

## Estudio de toxicidad *in vitro* del extracto acuoso de *Physalis peruviana* (aguaymanto) sobre linfocitos humanos

In vitro toxicity study of the aqueous extract of *Physalis peruviana* (golden berry) in human lymphocytes

Cinthya Yanina Santa Cruz López<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7352-058X>

Miguel Ángel Ruiz Barrueto<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3373-4671>

José Elías Cabrejo Paredes<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7335-0541>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Jaén. Cajamarca, Perú.

<sup>2</sup>Universidad César Vallejo. Piura, Perú.

<sup>3</sup>Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad, Perú.

\*Autor para la correspondencia: [cisantacruz@gmail.com](mailto:cisantacruz@gmail.com)

### RESUMEN

**Introducción:** La búsqueda de productos fitoterapéuticos empleados para tratar múltiples enfermedades representa un área de gran interés. Sin embargo, se debe asegurar su correcto uso con el menor riesgo posible sobre la salud de la población que consume plantas nativas medicinales.

**Objetivo:** Evaluar el efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de *Physalis peruviana* sobre cultivo de linfocitos humanos.

**Métodos:** El cultivo de linfocitos se obtuvo a partir de sangre periférica de tres donantes voluntarios entre 24 a 30 años de edad en medio de cultivo para linfocitos (PBMAX). Los linfocitos fueron expuestos durante treinta minutos a las concentraciones de 62,5; 100; 250 y 1000 µg/mL del extracto acuoso de hojas de *Physalis peruviana*. Se utilizó peróxido de hidrógeno 300 µM, como control positivo y *buffer* fosfato alcalino a concentración de fabricante, como control negativo. La

citotoxicidad se determinó mediante el índice de viabilidad celular y la genotoxicidad mediante el ensayo cometa. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

**Resultados:** Se registraron los promedios del porcentaje de ADN en la cola del cometa, momento de la cola y momento Olive, encontrándose diferencias significativas entre las diversas concentraciones del extracto de *Physalis peruviana*. Además, se observó un índice de daño promedio del 46 %, a la concentración de 1000 ug/mL.

**Conclusiones:** El extracto acuoso de *Physalis peruviana* presentó efecto citotóxico y genotóxico *in vitro* sobre el cultivo de linfocitos humanos.

**Palabras clave:** genotoxicidad; ensayo cometa; *Physalis*; linfocitos.

## ABSTRACT

**Introduction:** The search for phytotherapeutic products used to treat multiple diseases represents an area of great interest. However, its correct use must be ensured with the least possible risk to the health of the native plants population considered medicinal, such as *Physalis peruviana* L. (Solanaceae) commonly known as goldenberry.

**Objective:** To evaluate the cytotoxic and genotoxic effect of the aqueous extract of *Physalis peruviana* on human lymphocyte culture.

**Methods:** Lymphocyte culture was obtained from peripheral blood from three volunteer donors, aged 24 to 30 years, in lymphocyte culture medium (PBMAX). Lymphocytes were exposed for thirty minutes to concentrations of 62.5; 100; 250 and 1000 µg/mL of the aqueous extract of leaves of *Physalis peruviana* 300 µM hydrogen peroxide was used as a positive control and alkaline phosphate *buffer* at manufacturer concentration was used as a negative control. Cytotoxicity was determined by cell viability index and genotoxicity by comet trial. All trials were conducted in triplicate.

**Results:** Averages of the percentage of DNA in the comet's tail, tail moment and olive moment were recorded, finding significant differences between the various concentrations of *Physalis peruviana* extract. In addition, an average damage rate of 46% was observed at the concentration of 1000 ug/mL.

**Conclusions:** The aqueous extract of *Physalis peruviana* showed *in vitro* cytotoxic and genotoxic effect on human lymphocyte culture.

**Keywords:** genotoxicity; comet trial; *Physalis*; lymphocytes.

Recibido: 14/10/2020

Aceptado: 17/07/2023

## Introducción

En el Perú, la medicina tradicional se utiliza desde épocas preincaicas. La búsqueda de productos fitoterapéuticos para tratar múltiples enfermedades es de gran interés, debido al alto costo de los fármacos sintéticos y difícil acceso a la asistencia médica. Al respecto, se estima que el 80 % de los habitantes de zonas rurales, en los países en vía de desarrollo, hacen uso de la medicina tradicional para satisfacer sus necesidades sanitarias.<sup>(1)</sup>

