., Lee, Y., Chang, X., Wu, C., & Wang, C. (**2015**). *Sechium edule* shoot extracts and active components improve obesity and a fatty liver that involved reducing hepatic lipogenesis and adipogenesis in high fat diet fed rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 4587-4596.

• Yaqub, S., Farooq, U., Shafi, A., Akram, K., Murtaza, M., Kausar, T., & Siddique, F. (**2016**). Chemistry and functionality of bioactive compounds present in persimmon. *Journal of Chemistry*, 1-13.

• Zaitone, S., Ahmed, E., Elsherbiny, N., Mehanna, E., El-Kherbetawy, M., ElSayed, M., Alshareef, D., & Moustafa, Y. (**2019**). Caffeic acid improves locomotor activity and lessens inflammatory burden in a mouse model of rotenone-induced nigral neurodegeneration: Relevance to Parkinson's disease therapy. *Pharmacological Reports*, 71, 32-41.

• Zhang, F., & Zhang, X. (**2010**). Enzymological Characterization of Polyphenol Oxidase from Chayote Fruits. *Food Science*, 1, 1-39.

• Zhang, J., Xiao, A., Wang, T., Liang, X., Gao, J., Li, P., & Shi, T. (**2014**). Effect and mechanism of action of cinnamic acid on the proliferation and apoptosis of leukaemia cells. *Biomedical Research*, 25,405-408.

• Zhao, Y., Tian, B., Wang, Y., & Ding, H. (**2017**). Kaempferol sensitizes human ovarian cancer cells-ovcar-3 and skov-3 to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (trail)-induced apoptosis via jnk/erk-chop pathway and up-regulation of death receptors 4 and 5. *International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 23, 5096-5105.

• Zheng, A., Chen, Y., Zhao, L., & Feng, J. (**2017**). Myricetin induces apoptosis and enhances chemosensitivity in ovarian cancer cells. *Oncology Letters*, 13, 4974-4978.

• Zhou, J., Fang, L., Liao, J., Li, L., Yao, W., Xiong, Z., & Zhou, X. (**2017**). Investigation of the anti-cancer effect of quercetin on HepG2 cells in vivo. *PloS One*, 12,1-10.