

## Capítulo XII

**Actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* del extracto acuoso de pèrsimo (*Diospyros kaki* L.), maracuyá (*Passiflora edulis* var Sims) y flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)**

Tania Andrómeda Romero Herrera<sup>1</sup>  
María Dolores Hernández Navarro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.

\* mdhernandezn@uaemex.mx.

## 1. Introducción

**E**studios epidemiológicos, han demostrado que algunas enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la diabetes y la artritis reumatoide, entre otros padecimientos, están asociados con la producción de radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN) (Sun *et al.*, 2002; Aruoma 1998; Drago *et al.*, 2006). En la última década, se sugirió que el consumo de fitoquímicos presentes en frutas y vegetales reduce el riesgo a padecer enfermedades crónicas degenerativas. Estos metabolitos activos tienen la capacidad de modular la actividad de enzimas antioxidantes, actuar como atrapador de especies reactivas y ejercer un efecto quelante frente a la presencia de metales pesados como el cadmio, cobre, hierro, mercurio y zinc (Ferrari *et al.*, 2003; Procházková *et al.*, 2011).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios producidos por el reino vegetal. En algunas especies son los fitoquímicos mayoritarios que participan en diversos procesos de regulación del crecimiento a partir del control del nivel de auxina por la luz solar, así como en la diferenciación y polinización debido a que este tipo de compuestos le confiere coloración a las plantas. Químicamente están conformados por anillos bencénicos con uno o más sustituyentes hidroxilos que les permite actuar como antioxidantes frente a radicales hidroxilo, superóxido y peroxil, pues son capaces de donar un hidrógeno, terminando con ello la reacción en cadena e inhibiendo la generación de nuevos radicales (Manach *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2009). No obstante, se han identificado otros

---

mecanismos de acción mediante la activación de enzimas antioxidantes e inhibición de oxidasas y quelación de minerales (Gordon, 2001; Cadena 2002; Procházková *et al.*, 2011).

El pèrsimo (*Diospyros kaki* L.) es un fruto perteneciente a la familia de las *Ebanáceas* de reciente introducción comercial a México. Se reconocen dos variedades frutales por su grado de astringencia, esta propiedad es conferida por la presencia de taninos que además de producir el efecto contráctil y el sabor característico, provee características antioxidantes (Park *et al.*, 2006), siendo las especies Rojo Brillante, Triumph, Tomatero, y Hachiya, frutos astringentes y las Fuyu, Hana-Fuyo, Jiro, no astringentes (Morton, 1987). Izuchi *et al.*, (2009) identificaron compuestos polifenólicos como la quercetina, kaempferol, ácido gálico, ácido *p*-hidroxi-benzoico, ácido elágico y miricetina, con actividad antiradicalaria (Jang *et al.*, 2011).

Otro fruto apreciado por su agradable sabor, aroma y propiedades farmacológicas, es la fruta de la pasión o maracuyá (*Passiflora edulis*). Existen dos variedades de amplio consumo: la forma amarilla (*P. edulis* var. *flavicarpa*) y la forma pùrpura (*P. edulis* var. *Sims*). La var. *flavicarpa* ha sido utilizada en la medicina tradicional Sudamericana como antiepiléptico, hipnótico, sedante, antiinflamatorio y analgésico (Dhawan *et al.*, 2004; Zibadi *et al.*, 2004; Rudnicki *et al.*, 2007), atribuyendo sus efectos a la presencia de alcaloides, terpenoides y flavonoides glicosilados (Zibadi *et al.*, 2004).

En nuestro país tradicionalmente se emplean los cálices de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) para la elaboración de bebidas típicas de las regiones sin embargo, desde la medicina alternativa prehispánica, era utilizada por sus propiedades diuréticas, antihipertensivas e hipolipemiantes (Odigie *et al.*, 2003). En años recientes se han identificado algunos componentes polifenólicos activos, entre ellos la delphinidina-3-glucósido, sambubiosida, cianidina-3-sambubiosida, gosipetina e hibiscetina, así como ácido protocatecuico, eugenol,  $\beta$ -carotenos, esteroides, ácido cítrico y málico, con potencial antioxidante (Márquez *et al.*, 2007; Sáyago *et al.*, 2007).

Es bien conocido que los frutos *per se* poseen ciertos metabolitos activos con potencial antioxidante no obstante, poco se sabe del comportamiento de mezclas vegetales. Por esta razón el interés del presente trabajo fue evaluar la actividad antioxidante *in vitro* y el efecto antioxidante *in vivo* de los extractos acuosos de pèrsimo (*Diospyros kaki* L), maracuyá (*Passiflora edulis* var *Sims*) y flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) así como su mezcla.

## 2. Material y Métodos

### 2.1. Reactivos

Acido L-ascórbico (Vitamina C), ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 sulfónico (ABTS), persulfato de potasio, ácido tricloroacético (ATC), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Azul G brillante y el ácido tiobarbitúrico (Sigma Co. St. Louis, MO, USA). Reactivo de Folin-Ciocalteu (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania).