En la actualidad existe gran variedad de plantas nativas consideradas como medicinales. Entre ellas, se encuentra *Physalis peruviana* L. conocida comúnmente como aguaymanto. Esta planta herbácea es originaria de los Andes del Perú, pero también crece en Venezuela, Bolivia, Ecuador y Colombia. Pertenece a la familia Solanaceae, que presenta alrededor de 120 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo.<sup>(2)</sup> Estudios de caracterización fitoquímica de las hojas de *Physalis peruviana* reportaron la presencia de compuestos bioactivos como flavonoides, alcaloides (figrina, acetilcolina, higrina, ornitina), ceramidas, fenilpropanoides (ácido clorogénico) y esteroides (fitoequidizonas y witaesteroides), entre otros.<sup>(3)</sup>

Debido a sus propiedades antioxidantes, antibacterianas, antimicóticas, antihepatotóxicas y quimioterapéuticas,<sup>(4,5)</sup> el aguaymanto es utilizado empíricamente por la población para el tratamiento del cáncer, hepatitis, diabetes, dermatitis, malaria y reumatismo.<sup>(3)</sup> Sin embargo, pese a todos los beneficios que posee, es importante realizar investigaciones que garanticen su uso correcto, con el menor riesgo posible sobre la salud humana, ya que se han reportado efectos

colaterales como actividad mutagénica, teratogénica y carcinogénica (asociada a presencia de flavonoides y taninos) en diversos extractos vegetales empleados con fines medicinales.<sup>(6,7,8,9)</sup>

Es relevante establecer la mutagénesis como un factor determinante en el desarrollo de cáncer, así como los riesgos eventuales de agentes múgatenos de origen físico, químico o biológico, capaces de inducir la aparición de aberraciones cromosómicas como aneuploidías y poliploidías.<sup>(10)</sup> De manera que, la ingesta no controlada de productos farmacológicos de origen vegetal constituye un peligro potencial para la salud de las poblaciones, si no se tiene la garantía científica del efecto a nivel celular, genómico y sistémico.<sup>(11)</sup>

La realización de ensayos de citotoxicidad y genotoxicidad es significativa en la evaluación toxicológica de compuestos bioactivos extraídos de vegetales. El ensayo cometa en linfocitos humanos constituye un modelo biológico eficiente que requiere pequeñas cantidades de material de estudio. Se obtiene información del daño ocasionado por algún agente genotóxico, sobre el ADN celular y la capacidad celular para repararlo,<sup>(12,13)</sup> al cuantificar los fragmentos del ADN que adquieren la forma de cola de un cometa, después de la electroforesis.<sup>(14)</sup>

Por lo expuesto y considerando que son escasas las investigaciones actuales que permitan conocer los efectos colaterales a nivel celular y genómico del extracto acuoso de *Physalis peruviana* sobre células humanas, la presente investigación buscó evaluar el efecto citotóxico y genotóxico del extracto acuoso de *Physalis peruviana* sobre cultivo de linfocitos humanos; así como contribuir a un mejor conocimiento de esta especie vegetal, utilizada con fines medicinales, de posibles efectos colaterales para garantizar su uso seguro por la población.

## Métodos

La investigación fue de tipo básica, corte transversal y diseño en bloques al azar, y cada bloque estuvo conformado por los linfocitos de un donante. Se evaluaron seis tratamientos correspondientes a cuatro concentraciones y dos controles. Las hojas de *Physalis peruviana* se obtuvieron del vivero Pinos Dorados, carretera Pimentel, departamento Lambayeque, Perú (Latitud: -6.786051 Longitud: -79.866677), el seis

de agosto del año 2018 a las 15 horas. Las hojas se colectaron en bolsas de papel y trasladadas al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), donde fueron depositadas, identificadas y registradas con el código 59592.

### **Extracto acuoso de *Physalis peruviana***

Las hojas *Physalis peruviana* fueron lavadas con agua destilada y desinfectadas con alcohol al 96°. Se dejaron a temperatura ambiente (25 °C) por 24 h, para luego ser llevadas a estufa y culminar su secado (50 °C durante 4 h).

La molienda de las hojas secas se realizó empleando un mortero, hasta obtener su pulverización total. Del material pulverizado se pesaron 100 g y se colocaron en un vaso de precipitación conteniendo 1000 mL de agua destilada estéril (1:10 m/v). El sistema fue llevado a 80 °C en plancha de calefacción (WISD WITEG modelo HPLP-C-P), durante 15 min y después un período de enfriamiento de 10 min a temperatura ambiente. El material vegetal se trituró en agua y posteriormente filtrado tres veces con papel filtro Whatman N°1. El extracto total obtenido se llevó a rotavapor (BUCHI modelo R-300), a 42 °C durante 4 h para la eliminación del solvente (agua destilada estéril). El extracto seco se colocó en un vial color ámbar, sellado y rotulado.

A partir del extracto seco, se hicieron diluciones para obtener el extracto acuoso a concentraciones de 62,5; 100; 250 y 1000 µg/mL en el momento de la experimentación.

