

2025

Caracterización fenólica y efecto del consumo
del arilo de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Beth.
sobre lesiones preneoplásicas de colon.

Ángel Félix Vargas Madriz



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

Caracterización fenólica y efecto del consumo del arilo de
Pithecellobium dulce (Roxb.) Beth. sobre lesiones
preneoplásicas de colon.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Biológicas

Presenta:

MCNH. Ángel Félix Vargas Madriz

dirigido por:

Dr. Jorge Luis Chávez Servín

Co-Director:

Dr. Salvador Horacio Guzmán Maldonado

Querétaro, Qro. a 11 de mayo de 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Doctorado en Ciencias Biológicas

Caracterización fenólica y efecto del consumo del arilo de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Beth. sobre lesiones preneoplásicas de colon.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Biológicas

Presenta:

MCNH. Ángel Félix Vargas Madriz

Dirigido por:

Dr. Jorge Luis Chávez Servín

Co-Director:

Dr. Salvador Horacio Guzmán Maldonado

SINODALES

Dr. Jorge Luis Chávez Servín
Presidente

Dr. Salvador Horacio Guzmán Maldonado
Co-Director

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez
Vocal

Dr. Aarón Kuri García
Suplente

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca
Suplente

Centro Universitario
Querétaro, Qro. México, Mayo 2025

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo de investigación con todo el amor y gratitud a toda mi familia. A mis amados padres, Yolanda Madriz Hernández y Raúl Vargas Montiel por ser mi fuente de inspiración, por inculcarme grandes valores y enseñanzas que llevaré por toda mi vida, agradezco su amor y el apoyo que me han dado durante toda mi vida. Los amo de todo corazón.

A mis hermanos, Raúl Vargas Madriz, Nancy Stivaliz Vargas Madriz y Haidel Vargas Madriz, por ser aquellas personas que siempre han estado cuidándome y brindando su cariño incondicional. Gracias infinitas por todo ese cariño y amor que me dan.

A mis sobrinos Roberto Jacob Solís Vargas, José Ramsés Solís Vargas, Raúl Alejandro Solís Vargas, Sofía Carolina Solís Vargas, Haidel Javier Vargas Topete, Renata Ixchel Vargas Topete, Kamilo Yareth Vargas Ramírez, Edgar Guadalupe Corona Ramírez y Christopher Jesús Corona Ramírez, por ser una fuente de alegría e inspiración.

A Dios, por permitirme realizar y cumplir una meta que me propuse hace muchos años. Por darme la fortaleza para seguir adelante y vivir todas las experiencias en estos ocho años, desde mi llegada a la maestría hasta la culminación del doctorado.

"Se buscan hombres para viaje peligroso. Sueldo escaso. Frío extremo. Largos meses de completa oscuridad. Peligro constante. No se asegura el regreso. Honor y reconocimiento en caso de éxito."

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación corresponde a los estudios realizados con una beca otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) durante el periodo de 2021-2025, gradezco la oportunidad brindada, la cual fue primordial para realizar y finalizar mis estudios de Doctorado.

A mi director de tesis, Dr. Jorge Luis Chávez Servín, que siempre confió en mi desde el primer día que me entreviste con él, agradezco todas sus enseñanzas y su paciencia. Ha sido mi mentor y ejemplo profesional, es todo un honor para mí haber formado parte de su equipo de trabajo.

A mis sinodales, Dr. Horacio Sandoval, Dra. Tere García, Dr. Roberto Ferriz y al Dr. Aarón Kuri. Agradezco el tiempo, conocimiento y observaciones que enriquecieron este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, Jenny Kay Novella, Carlos Vázquez, y compañeros docentes de la Prepa Bicentenario. Les agradezco su gran apoyo, amistad y compañerismo.

ÍNDICE

DEDICATORIAS	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN	11
II. ANTECEDENTES	14
2.1. Compuestos fenólicos y sus efectos biológicos.....	14
2.2. Clasificación de los compuestos fenólicos.....	15
2.2.1. Fenoles.....	15
2.2.2. Flavonoides	16
2.2.3. Taninos.....	17
2.3. Propiedades anticancerígenas y antioxidantes de los compuestos fenólicos	
18	
2.4. Cáncer colorrectal.....	21
2.4.1. Etiología y carcinogénesis del cáncer de colon	21
2.4.2. Epidemiología del cáncer de colon	22
2.4.3. Lesiones preneoplásicas de colon	23
2.5. Origen y distribución de <i>P. dulce</i>	24
2.5.1. Descripción morfológica.....	25
2.5.2. Descripción del arilo.....	26
2.5.3. Usos generales de la planta.....	26
2.5.4. Uso como alimento	27
2.5.5. Uso medicinal	29

2.5.6. Compuestos fenólicos del arilo de <i>Pithecellobium dulce</i>	30
2.6. Métodos de secado y su impacto en los compuestos fenólicos	30
III. JUSTIFICACIÓN	32
IV. HIPÓTESIS	33
V. OBJETIVOS	34
5.1. Objetivo general	34
5.2. Objetivos específicos.....	34
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	35
6.1. Consideraciones éticas.....	35
6.2. Materia vegetal	35
6.3. Proceso de extracción	35
6.4.1. Compuestos fenólicos totales	36
6.4.2. Flavonoides totales	36
6.4.3. Taninos condensados.....	36
6.4.4. DPPH	37
6.4.5. FRAP	37
6.4.6. TEAC (ABTS).....	37
6.4.7. Validación de los métodos colorimétricos	38
6.5. Identificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD	38
6.6. Análisis químico proximal	39
6.7. Preparación de la dieta experimental	39
6.8. Determinación <i>In vivo</i>	40
6.8.1. Modelo experimental.....	40
6.8.2. Examen histopatológico	42

6.8.3. Marcadores bioquímicos	42
6.9. Determinación <i>In vitro</i>	43
6.9.1. Ensayo de cultivo celular	43
6.9.2. Determinación de la actividad metabólica de la célula por ensayo MTT	
43	
6.9.3. Determinación de necrosis celular mediante ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH).....	44
6.9.4. Evaluación de la apoptosis por citometría de flujo	44
6.9.5. Análisis del ciclo celular por citometría de flujo.....	45
6.9.6. Evaluación de la expresión génica de <i>p53</i> y <i>KRAS</i> mediante análisis de qPCR	45
6.10. Análisis estadístico	46
VII. RESULTADOS.....	47
7.1. Impacto de los métodos de secado en la composición polifenólica y la capacidad antioxidante del arilo de <i>P. dulce</i>	47
7.2. Análisis proximal del arilo de <i>P. dulce</i> y caracterización de la dieta experimental	53
7.3. Efecto quimiopreventivo del arilo de <i>P. dulce</i> sobre lesiones preneoplásicas de colon	54
7.4. Efecto del extracto de <i>P. dulce</i> sobre la actividad metabólica celular, la apoptosis, el ciclo celular, la necrosis y la expresión de genes proapoptóticos y antiapoptóticos	62
VIII. DISCUSIÓN	66
8.1. Impacto de los métodos de secado en el perfil fenólico y la capacidad antioxidante.....	66

8.2. Análisis proximal del arilo de <i>P. dulce</i> y caracterización de la dieta experimental	69
8.3. Efecto quimiopreventivo del arilo de <i>P. dulce</i> sobre lesiones preneoplásicas de colon	70
8.3.1. Relación dosis-respuesta y biomarcadores mecanísticos	76
8.4. Efectos del extracto de <i>P. dulce</i> en la actividad celular y expresión génica	
77	
8.5. Implicaciones terapéuticas y perspectivas futuras.....	84
IX. CONCLUSIÓN	87
X. REFERENCIAS:.....	89
XI. Anexos	113

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis químico proximal del arilo <i>P. dulce</i> (100 g ⁻¹) materia seca.....	27
Tabla 2. Contenido de vitaminas hidrosolubles del arilo de <i>P. dulce</i> , (mg 100 g ⁻¹) en materia seca.....	28
Tabla 3. Contenido de minerales del arilo de <i>P. dulce</i> , (mg 100 g ⁻¹) en materia seca.....	28
Tabla 4. Composición nutricional comparativa entre el alimento estándar (Nutricubo®) y la dieta experimental modificada con 10% de arilo de <i>P. dulce</i>	40
Tabla 5. Compuestos fenólicos, flavonoides y taninos condensados en extractos hidroalcohólicos y acuoso del arilo de <i>P. dulce</i>	48
Tabla 6. Capacidad antioxidante en extractos hidroalcohólicos y acuoso del arilo de <i>P. dulce</i>	49
Tabla 9. Análisis proximal del arilo de <i>P. dulce</i> en materia seca	53
Tabla 10. Peso de órganos de ratas Sprague-Dawley	57
Tabla 11. Comparación de análisis hematológicos en los diferentes grupos experimentales.....	58
Tabla 12. Comparación de análisis hematológicos en ratas Sprague-Dawley sometidas a diferentes tratamientos con <i>Pithecellobium dulce</i> y AOM/DSS	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del fenol.....	14
Figura 2. Clasificación química de los polifenoles.....	15
Figura 3. Estructura química de los flavonoides y sus principales subclases	17
Figura 4. Estructura química de los taninos condensados (proantocianidinas)	18
Figura 5. Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS)	19
Figura 6. Concentración relativa de compuestos fenólicos del arilo de <i>P. dulce</i> por tipo de secado (horno y liofilización) y concentración de solvente (etanol, metanol y agua).....	52
Figura 7. Análisis de componentes principales (PCA) de las mediciones de arilo de <i>P. dulce</i>	52
Figura 8. Ganancia de peso en ratas Sprague-Dawley durante 16 semanas.	54
Figura 9. Ingesta de agua en ratas Sprague-Dawley durante 16 semanas.	55
Figura 10. Consumo de alimento en ratas Sprague-Dawley durante 16 semanas.	56
Figura 11. Análisis histopatológico de riñón, hígado y colon en ratas Sprague-Dawley	62
Figura 12. Evaluación de la citotoxicidad de los extractos de arilo de <i>P. dulce</i> en células de adenocarcinoma de colon SW480 humano.	63
Figura 13. Expresión relativa ($2^{\Delta\Delta Ct}$) normalizada a GDFP en células SW480..	64
Figura 14. Efecto anticancerígeno después del tratamiento de células SW480 con dosis LC ₅₀ de extracto de <i>P. dulce</i>	65

RESUMEN

Pithecellobium dulce (*P. dulce*) es una planta mexicana cuyo fruto o arilo tiene propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, ha sido tradicionalmente utilizada en el tratamiento de diversas afecciones. En la literatura se analiza el papel de los compuestos bioactivos con relación a diferentes tipos de cáncer. Asimismo, se sabe que el proceso de secado postcosecha puede alterar el contenido de compuestos bioactivos del arilo de *P. dulce*. Este estudio evaluó el impacto de diferentes métodos de secado sobre el perfil fenólico y la capacidad antioxidant del arilo, así como su efecto quimiopreventivo frente a lesiones preneoplásicas de colon inducidas por azoximetano / sulfato de dextrano sódico (AOM/DSS) en un modelo murino. El secado por horno mostró mayor contenido de fenoles totales, 80% más que el secado por liofilizado, y mayor capacidad antioxidant. Se identificaron 14 compuestos polifenólicos, entre ellos catequina, ácido gálico y quer cetina. En ensayos *in vitro* con células SW480, el extracto metanólico al 50% (v/v) presentó una CL₅₀ de 13.76 mg/mL, indujo detención del ciclo celular en G1, apoptosis, aumentó la expresión de p53 y disminución KRAS. En el experimento *in vivo*, el grupo con la dieta suplementada con 10% de arilo y con la administración de AOM/DSS presentaron atenuación del daño en órganos (hígado, colon y riñón) en comparación con el grupo que se administró con solo AOM/DSS. Estos hallazgos indican que el arilo de *P. dulce* secado por horno presentó mayor cantidad de compuestos bioactivos con potencial quimiopreventivo en el cáncer de colon.

Palabras clave: *Pithecellobium dulce*, polifenoles, capacidad antioxidant, quimiopreventivo, células SW480

ABSTRACT

Pithecellobium dulce (*P. dulce*) is a Mexican plant. Its fruit, or aril, has anti-inflammatory and antioxidant properties that have traditionally been useful in the treatment of various conditions. The role of its bioactive compounds in different types of cancer has been studied. However, postharvest drying can alter the bioactive compound content of the *P. dulce* aril. This study evaluated the impact of different drying methods on the phenolic profile and antioxidant capacity of the aril, as well as its chemopreventive effect against azoxymethane/dextran sulfate sodium (AOM/DSS)-induced preneoplastic colon lesions in a mouse model. Among the results, oven-drying showed a higher content of total phenols, 80% more than freeze-drying, and greater antioxidant capacity. Fourteen polyphenolic compounds were identified, including catechin, gallic acid, and quercetin. *In vitro* assays using SW480 cells, the 50% (v/v) methanolic extract exhibited an LC₅₀ of 13.76 mg/mL, induced G1 cell cycle arrest, apoptosis, increased p53 expression, and decreased KRAS. In vivo experiments, the group supplemented with 10% aryl and administered AOM/DSS showed attenuated organ damage (liver, colon, and kidney) compared to the group administered with only AOM/DSS. These findings indicate that oven-dried *P. dulce* aril better preserves bioactive compounds with chemopreventive potential against colon cancer.

Keywords: *Pithecellobium dulce*, polyphenols, antioxidant capacity, chemopreventive, SW480 cells

I. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales enfermedades crónicas con mayor causa de muerte en la población adulta mayor a 70 años. Se estima que sea la principal causa de muerte en algunos años más (Bray et al., 2018). Por otro lado, el cáncer de colon es una de las principales causas de muerte relacionadas con neoplasias a nivel mundial. Es considerado el tercer cáncer de mayor incidencia y la cuarta causa de muerte relacionada con el cáncer (Favoriti et al., 2016). Esta neoplasia es una de las enfermedades más comunes, principalmente en países con mayor desarrollo económico, a pesar de que se puede detectar y tratar en etapa temprana, sigue siendo una de las enfermedades con mayor tasa de mortalidad (Fanali et al., 2014) por lo que representa un problema para la salud pública.

En México, el cáncer de colon es considerado el cuarto tipo de cáncer más común en la población adulta mayor a los 50 años (Quezada-Gutiérrez et al., 2020). Entre el año 2000 y 2012 se observó que las tasas de mortalidad por cada 100,000 habitantes aumentaron de 3.9 a 4.8, con una prevalencia mayor en el sexo masculino (Sánchez-Barriga, 2017). La etiología del CCR proviene por diversas causas entre las que intervienen los factores hereditarios, la alimentación y el estilo de vida de cada persona (Alam et al., 2022; Quezada-Gutiérrez et al., 2020).

Aunque actualmente existen tratamientos quimioterapéuticos y quirúrgicos que se utilizan para el cáncer de colon, estudios recientes han demostrado que la actividad física aunado a una alimentación adecuada son claves para la prevención de esta enfermedad (Misiag et al., 2022). Se sabe que la dieta posee un papel importante en la etiología del cáncer de colon, las evidencias epidemiológicas sugieren que las dietas ricas en frutas y verduras, que tienen altos contenidos de compuestos fitoquímicos, pueden contribuir a disminuir el riesgo de ciertos tipos de cáncer. El consumo de alimentos de origen vegetal proporciona compuestos antiinflamatorios como la fibra, ciertas vitaminas y compuestos fenólicos, los cuales son metabolitos secundarios de las plantas que cumplen la función de protección ante el estrés

biótico y abiótico en ellas (Afrin et al., 2020). Además, se ha reportado que estos compuestos bioactivos contienen actividad antioxidante, antiinflamatoria, antiviral, antimicrobiana y anticancerígena (Alam et al., 2018; Derry et al., 2015; Vargas-Madriz et al., 2020) arresto del ciclo celular, la inhibición de la cascada de señalización de células oncogénicas, efectos en la angiogénesis, apoptosis, modulación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y promueven proteínas supresoras de tumores (p53) (Anantharaju et al., 2016).

El árbol de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Beth (*P. dulce*) es nativo de México y consumido en diferentes estados de este país, principalmente en las zonas rurales, considerado como una buena fuente de macro y micro nutrientes (Vargas-Madriz et al., 2020). Además, presenta propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, debido en parte a los compuestos fenólicos que se han reportado en diversos estudios, como el ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido p-cumárico, ácido protocatecuico, apigenina, catequina, daidzeína, kaempferol, luteolina, quercetina, miricetina, naringina y rutina (Sulekha et al., 2020; Vargas-Madriz et al., 2020). En diferentes estudios se ha demostrado que la quercetina tiene propiedades anticancerígenas en las líneas celulares de cáncer de colon y de mama, deteniendo el ciclo celular (Maugeri et al., 2023). Por otro lado, el kaempferol es capaz de inhibir la proliferación celular al detener el ciclo celular en la fase de G1 además de regular positivamente la proteína p53 e inducir con ello apoptosis en diferentes tipos de cáncer (Zhu & Xue, 2019).

Se ha observado también que el efecto combinado de estos dos compuestos induce tasas de apoptosis dependientes de caspasa considerables en líneas celulares de cáncer de colon y próstata, mientras que los compuestos individuales fueron muy pobres en la inducción de apoptosis (Jaramillo-Carmona et al., 2014). Uno de los mecanismos moleculares con los que se basa la posible acción anticancerígena de los compuestos fenólicos pueden incluir radicales libres captadores, inducción de enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos, regulación de la expresión génica, modulación de vías de señalización celular, incluidas las implicadas en

reparación del daño del ADN, proliferación celular, apoptosis e invasión (Lyubitelev & Studitsky, 2023). Se reconoce que un aspecto importante de la carcinogénesis es la implicación de la inflamación. Por ejemplo, las prostaglandinas son mediadores de la inflamación y la inflamación crónica predispone a la carcinogénesis. Se cree que la sobreexpresión de las ciclooxygenasas inducibles (COX-2), enzimas que catalizan un paso crítico en la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas y que son inducidas por estímulos proinflamatorios, incluyendo mitógenos, citoquinas y lipopolisacáridos bacterianos (LPS), está asociada con el desarrollo de la carcinogénesis de colon (Rosa et al., 2016).

Se conoce que *P. dulce* es una fuente importante de moléculas bioactivas (Alam et al., 2018; Derry et al., 2015; Vargas-Madriz et al., 2020) que exhiben numerosas propiedades biológicas que podrían producir un efecto protector contra el CCR. Debido a que el CCR se considera un problema de salud pública a nivel nacional e internacional el objetivo de esta investigación es evaluar el perfil fenólico y la capacidad antioxidante del arilo de *P. dulce* mediante diferentes procesos de secado, así como determinar su efecto anticancerígeno *in vitro* en células de adenocarcinoma de colon humano (SW480) y el posible efecto quimiopreventivo en lesiones de colon premalignas inducidas por azoximetano y sulfato de dextrano sódico en un modelo murino.

II. ANTECEDENTES

2.1. Compuestos fenólicos y sus efectos biológicos

Los compuestos fenólicos contienen un anillo aromático (fenol) unido a uno o varios hidroxilos (OH) su estructura química se presenta en la Figura 1. Estos provienen del metabolismo secundario de las plantas, donde su función principal es de fitoalexinas, pigmentación y características sensoriales en las plantas (Maestro-Durán et al., 1993; Peñarrieta et al., 2014). Además de ser compuestos importantes para las plantas, también se caracterizan por su capacidad como antioxidantes naturales y son incorporados a la dieta humana; principalmente se encuentran en el reino vegetal (Porras & López-Malo, 2009).

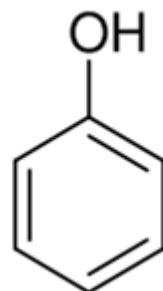


Figura 1. Estructura química del fenol (Peñarrieta et al., 2014)

Todos los compuestos fenólicos son diferentes en su estructura por lo que se catalogan dependiendo la solubilidad, y la cantidad de anillos fenólicos que contienen (Valencia-Avilés et al., 2016), estos se clasifican de acuerdo a su estructura química en flavonoides o no flavonoides. Dentro del grupo de flavonoides se encuentran las antocianidinas, antocianos, flavanoles, flavonoles, taninos o proantocianidinas; mientras que en el grupo de no flavonoides se encuentran los ácidos fenólicos, ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, estilbenos, resveratrol (Valls et al., 2000).

2.2. Clasificación de los compuestos fenólicos

2.2.1. Fenoles

Quiñones et al. (2012) mencionan que la biosíntesis de los polifenoles en las plantas se realiza por medio de dos rutas, la ruta del ácido siquímico y la ruta de los poliacetatos. La primera ruta depende de luz, se sintetiza fenilalanina y tirosina los cuales son aminoácidos aromáticos. En la ruta de los poliacetatos, se sintetizan quinonas y xantonas. En las rutas mixtas (las dos rutas mencionadas anteriormente) y derivados de los compuestos precursores mencionados, se genera una variedad de compuestos fenólicos como flavonoides, lignanos y taninos. Los distintos compuestos fenólicos y la cantidad que se sintetizan en las plantas dependen de factores agroclimáticos, del lugar geográfico donde se encuentren, del tipo de suelo, temperatura, altitud, precipitación, requerimiento de luz, por mencionar los principales (Valencia-Avilés et al., 2016). Algunos de los compuestos fenólicos se representan en la Figura 2.

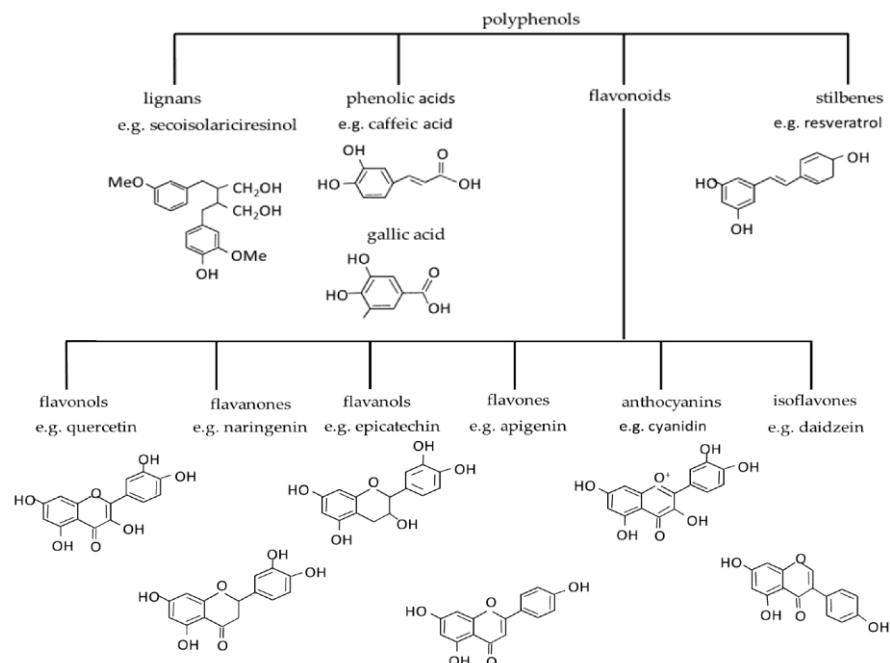


Figura 2. Clasificación química de los polifenoles (Bojarczuk & Dzitkowska-Zabielska, 2022)

2.2.2. Flavonoides

Los flavonoides derivan del latín “flavus” que significa amarillo (Quiñones et al., 2012). Se encuentran dentro de un subgrupo de compuestos polifenoles y son abundantes en la alimentación humana. Tienen diversas funciones en la planta como protección contra rayos ultravioleta, agentes desintoxicantes, estimulantes para la germinación de esporas, regulación del crecimiento, defensa contra patógenos, resistencia a la sequía, entre otras. Por ejemplo, las fitoalexinas son sintetizadas en respuesta a infecciones o estrés, actuando como compuestos antimicrobianos para limitar la propagación de patógenos (Amalesh et al., 2011; Ozcan et al., 2014).

Los flavonoides tienen una estructura hidrocarbonada característica de C₆-C₃-C₆ con dos anillos aromáticos (A y B) que están unidos a un anillo C pirano (compuesto de seis carbonos) heterocíclico; y cada uno de los anillos contiene por lo menos un grupo OH (Figura 3) (Porras & López-Malo, 2009; Quiñones et al., 2012); el anillo A tiene su biosíntesis a través de la ruta de poliacetatos, mientras que el anillo B junto con el C₃ su biosíntesis se lleva a cabo por medio de la ruta del ácido siquímico (Quiñones et al., 2012). Los flavonoides se encuentran regularmente unidos a glucósidos por enlaces O-glucosídicos (Amalesh et al., 2011). Su peso molecular es superior a 30,000 Da. Los flavonoides se subdividen a su vez en 13 subgrupos con más de 8,000 compuestos. Los más importantes que encontramos en la dieta son los flavonoles, flavañoles, flavonas, isoflavonas, antocianidinas o antocianinas y flavanonas (Pérez Trueba, 2003; Scalbert & Williamson, 2000).

La clasificación depende de la conexión y oxidación del anillo C al anillo B; existe una gran cantidad de compuestos en cada familia, sin embargo, la cantidad y posición de los grupos OH es lo que hacen que se diferencien (Quiñones et al., 2012).

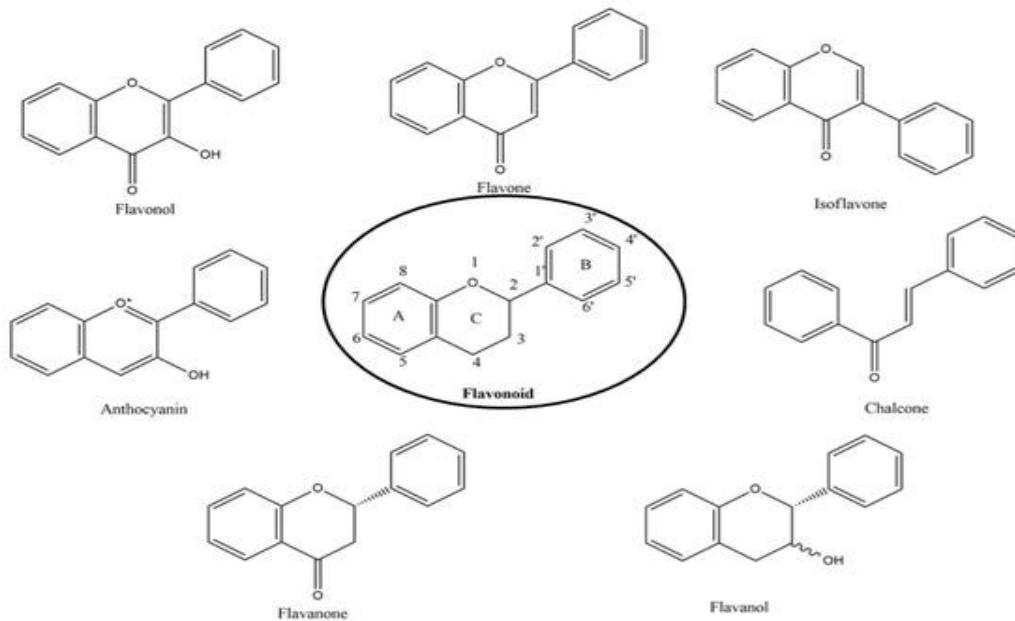


Figura 3. Estructura química de los flavonoides y sus principales subclases (Al-Khayri et al., 2022)

2.2.3. Taninos

La palabra taninos proviene del francés “*tanner*” por su cualidad de curtir pieles. Estos compuestos se encuentran en raíces, corteza, frutos, hojas y semillas, se encuentran en diferentes familias botánicas. Entre ellas, se encuentra la *leguminosae*, tiene un peso molecular de 500 a 20,000 Da, químicamente contienen de 5 a 7 anillos aromáticos y 12 a 16 OH (Figura 4) (Badui Dergal, 2006; Olivas-Aguirre et al., 2015). El color que proporcionan es amarillo café, y en su gran mayoría son hidrofílicos, solo aquellos compuestos con alto peso molecular son hidrofóbicos, presentan sabor amargo, astringente y tienen la capacidad de precipitar proteínas. Los taninos se pueden clasificar en dos subgrupos, en taninos condensados (proantocianinas) y en taninos hidrolizables (Hervás, 2001; Ozcan et al., 2014; Valencia-Avilés et al., 2016).