### 2.2. Obtención de los extractos de pérsimo, maracuyá y flor de jamaica

#### 2.2.1. Frutos

Los frutos de pérsimo (*Diospyros kaki* L) y la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) fueron adquiridos en un supermercado de la Ciudad de Toluca, mientras que el maracuyá (*Passiflora edulis* var Sims) se obtuvieron de un cultivar de Ixtapan de la Sal, Estado de México. La flor de jamaica y el maracuyá fueron identificados y autenticados en el Herbario del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D. F. Los vouchers de los especímenes fueron depositados en esta institución (ICN 15665 para *Passiflora edulis* var Sims e ICN 15663 para *Hibiscus sabdariffa* L).

Los extractos acuosos de pérsimo (P) y maracuyá (M) se obtuvieron pesando tres muestras de 0.5, 1.0 y 2.0 g de pulpa previamente homogenizada con un procesador de alimentos a máxima velocidad por 2 min, las cuales se transfirieron por separado a vasos de precipitados y se añadieron 5 mL de agua a cada uno de acuerdo los procedimientos tradicionales de preparación de bebidas en México. Posteriormente, las muestras fueron filtradas y colectadas para llevar a un aforo de 10 mL con agua. La flor de jamaica fue triturada hasta obtener un tamaño de partícula de 100 mesh y muestras de 0.5, 1.0 y 2.0 g fueron pesadas. Cada una se colocó un papel filtro Whatman # 1 y se adicionaron 5 mL de agua a 60°C hasta obtener un filtrado que se colectó y aforó a 10 mL.

### 2.3. Fenoles totales

El ensayo se efectuó de acuerdo a modificaciones realizadas por Singleton *et al.*, (1999) del método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Para lo cual se

---

---

elaboró una curva patrón de ácido gálico. A 100  $\mu\text{L}$  de extracto acuoso de p ersimo, maracuyá y jamaica respectivamente, se le adicionó 0.75 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu y fue incubada durante 5 min, posteriormente se agregó 750  $\mu\text{L}$  de solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (80 % p/v) y se mezclaron durante 10s utilizando un v rtex marca 2-Genie (Scientific Industries, USA). Las mezclas se dejaron reaccionar durante 5 min, a temperatura ambiente y en obscuridad. Posteriormente se realizó la lectura a 725 nm empleando un espectrofotómetro marca Génesis 10 UV (Thermoelectron Corporation, USA). Los resultados fueron expresados como equivalentes de ácido gálico (EAG)/g muestra.

#### **2.4. Actividad atrapadora del radical libre ABTS ( cido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico))**

La actividad atrapadora del radical fue medida a través del ensayo ABTS con modificaciones al método descrito por Re *et al.* (1999), el cual consistió en la generación del radical  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  mediante la reacción del ABTS (7 mmol) con persulfato de potasio (2.45 mmol) preparado en la obscuridad a temperatura ambiente y con reposo de 12 a 16 h antes de ser utilizado. Una vez generado el radical  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  se diluyó con metanol hasta obtener absorbancia de  $0.70 \pm 0.20$  a 734 nm. Ya estabilizado el radical, se tomó una alícuota de 10  $\mu\text{L}$  del extracto frutal y se mezcló con 990  $\mu\text{L}$  de solución  $\text{ABTS}^{+\cdot}$ . El registro de la absorbancia se llevó a cabo al 1  y 6  minuto de la reacción. Los resultados obtenidos fueron extrapolados a una curva patrón de Trolox elaborada previamente. La actividad atrapadora del radical fue expresada en  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente (TEAC)/100g muestra.

#### **2.5. Actividad antioxidante *in vivo***

##### **2.5.1. Animales de experimentación**

Se utilizaron ratones de la cepa ICR con un peso entre 20-25 g, se acondicionados durante una semana en un cuarto cerrado bajo condiciones controladas de humedad relativa ( $50 \pm 10\%$ ), temperatura ( $22 \pm 1$   C) y periodos de luz-obscuridad de 12 h cada uno, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-064-ZOO-1999 *Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*. Posteriormente, se distribuyeron en 10 grupos de experimentación con seis animales cada uno, como se describe a continuación: (I) control (CT), administra-

do con el vehículo (agua); (II) control antioxidante (CA) administrado con 200 mg/kg de ácido L-ascórbico. Los lotes III al X fueron tratados con dosis de 500 y 1000 mg/kg del extracto acuoso respectivamente, por vía intragástrica durante 30 días; donde el lote III y IV recibieron el extracto acuoso de pérsimo, mientras que los grupos V y VI se trataron con el extracto acuoso de maracuyá, los grupos VII y VIII se administraron con el extracto acuoso de flor de jamaica y por último los grupos IX y X recibieron una mezcla de extracto acuoso de pérsimo, maracuyá y flor de jamaica como se describió con anterioridad.