### **Obtención *in vitro* del cultivo de linfocitos**

Se extrajo 10 mL de sangre periférica de tres donantes varones sanos de entre 24 y 30 años de edad, no fumadores y no expuestos a radiación ionizante o compuestos genotóxicos, mínimo cuatro meses antes de extraer la muestra sanguínea.<sup>(15)</sup> A partir dichas muestras se obtuvieron suspensiones de  $2,8 \times 10^6$  linfocitos. La participación de los donantes fue voluntaria y la investigación contó con la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo mediante resolución N° 60-2018-UNT-FM-C.E.

Para obtener el cultivo de linfocitos se sembraron 15 gotas de sangre heparinizada

(heparina sódica 5000 U/mL), en un tubo cónico con 5 mL con medio de cultivo para linfocitos (PBMAX, Gibco). Una vez realizada la inoculación, los cultivos se incubaron en la estufa a 37 °C durante 70 h. Se incorporó a cada tubo 0,1 mL de colchicina SEID 0,08 µg/mL (comprimidos de 0,5 mg) y se continuó con la incubación a 37 °C durante 2 h más. Los linfocitos se aislaron por centrifugación a 1000 rpm durante 10 min (centrífuga marca Thermo Scientific).

### **Viabilidad *in vitro* de los linfocitos humanos**

Se emplearon 20 µL de linfocitos, expuestos previamente a dosis de 62,5; 100; 250 y 1000 µg/mL del extracto acuoso de *Physalis peruviana*. Los linfocitos se colorearon con SYBR GOLD 1 x 0,5 µL 1 mm, colorante de cianina asimétrico que mejora la fluorencia tras unirse a los ácidos nucleico sin tener contacto directo con la luz solar por 10 min y se observaron en el microscopio de fluorescencia Olympus BX 51 400X, con filtros de 536 y 617 nm. En las muestras obtenidas se contabilizó el número de linfocitos coloreados (muertos) y sin colorear (vivos),<sup>(16)</sup> siendo un total de 200 linfocitos. Para calcular el porcentaje de viabilidad *in vitro*, se multiplicó el número de linfocitos coloreados por cien y se dividió entre el total de linfocitos.

### **Ensayo cometa sobre linfocitos humanos**

El ensayo cometa siguió el protocolo desarrollado por Collins.<sup>(12)</sup> Los linfocitos se trataron con 500 µL del extracto a 62,5; 100; 250; 1000 µg/mL y, se controlaron en una estufa (marca Memmert) graduada a 37 °C durante 30 min. Luego, se tomaron 5 µL de la muestra anterior y se adicionaron 120 µL de gel de agarosa bajo punto de fusión al 0,5 % e inmediatamente sobre una lámina portaobjeto se colocaron 100 µL de la mezcla anterior con una capa de agarosa de fusión normal al 1,5 % y se cubrió con una laminilla.

Las láminas portaobjetos preparadas se colocaron a 4 °C durante 5 min para su solidificación. Una vez solidificada la agarosa, las láminas se introdujeron en *buffer* de lisis durante 1 h. Cumplido el tiempo, se colocaron en cámara de electroforesis horizontal marca *Thermo Scientific*, conteniendo *buffer* de electroforesis (1 mm Na<sub>2</sub>-EDTA, 300 mm de NaOH), llenado hasta 0,25 cm por encima de las láminas portaobjetos y llevado a 4 °C durante 30 min.

El corrido electroforético se realizó a 25 V, 300 mA por 30 min a 4 °C. Enseguida se retiraron los portaobjetos y se colocaron en *buffer* de neutralización (0,4 M, tris-HCl pH 7,5) que cubría las láminas portaobjetos, y se dejaron reposar durante 5 min a temperatura ambiente (tres repeticiones), se discurrieron los portaobjetos y se enjuagaron cuidadosamente con agua destilada para dejarlos secar a temperatura ambiente.

La coloración se realizó con 30 µl de SYBR GOLD 1X (20 g/mL). Para el *stock* 1X (concentración simple), se utilizó 1 mL SYBR GOLD 1X con 9 mL de agua destilada. Además, se empleó al peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 300 µM (ALKOFARMA) y *buffer* fosfato salino (PBS 1X) como controles positivo y negativo respectivamente. Se realizaron tres repeticiones por cada una de las concentraciones evaluadas. Finalmente, se observó al microscopio de fluorescencia Olympus BX51 400X con filtros de 510 y 550 nm.