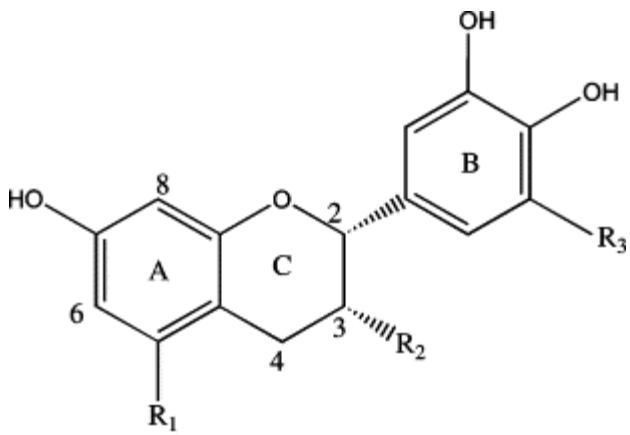


Figura 4. Estructura química de los taninos condensados (proantocianidinas) (Schofield et al., 2001)

Los taninos condensados están formados por polímeros de flavan-3-ol (dímeros de catequina) y flavan-3,4-dioles (dímeros de antocianinas), tienen una deficiencia de núcleo glucídico, mientras que los taninos hidrolizables tienen un grupo glucídico con grupos OH, compuestos de ésteres de ácido gálico (ácido 3, 4, 5-trihidroxibenzoico) o también del ácido elágico (4',5,5',6,6'-ácido hexahidroxidifenico-2,6,2'6-dilactona) dímero del ácido gálico (Badui Dergal, 2006; Olivas-Aguirre et al., 2015; Ozcan et al., 2014).

2.3. Propiedades anticancerígenas y antioxidantes de los compuestos fenólicos

El consumo de alimentos con alto contenido energético ha provocado una reducción en el consumo de frutas y verduras. Esto ha promovido el incremento de ciertas patologías como la obesidad, el cáncer, la diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares, entre otras (Delgado Olivares et al., 2010). Los oxidantes son compuestos electrófilos que tienden a robar o combinar electrones en su último orbital con otros compuestos. Las reacciones de oxidación de un compuesto se desarrollan desde la pérdida de electrones de hidrógenos, o la obtención de oxígeno, mientras que los compuestos que obtienen los hidrógenos y pierden oxígeno se conocen como reacciones de reducción (Figura 5).



Figura 5. Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Curieses Andrés et al., 2022).

Los hidratos de carbono, lípidos, proteínas, y ácidos nucleicos son macromoléculas que son susceptibles a la oxidación por ser moléculas nucleofílicas. Los agentes oxidantes, son compuestos electrofílicos que son afines a electrones y a las moléculas nucleofílicas. Los radicales libres pueden clasificarse en: especies reactivas de oxígeno (ROS), los metales de transición (Fe, Mn, Co, Ni y Cu), en especies reactivas de nitrógeno (NO), ion hipoclorito (ClO). Se consideran sustancias químicas con electrones desapareados en el último orbital de una molécula. Estos son muy reactivos y de vida corta que tienden a reducirse al tomar un electrón de otra molécula dejando a esta molécula oxidada, la cual a su vez va a buscar a otra molécula para encontrar otro electrón, realizando así una reacción en cadena (Escorza Quintanar & Salinas Calderón, 2009).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se forman a nivel celular por organismos aeróbicos durante la reacción de cadena de transporte de electrones. Los electrones libres se unen al oxígeno donde se generan especies reactivas como ion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogeno (H_2O_2), y radical hidroxilo (HO^\bullet), estas especies reactivas pueden unirse a otras moléculas para formar otro tipo de especies aún más reactivas. Además de la respiración celular, existen otros mecanismos endógenos que generan ROS por la activación de enzimas (peroxisomas, xantín oxidasa, acil CoA oxidasa, NADPH/NADH oxidadas) (Marotte & Zeni, 2013).

Los compuestos antioxidantes que se encuentran en la dieta humana inhiben o interrumpen reacciones que dañan a las biomoléculas. Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, los cuales son consumidos dentro de la dieta funcionando como antioxidantes, principalmente los flavonoides. Los compuestos fenólicos han sido de gran interés dentro de la investigación por su actividad antioxidante para eliminar los ROS y NO, donde atrapan y disipan los

electrones despareados con la donación de hidrógeno, disminuyendo así el daño que pueden provocar en otras moléculas (Valencia-Avilés et al., 2016).

El estudio de las plantas ha sido de gran interés debido a los diferentes compuestos fenólicos que se han encontrado en la naturaleza y a sus efectos a nivel biológico, contribuyendo a la salud humana y a la prevención de diferentes enfermedades (Sun & Shahrajabian, 2023). Además de los efectos de su capacidad antioxidante, estos compuestos tienen propiedades antiinflamatorias al inhibir mediadores proinflamatorios como las citocinas y enzimas ciclooxygenasa y lipoxigenasa. Otros compuestos tienen actividades anticancerígenas al modular ciertas rutas de señalización celular, provocando la muerte celular por apoptosis, inhibiendo la proliferación celular en células tumorales (Silva-Pinto et al., 2025).

Se ha descrito que los flavonoides más activos contra el cáncer son quercetina y kaempferol. Se ha demostrado que la quercetina tiene propiedades anticancerígenas en las líneas celulares de cáncer de colon y de mama, deteniendo el ciclo celular. El kaempferol también se puede unir con agentes anticancerígenos, como TRAIL. El efecto combinado de estos dos compuestos indujo tasas de apoptosis dependientes de caspasa considerables en líneas celulares de cáncer de colon y próstata, mientras que los compuestos individuales fueron muy pobres en la inducción de apoptosis (Jaramillo-Carmona et al., 2014; Ko et al., 2015). Uno de los mecanismos moleculares con los que se basa la posible acción anticancerígena de los compuestos fenólicos (CF) pueden incluir radicales libres captadores, inducción de enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos, regulación de la expresión génica, modulación de vías de señalización celular, incluidas las implicadas en reparación del daño del ADN, proliferación celular, apoptosis e invasión. Se reconoce que un aspecto importante de la carcinogénesis es la implicación de la inflamación. Por ejemplo, las prostaglandinas son mediadores de la inflamación y la inflamación crónica predispone a la carcinogénesis. Se cree que la sobreexpresión de las ciclooxygenasas inducibles (COX-2), enzima que cataliza un paso crítico en la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas, está

inducida por estímulos proinflamatorios, incluyendo mitógenos, citoquinas y lipopolisacáridos bacterianos (LPS) asociado con carcinogénesis de colon (Rosa et al., 2016).

2.4. Cáncer colorrectal

2.4.1. Etiología y carcinogénesis del cáncer de colon

Existen diferentes factores que pueden provocar el desarrollo del cáncer de colon, por factores genéticos se presentan en un 20%, y por factores ambientales (estilo de vida, dieta) se presentan en un 80% de los casos. Dentro de los factores ambientales se encuentra la poliposis adematosas familiar y el cáncer colorrectal hereditario sin poliposis (síndrome de Lynch). Dentro de los factores ambientales se encuentra los hábitos alimenticios, consumo de tabaco, alcohol, predisposición a contaminantes tóxicos, entre otros (Hano García et al., 2011).

Se ha observado que la carcinogénesis es originada en a partir de pólipos benignos que proliferan ordenadamente desde la mucosa normal a una mucosa hiperproliferativa (Casimiro, 2002). Las fosas de criptas aberrantes son una lesión precursora de adenomas colorrectales (un paso anterior al pólipos). Las criptas aberrantes presentan paredes engrosadas, con una arquitectura irregular y un diámetro luminal mayor comparado con las criptas normales, lo que indica el crecimiento desordenado de la mucosa en colon. Estas son las principales características para detectar tempranamente lesiones preneoplásicas en modelos de carcinogénesis colorrectal (Cohen et al., 2007). La función anormal de las células ocurre cuando existen mutaciones o alteraciones en los genes supresores de tumores y los pro-oncogenes los cuales mantienen el equilibrio entre la proliferación y apoptosis en las células (Cruz-Bustillo, 2004).

Cerca del 80% de los casos se encuentra mutado el gen APC (adenomatous polyposis coli) asociado a inestabilidad cromosómica, el cual actúa como controlador de proliferación manteniendo un equilibrio entre la división y apoptosis celular. Este gen supresor de tumores se encuentra relacionado a la vía de Wnt-β-

catenina. También se ha descrito que entre el 10-15% de los cánceres de colon se producen debido a inestabilidad de microsatélites. En etapas tempranas del cáncer de colon la sobreexpresión de las ciclooxygenasas COX1 y COX 2 se ha relacionado con una disminución de E-cadherina, lo que produce un aumento de la proliferación celular (D'Ottavio et al., 2014). Una vez mutada el gen supresor de tumores APC, la siguiente mutación es en el gen RAS el cual codifica a tres proteínas: H-ras, N-ras y K-ras. Esta última proteína funge como interruptor en la fosforilación en respuesta a la estimulación del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) provocando una cascada de señalización río abajo en la vía RAS/RAF/MEK/ERK (Tang et al., 2021).

2.4.2. Epidemiología del cáncer de colon

La palabra cáncer implica diferentes tipos de tumores malignos y cada uno de ellos con diferentes características. Esta patología se caracteriza por células anormales las cuales tienen una proliferación sin control, las cuales pueden llegar a otros órganos por medio del torrente sanguíneo o el sistema linfático, causando daños en ellos (Brown et al., 2023).

El cáncer de colon es considerado el tercer tipo de cáncer más común a nivel mundial. En el año del 2020 se observaron alrededor de 1.9 millones de casos en este tipo de cáncer. Aunque existe una multivariiedad de factores que pueden desarrollar el cáncer de colon, la alimentación y el estilo de vida son una de las principales causas de esta patología (Roshandel et al., 2024).

El identificar y modificar de manera oportuna estos factores y así como establecer hábitos adecuados (consumo de alimentos saludables y actividad física) es fundamental para la prevención del cáncer de colon. Aunque existe una gran variedad de estudios para prevenir esta patología, aún sigue siendo un desafío para el sector de salud, generar estrategias eficaces para la prevención en la población general. Para el año 2020 se observó que la incidencia de cáncer de colon a nivel mundial estaba cambiando, por un lado, los países con que se habían reportado con mayor riesgo de esta enfermedad presentaron tendencias decrecientes,

mientras que aquellos países con una transición de riesgo ligero (África, Latinoamérica, Asia) presentaron tendencias crecientes, por lo que se sugiere que estos países deben diseñar estrategias adecuadas para la prevención de cáncer de colon a partir de la modificación de la dieta (Roshandel et al., 2024).

2.4.3. Lesiones preneoplásicas de colon

El CCR es una de las principales causas de morbimortalidad a nivel mundial, el proceso ocurre cuando existe una serie de cambios histológicos con lesiones preneoplásicas. Una de estas lesiones son las fosas de criptas aberrantes (FCA), siendo estas lesiones uno de los primeros indicadores en la carcinogénesis de colon (Wargovich et al., 2010). Las FCA se generan en la mucosa de colon donde su morfología es irregular con criptas agrandadas. Las principales características morfológicas son el aumento en el tamaño de criptas, la disposición desordenada de células epiteliales, hiperplasia e incremento en la actividad mitótica, y la presencia de displasia en estadios avanzados (Galuppi et al., 2021).

Las características de estas lesiones fueron reportadas en experimentos con modelos animales que fueron expuestos a carcinogénicos químicos como el azoximetano (AOM) y el sulfato de dextrano sódico (DSS). Estos agentes químicos generan lesiones en el colon debido a factores proinflamatorios y estrés oxidativo, provocando inflamación, además, generan mutaciones en genes claves del ciclo celular como APC, TP53, y KRAS, lo que favorece la inhibición de la muerte celular por apoptosis y se obtiene una proliferación celular descontrolada (Dzhalirova et al., 2023). Este tipo de modelos se pueden utilizar para evaluar los efectos quimiopreventivos de algunas sustancias o alimentos, lo que permite evaluar la efectividad de los componentes bioactivos en la inhibición de la carcinogénesis, por otro lado, también permite observar el grado de progresión de las lesiones preneoplásicas (Fazio et al., 2011).

Algunos estudios han analizado como la alimentación puede influir en la formación y propagación de las FCA. Principalmente, un consumo elevado de alimentos ultra

procesados y un bajo consumo de fibra se han asociado a mayor probabilidad de generar este tipo de lesiones, siendo de esta manera los alimentos de origen vegetal los que pueden tener un efecto protector debido a los compuestos bioactivos que estos contienen (Caceres-Matos et al., 2024). Por otro lado, estudios en modelos in vitro ha demostrado el potencial de los compuestos fenólicos en la modulación del ciclo celular y la inhibición de la proliferación celular, así como la muerte celular por medio de la apoptosis en líneas celulares de CCR, como las células SW480. Esta línea celular es derivada de un adenocarcinoma de colon humano y es utilizado en diferentes estudios científicos para analizar los efectos de los compuestos bioactivos de diferentes plantas sobre la proliferación y viabilidad celular. Se ha observado que los compuestos fenólicos extraídos de muestras vegetales pueden inhibir la proliferación y provocar la muerte celular mediante la apoptosis regulando oncogenes y proto-oncogenes relacionados a la proliferación y viabilidad celular del CCR. También se ha observado la regularización de vías celulares relacionadas con el estrés oxidativo y la inflamación (Parry et al., 2025; Soltani et al., 2023).

2.5. Origen y distribución de *P. dulce*

Pithecellobium es el género al que pertenece este árbol, esta palabra proviene del griego Pithekos que significa “arete del mono” por la forma enroscada que tienen algunos frutos, y el nombre de la especie “dulce” proviene del latín que hace referencia al sabor característico del arilo (Parrotta, 1991; Rao et al., 2018). *P. dulce* pertenece a la familia de las leguminosas y subfamilia de Mimosoideae, consta de 100 a 200 especies (Chandra & Balaji, 2008; Srinivas et al., 2018). Su ubicación natural comprende en áreas tropicales de México como Tamaulipas, San Luis Potosí, Hidalgo, Querétaro, Jalisco, Veracruz, Yucatán, Baja California, Sonora y Chiapas, también en partes del sur del continente americano como Venezuela, Columbia, y Honduras.

La literatura científica menciona que esta planta fue introducida al continente asiático en el siglo XVI, por medio de los primeros galeones que zarparon de México hacia Asia (Duno & Stefano, 2011; Parrotta, 1991). En algunas regiones de México,

se le conoce a este árbol como “guamúchil”, “huamúchil”, “pizán”; mientras que en la india se le conoce como “vilayati babul”, “vilayati imli”, “jangle jalebi” (Castillo Gómez, 2012; Srinivas et al., 2018; Tapia-Pastrana & Gómez-Acevedo, 2005). Por otro lado, en algunas investigaciones científicas es nombrada como “manila tamarind” por el sabor parecido al tamarindo (Mule et al., 2016).

2.5.1. Descripción morfológica.

Se han reportado alrededor de 712 especies de árboles frutales en la república mexicana, 65 de estas especies son comercializadas en este país, de las cuales 32 son nativas de México. Además de ser comestibles, cumplen una función etnobotánica en comunidades rurales (Martínez-De La Cruz et al., 2015). La familia de las leguminosas es una de las mejor conocidas a nivel mundial. En esta familia se encuentra el género de *Pithecellobium* con las especies de *P. arboreum*, *P. brevifolium*, *P. calostachys*, *P. dulce*, *P. insigne*, *P. lanceolatum*, *P. minutissimum*, *P. pallens*, *P. schaffneri*, *P. leptophyllum*, *P. palmeri*, *P. revolutum*, *P. sect. unguis-cati*, *P. tomentosum*, *P. pennatula*, *P. dulcis*, *P. juliflora*, *P. laevigata* (Andrade et al., 2007).

P. dulce es un árbol frutal nativo del continente americano, con una altura de 5 hasta 20 m y con un diámetro de 30 hasta 75 cm; su tronco es liso y tiene un color gris; sus ramas son delgadas y espinosas, contiene hojas compuestas por dos pares de foliolos en forma de bipinnadas, estas hojas miden de 2 a 7 cm de largo, se encuentran en espiral y aglomeradas en la misma rama. La inflorescencia del árbol brota entre la temporada primavera y verano las cuales logran medir hasta 30 cm de largo (Parrotta, 1991; Rao et al., 2018). Sus picos de florescencia de 60 a 90 flores con brácteas lineales a lanceoladas que van desde 1.5 a 2.5 mm de largo; y los estambres de las flores de 3 a 8 mm de largo (Andrade et al., 2007).

Se menciona que el árbol de *P. dulce*, en México, es capaz de adaptarse tanto a climas cálidos como a climas helados. Siendo resistente a ciertos factores como plagas, termitas, al fuego, calor y a las sequias. La temperatura media para su

crecimiento y desarrollo es de 25°C, con una precipitación que oscila de 450 mm a 3000 mm, en una altitud de 0 msnm hasta 1,800 msnm (CONABIO, 2013; Parrotta, 1991).

2.5.2. Descripción del arilo

Entre la temporada primavera y verano, el árbol de *P. dulce* proporciona una vaina enroscada de 20 cm de largo y 15 mm de ancho, la cascara tiene tonalidades verdes con pequeñas pigmentaciones rojas. La vaina contiene de 5 hasta 12 arilos de color rojo o blanco con sus respectivas semillas que se encuentran dentro del arilo (Monroy & Colín, 2004; Pío-León et al., 2013). En México, la temporada de cosecha del fruto (arilo) se extiende de febrero hasta agosto, esto dependiendo la región y las condiciones climáticas. Algunos reportes señalan que, en regiones como Puerto Rico, el arilo está disponible durante todo el año (Parrotta, 1991). Por su parte, la floración constituye un indicador de la madurez del arilo, la cual se alcanza de cuatro a cinco meses después (marzo a agosto).

2.5.3. Usos generales de la planta

Diferentes partes de este árbol son utilizadas como remedio tradicional, herramientas de trabajo, artesanía, forraje, entre otros usos. La madera se utiliza para realizar cercas en los potreros, construcción de viviendas, elaboración de mangos para ciertas herramientas, y también como leña. Sin embargo, esta última función no es tan común ya que produce demasiado humo (Monroy & Colín, 2004). Tiene un uso de forraje, estudios realizados en caprinos demuestran más apego a *P. dulce* que en *Cynodon* sp (Martínez Rojero & Reyna SantaMaría, 2016). En un estudio de Olivares-Pérez et al. (2011) mencionan que *P. dulce* es una de las especies de leguminosa de mayor importancia de forrajera en ranchos ganaderos del sur del Estado de México; sin embargo, Monroy & Colín (2004) mencionan que no se les ofrece esta planta a los animales ya que después no consumen otro tipo de forraje, puesto que este alimento está disponible solamente algunos meses, lo que resulta en una disminución en el peso del animal.

Es también utilizado como abono, mejorando la calidad nutrimental del suelo y debido a que sus hojas son perennifolias los campesinos obtienen una buena sombra todo el año (Monroy & Colín, 2004). La hoja es utilizada para tratar problemas gastrointestinales, ulceras pépticas, dolor de muelas, y lepra. Existen otras investigaciones donde mencionan que las hojas junto con las semillas funcionan como adulticida (insecticida) contra el mosquito del dengue (Rajeswary & Govindarajan, 2014; Srinivas et al., 2018).

2.5.4. Uso como alimento

El arilo que proporciona el *P. dulce* es consumido en crudo principalmente en las zonas rurales de México, en algunos estados las vainas son cortadas de los árboles para su venta en el mercado a un precio accesible. Según el estudio de Monroy & Colín (2004) mencionan que existen dos sabores, uno es agridulce, se consume en crudo y en atole; el otro sabor es amargo con el que se preparan salsas, además se preparan en agua fresca parecida al agua de limón, asados también pueden ser consumidas (Parrotta, 1991). La calidad nutrimental del arilo de *P. dulce* destaca por su alto contenido en hidratos de carbono y proteínas tanto en peso seco como en peso fresco, los valores de hidratos de carbono oscilan desde 70.9 hasta 83.4 g 100⁻¹, y el de proteína se encuentra de 11.2 hasta 18.6 g 100⁻¹ en producto seco (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis químico proximal del arilo *P. dulce* (100 g⁻¹) materia seca.

Componente	Referencia	
	(Cheema et al., 2017)	(Chaparro-Santiago et al., 2015)
Humedad (%)	84.7	ND
Proteína	18.6	11.2
Grasa	1.4	1.9
Ceniza	5.0	1.3
Hidratos de carbono	70.9	83.4
Fibra	3.9	1.9

ND: No determinado

Fuente: Elaboración propia con base en Chaparro-Santiago et al. (2015) y Cheema et al. (2017)

P. dulce es una buena fuente de vitamina B1 (84.7 mg 100 g⁻¹), y de ácido ascórbico (55.7 mg 100 g⁻¹), también se han aislaron otras vitaminas hidrosolubles del arilo que se muestran en el Tabla 2.

Tabla 2. Contenido de vitaminas hidrosolubles del arilo de *P. dulce*, (mg 100 g⁻¹) en materia seca.

Referencia		
Vitaminas	(Suganthi & Josephine, (Longvah et al., 2017) 2018)	
Vitamina B1	84.7	0.1
Vitamina B2	18.6	0.1
Vitamina C	1.4	55.7

Fuente: Elaboración propia con base en Longvah et al. (2017) y Suganthi & Josephine (2018)

Los extractos de los arilos de *P. dulce* demuestran que contienen considerables cantidades de Mg que oscilan entre 23.9 hasta 65.7 mg 100 g⁻¹ y otros minerales que se presentan en el Tabla 3.

Tabla 3. Contenido de minerales del arilo de *P. dulce*, (mg 100 g⁻¹) en materia seca.

Minerales	Referencia		
	(Longvah et al., 2017)	(Dashrath & Shashi, 2016)	
Calcio	8.5	ND	
Magnesio	32.9	65.7	
Hierro	0.7	13.7	
Zinc	0.5	5.0	
Cobre	0.2	0.7	

ND: No determinado

Fuente: Elaboración propia con base en Dashrath & Shashi (2016) y Longvah et al. (2017)

El consumo excesivo del arilo puede provocar “cerrar la garganta” por los taninos que contiene (Monroy & Colín, 2004), sin embargo, hasta el momento, no existen datos en la literatura científica sobre el consumo máximo en humanos de esta leguminosa (Pradeepa et al., 2013).

2.5.5. Uso medicinal

Los cambios ambientales, demográficos, económicos, sociales, culturales han sido un factor importante en los cambios alimentarios de la sociedad en México, presentando ciertas enfermedades crónicas. Desde tiempos antiguos la dieta de los seres humanos se basaba en alimentos naturales (frutas, verduras, leguminosas), sin embargo, actualmente la dieta se basa en el exceso de consumo de energía a partir de grasas saturadas (Barba Evia, 2018). En años recientes la alternativa de utilizar remedios tradicionales a base de plantas naturales juega un papel importante en el tratamiento y prevención de ciertas enfermedades crónicas (Nagmoti et al., 2015). Las plantas medicinales han tenido gran importancia a nivel mundial, principalmente en aquellos países en vías de desarrollo, ya que son más accesibles y económicas en comparación con la medicina moderna (Bussmann, 2015). Aproximadamente el 80% de la población mundial utiliza alguna planta como remedio tradicional, México es el segundo país con una gran diversidad de plantas medicinales, gracias a esto y aunado a una combinación de culturas y teorías sobre beneficios de ciertas plantas, se han utilizado con fines medicinales desde la época prehispánica (García de Alba et al., 2012). Cada individuo cuenta con su creencia sobre los beneficios de alguna planta, el cual se va transmitiendo la información de forma empírica de generación en generación y cada una de las regiones puede tener una información para usos diferentes, el arraigo histórico, cultural y social son criterios para que una planta se considere medicinal (Granados Andrade et al., 2005).

El uso principal del *P. dulce* es de alimentación humana y del ganado. Sin embargo, la literatura menciona la utilización del arilo como remedios tradicionales, principalmente para problemas gastrointestinales (Monroy & Colín, 2004). Con base a esto se han realizado investigaciones científicas para determinar los compuestos fitoquímicos de la planta y sus efectos farmacológicos para beneficio de la salud humana (Rao et al., 2018).

2.5.6. Compuestos fenólicos del arilo de *Pithecellobium dulce*

Los primeros estudios reportados en la literatura sobre los compuestos fenólicos y su actividad antioxidante fueron realizados en Tailandia por Samee et al. (2006) en el cual se determinó el contenido total de fenoles por medio del método de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante por medio de la técnica de DPPH. Megala & Geetha (2010) por medio de HPLC reportaron la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides como la quercitrina, kaempferol, rutina, dainzeína, y naringina en extractos hidroalcoholícos. Para el año del 2011, Rao et al. (2011) analizaron el arilo de *P. dulce* y lo clasificaron en arilo rojo y arilo blanco, evaluaron la composición química, y la cantidad de polifenoles mediante dos sistemas de empaque (polietileno y el de poliéster polietileno metalizado) durante seis meses, en el análisis encontraron que los niveles de polifenoles aumentaron tanto en arilo rojo y blanco conforme transcurrieron los meses sin importar el tipo de empaque (Saxena & Singhal, 1999). Megala & Geetha (2010) realizaron extractos con diferentes solventes (agua, etanol, cloroformo, eter de petróleo) para evaluar la actividad hepatoprotectora, sin embargo, solo el extracto acuoso y el extracto con etanol revelaron la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroles, taninos, y una actividad hepatoprotectora significativa. Posteriormente en el estudio de Wall-Medrano et al. (2016) analizaron el arilo de *P. dulce* en seis estados de maduración encontrando ácido clorogénico y catequina.

2.6. Métodos de secado y su impacto en los compuestos fenólicos

En diferentes investigaciones se ha observado que los efectos bioactivos de los compuestos fenólicos dependen de varios factores entre ellos el procesamiento postcosecha. Además de otros factores como la radiación ultravioleta, las condiciones ambientales, el procesamiento postcosecha como el tipo de secado puede influir en la estabilidad de los compuestos bioactivos de la planta (Kumar et al., 2017). Regularmente, las muestras vegetales suelen secarse para alargar la vida útil y no tener un deterioro de estas plantas por reacciones enzimáticas y no

enzimáticas. Existen diferentes tipos de secado sin embargo cada uno de ellos tiene su ventaja y desventaja.

El secado por horno es una de las metodologías más utilizadas en la industria de los alimentos ya que permite una eliminación de agua mediante un proceso rápido y eficiente. Sin embargo, algunos compuestos bioactivos son termolábiles a temperaturas mayores a 60°C lo que puede generar oxidación y degradación (Nurkhoeriyati et al., 2021). Algunas investigaciones han reportado que el secado mayor a 60°C disminuye la cantidad de ácidos fenólicos y flavonoides en muestras vegetales lo que impacta en la actividad biológica de la planta (Chang et al., 2016).

Por otro lado, el secado por liofilización preserva mejor las características fisicoquímicas de las muestras vegetales, al eliminar la humedad de las muestras mediante sublimación en condiciones de baja temperatura (-60°C) y presión. En diferentes estudios se ha observado que este método de secado preservar los compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante en mayor cantidad comparado con el secado por horno (De Ancos et al., 2018).

Los compuestos fenólicos son sensibles a las condiciones ambientales, por lo tanto, el secado a temperatura ambiente a la sombra, o bajo el sol, puede ser un factor para la degradación de estos compuestos ya que puede existir la activación de las enzimas polifenol oxidasa y otras peroxidases (Balunkeswar et al., 2015), esto provocaría también la disminución de la actividad biológica lo que compromete el potencial terapéutico (Ahmed & Ali, 2013). Por lo tanto, la elección del método de secado es importante para la conservación de los compuestos bioactivos de las plantas.

III. JUSTIFICACIÓN

El cáncer de colon es un problema del sector de salud a nivel mundial debido al índice de morbimortalidad y se espera que en los próximos años este índice se incremente. A pesar de que actualmente existe avances científicos para la detención oportuna de esta patología, es necesario generar estrategias de prevención eficientes principalmente por medio de la alimentación. El consumo de alimentos de origen vegetal nos proporciona varios beneficios tales como los compuestos fenólicos que han demostrado tener efectos antioxidantes y anticancerígenos en diferentes investigaciones, siendo estos alimentos candidatos prometedores para la prevención del cáncer de colon.