Al final del tratamiento se administró una dosis única de tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) (0.7 mL/kg) y se mantuvieron en ayuno durante 12 h; inmediatamente los animales fueron anestesiados en una cámara con éter etílico y se procedió a obtener una muestra de sangre por punción retroorbital, misma que fue colectada en solución de fosfatos 50 mM a pH 7.0 (1:3 w/v) (PBS). Posteriormente, mediante eutanasia, se disectó el hígado y se conservó en una solución de PBS a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su análisis.

#### 2.5.1.1. Preparación de las muestras biológicas

La sangre fue sonicada (Transsonic digital, Alemania) durante 10 minutos para la determinación del grado de lipoperoxidación. Posteriormente se centrifugaron (Eppendorf 5904 R, USA) a 3,500 rpm durante 15 min a  $-4^\circ\text{C}$ , donde el sobrenadante fue utilizado para determinar el contenido total de proteína y la actividad de la enzima catalasa (CAT).

El tejido hepático fue homogeneizado a 5,000 rpm (Pro Scientific, USA) y centrifugados a 12,500 rpm por 15 min a  $-4^\circ\text{C}$ . El homogenizado fue utilizado para la determinación del grado de lipoperoxidación, mientras que en el sobrenadante se evaluó el contenido total de proteína y la actividad de la enzima catalasa (CAT).

#### 2.5.2. Determinación del grado de lipoperoxidación

El ensayo se realizó de acuerdo al método descrito por Büege y Aust (1978). Se tomó una alícuota de 200  $\mu\text{L}$  de sangre o hígado homogenizado, se agregó con 800  $\mu\text{L}$  de buffer de Tris HCl, pH 7.4 a 150 mM. Posteriormente, se mezcló con 1 mL de solución ATB-ATC (0.375 % ácido tiobarbitúrico en 15 % ácido tricloroacético). Las muestras se colocaron en un baño de agua caliente durante 40 min, al término del choque té-

---

mico se enfriaron en un baño de hielo; se procedió a centrifugar a 3,500 rpm por 10 minutos para realizar la lectura del sobrenadante a 535 nm. El resultado fue calculado en nmol de Malondialdehído (MDA/mL en sangre) o (MDA/mg proteína en hígado), usando el coeficiente de extinción molar de  $1.58 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ .

### 2.5.3. Cuantificación de proteínas

Se tomó una alícuota de 25  $\mu\text{L}$  del sobrenadante obtenido por homogeneización, adicionando 75  $\mu\text{L}$  de agua destilada y 2.5 mL de reactivo de Bradford (0.5 g de azul de Coomassie en 25 mL de etanol al 96% y 50 mL de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  en 500 mL de agua desionizada). Las muestras se agitaron durante 30 segundos y se dejaron reposar en obscuridad durante 5 min, posteriormente se determinó la absorbancia a 595 nm (Bradford, 1976). Los valores obtenidos se extrapolaron a una curva patrón elaborada con albúmina bovina sérica.

### 2.5.4. Actividad de la enzima catalasa

La enzima catalasa (CAT) fue determinada por el método de Radi *et al.*, (1991), se llevó una alícuota de 60  $\mu\text{L}$  de sobrenadante a 1000  $\mu\text{L}$  con 840  $\mu\text{L}$  de solución amortiguadora de aislamiento (0.3 M sucrosa, 1 mM EDTA, 5 mM HEPES y 5 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), se agregó 600  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 20 mM. Posteriormente se determinó la absorbancia a 240 nm a los tiempos de 0 y 60 s. La actividad de la CAT fue expresada en mmol  $\text{H}_2\text{O}_2$ /min/mg proteína.

### 2.6. Análisis estadístico

Los datos se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar (DE), se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y prueba de *Tukey-Kramer*. El nivel de significancia fue de  $p < 0.05$  empleando el programa estadístico SSPS versión 18 (SPSS Inc, Chicago IL).



### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Contenido de Fenoles Totales (CFT)

Estudios recientes han reconocido que la actividad antioxidante está determinada en gran medida por la presencia de compuestos fenólicos presentes en frutos y vegetales (Manach *et al.*, 2004), por lo que en la presente investigación se determinó el contenido de CFT en pèrsimo, maracuyá, flor de jamaica y su mezcla en base seca (b.s.) y base húmeda (b.h.). Los resultados muestran que la concentración de CFT en la jamaica es significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) ( $1044.82 \pm 1.70$  mgEAG/100 g b.h.) con respecto a los extractos acuosos de maracuyá ( $38.35 \pm 0.97$  EAG/100 g b.h.), la mezcla ( $32.8 \pm 2.24$  EAG/100 g b.h.) y pèrsimo ( $2.59 \pm 0.27$  EAG/100 g b.h.) (tabla 1).

Tabla 1. Contenido de fenoles totales en extractos acuosos de pèrsimo, maracuyá, flor de jamaica y su mezcla

Muestra	Ext. Ac. Pèrsimo (mg EAG/100g)	Ext. Ac. Maracuyá (mg EAG/100g)	Ext. Ac. Jamaica (mg EAG/100g)	Ext. Ac. Mezcla (mg EAG/100g)
Base seca (b.s.)	$13.29 \pm 2.59a$	$173.06 \pm 3.85a$	$1170.14 \pm 1.9b$	$75.27 \pm 5.14c$
Base húmeda (b.h.)	$2.59 \pm 0.27a$	$38.35 \pm 0.97a$	$1044.82 \pm 1.70b$	$32.84 \pm 2.24c$

Media  $\pm$  Desviación Estándar ( $n=3$ ) Datos analizados con ANOVA y prueba de Tukey. ( $p < 0.05$ ) Diferencias significativas entre (a) Pèrsimo; (b) Maracuyá; (c) Jamaica y (d) Mezcla.