Para la evaluación de genotoxicidad *in vitro* se observaron las láminas en el microscopio de fluorescencia (50 células/ muestra seleccionadas al azar), empleando el *software comet assay iv*, con cámara incorporada al microscopio de fluorescencia que permitió determinar el porcentaje de ADN de la cola (% TADN), momento de la cola (TM) y momento Olive (OTM), Así también, un análisis mediante registro visual, para categorizar en una escala del 0 al 4, el daño ocasionado en la célula.<sup>(12)</sup> Las células se clasificaron teniendo en cuenta la longitud de la cola del cometa.

El índice de daño celular de los tres donantes evaluados se estimó, considerando el número de células clasificadas en cada categoría.

Índice de daño del ADN = N° Cél. Cat 1 + 2 (N° Cél. Cat 2) + 3 (N° Cél. Cat 3) + 4 (N° de Cel. Cat 4).

Los resultados se procesaron en el programa Minitab® 18 para Windows® versión 8. Se estimaron promedios y desviación estándar para el daño celular, % TADN, TM y OTM y se compararon mediante el análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey. Además, se realizó el análisis de regresión lineal, y se consideró a las concentraciones del extracto como variables independientes (función x) y al porcentaje de sobrevivencia de linfocitos como la variable dependiente (función y).

## Resultados

La viabilidad de los linfocitos a la concentración de 1000 µg/mL fue del 97,14 %, menor al obtenido con el control negativo (99,80 %), pero no superando el 92,37 % reportado con el control positivo (tabla).

**Tabla** - Viabilidad *in vitro* de linfocitos humanos sometidos al extracto acuoso de *Physalis peruviana* a concentraciones de 62,5; 100; 250 y 1000 µg/mL

Concentración del extracto (µg/ mL)	Viabilidad (%)
1000 ug/mL	97,14
250 ug/mL	98,31
100 ug/mL	99,40
62,5 ug/mL	98,77
Control positivo	92,37
Control negativo	99,80

Coefficiente de regresión  $b = -0,05212 \pm 0,01247$ ;  $b = \text{covarianza } x, y / \text{suma de cuadrados de } x$ .

Fuente: Base de datos

La genotoxicidad fue determinada mediante el porcentaje de ADN de la cola (% TADN), momento de la cola (TM) y momento Olive (OTM), valores que se incrementaron en los linfocitos cuando fueron expuestos a diferentes dosis del extracto evaluado.

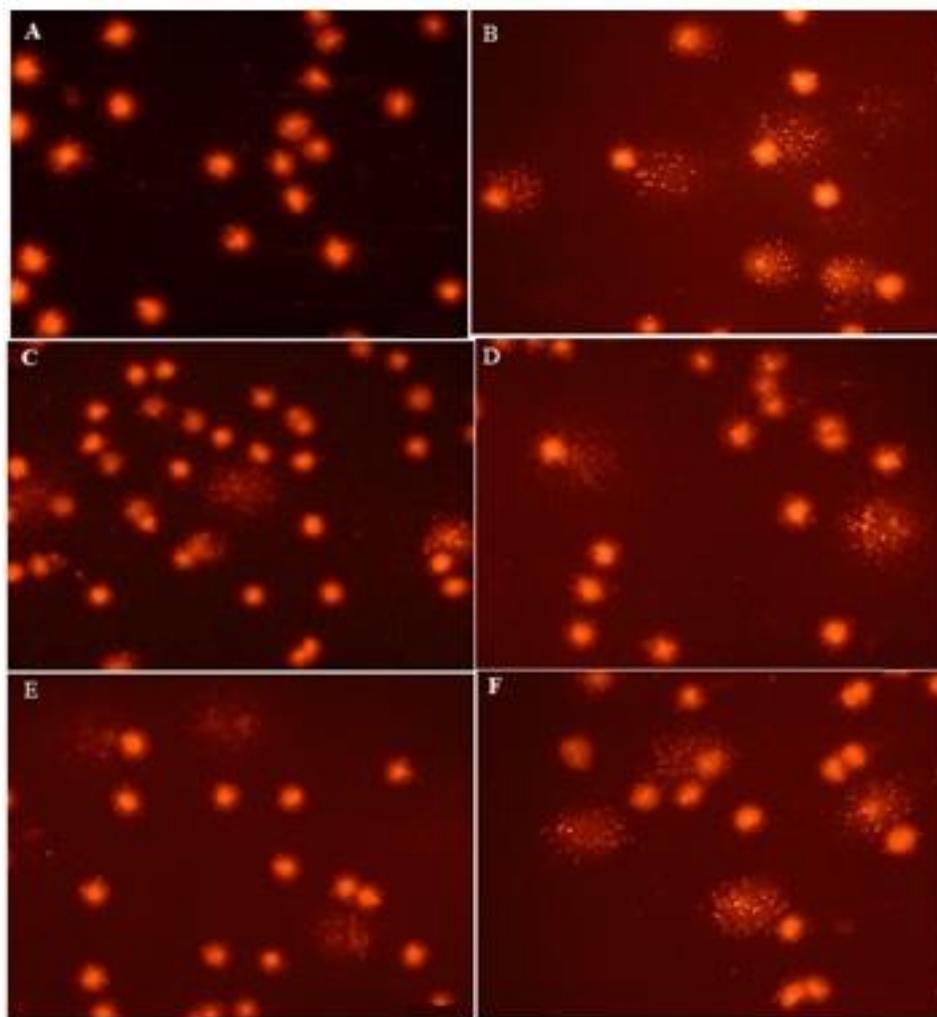
En los linfocitos expuestos a la concentración más alta del extracto acuoso de aguaymanto (1000 µg/mL) se reportaron valores de TADN, TM y OTM de 44,81 %, 46,12 % y 32,69 %, respectivamente (fig. 1).