P. dulce es un árbol que se encuentra ampliamente distribuido en el territorio nacional, sin embargo, su consumo es local y limitado. Se requieren de estudios científicos que sumen el potencial biológico de sus compuestos presentes en el arilo para potenciar su cuidado y consumo del fruto. Se conoce que *P. dulce* es una fuente importante de moléculas bioactivas que exhiben numerosas propiedades biológicas que podrían producir un efecto protector contra el cáncer de colon. Sin embargo, su actividad bioactiva puede verse afectada por los tratamientos postcosecha como el método de secado. El analizar la composición fitoquímica de este fruto es importante para observar su efecto anticancerígeno en células de cáncer de colon *in vitro* y también su posible impacto quimiopreventivo en un modelo *in vivo*. El presente estudio contribuirá al conocimiento científico sobre el impacto del proceso postcosecha en la conservación de los compuestos bioactivos del arilo de *P. dulce* y su posible efecto quimiopreventivo en el cáncer de colon al consumirlo como un complemento dietético.

IV. HIPÓTESIS

El método de secado (horno y liofilizado) afectará significativamente la estabilidad de los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante del arilo de *P. dulce*, siendo que el método de secado por liofilización preservará mejor los compuestos bioactivos.

Los compuestos fenólicos de los extractos del arilo de *P. dulce* poseen actividad citotóxica en células SW480, inhibiendo la proliferación y promoviendo la muerte celular por apoptosis, además de regular genes involucrados en el cáncer de colon.

La administración oral sostenida del arilo de *P. dulce* después de 16 semanas disminuye la frecuencia e intensidad de lesiones preneoplásicas de colon en ratas Sprague Dawley inducidas químicamente por azoximetano (AOM) y sulfato de dextrano sódico (SSD), posiblemente por su capacidad antioxidante y antiinflamatoria.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general:

Determinar el perfil fenólico, la capacidad antioxidante del arilo de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Beth mediante diferentes tipos de secado (horno y liofilizado) y evaluar el efecto anticancerígeno mediante estudios *in vitro* en células SW480 y el efecto quimiopreventivo en un modelo *in vivo* sobre lesiones preneoplásicas de colon inducido con Azoximetano y sulfato de dextrano sódico

5.2. Objetivos específicos:

- 1) Identificar y cuantificar los compuestos fenólicos del arilo de *P. dulce* secados por horno y liofilizado mediante HPLC-DAD en diferentes extractos (metanol-agua (80/20 v/v y 50/50 v/v) etanol-agua (80/20 v/v y 50/50) acuoso (100%), así como la cuantificación de fenoles totales, flavonoides totales, taninos condensados y su capacidad antioxidante por medio de diferentes métodos mediante espectrofotometría.
- 2) Evaluar la actividad citotóxica (IC_{50}), el tipo de muerte celular generado por los extractos del arilo de *P. dulce* en células SW480, analizando su efecto sobre la viabilidad celular y la expresión de genes clave en la carcinogénesis.
- 3) Evaluar el efecto quimiopreventivo del consumo del arilo de *P. dulce* sobre un modelo de estadio temprano de cáncer de colon inducido químicamente por AOM/DSS en ratas Sprague Dawley en marcadores nutricios, bioquímicos, histopatológicos.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Consideraciones éticas

El presente proyecto fue aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales (20FCN2021).

6.2. Materia vegetal

El arilo de *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. se registró en la base de datos World Flora <https://worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000178252>, consultado el 8 de marzo de 2023). La colecta de arilo se realizó en Jalpa de Serra (Querétaro, México) durante la temporada primavera-verano de 2021. La muestra fue identificada y registrada por un especialista del Herbario Jerzy Rzedowski de la Universidad Autónoma de Querétaro. Las muestras se limpiaron y se sometieron a uno de dos procedimientos de secado: (1) secado en horno (Shel-Lab Fx 1375, Swedesboro, NJ, EE. UU.) a 40°C durante 48 h y (2) liofilización a -55°C y 1 Pa en un liofilizador (10 N Series, SCIENTZ, Ningbo, Zhejiang, China). Una vez secas, las muestras se molieron con un molino eléctrico y se tamizaron con un tamiz de 0,5 mm. Las muestras resultantes se almacenaron en bolsas selladas a -80°C para su posterior procesamiento.

6.3. Proceso de extracción

La metodología empleada para la extracción se basó en Godínez-Santillán et al. (2019) con ligeras modificaciones. La muestra de polvo seco se utilizó para preparar diversos extractos mezclando 5 g de muestra con 500 mL de disolvente con una relación sólido: líquido (1:100 g/mL). Los disolventes utilizados fueron etanol-agua (80:20 y 50:50 v/v), metanol-agua (80:20 y 50:50 v/v) y 100% agua. Para las preparaciones se utilizó agua destilada, etanol y metanol grado HPLC. Se realizó agitación magnética (modelo OM10E, marca OVAN, Burladingen, Alemania) a 100 rpm y a 22 ± 1 °C durante 16 h sin luz. Las soluciones se filtraron a través de papel Whatman 541 (Cytiva, 110 mm de diámetro, endurecido y sin cenizas, adquirido en Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) y se concentraron en un evaporador rotatorio

(modelo R-200, Büchi, Flawil, Suiza) a 40°C bajo una presión de vacío de 100 mmHg. Finalmente, los extractos se liofilizaron y los extractos en polvo se almacenaron en tubos protegidos de la luz a -80°C para su posterior análisis. El rendimiento de extracción para los diferentes disolventes se calculó como un porcentaje de la masa inicial de la planta, con los siguientes rendimientos: M/A 80% v/v = 17%, E/A 50% v/v = 13%, M/A 80% v/v = 20%, M/A 50% v/v = 16% y para el extracto acuoso al 100% = 9%.

6.4. Determinaciones colorimétricas

6.4.1. Compuestos fenólicos totales

El contenido de compuestos fenólicos totales (TPC, por sus siglas en inglés) en todos los extractos se determinó espectrofotométricamente utilizando el método de Folin-Ciocalteau (Singleton et al., 1999). Este método consiste en la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu por los compuestos fenólicos en medio alcalino, formando un complejo de color azul que se cuantifica espectrofotométricamente. En el presente estudio el TPC se reportó como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de extracto liofilizado (mg GAE / 100 g EL).

6.4.2. Flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales (TF, por sus siglas en inglés) se determinó mediante un método colorimétrico (Zhishen et al., 1999). Este método se fundamenta en la formación de un complejo flavonoide-aluminio, el cual produce una coloración amarilla cuya intensidad es proporcional a la concentración de flavonoides en la muestra. Los resultados en el presente estudio se expresaron en mg de (+) - equivalentes de catequina por 100 g de extracto liofilizado (mg EC / 100 g EL).

6.4.3. Taninos condensados

El contenido de taninos condensados (CT, por sus siglas en inglés) se determinó mediante el método colorimétrico de vanilina-HCl (Feregrino-Pérez et al., 2008). Este método se fundamenta en la reacción de condensación de la vanilina con los

grupos flavan-3-ol en medio ácido, que genera un complejo de color rojizo, la intensidad es proporcional a la concentración de taninos condensados de la muestra. Los resultados se expresaron en mg de (+) - equivalentes de catequina por 100 g de extracto liofilizado (mg EC / 100 g EL).

6.4.4. DPPH

Se realizó el ensayo de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) según lo informado por Dewanto et al. (2002). El fundamento de este ensayo consiste en la reducción del radical libre DPPH por los compuestos antioxidantes presentes en la muestra, lo que provoca un cambio de color de púrpura intenso a amarillo. La disminución de absorbancia se mide espectrofotométricamente. Los resultados se expresaron en μmol de equivalentes de trolox / g de extracto liofilizado ($\mu\text{M ET/g de EL}$).

6.4.5. FRAP

Se realizó el ensayo de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) espectrofotométricamente de acuerdo con el método de Benzie & Strain (1996). Este ensayo se fundamenta en la reducción del ion férrico (Fe^{3+}) a ion ferroso (Fe^{2+}) por parte de los compuestos antioxidantes presentes en la muestra, en condiciones ácidas. El ion ferroso formado reacciona con el reactivo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina), generando un complejo de color azul intenso cuya absorbancia se mide espectrofotométricamente. Los resultados se expresaron en μM equivalentes de Trolox / g de extracto liofilizado ($\mu\text{M ET/g EL}$).

6.4.6. TEAC (ABTS)

Se realizó el ensayo de TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) espectrofotométricamente de acuerdo con el método de Van Den Berg et al. (1999). Este ensayo consiste en la desactivación del radical catiónico ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) por los compuestos antioxidantes de la muestra. La disminución en la absorbancia del radical, que originalmente es de color azul verdoso, se mide espectrofotométricamente. Los resultados se expresaron en μM equivalentes de Trolox / g de extracto liofilizado ($\mu\text{M ET/g EL}$).

6.4.7. Validación de los métodos colorimétricos

Todos los métodos colorimétricos fueron validados a través de su linealidad, repetibilidad, y exactitud, se utilizaron estándares certificados (Sigma-Aldrich/ Merck (St. Louis, MO, USA)). Se utilizaron coeficientes de correlación (R^2) ≥ 0.99 . La precisión intra e inter-día fue menor del 5%, garantizando así la robustez y repetibilidad de los resultados.

6.5. Identificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

Para la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos específicos, se utilizó un método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) acoplado con detección por arreglo de diodos (DAD) (Vargas-Madriz et al., 2023a). Brevemente, un equipo de HPLC (Serie 1100, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU.) que utiliza una columna Zorbax XDB-C18 (Agilent Technologies, 4,6 × 250 mm y 5 μm de tamaño de gránulo). Los estándares de compuestos fenólicos utilizados para la calibración se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.) y tenían una pureza de $\geq 95\%$ (Anexo Tabla A1). La columna se ajustó termostáticamente ($35 \pm 0,6$ °C) y el caudal se fijó en 1 mL/min. La fase móvil consistió en dos disolventes: agua acidificada de grado HPLC al 0,1 % v/v con ácido acético (A) y acetonitrilo de grado HPLC al 100 % (B). Se ajustó un gradiente lineal de la siguiente manera: 80-83 % A durante 7 min, 83-60 % A durante 5 min, 60-50 % A durante 1 min y 50-85 % A durante 2 min. La detección se realizó a 280 nm y 320 nm para los ácidos hidroxicinámicos y los flavonoides, respectivamente. Se inyectó un volumen de 20 μL . La cuantificación se realizó utilizando estándares comerciales de grado HPLC de ácidos hidroxibenzoicos (ácidos elágico, 4-hidroxibenzoico y gálico), ácidos hidroxicinámicos (ácidos sinápico, clorogénico, cafeico, p-cumárico y ferúlico), ácido 4-hidroxifenilacético, flavonoles [(+)-catequina, (-)-epicatequina y (-)-epigalocatequina-3-O-galato] y flavonoles (rutina y querctina). Se realizó una validación del método HPLC para la cuantificación de compuestos fenólicos, que incluyó la construcción de curvas de calibración, la determinación de los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ), y la evaluación de la reproducibilidad del

método. Los parámetros específicos para las curvas de calibración, los límites de detección y cuantificación, así como la reproducibilidad de los tiempos de retención y las áreas de los picos cromatográficos se presentan en Anexos (Anexo Tabla A2).

6.6. Análisis químico proximal

La determinación bromatológica se realizó mediante los procedimientos de AOAC (Asociación de Comunidades Analíticas) (AOAC, 2002). Se determinó la cuantificación de cenizas, (método 942.05), proteína (método 920.87), lípidos (920.39), humedad (método 925.10), lípidos (método 920.39) y fibra dietética (método 962.09). Los hidratos de carbono totales se calcularon por diferencia (Oliveira-Alves et al., 2021), mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Hidratos de carbono totales (\%)} = 100 - \% \text{ (humedad + fibra + grasa + ceniza + proteína)}$$

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado en cada análisis y los resultados se expresaron como un porcentaje en peso de materia seca.

6.7. Preparación de la dieta experimental

La formulación de la dieta experimental se realizó a partir de los resultados obtenidos del análisis colorimétrico de compuestos fenólicos y el análisis químico proximal. Al preservar mejor los compuestos fenólicos y observar su estabilidad nutrimental mediante el método de secado por horno, los pellets el arilo fueron preparados mediante este método de secado. La dieta experimental estaba compuesta de 10% del arilo de *P. dulce* generado en pellet y 90% de alimento comercial (Nutricubo®). Esta formulación fue suministrada al grupo dos (dieta con arilo) y al grupo tres (dieta con arilo + AOM/DSS) durante todo el estudio. Su composición nutricional se presenta en la Tabla 4.

La dosis empleada para el experimento *in vivo* (10% p/p de arilo) se aplicó con relación a estudios realizados con anterioridad, simulando la ingesta diaria

recomendada en leguminosa, se ajustó y se extrapoló del consumo humano al peso del modelo murino (Ocampo-Anguiano et al., 2024).

Tabla 4. Composición nutricional comparativa entre el alimento estándar (Nutricubo®) y la dieta experimental modificada con 10% de arilo de *P. dulce*.

Parámetro	Nutricubo (100%)	Dieta modificada (90% nutricubo + 10% pellet de arilo)
Humedad (%)	12.00	11.74
Proteína (%)	23.00	21.10
Grasa (%)	3.00	2.73
Fibra (%)	6.00	6.10
Cenizas (%)	7.00	6.79
Hidratos de carbono totales (%)	49.00 (E.L.N.)	~50.30 (estimado por diferencia)

Los valores representan porcentajes estimados en base seca. La dieta modificada fue formulada con un 90% de alimento estándar (Nutricubo®) y un 10% de pellet obtenido a partir del arilo liofilizado de *P. dulce*. E.L.N.: extracto libre de nitrógeno, estimado por diferencia.

El consumo del arilo de *P. dulce* en esta proporción buscó establecer una concentración viable y factible donde se pudiera evaluar los efectos biológicos del arilo sin comprometer el balance nutricional de los animales a partir de la dieta estándar (Nutricubo®).

6.8. Determinación *In vivo*

6.8.1. Modelo experimental

Se realizó un estudio experimental, comparativo y longitudinal. Se utilizaron ratas macho Sprague Dawley de 4 semanas de edad, con alimentación *ad libitum* y se ajustó el ciclo circadiano a 12 h de luz y 12 h de oscuridad. Después de una semana de adaptación, se formaron 4 grupos de estudio con 6 ratas cada uno de manera aleatorizada. El grupo número uno (control negativo), se administró con agua para beber durante todo el estudio (16 semanas a partir de la inducción del

carcinogénico). El grupo número dos (control *P. dulce*), se suministró la dieta con el arilo de *P. dulce* descrito anteriormente durante todo el periodo del estudio. Para los siguientes grupos (tres y cuatro) se utilizó el modelo experimental de carcinogénesis de colon en estadios tempranos descrito por Neufert et al. (2007) con modificaciones de acuerdo con lo siguiente. El grupo número tres (grupo tratamiento), se administró con azoximetano (AOM) (Sigma Aldrich, St Louis, E.U.A., cat. A5486), vía intraperitoneal a una concentración de 10 mg / kg y solución salina como vehículo, a las semanas dos y tres de inicio de experimento seguido de una semana de administración de sulfato de dextrano sódico (DSS) (Sigma Aldrich, St Louis, E.U.A., cat. D8906) al 2% como agente inductor de inflamación en el agua de bebida en la semana cuatro. Como se describió en el punto anterior a este grupo de animales se le dio la dieta de *P. dulce* durante todo el periodo del estudio. El grupo número cuatro (control positivo) solo se administró la dosis de AOM a las semanas dos y tres y DSS a la semana cuatro, su alimentación solo consistió en pellets comerciales (Nutricubo®). Para este experimento los animales fueron aleatorizados en cada uno de los cuatro grupos experimentales (control, *P. dulce*, AOM/DSS + *P. dulce* y AOM/DSS) mediante un generador de números aleatorios (Excel, Microsoft, Redmond, WA, EE. UU.) esto con el fin de disminuir los sesgos en el estudio. El ID de cada uno de los animales y el de los grupos, se realizó desde el inicio del experimento, además, se generó una bitácora especial para registrar el peso de los animales, consumo de agua, cambio de la cama en cada jaula y posibles anomalías durante el experimento.

Se realizó el sacrificio por decapitación al término del experimento en la semana 16. En todo el experimento se respetaron los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) para el uso de animales de laboratorio bajo las consideraciones éticas correspondientes. Los órganos obtenidos del sacrificio se fijaron en formaldehido al 10%, para su análisis, separando y perfundiendo las porciones del colon ascendente, transverso y descendente para mantener la

estructura interna del tejido y otros se congelaron a -80°C para posteriores análisis (Adam et al., 2011).

El diseño experimental fue acorde a las recomendaciones de las guías ARRIVE 2.0 (Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments) con el fin de garantizar transparencia, reproductibilidad, y rigor metodológico en los resultados obtenidos (Percie du Sert et al., 2020).

6.8.2. Examen histopatológico

Todas las ratas fueron sacrificadas por decapitación. Se retiraron los colones y se lavaron con solución salina tamponada con fosfato fría (PBS, Thermo Fisher Scientific, EE.UU.). Se diseccionaron de forma longitudinal, se cortaron en tres segmentos iguales (proximal, medio y distal). Los segmentos se fijaron planos entre papel de filtro en formalina al 10% durante 5-10 min y se tiñeron con azul de metileno (Sigma-Aldrich, UK) (0.2% en solución de PBS) durante 15-20 min. Cada segmento se cortó posteriormente en secciones de 2 cm y se colocaron en portaobjetos de microscopio con la mucosa hacia arriba. Las criptas aberrantes fueron identificadas y contabilizadas bajo un microscopio óptico Leica DM500 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania) a diferentes aumentos (4 \times , 10 \times y 40 \times). Finalmente, un patólogo certificado externo a la universidad realizó los análisis histopatológicos a ciegas respecto a la asignación de los grupos experimentales. Se evaluaron las estructuras tisulares y alteraciones morfológicas conforme a criterios histológicos estandarizados para lesiones inflamatorias y preneoplásicas. Todos los resultados fueron revisados y validados para garantizar consistencia y reproducibilidad.

6.8.3. Marcadores bioquímicos

La sangre de las ratas se recogió en tubos activadores de gel y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos. El suero se separó y se enviaron al Laboratorio de Nutrición Humana de la Universidad de Autónoma de Querétaro para la determinación de creatinina, proteína total, glucosa, albúmina, fosfatasa alcalina (ALP), alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y niveles

de urea. Los parámetros bioquímicos se determinarán utilizando el analizador estándar automatizado.

6.9. Determinación *In vitro*

6.9.1. Ensayo de cultivo celular

Se obtuvieron células de cáncer de colon humano SW480 [SW-480] (ATCC CCL-228) de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC®). Las células se sembraron en placas de 60 mm de diámetro en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (GIBCO, Nueva York, NY, EE. UU.), suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10 % (Biowest, EE. UU.) y solución de antibiótico-antimicótico al 10% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) a 37°C en una atmósfera de agua saturada con 5 % de CO₂, con cambios de medio cada dos días hasta alcanzar una confluencia del 80%.

6.9.2. Determinación de la actividad metabólica de la célula por ensayo

MTT

Las células (1.5×10^4 células/pocillo; 100 µL) se cultivaron en placas de 96 pocillos durante 24 h. Posteriormente, las células se expusieron al extracto metanólico (80:20 v/v) del arilo de *P. dulce* en concentraciones seriadas 1, 5, 10, 15, 30, 50 y 100 mg/mL disueltos en DMEM suplementado con albúmina sérica bovina (BSA) al 0.5%, durante 24 h (37 °C). Después de la incubación, el medio se reemplazó con DMEM suplementado con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) (0.5 mg/mL, 100 mL cada pozo, Sigma-Aldrich) durante 4 h (37°C). Posteriormente se reemplazó el medio con sulfóxido de dimetilo (DMSO) y se leyó la absorbancia a 562 nm. La concentración letal 50 (CL₅₀) se calculó utilizando una ecuación de dosis-respuesta proporcionada por GraphPad Prism v. software 8.0. Las células no tratadas se usaron como control negativo.

6.9.3. Determinación de necrosis celular mediante ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH)

Las células (1.5×10^4 células/pocillo; 100 μL) se cultivaron como se describe anteriormente. Después de 24 h, las células se trataron con concentraciones LC₅₀ del extracto metanólico de *P. dulce*, mientras que las células no tratadas (DMEM + BSA al 0.5 %) se usaron como control negativo. Después se utilizó el kit de ensayo de citotoxicidad de LDH (K311-400, Biovision, Milpitas, CA, EE. UU.) para evaluar el impacto de los tratamientos en la liberación de LDH siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras se leyeron a 492 nm y los resultados se expresaron como porcentaje de citotoxicidad utilizando la ecuación: % de citotoxicidad = [(Muestra – Control negativo) /control positivo] × 100 – Control negativo.

6.9.4. Evaluación de la apoptosis por citometría de flujo

Se utilizó el kit de ensayo de células muertas y anexina V de Muse (MCH 100105, Millipore, Darmstadt, Alemania) para evaluar el impacto del tratamiento con el extracto metanólico de *P. dulce* en la inducción de la apoptosis en las células. Brevemente, las células se cultivaron en condiciones apropiadas como se describe anteriormente. Después de alcanzar la confluencia, se trataron con concentraciones del extracto metanólico de *P. dulce* LC₅₀. Posteriormente de recolectar por tripsinización y concentración por centrifugación (6,000 g, 5 min), las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) 1 mM, se ajustó a 1×10^6 células/mL y se llevó a cabo la determinación en un analizador de células Guava® Muse® Cell Analyzer (Luminex, Austin, Texas, EE.UU.), un citómetro de flujo compacto que utiliza tecnología basada en microcapilares y detección por fluorescencia. Los resultados se expresaron como el porcentaje de células vivas, apoptóticas tempranas, apoptóticas tardías y células en necrosis. Las células no tratadas (DMEM + BSA al 0,5 %) se emplearon como control negativo.

6.9.5. Análisis del ciclo celular por citometría de flujo

Las células (3×10^5 células/placa de 60 mm) se trataron con concentración del extracto metanólico de *P. dulce* LC₅₀ durante 12 h, y luego se recogieron mediante tripsinización y centrifugación (6,000 g, 5 min), se lavaron con PBS 1 mM + EDTA y se fijaron en etanol al 70 % (v/v) durante 4 h a -20°C, siguiendo las condiciones del fabricante (MCH1006, Muse ÒCell Cycle Assay Kit, Millipore, Darmstadt, Alemania) en un Muse ÒCell Analyzer (Luminex, Austin, TX, EE. UU.). Las células no tratadas (DMEM + BSA al 0.5 %) se usaron como control negativo.

6.9.6. Evaluación de la expresión génica de *p53* y *KRAS* mediante análisis de qPCR

Las células se cultivaron (3×10^5 células/placa de 60 mm) y se trataron como se indicó previamente con el LC₅₀ de *P. dulce*. La extracción y purificación del ARNm fueron seguidas por la adición de 400 µL de reactivo TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE. UU.), y el ARN extraído se resuspendió en agua libre de ARN y ADN-asa, que se utilizó para cuantificar el ARN total. La pureza se evaluó en un espectrofotómetro (NanoDrop 2000/2000c, ThermoScientific, Waltham, MA, EE. UU.). Luego, cada 2 µg de ARNm se utilizó para la síntesis de ADN_c utilizando un kit (Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis, K1652, ThermoScientific). Los cebadores para los genes *p53* y *KRAS* se diseñaron considerando su participación en la carcinogénesis y la señalización de apoptosis del cáncer colorrectal (Tabla A3). Las secuencias de genes se analizaron en el UCSC Genome Browser de la Universidad de California (<https://genome.ucsc.edu/>), consultado el 1 de marzo de 2024, y los cebadores se diseñaron utilizando el sitio web Primer3 (<https://primer3.ut.ee/>), consultado el 1 de marzo de 2024, seleccionando una temperatura de fusión (MT) de 60 ± 2 °C (para 20 ± 2 pb), 100–250 pb de tamaño de producto final y GC ≥ 50%. Las secuencias fueron sintetizadas por Sigma-Aldrich México (Toluca, México). La reacción de qPCR se realizó en placas de PCR de 96 pocillos utilizando 3,4 µL de agua libre de ADN-ARN-asa, 5 µL de SYBR® Select Mater Mix para CFX (4472942, Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.) y 1

μ L de ADNc para cada reacción. Se utilizó un termociclador (CFX96, BioRead Lab. Inc., Hercules, CA, EE. UU.) en las siguientes condiciones: 95 °C durante 10 min (15 s a 95 °C, 30 s a 60 °C, 30 s a 72°C) por 35 ciclos y luego se mantuvo a 16 °C hasta que se hizo la determinación. Para el análisis de la expresión relativa de los genes (Livak & Schmittgen, 2001)Señal ($2^{-\Delta\Delta Ct}$), utilizando GAPDH como gen constitutivo.

6.10. Análisis estadístico

Los valores se expresaron como la media \pm DS. Se utilizó una ANOVA unidireccional seguido por una prueba *post-hoc* de Tukey para comparar las diferencias entre grupos. Los datos fueron analizados en el programa estadístico SPSS versión 23. Se utilizó un intervalo de confianza del 95% y un nivel de significación $p < 0.05$.

Los resultados se expresaron como la media \pm 1 DE de tres experimentos independientes por triplicado. Después de la prueba de normalidad utilizando la prueba de Shapiro-Wilk, gráficos de normalidad y análisis de homocedasticidad, se realizó un análisis de varianza unidireccional (ANOVA), seguido de una prueba post hoc de Tukey-Kramer, donde las diferencias se establecieron en $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó utilizando el software GraphPad Prism v. 8.0 (Dotmatics, Boston, MA, EE. UU.). También se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para evaluar la variabilidad de la muestra considerando la combinación de los métodos de secado y los solventes ensayados a través de los paquetes de software FactoMineR (versión 2.11) y FactoExtra R (versión 1.0.7). También se realizó un mapa de calor utilizando el paquete Pheatmap en RStudio, y las concentraciones de compuestos fenólicos obtenidos por HPLC-DAD se transformaron logarítmicamente (\log_{10}) para mejorar la visibilidad en el análisis gráfico.

VII. RESULTADOS

7.1. Impacto de los métodos de secado en la composición polifenólica y la capacidad antioxidante del arilo de *P. dulce*

Con relación a los TPC estos variaron de 631,72 a 1149,45 mg GAE/100 g EL, los TF variaron de 5,10 a 20,93 mg CE/100 g EL, y los CT presentaron valores entre 0,07 y 0,19 mg CE/100 g EL como se observa en la Tabla 5. Con relación al método de secado, las muestras secadas por horno mostraron mayor cantidad de TPC y TF que las muestras secadas por liofilizado. Cabe destacar que las extracciones que se realizaron con agua 100% y fueron secadas por horno mostraron menor cantidad de TPC y TF, mientras que las muestras hidroalcohólicas liofilizadas mostraron mayor cantidad de TPC, TF, y CT comparado con los extractos acuosos. El solvente que extrajo mayor cantidad de TPC fue la concentración metanólica al 80% (M/A 80%) por medio del secado por horno, mientras que el secado por liofilizado la extracción con agua obtuvo mejores rendimientos.

Con respecto a la captación de radicales libres por medio de la técnica de DPPH en el secado por horno las extracciones hidroalcohólicas no mostraron diferencia significativa siendo el extracto acuoso el que obtuvo menor capacidad antioxidante como se muestra en la Tabla 6. El secado por liofilizado no mostró diferencia significativa entre los diferentes disolventes y concentraciones utilizadas, sin embargo, el secado por horno presenta mayor captación de radicales libres comparado con el secado por liofilizado.