Sáyago *et al.*, (2007) realizaron la determinación de CFT en cálices de *Hibiscus sabdariffa* L, donde encontraron una concentración de  $2.17 \pm 0.04$  gEAG/100g en b.s. correspondiente a 1.85 veces mayor a la reportada en este estudio. Vasco *et al.*, (2008) utilizaron mezclas 50:50 v/v de metanol-agua y acetona-agua para la extracción de fenoles totales en maracuyá fresco, donde la cantidad encontrada fue de  $61.0 \pm 32.0$  mgEAG/100g b.h, mientras que Isabelle *et al.*, (2010) determinaron el contenido de fenoles totales de los extractos cetónicos de *Passiflora edulis* var flavicarpa y *Diospyros kaki* L., determinando concentraciones de 1.34 mgEAG/100g b.h. de maracuyá y 1.16 mgEAG/100g b.h. en pèrsimo, respectivamente. Estos resultados evidencian que la influencia del uso de solventes orgánicos (etanol, metanol, acetona), son menos eficaces que las mezclas acuosas (Jang *et al.*, 2011, Mungole *et al.*, 2011).

### 3.2 Actividad atrapadora del radical ABTS<sup>+</sup>

El extracto de flor de jamaica mostró una actividad antioxidante significativamente estadística ( $p < 0.05$ ) ( $4044.0 \pm 26.87 \mu\text{mol Trolox}/100\text{g b.h.}$ ) con respecto a la mezcla p rsimo-maracuyá-flor de jamaica ( $1419.11 \pm 50.2 \mu\text{mol Trolox}/100\text{g b.h.}$ ); al maracuyá ( $627.0 \pm 12.73 \mu\text{mol Trolox}/100\text{g b.h.}$ ) y al p rsimo ( $464.5 \pm 13.43 \mu\text{mol Trolox}/100\text{g b.h.}$ ) (Tabla 2). Estas variaciones guardan una estrecha relación con la proporción de compuestos fenólicos presentes en los productos naturales y de acuerdo a Celik *et al.*, (2008) y Chen *et al.*, (2008) evidencian estos con las condiciones de cultivo, suelo, humedad y variedad del fruto como variables que determinan en la concentración de los compuestos fitoquímicos con capacidad antioxidante en los frutos.

Tabla 2. Actividad antioxidante in vitro de p rsimo, maracuyá, flor de jamaica y su mezcla

Muestra	Ext. Ac. P�rsimo ( $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ )	Ext. Ac. Maracuyá ( $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ )	Ext. Ac. Jamaica ( $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ )	Ext. Ac. Mezcla ( $\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ )
Base seca (b.s.)	$2384.49 \pm 68.96$	$2559.18 \pm 51.95$	$4529.06 \pm 30.09\text{ab}$	$1061.94 \pm 37.55\text{ab}$
Base húmeda (b.h.)	$464.50 \pm 13.43\text{a}$	$627.00 \pm 12.73\text{b}$	$4044.00 \pm 26.87\text{c}$	$1419.00 \pm 50.20\text{d}$

Media  $\pm$  Desviación Estándar ( $n=3$ ). Datos analizados con ANOVA y prueba de Tukey. ( $p < 0.05$ ) Diferencias significativas entre (a) P rsimo; (b) Maracuyá; (c) Jamaica y (d) Mezcla.