Fuente: Base de datos.

**Fig. 1** - Porcentaje de ADN de la cola, momento de la cola y momento Olive en linfocitos humanos expuestos al extracto acuoso de *P. peruviana* a concentraciones de 62,5; 100; 250 y 1000 µg/ mL.

En la figura 2 se presenta el nivel de daño de los linfocitos humanos bajo, moderado y elevado visualizados mediante el programa *comet assay iv*. Al evaluar la longitud de la cola del cometa, se evidencia un elevado daño en linfocitos expuestos a la dosis de 1000 µg/mL del extracto. Los linfocitos sometidos a la sustancia utilizada como control negativo no muestran daño, mientras que los linfocitos enfrentados a la sustancia empleada como control positivo manifiestan un moderado y elevado daño a nivel de su ADN.

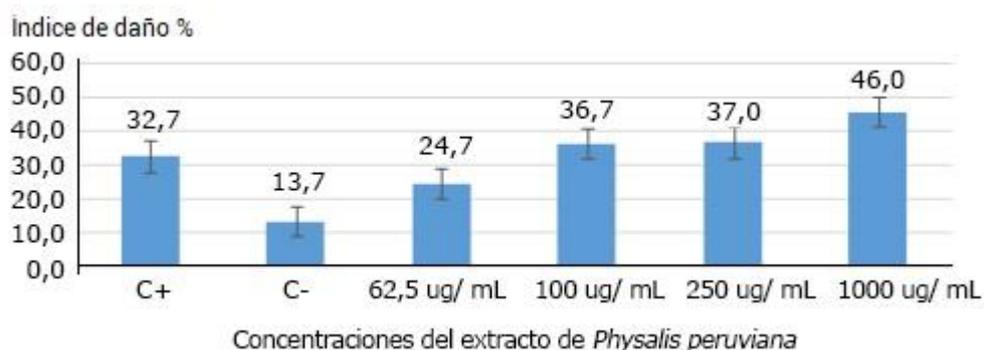


A) ADN sin daño – categorías 0 y 1 (control negativo). B) ADN dañado – categorías 3 y 4 (control positivo). C) ADN con daño de bajo nivel (62,5 µg/ mL). D) ADN con daño de bajo nivel - categorías 1 y 2 (100 µg/ mL). E) ADN con daño moderado – categoría 3 (250 µg/ mL). F) ADN con daño elevado – categoría 4 (1000µ/ mL).

Fuente: Base de datos.

**Fig. 2** - Daño en el ADN de linfocitos humanos inducido por diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Physalis peruviana*.

En la figura 3 se evidencia el incremento del índice de daño ocasionado al exponer los linfocitos humanos a las concentraciones del extracto de *Physalis peruviana* (aguaymanto), y que resultó ser del 46 % para la concentración de 1000 µg/mL. El daño ocasionado fue dependiente de la dosis empleada según la prueba *post hoc* de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Fig. 3** - Índice de daño en linfocitos humanos sometidos al extracto acuoso de *Physalis peruviana* a concentraciones de 62,5; 100; 250 y 1000 µg/mL.

Fuente: Base de datos.

## Discusión

La utilización de linfocitos humanos para evaluar la toxicidad de diferentes compuestos es importante, dado que estas células poseen la capacidad de acumular lesiones ocasionadas por la exposición a sustancias de manera repetida y prolongada, incluso a bajas dosis.<sup>(17)</sup> La viabilidad de los linfocitos fue mayor al 90 % en todos los tratamientos ensayados (tabla) y coincide con lo comunicado por *Londoño-Velasco* y otros.<sup>(18)</sup> Estos resultados son importantes pues de no haberse encontrado linfocitos viables, el ADN se habría degradado, aún sin la presencia de ningún compuesto tóxico, generando falsos positivos respecto a la toxicidad del extracto de aguaymanto.