Por medio de la técnica de FRAP, las extracciones hidroalcohólicas secadas por horno no presentaron diferencia significativa siendo el extracto acuoso el que obtuvo menor capacidad antioxidante. Por otro lado, la muestra liofilizada mediante la extracción acuosa fue la que presentó mayor capacidad antioxidante comparado con las extracciones hidroalcohólicas del mismo tipo de secado y del secado por horno. Al comparar el tipo de secado, solo las extracciones E/A 80% no presentan diferencias significativas, mientras que las otras muestras hidroalcohólicas secadas

en horno mostraron mayor captación de radicales libres comparadas con las extracciones hidroalcohólicas de la muestra liofilizada. Con respecto a la de ABTS, la extracción hidroalcohólica M/A 50% presentó mayor capacidad antioxidante en ambos tipos de secado.

Por medio del análisis de HPLC-DAD se identificaron y cuantificaron un total de 14 compuestos fenólicos en el arilo de *P. dulce*, incluidos 3 ácidos hidroxibenzoicos (ácido elágico, 4-hidroxibenzoico y gálico), 4 ácidos hidroxicinámicos (ácidos

Tabla 5. Compuestos fenólicos, flavonoides y taninos condensados en extractos hidroalcohólicos y acuoso del arilo de *P. dulce*.

Extracto (alcohol/ agua)	Compuestos fenólicos totales (mg EAG/100 g EL)		Flavonoides totales (mg EC/100 g EL)		Taninos condensados (mg EC/100 g EL)	
	Secado por horno	Secado por liofilizado	Secado por horno	Secado por liofilizado	Secado por horno	Secado por liofilizado
Agua	892.50 ± 56.67 ^a	799.14 ± 33.94 ^b	5.85 ± 1.94 ^a	5.10 ± 2.40 ^a	0.18 ± 0.07 ^a	0.13 ± 0.03 ^b
E/A 80%	1061.01 ± 151.65 ^a	631.72 ± 28.85 ^b	20.93 ± 4.06 ^a	7.10 ± 4.31 ^b	0.16 ± 0.08 ^a	0.07 ± 0.01 ^b
E/A 50%	1038.99 ± 45.39 ^a	651.55 ± 36.33 ^b	17.11 ± 3.01 ^a	6.67 ± 1.79 ^b	0.19 ± 0.08 ^a	0.08 ± 0.01 ^b
M/A 80%	1149.45 ± 69.27 ^a	637.36 ± 57.32 ^b	18.68 ± 2.52 ^a	7.90 ± 2.73 ^b	0.15 ± 0.07 ^a	0.08 ± 0.01 ^b
M/A 50%	1094.50 ± 54.22 ^a	726.53 ± 34.06 ^b	16.84 ± 2.00 ^a	6.05 ± 1.99 ^b	0.17 ± 0.08 ^a	0.09 ± 0.02 ^b

EAG: equivalentes de ácido gálico; EC: equivalentes de catequina; EL: Extracto liofilizado. Los resultados se muestran como el promedio de n=3 determinaciones ± una desviación estándar. Letras diferentes significan diferencia significativa (prueba t Student, *p* <0.05) entre extractos secado por horno y secado por liofilizado.

sinápico, clorogénico, cafeíco, *p*-cumárico y ferúlico) y ácido 4-hidroxifenilacético para los ácidos fenólicos Tabla 7. Entre los flavonoides, la (+)-catequina mostró mayores cantidades en los extractos hidroalcohólicos de muestras liofilizadas que en las muestras secadas al horno; la (-)-epicatequina fue la más alta en las muestras secadas al horno, y se observó una tendencia similar para la (-)-epigallocatequina-3-O-galato y la quercetina (Tabla 8). En general, las extracciones metanólicas obtuvieron las mayores cantidades de flavonoides.

Tabla 6. Capacidad antioxidante en extractos hidroalcohólicos y acuoso del arilo de *P. dulce*

Extracto (alcohol/agua)	DPPH (μ M ET/g EL)		FRAP (μ M ET/g EL)		TEAC (μ M ET/g EL)	
	Secado por horno	Secado por liofilizado	Secado por horno	Secado por liofilizado	Secado por horno	Secado por liofilizado
Agua	37.82 ± 3.13 ^a	19.64 ± 0.87 ^b	26.29 ± 1.97 ^a	35.03 ± 3.05 ^b	178.75 ± 9.63 ^a	151.84 ± 7.87 ^b
E/A 80%	43.03 ± 3.27 ^a	22.28 ± 0.97 ^b	33.12 ± 6.53 ^a	30.67 ± 1.33 ^a	190.06 ± 16.27 ^a	159.43 ± 19.13 ^b
E/A 50%	42.43 ± 2.32 ^a	19.10 ± 0.83 ^b	30.71 ± 2.69 ^a	27.93 ± 2.06 ^b	200.26 ± 13.66 ^a	143.81 ± 11.87 ^b
M/A 80%	43.67 ± 2.62 ^a	21.35 ± 1.30 ^b	34.97 ± 1.56 ^a	29.66 ± 1.20 ^b	190.16 ± 5.59 ^a	153.15 ± 9.27 ^b
M/A 50%	44.63 ± 2.00 ^a	21.44 ± 0.97 ^b	31.74 ± 0.71 ^a	30.08 ± 0.81 ^b	202.23 ± 6.32 ^a	158.34 ± 7.69 ^b

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl assay; FRAP: Ferric reducing antioxidant power assay; ABTS: 2,20-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid; μ mol ET: micromoles equivalentes de trolox; EL: Extracto liofilizado. Los resultados se muestran como el promedio de n=3 determinaciones ± una desviación estándar. Letras diferentes significan diferencia significativa (prueba t Student, $p < 0.05$) entre extractos secado por horno y secado por liofilizado.

Entre los ácidos fenólicos, el ácido gálico y ferúlico exhibieron las concentraciones más altas mediante el secado por horno como se muestra en la Figura 6. En el caso de las muestras liofilizadas, se detectaron 13 compuestos. Sin embargo, algunos compuestos, como el ácido ferúlico, se detectaron solo en extractos acuosos de muestras liofilizadas. Las muestras liofilizadas exhibieron una mayor cantidad de ácido *p*-cumárico que las muestras secadas al horno, particularmente en el extracto acuoso (Figura 6).

La Figura 7 muestra un análisis de PCA de los compuestos fenólicos identificados en extracciones de *P. dulce* usando HPLC-DAD. Se observó una clara diferencia entre los dos métodos de secado para los ácidos fenólicos (Figura 7a) y los análisis espectrofotométricos (Figura 7b). Los extractos hidroalcohólicos (80% v/v) mostraron la mayor extracción de ácidos fenólicos, pero variaron dependiendo del método de secado aplicado a la muestra original. Las muestras secadas al horno estuvieron más estrechamente relacionadas con el ácido ferúlico, ácido clorogénico, quercetina y rutina. Por el contrario, las muestras liofilizadas estuvieron más estrechamente relacionadas con los ácidos *p*-cumárico e hidroxifenilacético. Los componentes principales explorados representaron el 82.9% de la variación total.

Tabla 7. Contenido de ácidos fenólicos en el arilo de *P. dulce* detectados por HPLC-DAD

Extracto	T	Ácido elágico (alcohol/ agua)	Ácido sináptico (mg/100g EL)	Ácido hidroxifenilacético 0	Ácido hidroxibenzóic 0	Ácido clorogénico (mg/100g EL)	Ácido cumárico (mg/100g EL)	Ácido grálico (mg/100g EL)	Ácido cafético (mg/100g EL)	Ácido ferúlico (mg/100g EL)	Total
M/A 80%	H	2.59 ± 0.01 ^a	8.26 ± 0.53 ^a	205.40 ± 0.72 ^a	47.12 ± 6.00 ^{ab}	42.52 ± 0.10 ^a	45.59 ± 0.07 ^{ab}	867.90 ± 15.15 ^a	2.39 ± 0.03 ^a	308.60 ± 2.91 ^a	1530.37 ± 25.52
	L	3.27 ± 0.19 [*]	7.21 ± 0.56 ^{AB*}	266.30 ± 8.40 ^{A*}	47.33 ± 0.85 ^A	26.12 ± 0.40 ^{AB*}	232.70 ± 8.52 ^{A*}	38.21 ± 4.44 ^{A*}	ND	ND	621.34 ± 23.36
M/A 50%	H	2.53 ± 0.01 ^{ab}	7.75 ± 0.04 ^a	211.10 ± 0.65 ^{ab}	45.38 ± 0.61 ^a	49.30 ± 1.13 ^a	33.44 ± 0.81 ^a	956.50 ± 5.18 ^a	2.20 ± 0.05 ^{ab}	311.60 ± 3.83 ^a	1619.50 ± 12.30
	L	ND	4.91 ± 0.32 ^{AC*}	212.60 ± 10.84 ^{AB}	40.91 ± 2.48 ^{**}	16.65 ± 0.99 ^{A*}	196.80 ± 10.63 ^{A*}	36.78 ± 2.40 ^{A*}	ND	ND	508.65 ± 27.66
E/A 80%	H	2.68 ± 0.02 ^{AC}	12.41 ± 3.04 ^{ab}	202.90 ± 2.09 ^a	35.93 ± 4.43 ^a	49.69 ± 4.13 ^{ab}	32.93 ± 0.23 ^a	762.90 ± 8.52 ^a	7.11 ± 0.04 ^{AC}	307.90 ± 9.52 ^a	1414.45 ± 32.01
	L	ND	5.56 ± 0.12 ^{AC*}	264.10 ± 3.66 ^{AB*}	49.35 ± 2.46 ^{AC*}	5.53 ± 0.12 ^{AC*}	250.40 ± 3.21 ^{A*}	32.29 ± 0.82 ^{AB*}	ND	ND	607.23 ± 10.39
E/A 50%	H	2.617 ± 0.05 ^a	8.30 ± 0.29 ^a	193.9 ± 2.36 ^a	38.07 ± 0.45 ^a	36.72 ± 0.66 ^a	32.80 ± 1.00 ^a	818.20 ± 45.62 ^a	4.62 ± 0.12 ^a	300.70 ± 4.08 ^a	1435.92 ± 54.63
	L	ND	5.11 ± 0.24 ^{AB*}	210.00 ± 1.00 ^{AB*}	16.34 ± 1.56 ^{AB*}	13.03 ± 0.13 ^{A*}	195.20 ± 0.31 ^{AB*}	35.67 ± 0.18 ^{A*}	ND	ND	475.35 ± 3.43
Agua	H	ND	6.26 ± 0.41 ^{AC}	193.00 ± 0.57 ^{AC}	26.50 ± 1.53 ^{AC}	33.69 ± 0.71 ^{AC}	19.84 ± 2.00 ^{AC}	922.30 ± 218.00 ^a	2.99 ± 0.60 ^a	283.90 ± 0.18 ^a	1488.48 ± 224.00
	L	ND	6.20 ± 0.33 ^A	289.30 ± 6.82 ^{AC*}	77.63 ± 2.40 ^{AC*}	11.85 ± 4.98 ^{A*}	300.00 ± 9.13 ^{AC*}	99.46 ± 4.93 ^{AC*}	ND	3.61 ± 0.03 [*]	788.05 ± 28.63

T: Tratamiento, H: Hormo, L: Liofilizado, ND: No detectado, M/A: Metanol/agua, E/A: Etanol/agua. Los resultados se muestran como el promedio de 3 determinaciones ± una desviación estándar.

Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de los extractos secado por hormo, y letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de los extractos secado por liofilizado (ANOVA, prueba post hoc Tukey, $p < 0.05$). * Indica diferencia significativa (Prueba t, $p < 0.05$) entre el tipo de secado por hormo y liofilizado del mismo extracto.

Tabla 8. Contenido de flavonoides en el arilo de *P. dulce* detectado por HPLC-DAD

Extracto (alcohol/agua)	Tratamiento	Catequina (mg/100g EL)	Epicatequina (mg/100g EL)	Epigalocatequin Galato (mg/100g EL)	Rutina (mg/100g EL)	Quercetina (mg/100g EL)	Total
M/A 80%	Horno	15.54 ± 0.18 ^a	210.90 ± 0.84 ^a	17.63 ± 0.05 ^{ab}	40.60 ± 0.43 ^a	21.34 ± 0.03 ^a	306.01 ± 1.53
	Liofilizado	55.42 ± 2.02 ^{AB*}	31.39 ± 1.18 ^{A*}	13.90 ± 0.81 ^{A*}	ND	13.60 ± 0.49 ^{A*}	114.31 ± 4.50
M/A 50%	Horno	15.95 ± 0.17 ^{ab}	213.20 ± 0.46 ^{ab}	17.22 ± 0.10 ^a	40.68 ± 0.19 ^a	21.47 ± 0.11 ^{ab}	308.52 ± 1.04
	Liofilizado	36.54 ± 2.17 ^{A*}	25.63 ± 1.67 ^{AB*}	10.44 ± 0.70 ^{AB*}	ND	12.66 ± 0.58 ^{A*}	85.27 ± 5.12
E/A 80%	Horno	15.61 ± 0.17 ^a	203.30 ± 1.73 ^a	16.71 ± 0.18 ^a	30.06 ± 8.76 ^a	21.36 ± 0.08 ^a	287.04 ± 10.91
	Liofilizado	44.39 ± 0.42 ^{AB*}	23.32 ± 1.85 ^{A*}	15.34 ± 0.20 ^{A*}	ND	17.59 ± 0.68 ^{AB*}	100.64 ± 3.15
E/A 50%	Horno	15.77 ± 0.17 ^a	199.00 ± 0.81 ^a	15.85 ± 0.11 ^a	29.59 ± 0.68 ^a	20.66 ± 0.13 ^a	280.87 ± 1.91
	Liofilizado	32.72 ± 0.36 ^{AB*}	28.99 ± 1.69 ^{A*}	12.09 ± 0.13 ^{A*}	ND	12.46 ± 0.02 ^{AC*}	86.26 ± 2.20
Acuoso	Horno	13.87 ± 0.84 ^{ac}	177.10 ± 0.58 ^{ac}	15.74 ± 0.10 ^{ac}	31.08 ± 0.19 ^a	18.39 ± 0.01 ^{ac}	256.18 ± 1.72
	Liofilizado	11.00 ± 0.33 ^{AC*}	205.80 ± 6.84 ^{AC*}	18.80 ± 0.56 ^{AC*}	29.57 ± 1.21 [*]	16.49 ± 0.34 ^{AC*}	281.66 ± 9.27

ND: No detectado, M/A: Metanol/agua, E/A: Etanol/agua. Los resultados se muestran como el promedio de n=3 determinaciones ± una desviación estándar. Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de los extractos secado por liofilizado (ANOVA, prueba post hoc Tukey, p <0.05). * Indica diferencia significativa (Prueba t, p <0.05) entre el tipo de secado por horno y liofilizado del mismo extracto.

Heatmap of Phenolic Compounds (Grouped by Drying Method)

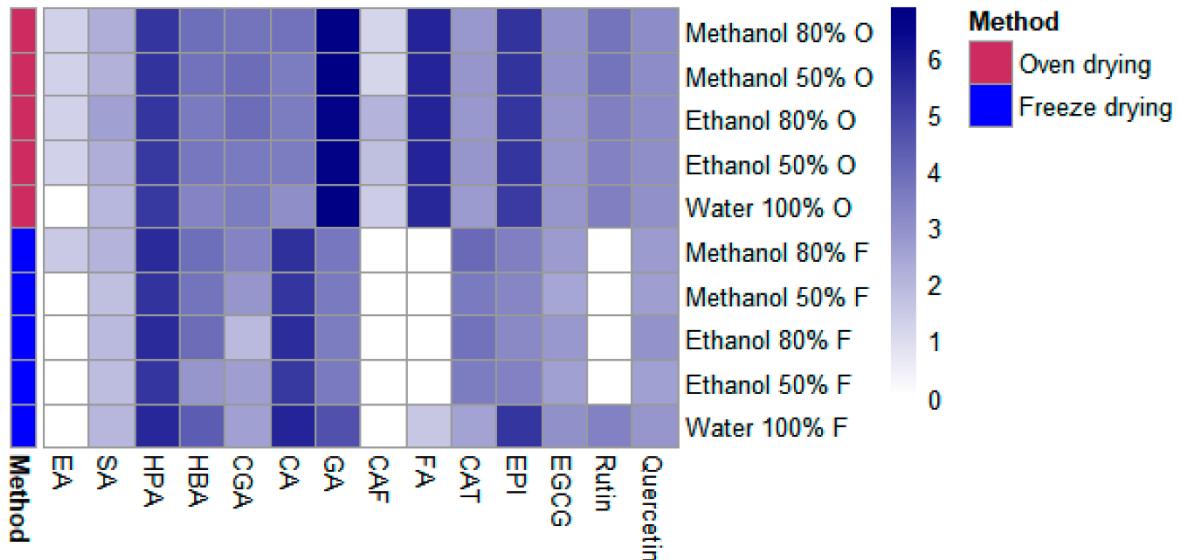


Figura 6. Concentración relativa de compuestos fenólicos del arilo de *P. dulce* por tipo de secado (horno y liofilización) y concentración de solvente (etanol, metanol y agua). La concentración relativa corresponde a los valores transformados logarítmicamente (\log_{10}) de las concentraciones de los compuestos fenólicos obtenidos por HPLC-DAD. CAF: Ácido cafeico; CAT: (+)-Catequina; CGA: Ácido clorogénico; CA: Ácido p -cumárico; GA: Ácido gálico; EA: Ácido elágico; EPI: (-)-Epicatequina; EGCG: (-)-Epigalocatequina-3- O -galato; FA: Ácido ferúlico; HPA: Ácido hidroxifenilacético; HBA: Ácido hidroxibenzoico; SA: Ácido sinápico.

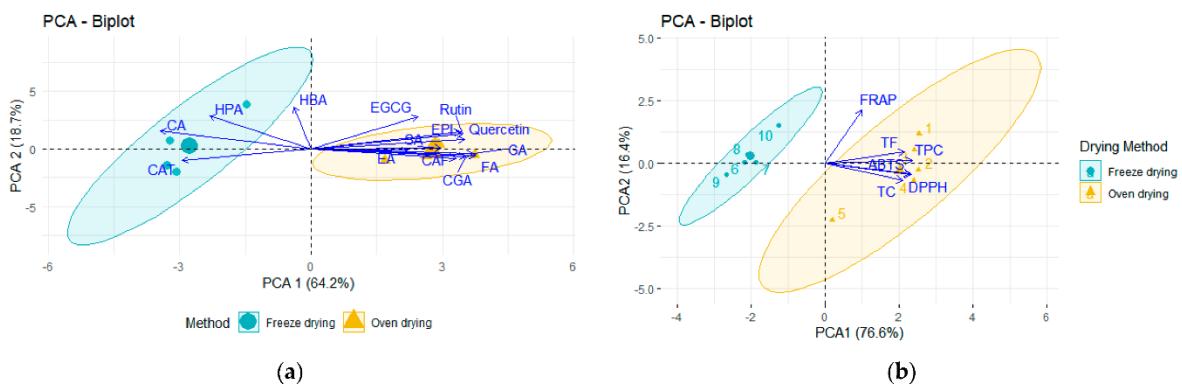


Figura 7. Análisis de componentes principales (PCA) de las mediciones de arilo de *P. dulce* (compuestos fenólicos y capacidad antioxidante) obtenidas de muestras secadas en horno y liofilizadas. (a) Ácidos fenólicos; (b) Mediciones espectrofotométricas. ABTS: Ácido 2,2-Azino-bis(3-etylbenzotiazolina-6-sulfónico); CAF: Ácido cafeico; CAT: (+)-Catequina; CGA: Ácido clorogénico; CA: Ácido p-cumárico; GA: Ácido gálico; DPPH: Ensayo de 1,1-Difenil-2-picrilhidrazilo; EA: Ácido elágico; EPI: (-)-Epicatequina; EGCG: (-)-Epigalocatequina-3-O-galato; FA: Ácido ferúlico; FRAP: Poder antioxidante reductor férrico; HPA: Ácido hidroxifenilacético; HBA: Ácido hidroxibenzoico; SA: Ácido sinápico.

7.2. Análisis proximal del arilo de *P. dulce* y caracterización de la dieta experimental

Se analizó el AQP del arilo de *P. dulce* mediante dos diferentes métodos de secado (horno y liofilizado). Los resultados no mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) mediante los dos métodos de secado, sin embargo, como se mencionó anteriormente, el secado por horno presentó mayor cantidad de compuestos bioactivos comparado con el secado por liofilizado (Tabla 9). Por esta razón en el presente estudio se eligió el secado por horno como el método de deshidratación. A partir de la muestra secada por horno se generaron los pellets para la dieta experimental de los animales, la cual consistió solamente en hidratar nuevamente el polvo seco del arilo de *P. dulce* con agua purificada y posteriormente volver a secar mediante el horno en las mismas condiciones. El análisis del AQP del pellet mostró una disminución en el contenido de proteína (12.59%) y fibra (12.09%), sin embargo, no se observaron diferencias significativas comparado con el arilo secado por horno y liofilizado.

Tabla 7. Análisis proximal del arilo de *P. dulce* en materia seca

Componentes (%)	Secado por horno	Secado por liofilizado	Pellet de <i>P. dulce</i>
Humedad	15.87 ± 0.76 ^a	17.93 ± 0.20 ^a	16.93 ± 0.35 ^a
Cenizas	3.32 ± 0.01 ^a	3.59 ± 0.03 ^a	2.10 ± 0.08 ^a
Proteína cruda	15.13 ± 0.26 ^a	13.55 ± 0.22 ^a	12.59 ± 0.62 ^a
Fibra	12.79 ± 0.37 ^a	12.97 ± 0.33 ^a	12.09 ± 0.21 ^a
Hidratos de carbono	67.95 ± 0.09 ^a	66.83 ± 0.65 ^a	66.02 ± 0.32 ^a
Extracto etéreo	0.61 ± 0.02 ^a	0.78 ± 0.02 ^a	0.64 ± 0.03 ^a

Los resultados representan la media de 2 experimentos por duplicado ± error estándar. Letras diferentes por columna expresan diferencia significativa ($p < 0.05$) ANOVA, prueba post hoc Tukey.

A partir de los resultados obtenidos del análisis colorimétrico y el AQP del arilo de *P. dulce*, se realizó la dieta de los animales (grupo 2 y 3). La dieta experimental se basó con el 90% del alimento estándar de los animales (Nutricubo®), suplementado con el 10% del arilo de *P. dulce* en presentación de pellet. Esta dieta se formuló

para establecer un equilibrio nutricional y con ello evitar posibles sesgos en la investigación. Los resultados presentados en la Tabla 4 (materiales y métodos) muestran paridad en el perfil nutrimental entre las dos dietas. Sin embargo, se observa una reducción mínima en el contenido de proteínas, grasa y cenizas en la dieta experimental comparado con la dieta estándar. Estos resultados muestran que el perfil nutrimental de la dieta experimental no comprometió la alimentación basal de los animales.

7.3. Efecto quimiopreventivo del arilo de *P. dulce* sobre lesiones preneoplásicas de colon

Dentro de los experimentos *in vivo*, la ganancia de peso corporal de los animales durante las 16 semanas se observa en la Figura 8. Los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) en los diferentes grupos. Por lo tanto, el grupo que consumió el arilo de *P. dulce* y el grupo tratado con AOM/DSS + *P. dulce* no provocó un efecto adverso en el crecimiento de los animales comparado con el grupo control negativo.

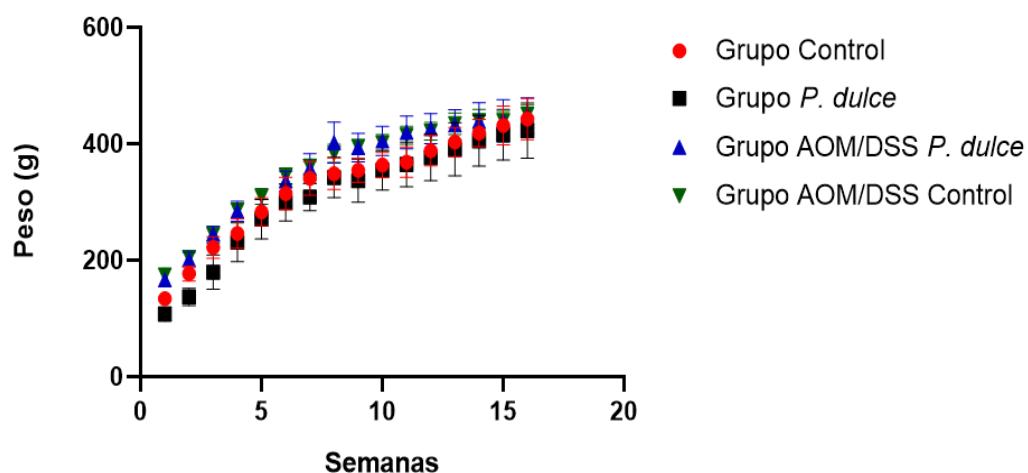


Figura 8. Ganancia de peso en ratas Sprague-Dawley durante 16 semanas. Los valores de la ganancia de peso se representan como el promedio \pm desviación estándar. Grupo Control (alimentación estándar), Grupo *P. dulce* (alimentación estándar suplementada con arilo de *Pithecellobium dulce* al 10%), Grupo AOM/DSS + *P. dulce* (tratado con AOM/DSS y suplementado con arilo de *P. dulce* al 10%), y Grupo AOM/DSS Control (tratado con AOM/DSS sin suplementación).

Desde el inicio hasta el final del experimento los cuatro grupos mostraron aumento de peso progresivo. Se observó que el grupo control negativo y el grupo *P. dulce* presentaron una secuencia similar en la ganancia de peso, mientras que los dos grupos a los que se les administró AOM/DSS tuvieron una secuencia de ganancia de peso corporal similar. Los hallazgos reportados en el presente estudio indican que el consumo del arilo de *P. dulce* al 10% dentro de la dieta de los animales, no afectó su peso corporal.

Los resultados obtenidos en el consumo de agua en los diferentes grupos experimentales se observan en la Figura 9. En las primeras semanas del estudio se puede observar mayor variabilidad en la ingesta de agua, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos ($p < 0.05$) a lo largo de las 16 semanas. Por lo tanto, el consumo del arilo de *P. dulce* no afectó la hidratación de los animales. El grupo control y el grupo *P. dulce* muestran una ingesta de agua similar a lo largo del estudio sin diferencias significativas ($p < 0.05$). Esto indica que el consumo del arilo de *P. dulce* no genera efectos negativos en la hidratación e ingesta de agua en los animales.

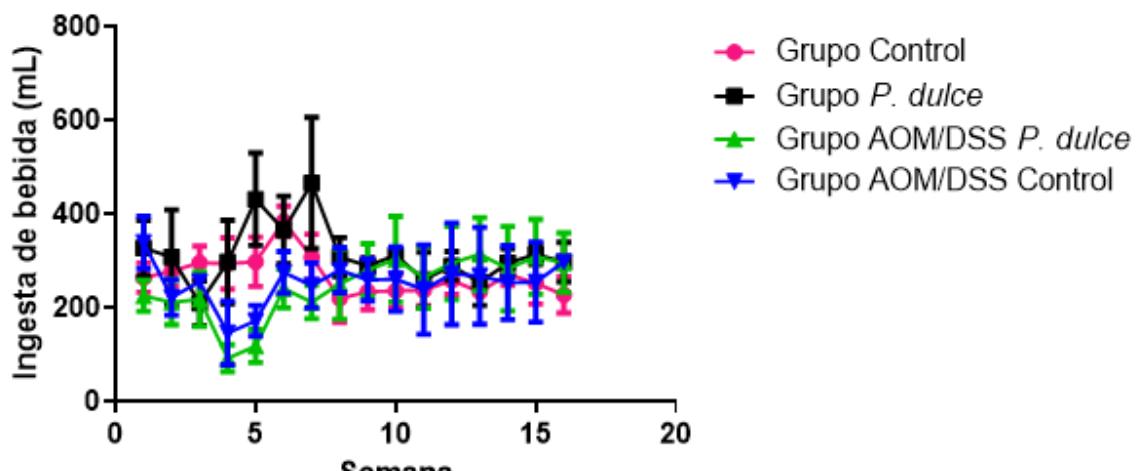


Figura 9. Ingesta de agua en ratas Sprague-Dawley durante 16 semanas. Los valores de la ingesta de agua se representan como el promedio \pm desviación estándar. Grupo Control (alimentación estándar), Grupo *P. dulce* (alimentación estándar suplementada con arilo de *Pithecellobium dulce* al 10%), Grupo AOM/DSS + *P. dulce* (tratado con AOM/DSS y suplementado con arilo de *P. dulce* al 10%), y Grupo AOM/DSS Control (tratado con AOM/DSS sin suplementación).