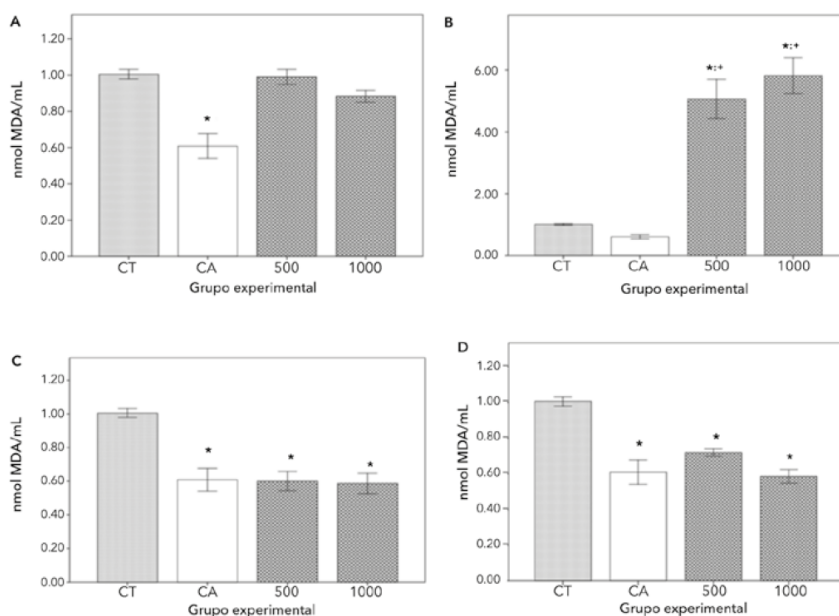
### 3.3 Actividad antioxidante in vivo

El estrés oxidativo es una condición fisiológica que define la existencia de un desbalance entre las especies reactivas de oxígeno (ERO), nitrógeno (ERN) y los mecanismos de defensa antioxidantes con los que cuenta el organismo, ocasionando que los radicales libres interaccionen con los componentes celulares de los tejidos, promoviendo de esta forma el desarrollo de enfermedades degenerativas (Ming *et al.*, 2009). La peroxidación lipídica se inicia cuando existe una interacción entre las especies reactivas oxidantes y los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas biológicas, produciendo como residuo al malondialdehído (MDA), considerado un biomarcador biológico de daño membranar. La determinación del grado de lipoperoxidación se cuantifica mediante la reacción del MDA con ácido tiobarbitúrico (TBA) para obtener un compuesto cromóforo (Mansour y Mossa, 2009). En el presente estudio, se empleó

como agente inductor de daño oxidativo al tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) ya que promueve la formación del radical triclorometilo (•CCl<sub>3</sub>) y triclorometil peroxilo (presencia de oxígeno) (•OOCCl<sub>3</sub>) mediante el proceso de biotransformación por el citocromo CYP2E1 (Atmaca *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2011).

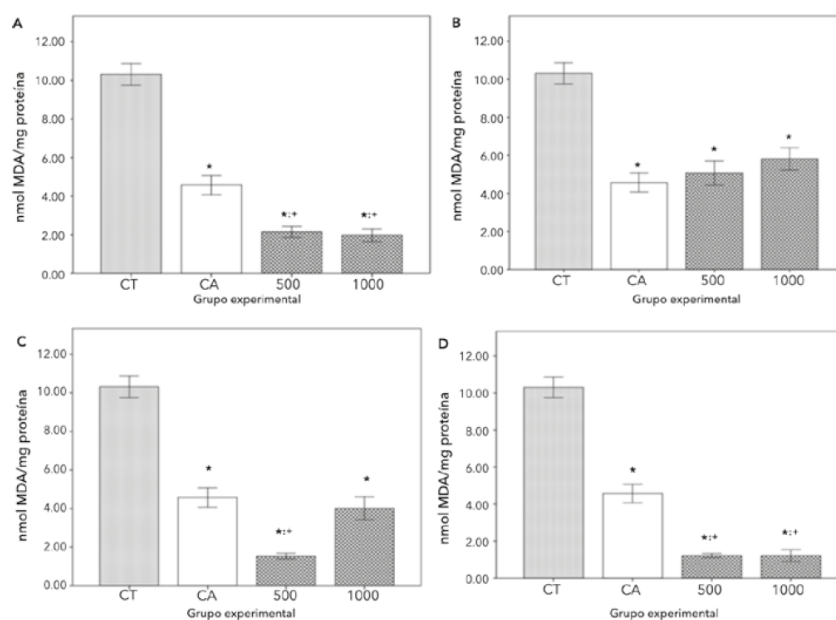
En la figura 1, se muestra el grado de lipoperoxidación en sangre total. Los extractos de flor de jamaica y la mezcla, ejercieron un efecto protector frente al daño inducido por el tetracloruro de carbono (figuras 1C y 1D) mostrando una disminución significativamente estadística ( $p < 0.05$ ) de la formación de malondialdehído (MDA). Los resultados sugieren que a pesar de observar actividad antioxidante *in vitro* en los extractos de pérsimo (figura 1A) y maracuyá (figura 1B), respectivamente, no se correlacionó con el modelo biológico empleado sin embargo, es posible que la dosis no fue suficiente para contrarrestar el daño oxidativo del CCl<sub>4</sub>.

Figura 1. Protección del grado de lipoperoxidación en sangre bajo tratamiento subagudo con extractos acuosos de (A) pérsimo, (B) maracuyá, (C) flor de jamaica y (D) Mezcla de pérsimo, maracuyá y flor de jamaica. Los valores son expresados como media  $\pm$  Desviación Estándar; n=6. Los datos fueron analizados con prueba de ANOVA y método de Tukey-Kramer ( $p < 0.05$ ) Diferencias significativas entre \*Grupo control (CT); + Control antioxidante (CA).