Mediante el ensayo cometa en condiciones alcalinas, se facilitó la desnaturalización y desenrollamiento del genoma, lo que permitió detectar rupturas de cadena sencilla del ADN, sitios alcalinos lábiles, entrecruzamientos de hebras del ADN o entre una proteína y ADN, relacionados con sitios donde se repara el daño por escisión celular incompleta.<sup>(19,20)</sup> Por ello, al observar los linfocitos dañados mediante el microscopio de fluorescencia, estos presentaron la apariencia de un "cometa", formados por una cabeza y la cola con fragmentos de ADN que migraron en dirección al ánodo. Las células que no sufrieron daño no formaron la cola, conservando su apariencia esférica.

Las lesiones en el ADN de los "cometas", se evidenciaron con el incremento del

por ciento TADN, TM y OTM, en relación al aumento de concentraciones del extracto, con tendencia lineal directa (fig. 1), resultados similares a los reportados por Yáñez y otros<sup>(8)</sup>, y Pabuena y otros<sup>(9)</sup> quienes demostraron que los extractos de durazno y fresas respectivamente inducen lesiones en el ADN de linfocitos humanos y atribuyeron la toxicidad de estos extractos a la presencia de endosulfan II y del Beta BHC (pesticidas organoclorados).

Cabe señalar que, se encontró mayor ruptura de las hebras del ADN celular en el primer donante, lo que pudo estar relacionado con su edad. El incremento de la edad disminuye la eficacia de la división y reparación de lesiones en el ADN y hace que en muchas ocasiones las personas adultas muestren un aumento en los indicadores de daño.<sup>(21)</sup>

En la investigación se visualizaron 98 cometas que pertenecieron a las categorías 3 y 4, es decir con elevado nivel de daño (fig.2). Las células con daño en el ADN sufren un incremento en la migración nuclear<sup>(22)</sup>, que podría estar relacionado con la fragmentación del ADN durante la necrosis o apoptosis.<sup>(23)</sup> Según Roser y otros,<sup>(24)</sup> el radio entre la apoptosis y el cometa puede cambiar en relación al tipo y preparación de células, sustancias y concentración empleadas.

Las células sometidas al control negativo presentaron una baja cantidad de rupturas en las hebras del ADN, perteneciendo en su mayoría a categorías 0 y 1. El peróxido de hidrógeno 300  $\mu$ M usado como control positivo permitió la formación de cometas, principalmente de categorías 3 y 4 (fig. 2). Lo que estaría relacionado a las alteraciones que produce el peróxido de hidrógeno sobre el material genético. Se expresan como roturas de cadenas a través de la formación del radical OH<sup>-</sup>, y considerada la principal especie de radical proveniente del oxígeno que coadyuva a la oxidación endógena del ADN celular.<sup>(25,26)</sup>

Al calcular el índice de daño en el ADN de linfocitos humanos, se obtuvo un índice de daño promedio del 46,0 % para la concentración de 1000  $\mu$ g/ mL, siendo superior al encontrado con los controles (fig. 3), observándose asociación entre el índice de daño y concentraciones empleadas y coincide con lo hallado por Meléndez y otros,<sup>(27)</sup> quienes determinaron que a mayor concentración del extracto butanólico de *Peperomia dolabriformis* (congona de zorro), mayor es la migración del ADN en la cola del cometa y por ende se incrementa el índice de daño generado.

La integridad del ADN es primordial para la salud y adecuado funcionamiento del organismo humano. Sin embargo, puede ser afectado por numerosas sustancias, y dar origen a procesos mutagénicos.<sup>(27)</sup>

En relación con el extracto acuoso de *Physalis peruviana* se ha demostrado su actividad anticancerígena frente a células del cáncer hepático (HA-22T), nasofaríngeo (KB-16), leucemia promielocítica aguda (HL-60), leucemia mieloide aguda (KG-1) y adenocarcinoma de colon.

Su potencial farmacéutico se relaciona con las physalinas presentes en sus hojas, que incrementan la expresión de receptores TRAIL-DR4/-DR5, implicados en la inducción de señales apoptóticas.<sup>(5,28,29,30)</sup> Como limitaciones se menciona que, no fue posible precisar si este daño en los linfocitos es reversible o no. Además, se desconoce si el daño ocasionado a los linfocitos en condiciones reales sería mayor al presentado bajo condiciones *in vitro*.

En este sentido, los resultados de esta investigación son significativos, al aportar conocimiento de posibles efectos colaterales del uso indiscriminado de productos derivados de las plantas medicinales como el extracto de aguaymanto y evidencia la necesidad de realizar otros estudios para establecer a mayor detalle la dosificación y tiempo adecuado para su uso con fines medicinales. Se concluye que el extracto acuoso de *Physalis peruviana* a concentraciones de 62,5; 100; 250 y 1000 µg/mL ocasionó un aumento sostenido del índice de daño en el ADN de la cola, momento de la cola y momento Olive de los linfocitos humanos en los tres donantes evaluados.