Por otro lado, en los dos grupos que se administró AOM/DSS se observan variaciones entre las semanas 4 y 5, lo cual podría estar relacionado a procesos inflamatorios generados por estos reactivos. Sin embargo, a partir de la semana 6 el consumo de agua se regularizó comparado con el grupo control.

Los resultados obtenidos de la ingesta de alimento en los diferentes grupos de animales se observan en la Figura 10. Los resultados no presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los diferentes grupos. Dentro de estos resultados, el grupo de *P. dulce* mostró una alteración en la ingesta de alimento entre la semana 4 y 7, homogeneizándose a la semana 8 comparado con el grupo control. Este resultado puede deberse a que el animal no está acostumbrado al consumo del arilo de *P. dulce*. Por otro lado, el grupo administrado con AOM/DSS + *P. dulce* mostró una ingesta de alimento similar a la del grupo control. Sin embargo, a partir de la semana 6 hasta al final del experimento los animales mostraron un aumento en la ingesta de alimento.

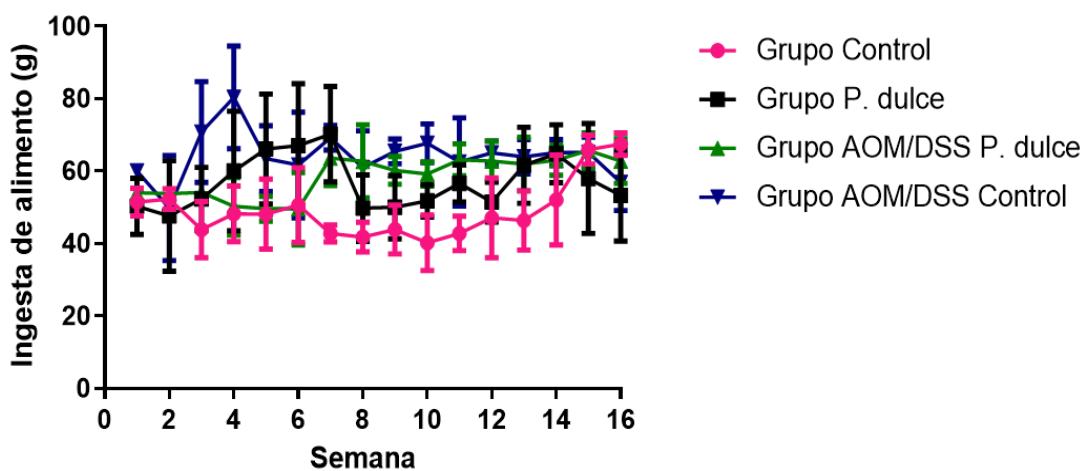


Figura 10. Consumo de alimento en ratas Sprague-Dawley durante 16 semanas. Los valores de la ingesta de alimento se representan como el promedio ± desviación estándar. Grupo Control (alimentación estándar), Grupo *P. dulce* (alimentación estándar suplementada con arilo de *Pithecellobium dulce* al 10%), Grupo AOM/DSS + *P. dulce* (tratado con AOM/DSS y suplementado con arilo de *P. dulce* al 10%), y Grupo AOM/DSS Control (tratado con AOM/DSS sin suplementación)

Finalmente, el grupo AOM/DSS control mostró fluctuaciones en la ingesta de alimento a partir de la semana 3, lo que podría estar asociado con la administración del AOM/DSS. Sin embargo, a partir de la semana 8 hasta el final del experimento el consumo de alimento se estabilizó comparado con el grupo control.

En el presente estudio se analizaron los pesos de diferentes órganos como el bazo, riñones, pulmones, corazón, estómago, ciego, intestino grueso y delgado, los cuales se muestran en la Tabla 10. Dentro de los resultados, no se observaron diferencias significativas ($p >0.05$) entre los pesos de los diferentes grupos experimentales. Estos resultados sugieren que la administración de AOM/DSS aunado al consumo del arilo de *P. dulce* y el consumo del alimento normal del animal no provocó efectos adversos en el desarrollo de los órganos.

Tabla 8. Peso de órganos de ratas Sprague-Dawley

Órgano	Grupo Control	Grupo <i>P. dulce</i>	Grupo AOM/DSS + <i>P. dulce</i>	Grupo AOM/DSS Control
Bazo	0.79 ± 0.21 ^a	0.82 ± 0.24 ^a	0.84 ± 0.20 ^a	0.84 ± 0.13 ^a
Riñones	1.50 ± 0.08 ^a	1.46 ± 0.18 ^a	1.52 ± 0.11 ^a	1.58 ± 0.06 ^a
Pulmones	2.26 ± 0.49 ^a	2.02 ± 0.36 ^a	2.38 ± 0.42 ^a	2.54 ± 0.63 ^a
Corazón	1.63 ± 0.46 ^a	1.41 ± 0.25 ^a	1.49 ± 0.18 ^a	1.52 ± 0.16 ^a
Estómago	2.22 ± 0.27 ^a	2.39 ± 0.32 ^a	2.49 ± 0.50 ^a	2.43 ± 0.32 ^a
Ciego	2.16 ± 0.39 ^a	2.43 ± 0.22 ^a	2.18 ± 0.35 ^a	2.35 ± 0.50 ^a
I. Grueso	2.90 ± 0.24 ^a	2.98 ± 0.17 ^a	3.26 ± 0.29 ^a	2.75 ± 0.40 ^a
I. Delgado	10.24 ± 1.22 ^a	11.23 ± 1.59 ^a	9.75 ± 0.69 ^a	9.6 ± 0.68 ^a

I: Intestino. Valores expresados en gramos (g) como media ± desviación estándar. Las letras diferentes significan diferencia significativa (ANOVA prueba post hoc de Tukey, $p <0.05$). Grupo Control: ratas con alimentación estándar; Grupo *P. dulce*: ratas con alimentación estándar suplementada con arilo de *Pithecellobium dulce*; Grupo AOM/DSS + *P. dulce*: ratas con carcinogénesis inducida por AOM/DSS y suplementadas con arilo de *P. dulce*; Grupo AOM/DSS Control: ratas con carcinogénesis inducida por AOM/DSS sin suplementación.

Los resultados del análisis de los parámetros hematológicos se muestran en la Tabla 11. Dentro de los valores nutricionales, se observó diferencia significativa ($p <0.05$) en las concentraciones de glucosa, triglicéridos, colesterol total, VLDL del grupo AOM/DSS control comparado con el grupo control. Las concentraciones observadas en el grupo de *P. dulce* no muestran diferencias significativas con relación al grupo control. Por otro lado, en el grupo AOM/DSS + *P. dulce* las concentraciones de triglicéridos, colesterol y VLDL no muestran diferencias significativas comparado con el grupo AOM/DSS control, solamente se observa

Tabla 9. Comparación de análisis hematológicos en los diferentes grupos experimentales

Parámetro	Grupo Control	Grupo <i>P. dulce</i>	Grupo AOM/DSS + <i>P. dulce</i>	Grupo AOM/DSS Control
Indicadores nutricionales				
Glucosa (mg/dL)	159.3 ± 22.7 ^{ab}	160.0 ± 28.65 ^{ab}	141.4 ± 20.12 ^a	196.1 ± 17.45 ^b
Triglicéridos (mg/dL)	88.91 ± 20.41 ^a	101.7 ± 29.81 ^a	155.2 ± 87.36 ^b	200.9 ± 83.41 ^b
Colesterol total (mg/dL)	55.07 ± 9.23 ^a	47.81 ± 2.71 ^a	64.47 ± 10.1 ^{ab}	68.68 ± 13.50 ^b
HDL (mg/dL)	31.70 ± 5.55 ^a	26.50 ± 2.61 ^a	37.46 ± 10.39 ^b	30.51 ± 4.50 ^a
VLDL (mg/dL)	17.71 ± 3.98 ^a	20.50 ± 5.70 ^{ab}	23.29 ± 10.1 ^{ab}	33.75 ± 9.14 ^b
Indicadores toxicidad renal				
Ácido úrico (mg/dL)	1.08 ± 042 ^a	0.63 ± 0.23 ^a	0.81 ± 0.62 ^a	0.78 ± 0.19 ^a
Urea (mg/dL)	41.08 ± 4.46 ^a	43.80 ± 4.95 ^a	67.48 ± 7.79 ^b	67.37 ± 6.55 ^b
Creatinina (mg/dL)	0.58 ± 0.04 ^a	0.52 ± 0.06 ^a	0.55 ± 0.07 ^a	0.54 ± 0.05 ^a
Bun (mg/dL)	19.20 ± 2.04 ^a	20.56 ± 2.40 ^a	31.50 ± 3.70 ^b	31.43 ± 2.99 ^b
Indicadores toxicidad hepática				
Bilirrubina total (mg/dL)	0.19 ± 0.03 ^a	0.21 ± 0.03 ^a	0.21 ± 0.03 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
Fosfatasa alcalina (UL)	170.0 ± 24.69 ^b	175.0 ± 28.44 ^b	278.2 ± 84.69 ^a	345.0 ± 57.40 ^a
TGP/ALT (UL)	67.20 ± 6.53 ^a	60.11 ± 13.07 ^a	63.0 ± 18.84 ^a	62.14 ± 7.58 ^a
TGO/AST (UL)	141 ± 20.12 ^b	160.0 ± 28.65 ^b	159.3 ± 22.7 ^{ab}	196.1 ± 17.45 ^a
Proteínas totales (g/dL)	6.46 ± 0.08 ^a	6.52 ± 0.29 ^a	6.22 ± 0.24 ^{ab}	6.58 ± 0.19 ^{ac}
Albumina (g/dL)	3.96 ± 0.15 ^a	4.05 ± 0.12 ^a	3.93 ± 0.10 ^a	4.08 ± 0.11 ^a
Globulinas (mg/dL)	2.60 ± 0.54 ^a	2.55 ± 0.52 ^a	2.12 ± 0.35 ^a	2.71 ± 0.48 ^a

mg/dL: miligramos por decilitros. Los resultados se muestran como el promedio de n=9 animales ± una desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa (ANOVA prueba post hoc de Tukey, $p <0.05$).

diferencia significativa en el parámetro de la glucosa, así como un aumento en la concentración de HDL ($p < 0.05$). En los resultados derivados de la toxicidad renal, no se observaron diferencias significativas entre el grupo AOM/DSS control y el grupo AOM/DSS + *P. dulce* en los diferentes parámetros de toxicidad renal. Dentro de los resultados de toxicidad hepática, no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de bilirrubina, TGP/ALT y TGO/AST, proteínas totales, albumina y globulinas. Sin embargo, los grupos AOM/DSS control y AOM/DSS + *P. dulce* presentaron significativamente mayor concentración fosfatasa alcalina en comparación con los otros dos grupos ($p < 0.05$).

Los resultados de los análisis bioquímicos permitieron observar el posible efecto quimiopreventivo del arilo de *P. dulce* ante lesiones preneoplásicas por medio de distintos parámetros sanguíneos como se muestra en la Tabla 12.

Tabla 10. Comparación de análisis hematológicos en ratas Sprague-Dawley sometidas a diferentes tratamientos con *Pithecellobium dulce* y AOM/DSS

Parámetro	Grupo Control	Grupo <i>P. dulce</i>	Grupo AOM/DSS + <i>P. dulce</i>	Grupo AOM/DSS Control
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	$10.34 \pm 1.94^{\text{a}}$	$7.44 \pm 3.08^{\text{b}}$	$9.36 \pm 2.0^{\text{ab}}$	$11.32 \pm 4.86^{\text{a}}$
LYM (%)	$84.54 \pm 5.54^{\text{a}}$	$81.64 \pm 5.90^{\text{b}}$	$90.28 \pm 6.26^{\text{a}}$	$84.47 \pm 10.40^{\text{ab}}$
PLT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	$830.80 \pm 66.54^{\text{a}}$	$648.13 \pm 245.30^{\text{b}}$	$825.80 \pm 168.9^{\text{b}}$	$806.71 \pm 121.48^{\text{a}}$
RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	$8.98 \pm 0.37^{\text{a}}$	$9.11 \pm 0.61^{\text{a}}$	$9.13 \pm 0.46^{\text{a}}$	$9.62 \pm 0.69^{\text{a}}$
HGB (g/dL)	$15.76 \pm 0.61^{\text{a}}$	$15.48 \pm 0.59^{\text{a}}$	$14.38 \pm 1.21^{\text{a}}$	$15.12 \pm 1.52^{\text{a}}$
HCT (%)	$48.54 \pm 1.75^{\text{a}}$	$47.75 \pm 2.48^{\text{a}}$	$48.23 \pm 2.76^{\text{a}}$	$49.31 \pm 3.46^{\text{a}}$
MCV (fL)	$54.08 \pm 1.16^{\text{a}}$	$52.53 \pm 2.04^{\text{b}}$	$52.82 \pm 2.10^{\text{b}}$	$51.23 \pm 1.65^{\text{b}}$
MCH (pg)	$17.56 \pm 0.84^{\text{a}}$	$17.06 \pm 0.97^{\text{a}}$	$15.78 \pm 1.47^{\text{b}}$	$15.72 \pm 1.47^{\text{b}}$
MCHC (g/dL)	$32.48 \pm 0.90^{\text{a}}$	$32.45 \pm 0.88^{\text{a}}$	$30.61 \pm 1.44^{\text{b}}$	$29.87 \pm 2.69^{\text{b}}$

Los resultados se muestran como el promedio de $n = 9$ animales \pm una desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$, ANOVA con prueba post hoc de Tukey).

Con relación a los resultados obtenidos, los glóbulos blancos (WBC) del grupo *P. dulce* muestran una disminución significativa ($p <0.05$) comparado con los demás grupos, sin embargo, el grupo tratado con AOM/DSS + *P. dulce* no presentó diferencias significativas en comparación con el grupo control. Por otro lado, los grupos *P. dulce* y el grupo tratado con AOM/DSS + *P. dulce* presentaron significativamente menor cantidad en el conteo de plaquetas (PLT) comparado con el grupo control ($p <0.05$), mientras que el grupo tratado con AOM/DSS no presentó diferencias significativas. Los resultados obtenidos sobre el número de glóbulos rojos (RBC) no presentaron diferencias significativas entre los diferentes grupos, al igual que los niveles de hemoglobina (HGB) y hematocito (HCT).

Con relación al volumen corpuscular medio (MCV), el contenido de hemoglobina corpuscular media (MCH) y de hemoglobina corpuscular media (MCH) los valores del grupo tratado con AOM/DSS y el grupo AOM/DSS + *P. dulce* presentaron una reducción significativamente menor comparada con el grupo control ($p <0.05$).

En la Figura 11 se muestran los resultados en función del análisis histopatológico de los órganos evaluados (riñón, hígado y colon) en cada grupo experimental (Grupo AOM/DSS + *P. dulce* y Grupo AOM/DSS Control). El análisis histopatológico, realizado de forma independiente por un patólogo certificado, evidenció esteatosis hepática severa en el grupo AOM/DSS Control (Figura 11E), caracterizado por las múltiples vacuolas lipídicas provocando un desplazamiento del núcleo a la periferia. También se observó hiperplasia de conductos biliares (Figura 1A3), caracterizada por estructuras proliferadas, alargadas, el estroma muestra una expansión fibrosa con discreto filtrado celular, lo que puede deberse a procesos inflamatorios, sin embargo, no se muestra signos de necrosis hepatocelular. En este grupo también se observó una dilatación tubular renal (Figura 11D) con túbulos aumentados de tamaño y con contornos irregulares. Sin embargo, no se muestra alteraciones morfológicas o cambios en la arquitectura glomerular. Por otra parte, a nivel de colon se pueden observar alteraciones en las vellosidades y disminución de la altura epitelial. En la Figura 11F se puede observar pérdida de

la arquitectura del epitelio, desorganización de criptas con hiperplasia e inflamación conduciendo a una posible pérdida de la polaridad y función celular. Se observa pleomorfismo nuclear y la disminución de células calciforme. En términos generales el colon se muestra comprometido por la pérdida de su arquitectura, perdida de células calciformes y presencia de un epitelio aplanado. Estos resultados muestran un daño hepático significativo provocado probablemente por la administración de AOM/DSS.

Por otra parte, en el grupo AOM/DSS + *P. dulce*, el análisis independiente realizado por patólogo certificado reveló leve citomegalocitosis en el hígado (Figura 11H), los núcleos de los hepatocitos se muestran de mayor tamaño, hipercromáticos y con halo perinuclear. No se observaron alteraciones estructurales en los sinusoides hepáticas ni congestión vascular marcada, en general no se presenta un daño severo. De igual manera, en este grupo se observó una degeneración glucogénica leve. Con relación al colon, se observó atrofia en sus vellosidades y el epitelio columnar parcialmente conservado (Figura 11I). No se observa necrosis o desorganización completa del epitelio, sin embargo, se muestra infiltrado linfocitario moderado debido probablemente por una inflamación controlada.

En la Figura 1A1 se puede observar hepatocitos con citoplasma claro y finamente vacuolado, sin desplazamiento nuclear ni evidencia de necrosis. La disposición lobulillar del parénquima hepático permaneció intacta, sin infiltrado inflamatorio, necrosis ni fibrosis. Sin embargo, también se pudo observar en este grupo la presencia de filtrado inflamatorio mononuclear en las regiones periportales, adyacente a vasos sanguíneos prominentes, situaciones compatibles con una hepatitis perilobulillar leve (Figura A1B). No se observa una arquitectura dañada, fibrosis o regeneración nodular. En el análisis histopatológico del riñón del mismo grupo 3, muestra una congestión glomerular leve (Figura 11G). Se puede observar acumulación de eritrocitos en los capilares glomerulares, pero no se observa proliferación mesangial o infiltrado inflamatorio, tampoco alteración en la estructura basal del glomérulo.

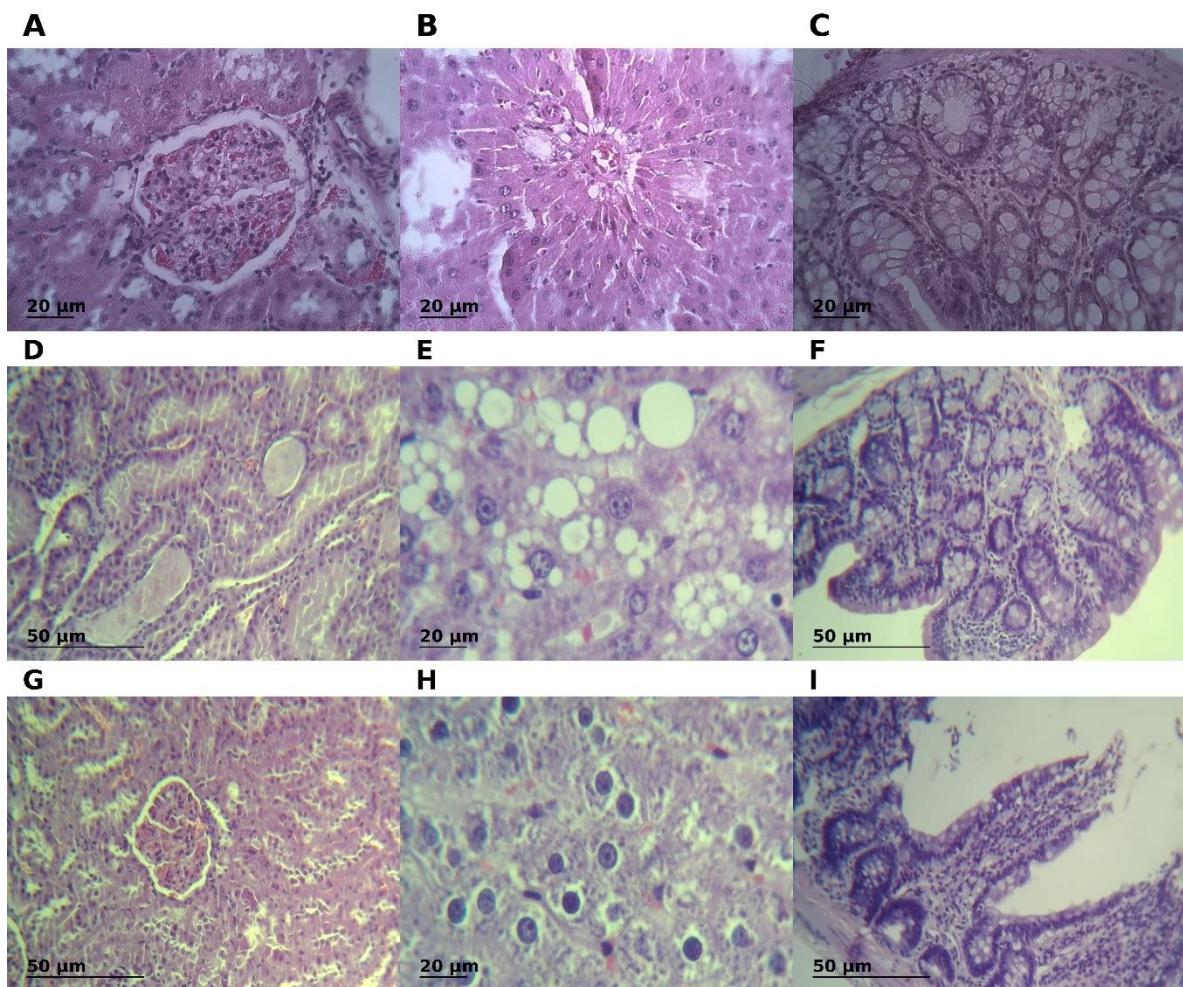


Figura 11. Análisis histopatológico de riñón, hígado y colon en ratas Sprague-Dawley pertenecientes al grupo control (A–C), grupo inducido por AOM/DSS (D–F), y grupo AOM/DSS + *P. dulce* al 10% (G–I). Se muestran cortes de riñón (A, D, G), hígado (B, E, H), colon (C, F, I). Las imágenes muestran cambios morfológicos asociados a los tratamientos del grupo AOM/DSS + *P. dulce* y del grupo AOM/DSS control, incluyendo alteraciones hepáticas (esteatosis, degeneración glucogénica y hepatitis perilobular), colónicas (atrofia de vellosidades, desorganización epitelial) y renales (dilatación tubular y congestión glomerular). Escala: 20 μm (A–C, E, H) y 50 μm (D, F, G, I).

7.4. Efecto del extracto de *P. dulce* sobre la actividad metabólica celular, la apoptosis, el ciclo celular, la necrosis y la expresión de genes proapoptóticos y antiapoptóticos

Como se muestra en la Figura 12, las concentraciones de *P. dulce* superiores a 10 mg/mL mostraron efectos citotóxicos (Figura 12a) al reducir la actividad metabólica

celular. Los cálculos de la concentración de dosis CL_{50} utilizando una curva ajustada a la dosis-respuesta (Figura 12b) mostraron que se necesita una concentración de 13,766 mg/mL para lograr la mitad de la muerte de las células. Con base en la composición de los extractos de *P. dulce*, la CL_{50} fue equivalente a $0,35 \pm 0,01$ µg eq. de ácido elágico/100 g EL, $5,36 \pm 0,06$ µg eq. de ácido 4-hidroxibenzoico/100 g EL, $112,63 \pm 6,28$ µg eq. de ácido gálico/100 g EL, $1,14 \pm 0,04$ µg eq. ácido sináptico/100 g EL, $5,05 \pm 0,09$ µg eq. ácido clorogénico/100 g EL, $0,63 \pm 0,02$ µg eq. ácido cafeico/100 g EL, $4,51 \pm 0,14$ µg eq. Ácido p-cumárico/100 g EL, $41,39$ µg eq. ácido ferúlico/100 g EL, $26,69 \pm 0,32$ µg eq. ácido 4-hidroxifenilacético, $2,17 \pm 0,02$ µg eq. (+)-catequina/100 g EL, $27,39 \pm 0,11$ µg eq. (-)-epicatequina, $2,18$ µg eq. (-)-epigalocatequina-3-O-galato/100 g EL, $4,07$ µg eq. de rutina/100 g EL y $2,84$ µg eq. de quercetina/100 g EL.

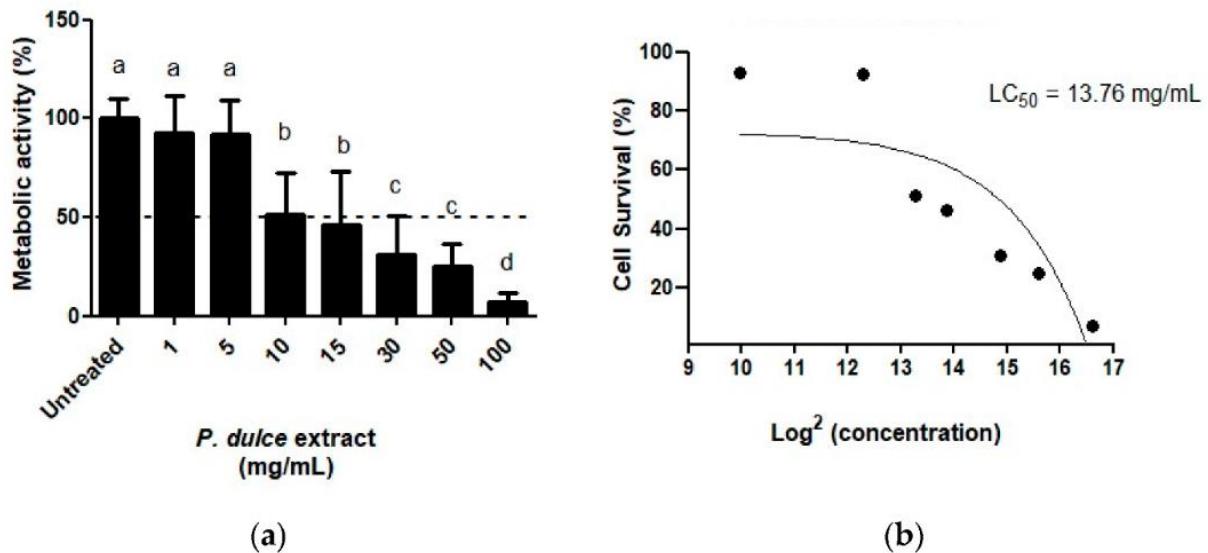


Figura 12. Evaluación de la citotoxicidad de los extractos de arilo de *P. dulce* en células de adenocarcinoma de colon SW480 humano. (a) Impacto de los extractos de *P. dulce* en la actividad metabólica celular. Los resultados se expresan como la media ± una DE de tres experimentos independientes por triplicado. Las letras diferentes representan diferencias significativas ($p < 0,05$) según la prueba de Tukey-Kramer. La línea discontinua en (a) indica una actividad metabólica del 80%. Se utilizaron células no tratadas como control negativo (DMEM + 0,5% de albúmina sérica bovina, BSA). Se utilizó Triton X-100 como control positivo. (b) Dosis-respuesta ajustada y cálculo de la concentración semiletal (CL_{50}). Los puntos negros representan el porcentaje de supervivencia en función de la concentración de extractos de arilo de *P. dulce* utilizados.

La Figura 13 mostró diferencias entre las células SW480 no tratadas y las tratadas con *P. dulce* solo para la expresión de Tp53 y KRAS, donde la expresión de ARNm

fue menor ($p < 0.05$) que en las células SW480 no tratadas. Por otra parte, para CTNNB1 y APC no se observaron cambios significativos ($p < 0.05$).