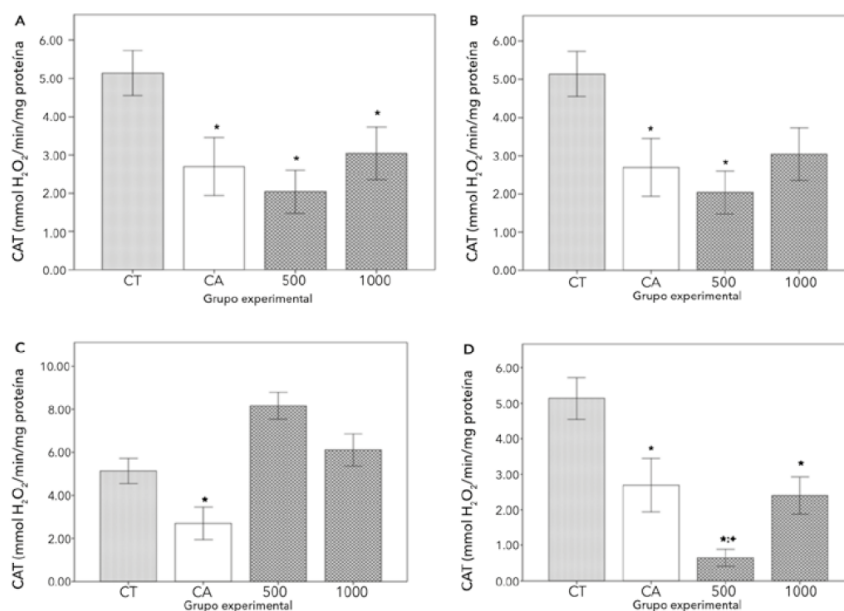
En la figura 2 se muestra la influencia de los extractos acuosos y su mezcla sobre el posible daño hepático producido por el tetracloruro de carbono. Se observó que los extractos acuosos de pérsimo, maracuyá y la flor de jamaica, así como su mezcla ejercen un efecto protector sobre el tejido hepático estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) con respecto a los grupos controles (CT y CA respectivamente) (figura 2 A-D), lo que sugiere un efecto antioxidante debido a la presencia de compuestos fenólicos taninos, catequinas, ácido cafeico y ferúlico, antocianinas, catequinas, kaempferol presentes en pérsimo, maracuyá y flor de Jamaica (Talcott *et al.*, 2003; Izuchi *et al.*, 2009; Dembitsky *et al.*, 2011).

Figura 2. Efecto subagudo de los extractos acuosos de (A) pérsimo, (B) maracuyá, (C) flor de jamaica y (D) su mezcla sobre el grado de lipoperoxidación hepática. Los valores son expresados como media  $\pm$  Desviación Estándar;  $n=6$ . Los datos fueron analizados con prueba de ANOVA y método de Tukey-Kramer ( $p < 0.05$ ) Diferencias significativas entre \*Grupo control (CT); \*Control antioxidante (CA).



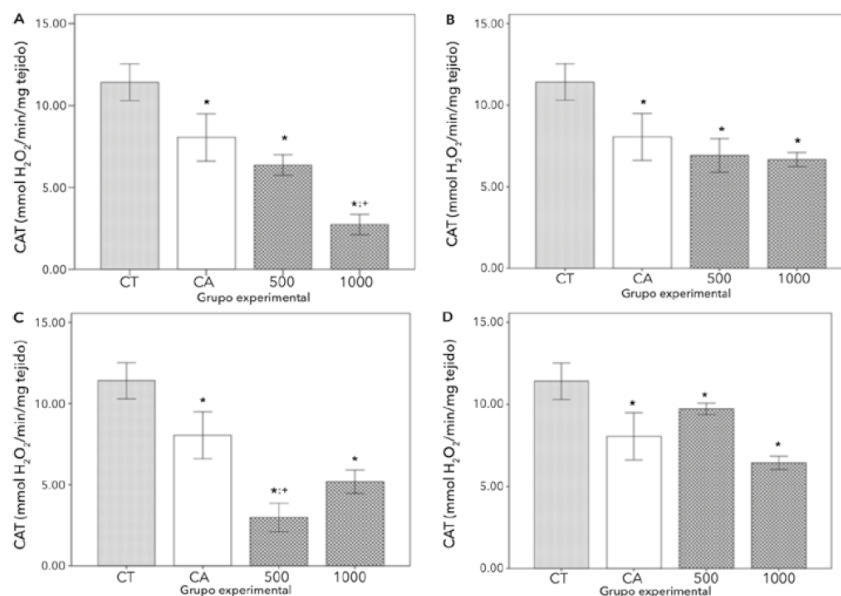
Por otro lado, la exposición a  $\text{CCl}_4$ , no solo genera peroxidación lipídica, sino que también ocurre la activación de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) que son generalmente reconocidas como marcadores de exposición y de daño causado por agentes xenobióticos (Datta *et al.*, 2010). La catalasa es una enzima tetramérica capaz de descomponer peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en  $\text{CO}_2$  y agua a razón aproximada de  $10^7$  M/s y se encuentra en células de órganos donde la demanda de oxígeno es mayor como en el hígado, riñón y eritrocitos (Mansour *et al.*, 2009; Goyal *et al.*, 2010). Los resultados mostraron que la actividad de la enzima catalasa en sangre (figura 3) disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) en los grupos previamente administrados con pérsimo, flor de jamaica y la mezcla en dosis de 500 y 1000 mg/kg (figura 3A, 3C y 3D) con relación al grupo control (CT) y el control antioxidante (CA), respectivamente.