## Referencias bibliográficas

1. Garzón GA. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta Biológica Colomb. 2008 [acceso 30/09/2020];13(3):27-36. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v13n3/v13n3a2.pdf>
2. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA, Bielinski D, Martin A, McEwen JJ, et al. Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. J Neurosci. 1999 [acceso 30/10/2020];19(18):8114-21.

Disponible en: <https://www.jneurosci.org/content/jneuro/19/18/8114.full.pdf>

3. Wang SY, Jiao H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J Agric Food Chem.* 2000 [acceso 28/09/2020];48(11):5677-84. Disponible en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11087538>

4. Jankowski A, Jankowska B, Niedworok J. The effect of anthocyanin dye from grapes on experimental diabetes. *Folia Med Cracov.* 2000 [acceso 28/09/2020];41(3-4):5-15. Disponible en:

<http://europepmc.org/article/med/11339016>

5. Roskov Y, Ower G, Orrell T, Nicolson D, Bailly N, Kirk PM, et al. (eds.). *Talipariti elatum* (Sw.) Fryxell in Hassler M. World Plants: Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life; 2020 [acceso 28/09/2020]. p12-01. Digital resource at [www.catalogueoflife.org](http://www.catalogueoflife.org)

6. González J, Cuellar A, Nossin E, Monan M, François-Haugrin F, Sylvius L, et al. Determinación por claruvieem/em de flavonoides presentes en los pétalos de las flores de *Talipariti elatum* Sw (Fryxell). *Rev Cienc Farm Aliment.* 2016 [acceso 14/09/2020];2(2). Disponible en:

<http://www.rcfa.uh.cu/index.php/RCFA/article/view/68>

7. Remini H, Mertz C, Belbahi A, Achir N, Dornier M, Madani K. Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage. *Food Chem.* 2015 [acceso 14/09/2020];73:665-73. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25466074/>

8. Martynenko A, Chen Y. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. *J Food Eng.* 2016 [acceso 14/09/2020];71:44-51. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877415300091>

9. Zapata LM, Heredia AM, Quinteros CF, Malleret AD, Clemente G, Cárcel JA. Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 2014 [acceso 14/09/2020];25(49):166-92. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/145/14532635008.pdf>

10. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Vitic.* 1977 [acceso 14/09/2020];28(1):49-55.

Disponible en: <https://www.ajevoonline.org/content/28/1/49>

11. Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. J AOAC Int. 2005;88(5):1269-78. DOI: [/10.1093/jaoac/88.5.1269](https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269)

12. Kotz JC, Treichel PM. Química y reactividad química. 6ta. ed. Estados Unidos, California: Cengage Learning/Thomson Internacional. 2008 [acceso 14/09/2020]. Disponible en: <https://www.urbe.edu/UDWLibrary/InfoBook.do?id=11147>

13. Casp Vanaclocha A, Abril Requena J. Procesos de conservación de alimentos. Tecnología de Alimentos, España, Madrid: Ediciones Mundi-Prensa 2003 [acceso 14/09/2020] Disponible en: <https://www.scribd.com/doc/314307456/Procesos-de-Conservacion-de-Alimentos-Vanaclocha-Requena>

14. Fanjul ML, Hiriart M. Biología funcional de los animales. España, Madrid: Siglo XXI de España SA editores; 1998. [acceso 14/09/2020] Disponible en: <https://n9.cl/1ubvx>

15. Fernández A, Iglesias D, Cartaya R, Arencibia JA. Obtención de un extracto rico en antocianinas a partir de flor de majagua (*Talipariti elatum* Sw). Rev CENIC Cienc Biológicas. 2020 [acceso 14/09/2020];51(2):122-30. Disponible en: <https://revista.cnic.cu/index.php/RevBiol/article/view/339>

16. Quiala ZO. Estudio de los compuestos fenólicos presentes en las flores de la especie *Talipariti elatum* Sw y control de calidad de su extracto fluido. [Tesis maestría]. Cuba, La Habana: Universidad de La Habana, Facultad de Química Farmacéutica; 2017.