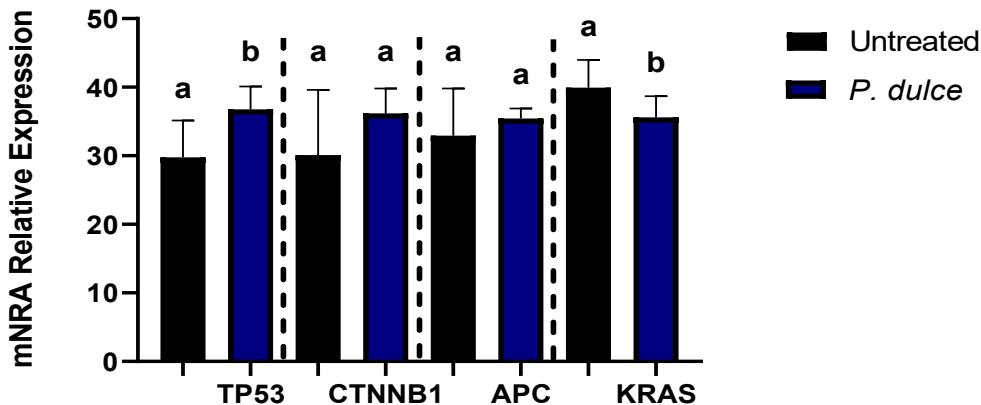


Figura 13. Expresión relativa ($2^{-\Delta Ct}$) normalizada a GDPH en células SW480. Efecto del extracto de *P. dulce* sobre la expresión de genes apoptóticos y antiapoptóticos. Los resultados se expresan como la media ± una DE de tres experimentos independientes por triplicado. Letras diferentes expresan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Se evaluaron dos tipos de muerte celular en células humanas SW480 después de su exposición a LC₅₀ de *P. dulce* (Figura 14). En la Figura 14A se presentan imágenes representativas de células vivas, muertas, apoptóticas tempranas y apoptóticas tardías, donde su cuantificación (Figura 14B) mostró las mayores cantidades de células vivas en el control negativo, como se esperaba, y la mayoría de las células tratadas con *P. dulce* en apoptosis temprana y tardía. Con respecto a la necrosis (Figura 14C), medida indirectamente por la liberación de lactato deshidrogenasa (LDH), no se mostraron diferencias entre las células no tratadas y las tratadas con LC₅₀ de *P. dulce*, lo que sugiere la ausencia de mecanismos necróticos en este modelo, aunque se deben evaluar parámetros adicionales relacionados con la necrosis para concluir completamente sobre este tipo de muerte celular. Los histogramas representativos de las poblaciones celulares en cada etapa del ciclo celular (Figura 14D) y su cuantificación (Figura 14E) indicaron que la mayoría de las células afectadas por los tratamientos con *P. dulce* se ubican en la etapa G0/G1, seguido de las fases G2/M y S.

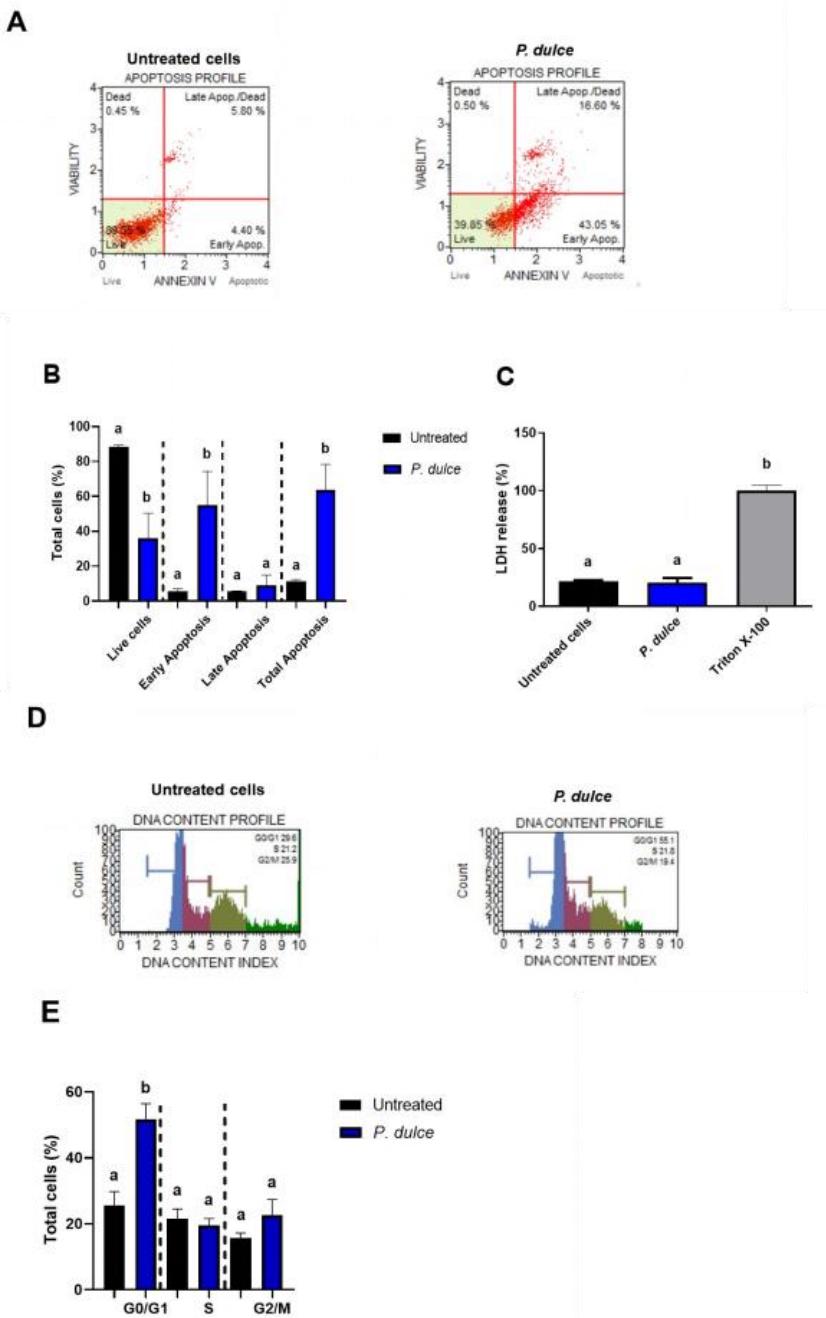


Figura 14. Efecto anticancerígeno después del tratamiento de células SW480 con dosis LC₅₀ de extracto de *P. dulce*. A) Imágenes representativas de la apoptosis de células SW480 después del tratamiento con LC50 de *P. dulce* analizadas mediante citometría de flujo. B) Cuantificación del total (%) de células vivas, muerte celular por apoptosis temprana, apoptosis tardía y apoptosis total. C) Liberación de lactato deshidrogenasa (LDH) tras el tratamiento de *P. dulce*. D) Imágenes representativas del efecto sobre el ciclo celular tras el tratamiento de *P. dulce*. E) Cuantificación (%) de células vivas en el ciclo celular. Letras diferentes expresan diferencias significativas ($p < 0,05$) según la prueba de Tukey-post hoc. Para (B, D), se realizó una evaluación estadística entre tratamientos para cada clasificación de muerte celular. Para (C), la evaluación estadística se completó entre todos los grupos. Las células no tratadas correspondieron a células no tratadas (DMEM + 0,5% de BSA). Para el ensayo de LDH, se utilizó Triton X-100 como control positivo.

VIII. DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el impacto del método de secado sobre el perfil fenólico (ácidos fenólicos y flavonoides) y la capacidad antioxidante de extractos de arilo de *P. dulce* (acuoso e hidroalcohólico), así como evaluar los efectos inhibitorios y pro-apoptóticos del mejor extracto obtenido, sobre células de adenocarcinoma de colon humano SW480, y su efecto quimiopreventivo en lesiones preneoplásicas de colon inducidas por AOM/DSS en ratas Sprague Dawley.

8.1. Impacto de los métodos de secado en el perfil fenólico y la capacidad antioxidante

Los resultados indicaron que las muestras secadas por liofilización presentaron menor contenido de polifenoles y menor capacidad antioxidante en comparación con las muestras secadas al horno. Estos hallazgos pueden explicarse por la ruta térmica de los enlaces entre los compuestos fenólicos y la matriz vegetal durante el secado por horno, esto puede inducir un aumento en la ruptura de la pared celular de la muestra, así como lo reportan en otras plantas. Por el contrario, el secado por liofilizado, al requerir bajas temperaturas minimiza las modificaciones térmicas, lo que provoca una menor cantidad de liberación de compuestos fenólicos principalmente de aquellos compuestos de alto peso molecular (Oyinloye & Yoon, 2020). Los resultados obtenidos son similares a los reportados por García et al. (2021) en hojas de *Urtica dioica* L., observando que el secado a una temperatura de 35 °C fue más efectivo que el secado por liofilización para extraer compuestos fenólicos de la muestra vegetal.

Nuestros resultados con respecto a la mayor cantidad de compuestos detectados de las muestras secadas al horno se pueden explicar por la separación inducida por calor de los polifenoles, originalmente unidos a la matriz de la planta y los compartimentos subcelulares, produciendo agliconas fenólicas. Al someterse a un incremento en la temperatura (calor), los compuestos fenólicos unidos a la pared celular pueden liberarse, acompañado de la inactivación térmica de enzimas

degradantes como la polifenol oxidasa. Además, se pueden generar nuevos antioxidantes como productos de la reacción de Maillard (melanoidinas) resultantes de la reacción química térmica (García et al., 2021). La reacción de Maillard es una reacción de pardeamiento no enzimático compleja que ocurre entre azúcares reductores y aminoácidos en presencia de calor, formando melanoidinas con propiedades antioxidantes. Se ha observado, por ejemplo, al tostar café, los ácidos clorogénicos se incorporan a las melanoidinas, principalmente en forma condensada, mientras que una porción menor permanece unida a ésteres. Una parte de los ácidos clorogénicos permanece intacta y su grado de incorporación depende del contenido inicial (Lim & Murtijaya, 2007).

Aunque la liofilización se ha destacado como uno de los mejores métodos para conservar los polifenoles, las muestras de vegetales secos (30–120 °C) han presentado una mayor cantidad de compuestos bioactivos que las muestras liofilizadas (Liu et al., 2018). Por lo tanto, es necesaria una investigación exhaustiva sobre las interacciones únicas entre los compuestos bioactivos y la matriz alimentaria, ya que las diferentes estructuras biológicas y características fisicoquímicas afectan definitivamente el rendimiento de los compuestos bioactivos (Nunes et al., 2016). Además, se necesita más investigación sobre los mejores disolventes para extraer los compuestos, ya que no existe un disolvente universal que ofrezca una extracción óptima de polifenoles (Alara et al., 2021; Boeing et al., 2014). Investigaciones anteriores han utilizado etanol, metanol, agua y varias mezclas para extraer compuestos fenólicos sin ninguna tendencia clara en cuanto a cuál es el mejor disolvente para este propósito. Se ha encontrado que los extractos acuosos son menos puros porque el agua también extrae azúcares y proteínas solubles, entre otros compuestos (Vargas-Madriz et al., 2020).

Los valores reportados en esta investigación para TPC en extractos acuosos coinciden con los de otros reportes (Manna et al., 2011; Megala & Geetha, 2010). En extractos hidroalcohólicos, los valores de TPC son menores a los reportados por Rao et al. (2011) pero mayores a los reportados por otros autores (Kubola et al.,

2011; Pío-Leónet al., 2013; Suganthy & Josephine, 2018). Por otro lado, los valores de TFC fueron menores a los reportados para extractos hidroalcohólicos, lo cual puede ser atribuible a factores agroclimáticos, maduración del fruto y lugar de cosecha (Vargas-Madriz et al., 2020).

P. dulce contiene menor cantidad de TFC que otras plantas silvestres, como *Psidium guajava* Linn o *Pouteria campechiana* (Kubola et al., 2011). Las cantidades de compuestos identificados usando HPLC-DAD concuerdan con otros reportes para *P. dulce* (Vargas-Madriz et al., 2020), pero el proceso de secado afecta significativamente la cantidad de cada polifenol identificado. Por ejemplo, la liofilización puede resultar en un contenido menor de ciertos polifenoles que los procedimientos de secado en horno (Silva et al., 2020). Es plausible que durante el proceso de liofilización los derivados conjugados y de alto peso molecular permanezcan conservados en su forma nativa. La ausencia de ácido elágico y ácidos hidroxicinámicos en las muestras liofilizadas, en comparación con las muestras secadas en horno, apoyarían esta hipótesis. En el proceso de secado por liofilización, se ha observado que la congelación lenta puede causar la ruptura de la pared celular por la formación de grandes cristales de hielo que se difunden hacia el exterior (Nowak et al., 2016).

En nuestro estudio, probablemente ocurrió una congelación rápida, preservando los cristales de hielo dentro de la pared celular y manteniendo así intactos los compuestos fenólicos. Este efecto también puede ser favorecido por el tipo de tejido vegetal, como lo reportan Nowak et al. (2016), quienes destacaron la influencia de la integridad del tejido interno del material vegetal en la eficiencia de la liofilización (Bhatta et al., 2020). El secado en horno, por otro lado, facilita la hidrólisis térmica de los conjugados, dando lugar a la presencia de compuestos fenólicos como el ácido cafeico y ferúlico en sus formas libres. Además, es probable que se generen nuevos compuestos antioxidantes, probablemente debido a la disponibilidad de precursores fenólicos por interconversión no enzimática entre moléculas de compuestos fenólicos (Li et al., 2021), como se mencionó anteriormente.

Diversos estudios han demostrado que los compuestos bioactivos derivados de plantas como el ácido gálico, catequina, quercetina y epicatequina, pueden ser útiles en la prevención o tratamiento de diferentes enfermedades metabólicas, incluido el cáncer, debido a sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y su efecto regulador en la proliferación celular y protección contra el daño oxidativo del ADN (Villota et al., 2022). Existen valiosas oportunidades para la investigación de productos naturales que contengan compuestos bioactivos con efectos anticancerígenos y menos efectos secundarios que los tratamientos actuales, dentro de los cuales los alimentos de origen vegetal y sus extractos son una opción viable (Sithara et al., 2017).

En este estudio, el secado por horno a 40 °C y la extracción metanólica al 80% (80:20 v/v) presentó la mayor concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante comparado con la extracción etanólica y acuosa en los dos métodos de secado. De igual manera, por medio del secado por horno se detectaron 14 compuestos fenólicos por HPLC-DAD, siendo la catequina, epicatequina, epigalocatequina-3-O-galato (EGCG), rutina, quercetina, ácido gálico y ácido ferúlico los compuestos mayoritarios. También se identificaron en el arilo de *P. dulce* el ácido hidroxifenilacético, ácido hidroxibenzoico, ácido sináptico, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido p-cumárico. En contraste, el secado por liofilizado se observaron menores concentraciones y, en varias extracciones (metanólicas, etanólicas y acuosas), no se detectaron algunos compuestos como el ácido elágico, ácido cafeico, ácido ferúlico y rutina, lo que evidencia que el efecto térmico favorece la liberación de los compuestos fenólicos de la matriz vegetal, inactivando enzimas de oxidación como la polifenol oxigenasa.

8.2. Análisis proximal del arilo de *P. dulce* y caracterización de la dieta experimental

El análisis proximal de las muestras analizadas no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los diferentes tipos de secado. Esto sugiere que ambos métodos de secado conservan adecuadamente los componentes nutricionales

básicos en el arilo de *P. dulce*. Por otro lado, los pellets rehidratados del polvo seco del arilo; utilizados para el estudio *in vivo*, presentaron una pequeña disminución en el contenido de proteínas y fibra en comparación con el arilo secado al horno, sin ser estadísticamente significativo. Esto indica que el proceso para reformular el pellet a partir de la harina del arilo de *P. dulce* no compromete el valor nutrimental. Estos hallazgos no están comúnmente reportados en la literatura científica, sin embargo, estudios actuales han demostrado que algunas leguminosas secadas y rehidratadas presentan cambios estructurales, debido al daño en la pared celular, sin presentar cambios en el perfil nutrimental (Aravindakshan et al., 2021).

La formulación de la dieta experimental para los grupos 2 (*P. dulce*) y 3 (AOM/DSS + *P. dulce*) que fue realizada con el pellet del arilo de *P. dulce* al 10% sobre el alimento estándar (Nutricubo®), presentó una ligera modificación en el perfil nutrimental con relación a la dieta estándar, principalmente en el contenido de proteína y grasa, así como un ligero aumento en el contenido de fibra e hidratos de carbono comparado con la dieta estándar. Sin embargo, la dieta experimental mantiene los niveles nutricionales adecuados. Otros estudios han demostrado que la suplementación de dietas con diferentes plantas representa modificaciones mínimas en los valores nutricionales de la dieta de los animales sin comprometer los parámetros bioquímicos y la salud en general de los animales (Al-Assaff & Tahruri, 2019).

8.3. Efecto quimiopreventivo del arilo de *P. dulce* sobre lesiones preneoplásicas de colon

Con relación al estudio *in vivo*, la ganancia de peso en los animales de los cuatro grupos (control, *P. dulces*, AOM/DSS + *P. dulce* y AOM/DSS control) se mostró un aumento sostenido durante las 16 semanas. Esto indica que la administración del arilo de *P. dulce* no provocó efectos adversos como pérdida de peso. Este resultado es importante, ya que una reducción de peso podría indicar toxicidad, malabsorción o estrés en los animales, lo cual complicaría la interpretación de los efectos del tratamiento en las lesiones preneoplásicas (Moreno-Celis et al., 2017). Los

resultados son similares a lo reportado por otros autores donde la ganancia de peso disminuye las primeras semanas y se regula a las 16 semanas (Kuri-García et al., 2019b; Moreno-Celis et al., 2017).

En otros estudios realizados en modelos murinos con inducción de carcinogénesis colorrectal mediante AOM/DSS, se ha reportado una disminución en el consumo del alimento posterior a la administración, atribuida a los efectos antinutricionales y a la respuesta inflamatoria generada por el modelo (Dzhalirova et al., 2023; Fazio et al., 2011). En contraste, en nuestro estudio no se muestran este impacto negativo en el consumo de alimento, lo que sugiere que el arilo de *P. dulce* no causa un efecto adverso a nivel gastrointestinal y puede estar atenuando estos efectos negativos provocados por la administración del AOM/DSS, los hallazgos podrían explicarse por los compuestos bioactivos del arilo como la catequina, kaempferol que han demostrado tener propiedades antiinflamatorias y antioxidante (Afrin et al., 2020; Jaramillo-Carmona et al., 2014).

En la literatura se menciona que el DSS induce daño intestinal transitorio, y los animales suelen adaptarse parcialmente al estrés del tratamiento hacia la 4^a o 5^a semanas. Este periodo de "adaptación" podría explicar un rebote en el consumo de alimento en el grupo AOM/DSS Control, esto debido probablemente a la inflamación por el DSS que puede estar provocando incremento en las demandas energéticas, disminución en la motilidad intestinal y en la absorción de nutrientes. Los resultados son similares a lo reportado por Kuri-García et al. (2019b) donde el consumo de alimento tiende a estabilizarse a medida que avanza el tiempo, lo cual podría interpretarse como una adaptación al tratamiento o una resolución del estrés inicial del modelo murino AOM/DSS.

Diferentes estudios han demostrado que los modelos murinos administrados con AOM/DSS provocan diarrea y pérdida de agua corporal, lo que podría explicar el aumento de consumo de agua de bebida en esos estudios (Al-Assaff & Takruri, 2019). En nuestro estudio, los grupos AOM/DSS + *P. dulce* y AOM/DSS Control

mostraron una disminución aunque no significativa en el consumo de agua, posterior a la administración del AOM/DSS; sin embargo, en las semanas subsecuentes el consumo de agua se estabilizó y se mantuvo comparable con el grupo control. Esto podría atribuirse al daño intestinal provocando alteraciones en la motilidad o absorción de líquidos afectando la sensación de sed. La administración del AOM/DSS puede haber inducido una inflamación menos severa, resultando en una menor pérdida de líquidos y, por ende, una menor necesidad de compensación hídrica (Sun et al., 2023).

En el presente estudio, el modelo murino inducido por AOM/DSS mostró una disminución significativa en el peso del hígado, esto puede estar asociado a procesos inflamatorios sistémicos y estrés oxidativo generado por estos reactivos, por lo cual esto puede alterar el metabolismo hepático y afectar la síntesis de glucógeno, lo que lleva a una reducción en el peso del hígado (Sewduth & Georgelou, 2024). Esta reducción podría estar asociada con el desarrollo de esteatosis o daño hepáticos inducido por el modelo, como se ha reportado previamente en estudios relacionados (Kuri-García et al., 2019a). Además, diferentes estudios han observado que el modelo inducido por AOM/DSS genera dislipidemia y niveles de glucosa elevados debido a inflamación sistémica y daño hepático (Al-Assaff & Takruri, 2019; Kuri-García et al., 2019a). Esto concuerda con los resultados observados en el presente estudio. Investigaciones previas han demostrado que compuestos bioactivos como los presentes en el arilo de *P. dulce*, principalmente la catequina, epicatequina, quercetina, rutin y ácido gálico, pueden mejorar la homeostasis metabólica y lipídica al reducir el estrés oxidativo y la inflamación (Murugesan et al., 2019).

Los resultados bioquímicos observados en nuestro estudio son comparables a lo reportado en otros trabajos donde se menciona que el modelo inducido con AOM/DSS provoca daños a nivel renal (Ranganathan et al., 2013). En nuestro estudio, los grupos tratados con AOM/DSS y AOM/DSS + *P. dulce* presentaron concentraciones elevadas en los niveles de urea y BUN (Tabla 11). Esto indica que

el consumo sostenido del arilo de *P. dulce* no logró disminuir de manera significativa el daño renal en este modelo. En la literatura se ha demostrado que los compuestos fenólicos presentes en el arilo de *P. dulce* como la catequina, epicatequina, quercetina y ácido gálico tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, sin embargo, estos resultados sugieren que la sinergia de los compuestos fenólicos, en la dosis administrada, no es suficiente para revertir el daño renal causado por el estrés metabólico y los procesos inflamatorios asociados a este modelo (Dhanisha et al., 2022a; Murugesan et al., 2019).

Por otro lado, los resultados observados en este estudio a nivel hepático muestran un patrón similar al descrito por Kuri-García et al. (2019b) donde destacan que el modelo murino administrado con AOM/DSS provoca daño hepático significativo debido a la inflamación sistémica, daño oxidativo y estrés metabólico. Este daño se refleja en alteraciones en FA y TGO/AST (Tabla 11), como se observa en los datos del grupo AOM/DSS Control. Los compuestos fenólicos como antioxidantes son capaces de mitigar el daño hepático al neutralizar especies reactivas de oxígeno y modular la inflamación. Esto se alinea con los efectos protectores observados en el grupo tratado con AOM/DSS + *P. dulce*. Los compuestos fenólicos y antioxidantes del arilo de *P. dulce* podrían tener un impacto positivo en la modulación de la inflamación y el estrés oxidativo al neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS) y modular vías inflamatorias a través de la activación de Nrf2 y la inhibición de NF-κB (Afrin et al., 2020; Cháirez-Ramírez et al., 2021).

Adicionalmente, los estudios realizados por Servais et al. (2018) y Kuri-García et al. (2019b) han demostrado que extractos ricos en flavonoides pueden atenuar la leucocitosis y trombocitosis que se ha destacado como respuesta inflamatoria crónica en modelos inducidos por AOM/DSS, estos resultados concuerdan con lo observado en este estudio al tener una ligera reducción en el conteo de leucocitos en el grupo AOM/DSS + *P. dulce*, mientras que los valores de plaquetas se mantuvieron sin cambios significativos. Estos hallazgos sugieren que, aunque el efecto a nivel renal no fue significativo, los compuestos del arilo de *P. dulce* como

la catequina, epicatequina, quercetina y ácido gálico podrían estar participando en la modulación sistemática, principalmente a nivel de hígado y en los parámetros hematológicos, favoreciendo un ambiente menos proinflamatorio que contribuye a una menor severidad histológica observada en colon.

Los resultados reportados en los análisis histopatológicos de riñón, colon e hígado en el grupo AOM/DSS control y AOM/DSS + arilo de *P. dulce* mostraron algunas alteraciones. En el grupo AOM/DSS control, se encontró esteatosis hepática, hiperplasia de conductos biliares y expansión estromal fibrosa, pero sin presentar evidencias de necrosis. Estos resultados son similares a los reportados por otros autores donde observan daño hepatotóxico inducido por carcinógenos como el AOM (Sewduth & Georgelou, 2024). A nivel renal también se observó dilatación tubular, con túbulos agrandados e irregulares, lo cual también está previamente reportado en otros estudios como un efecto de la administración de DSS en este modelo animal (Chang et al., 2019). El colon fue el órgano con más daño presentando una disminución de la altura epitelial perdida de células caliciformes, alteración en la arquitectura cripta-lumen y núcleos hipercromáticos. Estos daños presentados a nivel de colon han sido reportados también en este tipo de animales al administrar el AOM/DSS el cual provoca una colitis y procesos proinflamatorios (Sewduth & Georgelou, 2024).

Por otro lado, el grupo AOM/DSS + arilo de *P. dulce*, mediante el análisis histopatológico, se presentaron notables daños en hígado, riñón y colon, pero no tan agraviantes con el grupo AOM/DSS control. En el grupo AOM/DSS + arilo de *P. dulce*, a nivel de hígado se detectó citomegalocitosis y degeneración glucogénica leve en los roedores, así como hepatitis perilobulillar, sin presentar necrosis o fibrosis, además, el parénquima hepático se mantuvo íntegro. El análisis histopatológico en el mismo grupo AOM/DSS + arilo *P. dulce* a nivel renal se observó congestión glomerular, pero sin presentar daño en la membrana basal o proliferación mesanginal. Estos hallazgos sugieren que los compuestos bioactivos del arilo de *P. dulce* podrían estar atenuando el daño provocado por la

administración de AOM/DSS en el modelo murino. Algunos compuestos fenólicos como la catequina, ácido gálico, ácido elágico y quercetina han demostrado tener efectos hepatoprotectores, nefroprotectores así como propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Murugesan et al., 2019).

El mecanismo de acción de estos compuestos depende de su estructura química, por ejemplo, la catequina y epicatequina mediante sus grupos hidroxilos pueden atenuar las especies reactivas de oxígeno (ROS) al donar sus electrones, esto activa la vía de antioxidantes dependiente de Nrf2, lo que provoca una activación de enzimas endógenas como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatióperoxidasa (GPx) (Afrin et al., 2020; Alam et al., 2018). Por otro lado, la quercetina debido a su estructura química, esta inhibe la activación del factor nuclear NF-κB lo que provoca una regulación negativa en citocinas proinflamatorias como TNF-α, IL-1β e IL-6, esto permite disminuir el daño tisular provocado por la inflamación crónica (Lyubitelev & Studitsky, 2023; Maugeri et al., 2023). El ácido gálico y ácido elágico han demostrado en otros estudios mantener la estructura funcional de las membranas celulares y órganos, así como regular la expresión de genes relacionados con el equilibrio redox (Silva-Pinto et al., 2025). Estos mecanismos de acción de los compuestos fenólicos reportados en el arilo de *P. dulce* coinciden con lo observado en el presente estudio, donde el grupo tratado con AOM/DSS + *P. dulce* presenta menor alteraciones histopatológicas.

Diversos estudios han demostrado que los compuestos fenólicos como los reportados en el arilo de *P. dulce* pueden interferir en etapas tempranas del cáncer de colon al disminuir el daño tisular y la pérdida de células calciformes (Kuri-García et al., 2019a; Kuri-García et al., 2019b; Rosa et al., 2016). Estos hallazgos proponen que el arilo puede ser un coadyuvante dietario quimiopreventivo.

Los cambios histológicos observados en el presente estudio se deben probablemente a la acción de los compuestos fenólicos mayoritarios que se reportaron en el arilo de *P. dulce*. Se ha demostrado que la catequina y epicatequina

tienen propiedades para quelar hierro/cobre y reducir la propagación de radicales, protegiendo de esta manera las membranas del hígado y riñón (Afrin et al., 2020; Lyubitelev & Studitsky, 2023).