Figura 3. Efecto antioxidante de los extractos acuosos de (A) pérsimo, (B) maracuyá, (C) flor de jamaica y (D) su mezcla sobre la actividad enzimática de la catalasa en sangre total. Los valores son expresados como media  $\pm$  Desviación Estándar;  $n=6$ . Datos analizados con prueba de ANOVA y método de Tukey-Kramer ( $p < 0.05$ ) Diferencias significativas entre \*Grupo control (CT); +Control antioxidante (CA).



En el hígado, también se observó un decremento significativo ( $p < 0.05$ ) en todos los grupos tratados con los frutos individuales y la mezcla, sugiriendo una relación dosis-respuesta (figura 4A, 4B, 4C y 4D).

Figura 4. Actividad enzimática de la catalasa en hígado vs. extractos acuosos de (A) pèrsimo, (B) maracuyá, (C) flor de jamaica y (D) su mezcla pèrsimo, maracuyá y flor de jamaica. Los valores son expresados como media  $\pm$  Desviación Estándar;  $n=6$ . Datos analizados con prueba de ANOVA y método de Tukey-Kramer ( $p < 0.05$ ). Diferencias significativas entre \*Grupo control (CT); \*Control antioxidante (CA).



#### 4. Conclusión

Las dosis administradas al modelo murino de 500 y 1000 mg/kg de extractos acuosos de pèrsimo, maracuyá y flor de jamaica son equivalentes a 35 y 70 g respectivamente. Para consumo de un individuo de 70 kg de peso corporal tomando en cuenta el periodo de 30 días de tratamiento, así como la mezcla, se puede concluir que de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, la ingesta diaria podría ser beneficiosa para la salud, ya que se observó una disminución significativa del daño membranar provocado por las especies oxidantes del CCl<sub>4</sub>, así como una

baja actividad de la enzima catalasa, lo que denota que posiblemente los compuestos fenólicos presentes en los extractos y en su mezcla brindaron cierta protección principalmente en el tejido hepático contra la producción de especies reactivas y de peróxidos.

## 5. Referencias

- Aruoma, I. O. (1998). Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *JAOCs*. 75 (2): 199-212.
- Atmaca, M., Bilgin, H.M., Obay, B.D., Diken, H., Kelle, M., y Kale, E. (2011). The hepatoprotective Effect of Coumarin and Coumarin Derivates on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury by Antioxidative Activities in Rats. *J. Physiol. Biochem.* 67 (4): 569-76.
- Bradford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method of the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72 (1-2): 248-254.
- Büege, J.A. y Aust, S.D. (1978). Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods. Enzymol.* 52: 302-310.
- Cadena, E. y Packer, L. (2002). *Handbook of Antioxidant*. Estados Unidos: Ed MerceL Dekker, 1-5.
- Celik, A. y Ercisli, S. (2008). Persimmon cv. Hachiya (*Diospyros kaki* Thunb.) Fruit: Some Physical, Chemical and Nutritional Properties. *Int. J Food. Sci. Nutr.* 59 (7-8): 599-606.
- Chen, X.N., Fan, J.E., Yue, X., Wu, X.R. y Li, L.T. (2008). Radical Scavenging Activity and Phenolic Compounds in Persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan). *J. Food. Sci.* 73 (1): C-24-C28.
- Dhawan, K., Dhawan, S. y Sharma A. (2004). *Passiflora*: A Review Update. *J. Ethnopharmacol.* 94: 1-23.
- Datta, S., Dhar, P., Mukherjee, A. y Ghosh, S. (2010). Influence of Polyphenolic Extracts from *Enydra Fluctuans* on Oxidative Stress Induced by Acephate in Rats. *Food. Chem. Toxicol.* 48: 2766-2771.
- Dembitsky, V.M., Poovarodom, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Veerasilp, S., Trakhtenberg, S. y Gorinstein, S. (2011). The Multiple Nutrition Properties of Some Exotic Fruits: Biological Activity and Active Metabolites. *Food Res Int.* 44: 1671-1701.
-