17. Gutiérrez Y, Welch W, Scull R, García V, Delgado L. Propuesta de una formulación semisólida a partir de un extracto hidroalcohólico de *Talipariti elatum* Sw. Rev Cienc Farm Aliment. 2017 [acceso 14/09/2020];3(2). Disponible en: <http://www.rcfa.uh.cu/index.php/RCFA/article/view/94>

18. Londoño-Velasco E, Martínez-Perafán F, Carvajal S, García-Vallejo F, Hoyos-Giraldo LS. Evaluación del daño oxidativo y por metilación del ADN de pintores expuestos ocupacionalmente a solventes orgánicos y pinturas. Biomédica. 2019 [acceso 14/09/2020];39(3):464-77. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/4289>

19. Abadiano Rengifo LJ. Desarrollo de un ingrediente funcional a partir de pulpa de mora (*Rubus glaucus Benth*) y pulpa de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*), mediante la microencapsulación de compuestos fenólicos Ecuador, Quito [B.S. thesis]. [Quito]: Escuela Politécnica Nacional, Facultad Ingeniería Química y Agroindustria; 2015. [acceso 14/09/2020] Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/11951>
20. Patras A, Brunton NP, O'Donnell C, Tiwari BK. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. Trends Food Sci Technol. 2010 [acceso 14/09/2020];21(1):3-11 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224409002271>
21. Márquez I, Cuellar A, Martínez J, Alemán A, Lora J, Vélez H. Estudio fitoquímico de la especie *Hibiscus elatus* SW. Rev Cuba Farm. 1999 [acceso 14/09/2020];33(2):127-31. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v33n2/far08299.pdf>
22. Wang W-D, Xu S-Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. J Food Eng. 2007 [acceso 14/09/2020];82(3):271-5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877407000635>
23. Arrazola G, Herazo I, Alvis A. Microencapsulación de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena L.*) mediante secado por aspersion y evaluación de la estabilidad de su color y capacidad antioxidante. Inf Tecnológica. 2014 [acceso 14/09/2020];25(3):31-42. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v25n3/art06.pdf>
24. García N. Evaluación de la estabilidad del colorante antociánico extraído a partir del fruto silvestre capachu (*hesperomeles escalloniifolia schldl*) durante el almacenamiento de una bebida gasificada. Perú, Andahuaylas [Ingeniero Agroindustrial]. Universidad Nacional José María Arguedas, Facultad de Ingeniería; 2014. [acceso 09/09/2020]. Disponible en: <https://repositorio.unajma.edu.pe/handle/20.500.14168/206>
25. Kirca A, Özkan M, Cemeroglu B. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. Food Chem. 2006 [acceso 14/09/2020];97(4):598-605. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814605004152>

26. Devi PS, Saravanakumar M, Moh S. The effects of temperature and pH on stability of anthocyanins from red sorghum (*Sorghum bicolor*) bran. Afr J Food Sci. 2012 [acceso 14/09/2020];6(24):567-73 Disponible en: [https://academicjournals.org/article/article1380179075\\_Devi%20et%20al.pdf](https://academicjournals.org/article/article1380179075_Devi%20et%20al.pdf)
27. Meléndez-Rodríguez DE, Zavaleta G, Blas W, Saldaña J. Efecto del extracto butanólico de *Peperomia dolabriformis* sobre el ADN de linfocitos humanos evaluados por el ensayo cometa Medicina naturista. 2023 [acceso 14/09/2020];6(24):567-73 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9004282>
28. Torres B, Tiwari BK, Patras A, Cullen PJ, Brunton N, O'donnell CP. Stability of anthocyanins and ascorbic acid of high pressure processed blood orange juice during storage. Innov Food Sci Emerg Technol. 2011 [acceso 10/09/2020];12(2):93-7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856411000087>
29. Türkyilmaz M, Özkan M. Kinetics of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in black carrot juice concentrates during storage. Int J Food Sci Technol. 2012;47(11):2273-81. DOI: [/10.1111/j.1365-2621.2012.03098.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03098.x)
30. Zambrano JM, Sarmiento AR, Guerra CB, Caro NH, Riaño FM. Estabilidad de Antocianinas en Jugo y concentrado de agraz (*vaccinium meridionale sw.*). Rev Fac Nac Agron-Medellín. 2011 [acceso 14/09/2020];64(1):6015-22. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1799/179922364024.pdf>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

### Contribuciones de los autores

**Conceptualización:** Cinthya Yanina Santa Cruz López.

**Curación de datos:** Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

**Análisis formal:** Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

*Adquisición de fondos:* Cinthya Yanina Santa Cruz López.

*Investigación:* Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

*Metodología:* Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

*Administración de proyecto:* Cinthya Yanina Santa Cruz López.

*Recursos:* Cinthya Yanina Santa Cruz López.

*Software:* Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

*Supervisión:* Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

*Validación:* Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

*Visualización:* Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

*Redacción - borrador original:* Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.

*Redacción - revisión y edición:* Cinthya Yanina Santa Cruz López, Miguel Ángel Ruiz Barrueto, José Elías Cabrejo Paredes.