Por otro, la EGCG está asociado a la activación de Nrf2, elevando enzimas antioxidantes endógenas y de esta manera atenuar la acción oxidativa, además se relaciona con la inhibición de COX-2/iNOS, y la reducción de PGE₂ en colon, regulando así los procesos proinflamatorios a nivel local (Afrin et al., 2020; Alam et al., 2018; Lyubitelev & Studitsky, 2023). La quercentina y el ácido elágico podrían estar inhibiendo a NF-κB, y reducir así la acción de TNF-α, IL-1β e IL-6 (Lyubitelev & Studitsky, 2023; Maugeri et al., 2023). En general la sinergia de estos compuestos podría estar explicando el efecto antiinflamatorio y el mantenimiento de la integridad tisular relativa que se observó en riñón, hígado y colon en el grupo AOM/DSS + *P. dulce* comparado con el grupo AOM/DSS control. Estos efectos se pueden observar a nivel molecular, con el aumento de p53 que promueve el arresto del ciclo celular y la muerte por apoptosis, también la disminución de KRAS, que está relacionado a la inhibición de vías proliferativas como MAPK/ERK y PI3K/AKT, limitando así la progresión de lesiones preneoplásicas en colon (Meng et al., 2021; Tang et al., 2021; Teixeira-Guedes et al., 2019).

8.3.1. Relación dosis-respuesta y biomarcadores mecanísticos

En los resultados de este estudio, se observó que el arilo de *P. dulce* presentó efectos quimiopreventivos en el modelo murino tratado con AOM/DSS. Sin embargo, al evaluar solo la dosis administrada (10%) del arilo de *P. dulce* puede delimitar el umbral mínimo efectivo y descarta respuestas bifásicas de los compuestos fenólicos (Cid-Gallegos et al., 2023). El estudio realizado por Tajasuwan et al. (2022) demostraron que la pulpa de arroz desgrasada (*defatted rice bran*) en diferentes dosis disminuyó el número de focos de criptas aberrantes, así como marcadores inflamatorios como NF-κB, COX-2 e IL-6 en el modelo AOM/DSS, presentando mejores efectos protectores en dosis más elevadas. En

futuras investigaciones se recomienda incorporar tres niveles de dosis ($0.5\times$, $1\times$ y $2\times$ de la dosis actual) en este modelo y así realizar correlaciones con el número/tamaño de focos de criptas aberrantes y el puntaje histológico con procesos mecanísticos: activación de Nrf2 (HO-1, NQO1, GCLC) e inhibición de NF-κB (p65, COX-2, TNF-α). Esto garantizará de manera cuantitativa analizar el efecto del arilo de *P. dulce* sobre células dianas biológicas clave en carcinogénesis colorrectal y fortalecerá los posibles efectos quimiopreventivos del arilo de *P. dulce*.

8.4. Efectos del extracto de *P. dulce* en la actividad celular y expresión génica

Con relación al estudio *in vitro*, el extracto metanólico (80:20 v/v) del arilo de *P. dulce* demostró efectos antiproliferativos en células SW480 (ATCC CCL-228), con una CL₅₀ de 13,76 mg/mL, mediante el ensayo de MTT tras 24 horas de exposición a concentraciones de 1, 5, 10, 15, 30, 50, y 100 mg/mL. Este valor puede considerarse alto en comparación con estudios previos donde las concentraciones de CL₅₀ se manejan en µg/mL. Dhanisha et al. (2022b) observaron efectos citotóxicos utilizando un extracto de metanol/agua al 50% de arilo de *P. dulce* en líneas celulares A549 y B16F10 (adenocarcinoma epitelial basal alveolar). Sus resultados mostraron valores de CL₅₀ de 119 y 114 µg/mL, concentraciones inferiores a las reportadas en el presente estudio. En otro estudio utilizando el mismo extracto, estos autores observaron citotoxicidad en células DLA (células ascíticas del linfoma de Dalton) con valores de CL₅₀ de 50, 100 y 250 µg/mL (Dhanisha et al., 2022b). Otros estudios han reportado los efectos citotóxicos y antiproliferativos de diferentes partes del árbol de *P. dulce*. Por ejemplo, Alhamed et al. (2023) determinaron los efectos citotóxicos de la semilla de *P. dulce* usando un extracto metanólico al 80% v /v en la línea celular de cáncer de colon Lovo (células epiteliales). Su estudio encontró que 3 µg/mL del extracto de semilla redujeron la viabilidad de las células Lovo en un 50% (IC₅₀). Por otro lado, Sharma (2016) usó un extracto acuoso de hojas de *P. dulce* en células MCF-7 (carcinoma de mama humano), demostrando un efecto citotóxico dependiente de la dosis con una concentración IC₅₀ de 400 µg/mL.

Estos estudios indican que el efecto antiproliferativo de los extractos de *P. dulce* varía entre diferentes líneas celulares, lo que puede deberse a la susceptibilidad de las líneas celulares a los compuestos bioactivos en los extractos de *P. dulce* (Rao et al., 2019). Por otra parte, la CL₅₀ obtenida en esta investigación no invalida la efectividad observada; la variabilidad en las métricas podría explicarse por los diferentes objetivos evaluados en los estudios (inhibición vs. letalidad), los métodos experimentales, la concentración de compuestos bioactivos presentes en el extracto, o incluso las características específicas de las líneas celulares utilizadas (Rao et al., 2019; Vargas-Madriz et al., 2023b).

La diferencia entre IC₅₀ y CL₅₀ es crucial para interpretar los resultados de este estudio. En el caso de la IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50, por sus siglas en inglés), se refiere a la concentración necesaria para inhibir el 50% de la actividad biológica (proliferación de células tumorales o actividad enzimática), por otro lado, la CL₅₀ (Concentración letal 50) es la concentración letal para el 50% de las células, indica toxicidad en general. El índice de selectividad (SI = IC₅₀/CL₅₀) es un valor determinante para estimar el potencial terapéutico de los compuestos. Cuando el SI es cercano a 1, esto indica que el extracto posee alta toxicidad y no tiene un efecto terapéutico, por otra parte, un SI > 10 indica que el extracto tiene actividad biológica específica y no provoca toxicidad en células normales. En el presente estudio el valor de CL₅₀ del extracto del arilo relativamente alto, menciona que bajo en toxicidad, por lo tanto, los resultados respaldan que el extracto puede funcionar como un potencial agente quimiopreventivo, lo que puede ser una ventaja para aplicaciones terapéuticas en las que se busca un efecto más selectivo sobre las células cancerosas y potencialmente minimizar los efectos adversos sobre las células sanas (Vargas-Madriz et al., 2023b). Sin embargo, se deben de realizar más estudios para demostrar efectos apoptóticos en estas líneas celulares (Sharma, 2016).

La inhibición observada del crecimiento celular en células SW480 causada por los efectos citotóxicos del extracto de arilo de *P. dulce* puede deberse a uno o más

componentes bioactivos de esta planta como la catequina, epicatequina, quercetina y ácido elágico que fueron identificados en el perfil fenólico del arilo. Estos compuestos fenólicos han demostrado tener efectos de modulación en rutas moleculares relacionadas a la apoptosis, arresto del ciclo celular y la regulación del estrés oxidativo, principal característica en los diferentes modelos de cáncer colorrectal (Afrin et al., 2020; Silva-Pinto et al., 2025). Se ha observado que la quercetina inhibe la activación del factor nuclear NF-κB, y por consiguiente disminuye la acción de las citocinas proinflamatorias (TNF-α, IL-1β e IL-6) promoviendo así la apoptosis con la activación de las caspasas 3 y 9 (Zhang et al., 2015). En otros estudios se ha observado que la catequina y epicatequina promueven el arresto celular en las fases G1 y G2/M (Tsouh Fokou et al., 2025). Por otra parte, el ácido elágico y gálico induce el arresto celular en la fase G1 mediante la modulación de p21 y p53, además de regular las vías MAPK y PI3K/AKT (Sanchez-Martin et al., 2022). La acción sinérgica de estos compuestos sugiere que el extracto del arilo de *P. dulce* podría estar ejerciendo una modulación en el ambiente tumoral e inhibir el crecimiento celular.

Además de los efectos citotóxicos, es importante comprender el tipo de muerte celular que puede inducir el extracto de *P. dulce* y los mecanismos que conducen a este tipo de muerte celular. Como es bien sabido, la apoptosis es un mecanismo de muerte celular controlada que evita la proliferación celular descontrolada (Sithara et al., 2017). Durante la carcinogénesis de colon, las células transformadas proliferan de forma descontrolada, por lo que los extractos o compuestos capaces de activar la muerte celular vía apoptosis se consideran agentes anticancerígenos en la terapia del cáncer de colon (Sithara et al., 2017). En nuestro estudio, las concentraciones LC₅₀ del extracto metanólico de *P. dulce* resultaron en significativamente más células experimentando apoptosis total que el control. Estos resultados son similares a los reportados por Dhanisha et al. (2022a), donde el extracto metanólico de arilo de *P. dulce* causó daño a nivel de la membrana celular en células DLA, conduciendo a la fragmentación del ADN y apoptosis.

En este estudio, los autores analizaron los efectos del extracto de *P. dulce* en las fases del ciclo celular, mostrando un aumento en la fase G0/G1. En los mamíferos, las células sanas están controladas por varios complejos proteicos formados por ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas. Las células sanas deben pasar por las fases G1, S, G2 y M a través de un mecanismo controlado para generar dos nuevas células. Sin embargo, en el caso del cáncer colon, las células malignas proliferan sin este control (Mišković Špoljarić et al., 2023). Se ha observado que algunos compuestos fenólicos pueden intervenir en la regulación del ciclo celular en células de cáncer de colon. Por ejemplo, se ha demostrado que el ácido cafeico tiene propiedades anticancerígenas en células SW480, deteniendo el ciclo celular en la fase G0/G1 (Rosa et al., 2016).

Además, se ha demostrado que el ácido cafeico tiene efectos antiproliferativos en células de cáncer de colon HT-29 y HCT-15, con el efecto propuesto posiblemente mediado por compuestos fenólicos presentes, que causan un arresto del ciclo celular en la fase sub-G1, así como daño a nivel de la membrana celular a través de la generación de ROS, activando así p53, regulando positivamente Bax y regulando negativamente Blc2 (Jaganathan, 2012). En otro estudio, el ácido gálico demostró efectos antiproliferativos en células SW480, y sus efectos se analizaron en diferentes fases del ciclo celular, causando un arresto del ciclo celular en las fases S y G2/M, posiblemente debido a alteraciones en la replicación del ADN (Sanchez-Martin et al., 2022). Además, se ha demostrado que la epigalocatequina inhibe la actividad de las quinasas dependientes de ciclina p27 y p21 (Mišković Špoljarić et al., 2023). Se ha demostrado que otro compuesto fenólico identificado en el arilo de *P. dulce*, la rutina, tiene efectos citotóxicos en las células SW480 y mejora el metabolismo en estas células al detener el ciclo celular en la fase G1, lo que conduce a la apoptosis (Nouri et al., 2020).

En el presente estudio, se observó un aumento significativo en la expresión de Tp53 y una disminución en la expresión de KRAS, dos genes antagónicos que realizan las funciones de apoptosis y proliferación celular, respectivamente (Wang et al.,

2022). Tp53 es un gen supresor de tumores (que codifica la proteína p53) que se encuentra en estado activo y está relacionado con la apoptosis y el arresto del ciclo celular cuando se detecta daño en el ADN (Sheikhnia et al., 2023).

El gen diana p21 es un miembro de los inhibidores de quinasas dependientes de ciclina (reguladores del ciclo celular). Se encuentra aguas abajo de p53 y participa en el arresto celular de las fases G1, S y G2/M inducidas por p53 y otros genes (Li et al., 2019). Durante el cáncer de colon, la proteína p53 suele estar suprimida, lo que conduce a una reducción en la transcripción de genes que promueven la apoptosis, permitiendo la proliferación descontrolada de células cancerosas (Peng et al., 2023; Rao et al., 2019; Sheikhnia et al., 2023).

En nuestro estudio, el incremento en la expresión de Tp53 puede deberse a los compuestos bioactivos presentes en el extracto de *P. dulce*. Esto sugiere que los compuestos fenólicos podrían estar reactivando la función de p53, promoviendo la detención del ciclo celular en la fase G1 e induciendo muerte celular programada (Cháirez-Ramírez et al., 2021). Otros estudios han observado que algunos compuestos fenólicos como la quercetina, ácido ferúlico, ácido cafeico, (-)-Epigalocatequina-3-O-galato; encontrados en el arilo de *P. dulce*, regulan positivamente las proteínas p53, p21 y p27. Esto puede ocurrir por el aumento de la acetilación o fosforilación de p53, lo que provoca la detención del ciclo celular G0/G1, mejora su estabilización y unión al ADN e induce apoptosis; esto en diferentes tipos de líneas celulares de cáncer como ME180, CRPC, HaCaT (Anantharaju et al., 2016; Cháirez-Ramírez et al., 2021). Nuestros resultados coinciden con los reportados por Dhanisha et al. (2022a), quienes demostraron que el extracto metanólico del arilo de *P. dulce* indujo apoptosis en células DLA (Dalton's lymphoma ascites) mediante el aumento de la expresión de p53, de caspasas 3 y 9, y la regulación negativa de Bcl-2 y Bcl-XL, así como la inhibición de NF-κB y citocinas proinflamatorias. En su estudio, las concentraciones fueron de 50, 100 y 250 µg/mL, siendo este ultima concentración la que presentó mayor actividad proapoptótica a las 24 horas. Aunque en nuestro estudio con células SW480 se

utilizaron concentraciones más elevadas (1 a 100 mg/mL), se observó un patrón consistente en la inhibición del crecimiento celular y la inducción de apoptosis, esto evidencia que los compuestos fenólicos reportados en el arilo como catequina, epicatequina, quer cetina, ácido gálico y ácido elágico podrían estar modulando las vías similares. Por lo tanto, esto podría indicar que el extracto de *P. dulce* ejerce un efecto anticancerígeno a nivel *in vitro*, evidenciado en líneas celulares transformadas SW480.

El gen APC es otra proteína supresora de tumores que está mutada en el cáncer de colon. La mutación de esta proteína impide la degradación de β -catenina, activando así la vía Wnt, que inhibe las enzimas implicadas en la apoptosis, como la caspasa 3, la caspasa 9 y el citocromo c, lo que permite que las células malignas evadan la apoptosis y provoquen la progresión del cáncer de colon (Ismail et al., 2019). Sin embargo, en el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas en la expresión de APC y β -catenina.

KRAS, por su parte, es un oncogén que regula el crecimiento y diferenciación celular. En estado inactivo, puede unirse a GDP (guanosín difosfato), y en estado activo, puede unirse a GTP (guanosín trifosfato). En condiciones normales, ambos estados se alternan (Meng et al., 2021). Sin embargo, KRAS se encuentra frecuentemente mutado en el cáncer de colon, provocando que la proteína permanezca en estado activo sin poder ser inactivada. Esto conlleva a la activación de vías de señalización descendentes de KRAS que promueven la proliferación y supervivencia celular, como la vía MAPK/ERK y la vía PI3K/AKT (Sheikhnia et al., 2023; Teixeira-Guedes et al., 2019; Vargas-Madriz et al., 2023b). En consecuencia, se produce crecimiento, proliferación y supervivencia celular con resistencia a la apoptosis. En el presente estudio, este oncogén presenta una disminución significativa en su expresión tras el tratamiento con extracto de *P. dulce*. Esta disminución podría estar relacionada con una reducción en la activación de ERK y AKT, lo que provoca el arresto del ciclo celular y muerte por apoptosis (Anantharaju

et al., 2016). Esto sugiere que el extracto de *P. dulce* puede tener un impacto en la regulación de señales que promueven la progresión del cáncer de colon.

La disminución de KRAS en el presente estudio podría deberse a la presencia de algunos compuestos fenólicos encontrados en el extracto de *P. dulce*, como la quercetina, ya que se ha demostrado que este flavonoide reduce la expresión de KRAS, particularmente en líneas celulares con mutaciones en este oncogén, como es el caso de las células SW480 (Maugeri et al., 2023; Teixeira-Guedes et al., 2019). En otros estudios, se ha observado que la epicatequina actúa como un potente modulador de la vía MAPK/ERK y la vía PI3K/AKT al inhibir la activación de estas vías durante mutaciones oncológicas (Cháirez-Ramírez et al., 2021). Además, Maugeri et al. (2023) mencionaron que la quercetina induce apoptosis en líneas celulares DLD-1, COLO205, HT29 y WIDR al inhibir AKT y activar JNK. Esta última proteína contribuye a la regulación positiva de proteínas proapoptóticas como Bax y caspasa-3 y a la regulación negativa de Bcl-2, favoreciendo la apoptosis (Cháirez-Ramírez et al., 2021). La rutina, otro flavonoide presente en el extracto, juega un papel clave en la modulación de las vías de señalización intracelular (proliferación y muerte celular). Se ha demostrado que este flavonoide influye significativamente en la señalización de MAPK al reducir los receptores de muerte 4 y 5 (DR4/DR5), así como las proteínas AKT, ERK y NF-κB, tanto en estudios *in vitro* como *in vivo* (Vargas-Madriz et al., 2023b). También se ha demostrado que EGCG inhibe la proliferación celular inducida por KRAS en las células epiteliales intestinales, además de bloquear la transición del ciclo celular en la fase G1 a través de la inhibición de la expresión de ciclina D1 (Cháirez-Ramírez et al., 2021). Esto sugiere que los compuestos bioactivos del extracto de *P. dulce* pueden disminuir las señales que favorecen la proliferación y supervivencia celular en las células cancerosas.

En este estudio se determinó la CL₅₀ y no la Cl₅₀, por lo tanto, nuestros valores (mg/mL) no se pueden comparar directamente con las concentraciones Cl₅₀ (μg/mL). La diferencia metodológica y la línea celular utilizada en este estudio explica la disparidad de magnitudes, sin embargo, la inhibición del crecimiento y la

muerte celular por apoptosis proporcionan un efecto antiproliferativo del extracto metanólico del arilo de *P. dulce* en células SW480.

El perfil fenólico del arilo de *P. dulce* concuerda con los efectos observados a nivel celular. La catequina y epicatequina se han relacionado con arresto del ciclo celular (G1 y G2/M) y la muerte celular por apoptosis, la quercetina puede estar modulando NF-κB, reduciendo TNF-α, IL-1β e IL-6 y activando caspasas, mientras que el ácido gálico protege las membranas celulares y regula el balance redox (Al-Khayri et al., 2022; Hadidi et al., 2024; Pandey et al., 2025). Ahora bien, el efecto sinérgico de los compuestos reportados en el arilo de *P. dulce* puede estar relacionado con la modulación de rutas como Nrf2/Keap1 y NF-κB/PI3K/AKT, lo que se alinea con el aumento de p53 y disminución de KRAS, efecto observado en el presente estudio. Estos mecanismos de acciones son coherentes con la atenuación de la inflamación y el estrés oxidativo en tejidos periféricos, como se observó en el estudio histopatológico en la reducción del daño a nivel de colon en el grupo AOM/DSS + *P. dulce*.

8.5. Implicaciones terapéuticas y perspectivas futuras

En general, los resultados sugieren que el extracto metanólico de *P. dulce* no sólo ejerce un efecto citotóxico, sino que, debido a sus compuestos fitoquímicos reportados, incluyendo catequina, epicatequina, quercetina, ácido gálico, ácido elágico, ácido clorogénico, ácido cafeico, rutina, ácido sináptico y la EGCG activan mecanismos de muerte celular programada (apoptosis) y arresto celular para detener la proliferación celular en el cáncer de colon, exhibiendo así efectos anticancerígenos y proapoptóticos. Estos compuestos han demostrado modular diferentes vías involucradas en la supervivencia celular, por ejemplo, la quercetina y el ácido elágico que participan en la regulación negativa de NF-κB y disminuye la expresión de citocinas proinflamatorias. La catequina, epicatequina y EGCG activan la vía antioxidante dependiente de Nrf2, aumentando los antioxidantes endógenos (SOD, CAT y GPx); mientras que el ácido clorogénico y el ácido cafeico se ha relacionado con la modulación de las vías MAPK y PI3K/AKT. El perfil fenólico del

arilo de *P. dulce* compuesto principalmente por sus compuestos mayoritario como catequina, epicatequina, EGCG, quercetina y ácido gálico, muestra un potencial efecto quimiopreventivo al interferir en procesos iniciadores (oxidación/inflamación) y promotores (proliferación y bloqueo de apoptosis) en la carcinogénesis colorrectal.

Relevancia traslacional. Estudios realizados en humanos y ensayos dietarios mencionan que el consumo de compuestos fenólicos está relacionado con una menor incidencia de cáncer de colon, así como la mejoría de biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo (Fike et al., 2022; López-Gómez & Uranga, 2024). Sin embargo, para valorar la aplicabilidad dietaria en humanos se debe de estimar la dosis equivalente humana (HED) a partir de la dosis efectiva en roedores, posteriormente ajustarla a la superficie corporal considerando los márgenes de seguridad (NOAEL), por otro lado, también se debe de tomar en cuenta que la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos sufren glucuronidaciones y sulfataciones así como metabolismo colónico que genera metabolitos secundarios potencialmente activos en el epitelio del colon (Di Lorenzo et al., 2021; Scott et al., 2022). Como ya se ha mencionado con anterioridad, la evidencia clínica muestra propiedades de modulación de biomarcadores inflamatorios y oxidativos, sin embargo, esto puede variar por varios factores como la matriz alimentaria, dosis y tiempo de exposición. En futuros trabajos se requiere integrar la estimación de HED, así como estudios de curva dosis-respuesta e integración PK/PD (niveles plasmáticos y fecales de metabolitos fenólicos) para definir las dosis dietarias equivalentes con potencial efecto quimiopreventivo.

Algunas limitaciones en este estudio es el tamaño de la muestra ($n=6/\text{grupo}$) y la ausencia de un control positivo farmacológico, esto limita la estadística y la comparación externa. Por otro lado, debido a la naturaleza del estudio, no se evaluó la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos. Aunque se identificaron algunos compuestos fenólicos mediante HPLC-DAD, es necesario realizar una identificación con mayor precisión para determinar los perfiles de metabolitos fenólicos glucurónidos/sulfatos, por lo tanto, con los datos obtenidos en

este estudio la traslación de dosis para humanos no se puede proporcionar con exactitud. En futuros estudios se recomienda incorporar biomarcadores de estrés oxidativo (MDA, 8-OHdG), citocinas y metabolómica para mapear dianas y vías con mayor precisión.

IX. CONCLUSIÓN

En el presente estudio, el arilo de *P. dulce* secado por horno a 40 °C y la extracción metanólica al 80% (80:20 v/v) presentó una mayor cantidad de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante en comparación con las extracciones acuosas y etanólicas mediante los dos métodos de secado.

Mediante el análisis de HPLC-DAD, se detectaron 14 compuestos polifenólicos en la muestra secada al horno, siendo la catequina, epicatequina, epigalocatequina-3-O-galato (EGCG), rutina, quer cetina, ácido gálico y ácido ferúlico los mayoritarios. También se detectaron otros compuestos como el ácido hidroxifenilacético, ácido hidroxibenzoico, ácido sináptico, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido p-cumárico. Por otra parte, en el secado por liofilizado mostró una reducción en la concentración los compuestos fenólicos comparado con el secado por horno, incluso en algunas extracciones los compuestos como el ácido elágico, cafeico, ferúlico y rutina no se detectaron mediante este método de secado. El perfil fenólico reportado en el arilo de *P. dulce* presenta actividad moduladora en vías proinflamatorias (NF-κB, PI3K/AKT y MAPK), lo que sugiere un efecto antiinflamatorio y anticancerígeno.

En el estudio *in vivo*, que fue realizado con un modelo murino de lesiones premalignas de colon inducidas por AOM/DSS, no se detectaron cambios significativos en las variables de ganancia de peso, consumo de agua, consumo de alimentos o los marcadores bioquímicos entre los diferentes grupos. Sin embargo, el grupo tratado con el AOM/DSS + *P. dulce* mostró ligera disminución en el daño histológico en riñón, hígado y colon, presentando menor grado de inflamación y lesiones menos severas comparado con el grupo tratado con AOM/DSS.

Con relación al estudio *in vitro*, el extracto metanólico al 80% del arilo de *P. dulce* demostró efectos anticancerígenos y citotóxicos en las células SW480. Dentro de los hallazgos, se observó la detención del ciclo celular, aumento en la expresión de

p53 y la disminución de KRAS, provocando muerte celular por apoptosis y posible actuación en vías críticas de la carcinogénesis colorrectal.

No obstante, existieron limitaciones en este estudio como el uso único de un modelo murino y la falta de evaluaciones farmacocinéticas para determinar la biodisponibilidad y metabolismo de los compuestos en el organismo. Además, se necesita más evidencia sobre ensayos clínicos en humanos para confirmar la eficacia y con ello proporcionar más información sobre los mecanismos de acción que efectúa la sinergia de los compuestos del arilo de *P. dulce*. Futuros trabajos deberán incluir enfoques íntegros de metabolómica y transcriptómica, para comprender la sinergia de los compuestos y de esta manera generar estrategias preventivas ante lesiones preneoplásicas y cáncer de colon.

X. REFERENCIAS:

- Adam, R., Haas, R. J. De, Wicherts, D. A., Vibert, E., Salloum, C., Azoulay, D., & Castaing, D. (2011). Concomitant Extrahepatic Disease in Patients With Colorectal Liver Metastases. *Annals of Surgery*, 253(2), 349–359. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e318207bf2c>
- Afrin, S., Giampieri, F., Gasparrini, M., Forbes-Hernández, T. Y., Cianciosi, D., Reboredo-Rodriguez, P., Zhang, J., Manna, P. P., Daglia, M., Atanasov, A. G., & Battino, M. (2020). Dietary phytochemicals in colorectal cancer prevention and treatment: A focus on the molecular mechanisms involved. *Biotechnology Advances*, 38, 107322. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.011>
- Ahmed, F. A., & Ali, R. F. M. (2013). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Fresh and Processed White Cauliflower. *BioMed Research International*, 2013, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/367819>
- Alam, M., Ahmed, S., Elasbali, A. M., Adnan, M., Alam, S., Hassan, Md. I., & Pasupuleti, V. R. (2022). Therapeutic Implications of Caffeic Acid in Cancer and Neurological Diseases. *Frontiers in Oncology*, 12, 634. <https://doi.org/10.3389/FONC.2022.860508/BIBTEX>
- Alam, M. N., Almoyad, M., & Huq, F. (2018). Polyphenols in Colorectal Cancer: Current State of Knowledge including Clinical Trials and Molecular Mechanism of Action. *BioMed Research International*, 2018, 29.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200–214. <https://doi.org/10.1016/J.CRFS.2021.03.011>
- Al-Assaff, A. A., & Takruri, H. R. (2019). Feeding Sprague Dawley Rats With Jordanian Wild Edible Plants and a High Fat Diet Reduced the Malondialdehyde Levels. *Journal of Agricultural Science*, 11(10), 71. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n10p71>

- Alhamed, A. S., Alqinyah, M., Alghaith, A. F., Algahtani, M. M., Alqahtani, F., Nasr, F. A., Alqahtani, A. S., Noman, O. M., Bazaid, A. S., AlMalki, R. H., Abdel Rahman, A. M., Alhazzani, K., & Alanazi, A. Z. (2023). Phytochemical analysis and anticancer activity of the Pithecellobium dulce seed extract in colorectal cancer cells. *Open Chemistry*, 21(1). <https://doi.org/10.1515/chem-2023-0362>
- Al-Khayri, J. M., Sahana, G. R., Nagella, P., Joseph, B. V., Alessa, F. M., & Al-Mssallem, M. Q. (2022). Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules*, 27(9), 2901. <https://doi.org/10.3390/molecules27092901>
- Amalesh, S., Das, G., & Das, K. S. (2011). Roles of flavonoids in Plants. *Int J Pharm Sci Tech*, 6(1), 12–35.
- Anantharaju, P. G., Gowda, P. C., Vimalambike, M. G., & Madhunapantula, S. V. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutrition Journal*, 15(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0217-2>
- Andrade M, G., Calderón de Rzedowski, G., Camrgo Ricalde, S. L., Grether, R., Hrenández M, H., & Martínez-Bernal, A. (2007). Familia Leguminosae. *Flora Del Bajío Y De Regiones Adyacentes*, 150, 1187–1198. <http://www1.ecologia.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOBA/Flora 78.pdf>
- AOAC. (2002). Official methods of analysis of AOAC International. In W. Horwitz & G. W. Latimer (Eds.), *Association of Official Agricultural Chemists*. Washington, D.C. (Seventeen, Vol. 15th, Issue Volume 1). AOAC International.
- Aravindakshan, S., Nguyen, T. H. A., Kyomugasho, C., Buvé, C., Dewettinck, K., Van Loey, A., & Hendrickx, M. E. (2021). The Impact of Drying and Rehydration on the Structural Properties and Quality Attributes of Pre-Cooked Dried Beans. *Foods*, 10(7), 1665. <https://doi.org/10.3390/foods10071665>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Balunkeswar, N., Rui Hai, L., & Juming, T. (2015). Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains — A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* ISSN: 55(7), 887–918.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142>

Barba Evia, J. R. (2018). México y el reto de las enfermedades crónicas no transmisibles. El laboratorio también juega un papel importante. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica Medicina Laboratorio*, 65(1), 4–17. www.medigraphic.com/patologiaclinica www.medigraphic.org.mx www.medigraphic.org.mx

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>

Bhatta, S., Stevanovic Janezic, T., & Ratti, C. (2020). Freeze-Drying of Plant-Based Foods. *Foods*, 9(1), 87. <https://doi.org/10.3390/foods9010087>

Boeing, J. S., Barizão, É. O., e Silva, B. C., Montanher, P. F., de Cinque Almeida, V., & Visentainer, J. V. (2014). Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s13065-014-0048-1>

Bojarczuk, A., & Dzikowska-Zabielska, M. (2022). Polyphenol Supplementation and Antioxidant Status in Athletes: A Narrative Review. *Nutrients*, 15(1), 158. <https://doi.org/10.3390/nu15010158>

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142–1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>
- Bussmann, R. W. (2015). *PLANTAS MEDICINALES DE LOS ANDES Y LA AMAZONIA-La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú Medicinal and aromatic plants production for economic development and conservation in Swat Valley, Pakistan: Improving livelihoods and mitigating climate change.* <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3485.0962>
- Caceres-Matos, R., Castro-Méndez, A., Domínguez, M., Pabón-Carrasco, D., & Pabón-Carrasco, M. (2024). The Influence of Ultra-Processed Food on Colorectal Cancer: A Systematic Review. *Gastrointestinal Disorders*, 6(1), 164–179. <https://doi.org/10.3390/gidisord6010012>
- Casimiro, C. (2002). Factores etiopatogénicos en el cáncer colorrectal. Aspectos nutricionales y de estilo de vida (segunda de dos partes). *Nutr. Hosp.*, 17(3), 128–138.
- Castillo Gómez, H. A. (2012). *Flora vascular, vegetación y plantas útiles de Cañón del Diablo, San Luis Potosí, México* [Tesis]. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Cháirez-Ramírez, M. H., de la Cruz-López, K. G., & García-Carrancá, A. (2021). Polyphenols as Antitumor Agents Targeting Key Players in Cancer-Driving Signaling Pathways. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 2672. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.710304/BIBTEX>
- Chandra, P. G. R., & Balaji, S. (2008). Phytochemical Investigation and Pharmacological Studies of the Flowers of *Pithecellobium dulce*. *Ethnobotanical Leaflets*, 12, 245–253.