- Diario Federal de la Nación. Norma Oficial Mexicana. NOM-064-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Drago, S.M.E., López, L.M. y Saínz E.T. del R. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 37 (4): 58-68.
- Ferrari, C.K.B. y Torres, E.A.F.S. (2003). Biochemical Pharmacology of Functional Foods and Prevention of Chronic Diseases of Aging. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 57: 251-260.
- Gordon, M. H. (2001). The Development of Oxidate Rancidity in Foods. En: Pokorny J., Yanishlieva, N. y Gordon, M. *Antioxidant in Food.* Estados Unidos: CRC Press, 7-21.
- Goyal, M.A. y Basak, A. (2010). Human Catalase: Looking for Complete Identify. *Protein Cell.* 1 (10): 888-897.
- Isabelle, M., Lee, B.L., Lim, M.T., Koh, W.P., Huang, D. y Ong, C.N. (2010). Antioxidant Activity and Profiles of Common Vegetables in Singapore. *Food Chem.* 123: 77-84.
- Izuchi, R., Takahashi, H. and Inada, H. 2009. Preparing a Carotenoid Polyphenol-Enriched Extract from the Peel of Persimmon, Diospyros kaki L.f. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73 (12): 2793-2795.
- Jang, I.C., Oh, W.G., Ahn, G.H., Lee, J.H. y Lee, S.C. (2011). Antioxidant Activity of 4 Cultivars of Persimmon Fruit. *Food Sci. Biotechnol.* 20 (1): 71-77.
- Kumar, J.N., Lodhi, S., Jain, A., Nahata, A. y Singahi, A.K. (2011). Effects of Phyllanthus acidus (L.) Skeels Fruit on Carbon Tetrachloride-Induced Acute Oxidative Damage in Livers of Rats and Mice. *Chin. J. Integrat. Med.* (9) 1: 49-56.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. y Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *Am. J. Clin Nutr.* 79: 727-747.
- Mansour, S.A. y Mossa, A.T.W. (2009). Lipid Peroxidation and Oxidative Stress in Rat Erythrocytes Induced by Chlorpyrifos and the Protective Effect of Zinc. *Pestic. Biochem. Phys.* 93: 34-39.
- Márquez, V.R.L., De la Rosa, T.C., Rivero, C.A. y Medina, M.M. (2007). Actividad diurética del extracto total acuoso de los cálices de Hibis-



- cus sabdariffa L administrado en ratas albinas. *Wistar. Sci. Tech. XII.* (33): 377-381.
- Ming, M., Guanhua, L., Zhanhia, Y., Guang, C. y Xuan, Z. (2009). Effect of the *Lycium barbarum* Polysaccharides Administration on Blood Lipid Metabolism and Oxidative Stress of Mice Fed High-Fat Diet in vivo. *Food Chem.* 113: 872-877.
- Morton, J. (1987). Japanese Persimmon. En: Morton, J. *Fruits of Warm Climates*. Estados Unidos: Julia F. Morton, 411-416.
- Mungole, A. y Chaturvedi, A. (2011). Hibiscus sabdariffa L A Rich Source of Secondary Metabolites. *Int. J. Pharmac. Sci. Rev. Res.* 6 (18): 83-87.
- Odigie, I.P., Ettarh, R.R. y Adigun, S.A. (2003). Chronic Administration of Aqueous Extract of Hibiscus sabdariffa Attenuates Hypertension and Reverses Cardiac Hypertrophy in 2K-1C Hypertensive Rats. *J. Ethnopharmacol.* 86: 181-85.
- Park, T.S., Jung, S.T., Kang, S.G., Delgado, L.E., Martínez, A.A.L., Tapia, O.M.S., Belloso, M.S., Trakhtenberg, S. y Gorinstein, S. (2008). Drying of Persimmons (*Diospyros kaki* L) and the Following Changes in the Studied Bioactive Compounds and the Total Radical Scavenging Activities. *LWT.* 39: 748-55.
- Pereira, D.M., Vlentão, P., Pereira, J.A. y Andrade, A.B. (2009). Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules.* 14: 2202-2211.
- Procházková, D., Bousova, I. y Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and Prooxidant Properties of Flavonoids. *Fitoterapia.* 82: 513-523.
- Radi, R., Turrens, J.F., Bush, M.J., Crapo, J.D. y Freeman, B.A. (1991). Detection of Catalase in Rat Heart Mitochondrial. *J. Bio Chem.* 266 (32): 22028-22034.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free. Rad. Bio. Med.* 26: 1231-1237.
- Rudnicki, M., de Oliveira, M.R., Veiga, P.T.D., Reginatto, F.H., Dal, P.F. y Fonseca, M.J.C. (2007). Antioxidant and Antiglycation Properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* Extracts. *Food Chem.* 100: 719-724.
-

- Sáyago-Ayerdi, S.G., Arranz, S., Serrano, J. y Goñi, I. (2007). Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L) Beverage. *J. Agric. Food Chem.* 55: 7886-7890.
- Singleton, V.L., Orhofer, R. y Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidant by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Method Enzymol.* 299: 152-158.
- SPSS Institute Inc. (2009). *SPSS for Windows: version 18*. Chicago.
- Sun, J., Chu, Y.F., Wu, X. y Lui, H. R. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. *J. Agric. Food. Chem.* 50: 7449-7454.
- Talcott, S., Percival, S.S., Pittet, M.J. y Celoria, C. (2003). Phytochemical Composition and Antioxidant Stability of Fortified Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis*). *J. Agric. Food Chem.* 51: 935-941.
- Vasco, C., Ruales, J. y Kamal, E.A. (2008). Total Phenolic Compounds and Antioxidant Capacities of Major Fruit from Ecuador. *Food Chem.* 111: 816-823.
- Zibadi, S. y Watson, R.R. (2004). Passion Fruit (*Passiflora edulis*): Composition, Efficacy and Safety. *Evid. Based. Integrative. Med.* 3:183-187.