- Chang, C.-J., Wang, P.-C., Huang, T.-C., & Taniguchi, A. (2019). Change in Renal Glomerular Collagens and Glomerular Filtration Barrier-Related Proteins in a Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis Mouse Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1458. <https://doi.org/10.3390/ijms20061458>
- Chang, S. K., Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2016). Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. *Journal of Functional Foods*, 21, 113–132. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.034>
- Chaparro-Santiago, A., Osuna-Fernandez, H. R., Aguilón-Arenas, J., & Osuna-Fernandez, A. M. (2015). Nutritional Composition of *Pithecellobium dulce*, Guamuchil Aril. *Pakistan Journal of Nutrition*, 14(9), 611–613.
- Cheema, Jagbeer., Yadav, Kuldeep., Sharma, Navnita., Saini, Ishan., & Aggarwal, Ashok. (2017). Nutritional Quality Characteristics of Different Wild and Underutilized Fruits of Terai Region, Uttarakhand (India). *International Journal of Fruit Science*, 17(1), 72–81. <https://doi.org/10.1080/15538362.2016.1160271>
- Cid-Gallegos, M. S., Jiménez-Martínez, C., Sánchez-Chino, X. M., Madrigal-Bujaidar, E., Vásquez-Garzón, V. R., Baltiérrez-Hoyos, R., & Álvarez-González, I. (2023). Chemopreventive Effect of Cooked Chickpea on Colon Carcinogenesis Evolution in AOM/DSS-Induced Balb/c Mice. *Plants*, 12(12), 2317. <https://doi.org/10.3390/plants12122317>
- Cohen, L. A., Crespin, J. S., Wolper, C., Zang, E. A., Pittman, B., Zhao, Z., & Holt, P. R. (2007). Soy isoflavone intake and estrogen excretion patterns in young women: effect of probiotic administration. *In Vivo (Athens, Greece)*, 21(3), 507–512. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17591361>
- CONABIO. (2013). *Pithecellobium dulce (Roxb.) Benth. Mimosaceae*. Comisión Nacional Para El Conocimiento y Uso de La Biodiversidad (CONABIO). http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/45-legum38m.pdf

- Cruz-Bustillo, D. C. (2004). Genética molecular del cáncer colorrectal. *Resvista Española de Enfermedades Digestivas*, 96(1), 48–59.
https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082004000100007&script=sci_arttext&tlang=es
- Curieles Andrés, C. M., Pérez de la Lastra, J. M., Juan, C. A., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2022). Chemistry of Hydrogen Peroxide Formation and Elimination in Mammalian Cells, and Its Role in Various Pathologies. *Stresses*, 2(3), 256–274. <https://doi.org/10.3390/stresses2030019>
- Dashrath, B., & Shashi, J. (2016). Nutrition potential of uncultivated fruits grown in udaipur district of Rajasthan. *The Bioscan*, 11(1), 15–18.
- De Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Zacarías, L., Rodrigo, M. J., Sáyago Ayerdí, S., Blancas Benítez, F. J., Domínguez Avila, J. A., & González-Aguilar, G. A. (2018). Effects of two different drying methods (freeze-drying and hot air-drying) on the phenolic and carotenoid profile of 'Ataulfo' mango by-products. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 2145–2157.
<https://doi.org/10.1007/s11694-018-9830-4>
- Delgado Olivares, L., Betanzos Cabrera, G., & Sumaya Martínez, Ma. T. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*, 50, 10–15.
- Derry, M. M., Raina, K., Agarwal, R., & Agarwal, C. (2015). Characterization of azoxymethane-induced colon tumor metastasis to lung in a mouse model relevant to human sporadic colorectal cancer and evaluation of grape seed extract efficacy. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 66(0), 235–242.
<https://doi.org/10.1016/j.etp.2014.02.003.Characterization>
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K., & Liu, H. R. (2002). Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity.

Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50(10), 3010–3014.
<https://doi.org/10.1088/0022-3727/31/22/002>

Dhanisha, S. S., Drishya, S., & Guruvayoorappan, C. (2022a). *Pithecellobium dulce* induces apoptosis and reduce tumor burden in experimental animals via regulating pro-inflammatory cytokines and anti-apoptotic gene expression. *Food and Chemical Toxicology*, 161, 112816.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112816>

Dhanisha, S. S., Drishya, S., & Guruvayoorappan, C. (2022b). *Pithecellobium dulce* inhibits pulmonary metastasis induced by B16F10 melanoma cells in C57BL via regulating EGFR/STAT/NFkB/AKT. *Journal of Food Biochemistry*, 46(12).
<https://doi.org/10.1111/jfbc.14466>

Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients*, 13(1), 273. <https://doi.org/10.3390/nu13010273>

D’Ottavio, G. E., Wulfson, A. M., & Rojman, J. A. (2014). Carcinegénesis colorrectal Nuevas perspectivas e implicancias clínicas para su detección. *Rev. Méd. RosaRio*, 80, 63–74.

Duno, R., & Stefano, D. E. (2011). PITHECELLOBIUM DULCE (ROXB.) BENTH.: EL GUAMÚCHIL, UN CASO DE ESTUDIO. In *Desde el Herbario CICY* (Vol. 3). http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/

Dzhalilova, D., Zolotova, N., Fokichev, N., & Makarova, O. (2023). Murine models of colorectal cancer: the azoxymethane (AOM)/dextran sulfate sodium (DSS) model of colitis-associated cancer. *PeerJ*, 11, e16159.
<https://doi.org/10.7717/peerj.16159>

Escorza Quintanar, M. A., & Salinas Calderón, J. V. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, 28(3), 89–101.

- Fanali, C., Lucchetti, D., Farina, M., Corbi, M., Cufino, V., Cittadini, A., Fanali, C., Lucchetti, D., & Farina, M. (2014). Cancer stem cells in colorectal cancer from pathogenesis to therapy: Controversies and perspectives. *World Journal of Gastroenterology*, 20(4), 923–942. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i4.923>
- Favoriti, P., Carbone, G., Greco, M., Pirozzi, F., Pirozzi, R. E. M., & Corcione, F. (2016). Worldwide burden of colorectal cancer: a review. *Updates in Surgery*, 68(1), 7–11. <https://doi.org/10.1007/s13304-016-0359-y>
- Fazio, V., Robertis, M., Massi, E., Poeta, M., Carotti, S., Morini, S., Cecchetelli, L., & Signori, E. (2011). The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: From pathways to diagnosis and therapy studies. *Journal of Carcinogenesis*, 10(1), 9. <https://doi.org/10.4103/1477-3163.78279>
- Feregrino-Pérez, A. A., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., Guevara-Gonzalez, R. G., Ramos-Gómez, M., Reynoso-Camacho, R., Acosta-Gallegos, J. A., & Loarca-Piña, G. (2008). Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on azoxymethane-induced colon cancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8737–8744. <https://doi.org/10.1021/jf8007162>
- Galuppini, F., Fassan, M., Mastracci, L., Gafà, R., Lo Mele, M., Lazzi, S., Remo, A., Parente, P., D'Amuri, A., Mescoli, C., Tatangelo, F., & Lanza, G. (2021). The histomorphological and molecular landscape of colorectal adenomas and serrated lesions. *Pathologica*, 113(3), 218–229. <https://doi.org/10.32074/1591-951X-270>
- García de Alba, J. E., Ramírez Hernández, B. C., Robles Arellano, G., Zañudo Hernández, J., Salcedo Rocha, A. L., & García de Alba Verduzco, J. E. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Revista de Ciencias Sociales*, 39, 29–44. <http://www.redalyc.org/pdf/139/13923111003.pdf>

- García, L. M., Ceccanti, C., Negro, C., De Bellis, L., Incrocci, L., Pardossi, A., & Guidi, L. (2021). Effect of Drying Methods on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Urtica dioica* L. Leaves. *Horticulturae*, 7(1), 10. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7010010>
- Godínez-Santillán, R. I., Chávez-Servín, J. L., García-Gasca, T., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2019). Caracterización fenólica y capacidad antioxidante de extractos alcohólicos de hojas crudas y hervidas de *Cnidoscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Acta Botanica Mexicana*, 126, 1–15. <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1493>
- Granados Andrade, S. M., Martínez, L. E., Morales, P., Ortiz, G. R., Sandoval, H., & Zuluaga, G. (2005). Aproximación a la medicina tradicional colombiana. Una mirada al margen de la cultura occidental. *Revista Ciencias de La Salud*, 3(1), 98–106. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=56230113>
- Hadidi, M., Liñán-Atero, R., Tarahi, M., Christodoulou, M. C., & Aghababaei, F. (2024). The Potential Health Benefits of Gallic Acid: Therapeutic and Food Applications. *Antioxidants*, 13(8), 1001. <https://doi.org/10.3390/antiox13081001>
- Hano García, O. M., Wood Rodríguez, L., Galbán García, E., & Abreu Vázquez, M. del R. (2011). Factores de riesgo para el cáncer colorrectal. *Revista Cubana de Medicina*, 50(2), 118–132. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232011000200002
- Hervás, G. (2001). *PROTECTORES FRENTE A LA DEGRADACIÓN RUMINAL*.
- Ismail, N. I., Othman, I., Abas, F., H. Lajis, N., & Naidu, R. (2019). Mechanism of Apoptosis Induced by Curcumin in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2454. <https://doi.org/10.3390/ijms20102454>

- Jaganathan, S. K. (2012). Growth Inhibition by Caffeic Acid, One of the Phenolic Constituents of Honey, in HCT 15 Colon Cancer Cells. *The Scientific World Journal*, 2012, 1–8. <https://doi.org/10.1100/2012/372345>
- Jaramillo-Carmona, S., Lopez, S., Arcos, R. R., Abia, R., Rodriguez-Arcos, R., Jimenez, A., Guillen, R., & Muriana, F. J. G. (2014). Combination of Quercetin and Kaempferol enhances in vitro Cytotoxicity on Human Colon Cancer (HCT-116) Cells. *Nat. Prod.*, 8, 262–271. www.acgpubs.org/RNP
- Ko, H., Jeong, M.-H., Jeon, H., Sung, G.-J., So, Y., Kim, I., Son, J., Lee, S., Yoon, H.-G., & Choi, K.-C. (2015). Delphinidin sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis, by inducing DR5 and causing caspase-mediated HDAC3 cleavage. *Oncotarget*, 6(12), 9970–9984. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3667>
- Kubola, J., Siriamornpun, S., & Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*, 126(3), 972–981. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.11.104>
- Kumar, S., Yadav, A., Yadav, M., & Yadav, P. (2017). Effect of climate change on phytochemical diversity , total phenolic content and in vitro antioxidant activity of Aloe vera (L.) Burm.f. *BMC Research Notes*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2385-3>
- Kuri-García, A., Godínez-Santillán, R. I., Mejía, C., Ferriz-Martínez, R. A., García-Solís, P., Enríquez-Vázquez, A., García-Gasca, T., Guzmán-Maldonado, S. H., & Chávez-Servín, J. L. (2019a). Preventive Effect of an Infusion of the Aqueous Extract of Chaya Leaves (*Cnidoscolus aconitifolius*) in an Aberrant Crypt Foci Rat Model Induced by Azoxymethane and Dextran Sulfate Sodium. *Journal of Medicinal Food*, 22(8), 851–860. <https://doi.org/10.1089/jmf.2019.0031>
- Kuri-García, A., González-Reyes, A., Aranda-Vargas, P. J., Moreno-Celis, U., Mejía, C., García-Gasca, T., Ferríz-Martínez, R. A., Torre-Carbot, K. de la, Saldaña-

- Gutiérrez, C., & Chávez-Servín, J. L. (2019b). Effect on nutritional markers of a model of aberrant crypt foci induced by azoxymethane and sodium dextran sulfate in sprague dawley rats. *Nutricion Hospitalaria*, 36(5), 1163–1170. <https://doi.org/10.20960/nh.02600>
- Li, H., Zhang, J., Tong, J. H. M., Chan, A. W. H., Yu, J., Kang, W., & To, K. F. (2019). Targeting the Oncogenic p53 Mutants in Colorectal Cancer and Other Solid Tumors. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), 5999. <https://doi.org/10.3390/ijms20235999>
- Li, J., Li, W., Deng, Z., Li, H., Yu, Y., & Zhang, B. (2021). Comparison of free, conjugated, and insoluble-bound phenolics and their antioxidant activities in oven-drying and freeze-drying bamboo (*Phyllostachys edulis*) shoot tips. *Journal of Food Science*, 86(9), 4223–4243. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15881>
- Lim, Y. Y., & Murtijaya, J. (2007). Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT - Food Science and Technology*, 40(9), 1664–1669. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.12.013>
- Liu, J., Jiao, Z., Zhang, C., Yang, W., Liu, H., & Lv, Z. (2018). Effects of different drying methods on phenolic contents, antioxidant, and tyrosinase inhibitory activity of peach blossoms. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4), 2339–2348.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Longvah, T., Ananthan, R., Bhaskarachary, K., & Venkaiah, K. (2017). Indian Food Composition Tables. In *National Institute of Nutrition*.

- Lyubitelev, A., & Studitsky, V. (2023). Inhibition of Cancer Development by Natural Plant Polyphenols: Molecular Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10663. <https://doi.org/10.3390/ijms241310663>
- Maestro-Durán, R., León, R., & Ruiz-Gutiérrez, V. (1993). Los compuestos fenólicos en la autodefensa de los vegetales. *Aceites y Grasas*, 44(6), 365–369. <http://grasasyaceites.revistas.csic.es>
- Manna, P., Bhattacharyya, S., Das, J., Ghosh, J., & Sil, P. C. (2011). Phytomedicinal role of pithecellobium dulce against ccl4-mediated hepatic oxidative impairments and necrotic cell death. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011(1), 1–17. <https://doi.org/10.1093/ecam/neq065>
- Marotte, C., & Zeni, S. N. (2013). Especies reactivas de oxígeno y su efecto sobre la actividad de las células óseas. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 47(4), 661–674.
- Martínez Rojero, R. D., & Reyna SantaMaría, L. (2016). *Estimación en caprinos del consumo de Pithecellobium dulce en un “Banco de Proteína.”* <http://eprints.uanl.mx/10979/1/Documento9.pdf>
- Martínez-De La Cruz, Isabel., Rubí-arriaga, M., González-huerta, A., Pérez-lópez, D. D. J., & Franco-, O. (2015). Frutos y semillas comestibles en el Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(2), 331–346.
- Maugeri, A., Calderaro, A., Patanè, G. T., Navarra, M., Barreca, D., Cirmi, S., & Felice, M. R. (2023). Targets Involved in the Anti-Cancer Activity of Quercetin in Breast, Colorectal and Liver Neoplasms. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2952. <https://doi.org/10.3390/ijms24032952>
- Megala, J., & Geetha, A. (2010). Free radical-scavenging and H+, K+-ATPase inhibition activities of Pithecellobium dulce. *Food Chemistry*, 121(4), 1120–1128. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.059>

- Meng, M., Zhong, K., Jiang, T., Liu, Z., Kwan, H. Y., & Su, T. (2021). The current understanding on the impact of KRAS on colorectal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 140, 111717. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111717>
- Misiąg, W., Piszczyk, A., Szymańska-Chabowska, A., & Chabowski, M. (2022). Physical Activity and Cancer Care—A Review. *Cancers*, 14(17), 4154. <https://doi.org/10.3390/cancers14174154>
- Mišković Špoljarić, K., Šelo, G., Pešut, E., Martinović, J., Planinić, M., Tišma, M., & Bucić-Kojić, A. (2023). Antioxidant and antiproliferative potentials of phenolic-rich extracts from biotransformed grape pomace in colorectal Cancer. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03852-w>
- Monroy, R., & Colín, H. (2004). El guamúchil Pithecellobium dulce (Roxb .) Benth , un ejemplo de uso múltiple. *Madera y Bosques*, 10(1), 35–53.
- Moreno-Celis, U., López-Martínez, J., Blanco-Labra, A., Cervantes-Jiménez, R., Estrada-Martínez, L. E., García-Pascalin, A. E., Guerrero-Carrillo, M. D. J., Rodríguez-Méndez, A. J., Mejía, C., Ferríz-Martínez, R. A., & García-Gasca, T. (2017). Phaseolus acutifolius Lectin Fractions Exhibit Apoptotic Effects on Colon Cancer: Preclinical Studies Using Dimethylhydrazine or Azoxi-Methane as Cancer Induction Agents. *Molecules*, 22(10), 1670. <https://doi.org/10.3390/molecules22101670>
- Mule, V. S., Naikwade, N. S., Magdum, C. S., & Jagtap, V. A. (2016). Antidiabetic Activity of Extracts of Pithecellobium dulce Benth Leaves in Alloxan Induced Diabetic Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 8(5), 275–280. <https://doi.org/10.25004/IJPSDR.2016.080507>
- Murugesan, S., Lakshmanan, D. K., Arumugam, V., & Alexander, R. A. (2019). Nutritional and therapeutic benefits of medicinal plant Pithecellobium dulce (

- Fabaceae): A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(07), 130–139. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90718>
- Nagmoti, D. M., Kothavade, P. S., Bulani, V. D., Gawali, N. B., & Juvekar, A. R. (2015). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of Pithecellobium dulce (Roxb.) Benth seeds extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 263–273. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2015.01.001>
- Neufert, C., Becker, C., & Neurath, M. F. (2007). An inducible mouse model of colon carcinogenesis for the analysis of sporadic and inflammation-driven tumor progression. *Nature Protocols*, 2(8), 1998–2004. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.279>
- Nouri, Z., Fakhri, S., Nouri, K., Wallace, C. E., Farzaei, M. H., & Bishayee, A. (2020). Targeting Multiple Signaling Pathways in Cancer: The Rutin Therapeutic Approach. *Cancers*, 12(8), 2276. <https://doi.org/10.3390/cancers12082276>
- Nowak, D., Piechucka, P., Witrowa-Rajchert, D., & Wiktor, A. (2016). Impact of material structure on the course of freezing and freeze-drying and on the properties of dried substance, as exemplified by celery. *Journal of Food Engineering*, 180, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.01.032>
- Nunes, J. C., Lago, M. G., Castelo-Branco, V. N., Oliveira, F. R., Torres, A. G., Perrone, D., & Monteiro, M. (2016). Effect of drying method on volatile compounds, phenolic profile and antioxidant capacity of guava powders. *Food Chemistry*, 197, 881–890. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.050>
- Nurkhoeriyati, T., Kulig, B., Sturm, B., & Hensel, O. (2021). The Effect of Pre-Drying Treatment and Drying Conditions on Quality and Energy Consumption of Hot Air-Dried Celeriac Slices: Optimisation. *Foods*, 10(8), 1758. <https://doi.org/10.3390/foods10081758>

Ocampo-Anguiano, P. V., Victoria-Ruiz, L. L., Reynoso-Camacho, R., Olvera-Ramírez, A. M., Rocha-Guzmán, N. E., Ramos-Gómez, M., & Ahumada-Solórzano, S. M. (2024). Ingestion of Bean Leaves Reduces Metabolic Complications and Restores Intestinal Integrity in C57BL/6 Mice with Obesity Induced by a High-Fat and High-Fructose Diet. *Nutrients*, 16(3), 367. <https://doi.org/10.3390/nu16030367>

Olivares-Pérez, J., Avilés-Nova, F., Albarrán-Portillo, B., Rojas-Hernández, S., & Castelán-Ortega, O. A. (2011). Identificación, usos y medición de leguminosas arbóreas forrajeras en ranchos ganaderos del sur del Estado de México. In *Tropical and Subtropical Agroecosystems* (Vol. 14). <http://www.scielo.org.mx/pdf/tsa/v14n2/v14n2a32.pdf>

Olivas-Aguirre, F. J., Wall-Medrano, A., González-Aguilar, G. A., López-Díaz, J. A., Álvarez-Parrilla, E., De La Rosa, L. A., & Ramos-Jimenez, A. (2015). Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutricion Hospitalaria*, 31(1), 55–66. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>

Oliveira-Alves, S. C., Andrade, F., Prazeres, I., Silva, A. B., Capelo, J., Duarte, B., Caçador, I., Coelho, J., Serra, A. T., & Bronze, M. R. (2021). Impact of drying processes on the nutritional composition, volatile profile, phytochemical content and bioactivity of salicornia ramosissima j. Woods. *Antioxidants*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10081312/S1>

Oyinloye, T. M., & Yoon, W. B. (2020). Effect of Freeze-Drying on Quality and Grinding Process of Food Produce: A Review. *Processes*, 8(3), 354. <https://doi.org/10.3390/pr8030354>

Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., & Delikanli, B. (2014). Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 393–396. <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.416>

- Pandey, P., Lakhanpal, S., Mahmood, D., Kang, H. N., Kim, B., Kang, S., Choi, J., Choi, M., Pandey, S., Bhat, M., Sharma, S., Khan, F., Park, M. N., & Kim, B. (2025). An updated review summarizing the anticancer potential of flavonoids via targeting NF- κ B pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1513422>
- Parrotta, J. A. (1991). *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. Guamuchil. In *Bioecología de Arboles Nativos y Exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales* (Issue March, p. 5).
- Parry, R. A., Mir, I. A., Bhat, B. A., Hussain, M. U., Ashraf, S., Zaman, G. S., Bashir, N., Vats, S., & Ganie, S. A. (2025). Exploring the cytotoxic effects of bioactive compounds from *Alcea rosea* against stem cell driven colon carcinogenesis. *Scientific Reports*, 15(1), 5892. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-89714-6>
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. *Bolivian Journal of Chemistry*, 31(2), 68–81.
- Peng, B.-Y., Singh, A. K., Chan, C.-H., Deng, Y.-H., Li, P.-Y., Su, C.-W., Wu, C.-Y., & Deng, W.-P. (2023). AGA induces sub-G1 cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells through p53-independent/p53-dependent pathway. *BMC Cancer*, 23(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s12885-022-10466-x>
- Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., Browne, W. J., Clark, A., Cuthill, I. C., Dirnagl, U., Emerson, M., Garner, P., Holgate, S. T., Howells, D. W., Karp, N. A., Lazic, S. E., Lidster, K., MacCallum, C. J., Macleod, M., ... Würbel, H. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLOS Biology*, 18(7), e3000410. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
- Pérez Trueba, G. (2003). Los flavonoides: Antioxidantes o Prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 22(1), 48–57.

- Pío-León, J. F., Díaz-Camacho, S., Montes-Avila, J., López-Angulo, G., & Delgado-Vargas, F. (2013). Nutritional and nutraceutical characteristics of white and red *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth fruits. *Fruits*, 68(5), 397–408. <https://doi.org/10.1051/fruits/2013084>
- Porras, A. P., & López-Malo, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Tsia*, 3(1), 121–134.
- Pradeepa, S., Subramanian, S., & Kaviyarasan, V. (2013). Biochemical evaluation of antidiabetic properties of *Pithecellobium dulce* fruits studied in streptozotocin induced experimental diabetic rats. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(4), 21–28. <https://pdfs.semanticscholar.org/5b3a/7af005fd589792f943102c710067e78483b6.pdf>
- Quezada-Gutiérrez, C., Álvarez-Bañuelos, M. T., Morales-Romero, J., Sampieri, C. L., Guzmán-García, R. E., & Montes-Villaseñor, E. (2020). Factors associated with the survival of colorectal cancer in Mexico. *Intestinal Research*, 18(3), 315–324. <https://doi.org/10.5217/IR.2019.09179>
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Revisión Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76–89. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>
- Rajeswary, M., & Govindarajan, M. (2014). Adulticidal properties of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. (Family: Fabaceae) against dengue vector, *Aedes aegypti* (Linn.) (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(Suppl 1), 449–452. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60489-8](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60489-8)
- Ranganathan, P., Jayakumar, C., Manicassamy, S., & Ramesh, G. (2013). CXCR2 knockout mice are protected against DSS-colitis-induced acute kidney injury

- and inflammation. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 305(10), F1422–F1427. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00319.2013>
- Rao, B. Ganga., Samyuktha, Palepu., Ramadevi, Devarakonda., & Battu, H. (2018). Review of literature: phyto pharmacological studies on pithecellobium dulce. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 4797–4807. <https://www.jgps.com/admin/uploads/DZSfGL.pdf>
- Rao, G. N., Nagender, A., Satyanarayana, A., & Rao, D. G. (2011). Preparation, chemical composition and storage studies of quamachil (Pithecellobium dulce L.) aril powder. *Journal of Food Science and Technology*, 48(1), 90–95. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0135-9>
- Rao, S., Chinkwo, K., Santhakumar, A., Johnson, S., & Blanchard, C. (2019). Apoptosis Induction Pathway in Human Colorectal Cancer Cell Line SW480 Exposed to Cereal Phenolic Extracts. *Molecules*, 24(13), 2465. <https://doi.org/10.3390/molecules24132465>
- Rosa, L., Silva, N., Soares, N., Monteiro, M., & Teodoro, A. (2016). Anticancer Properties of Phenolic Acids in Colon Cancer – A Review. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6(2), 1–7. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000468>
- Roshandel, G., Ghasemi-Kebria, F., & Malekzadeh, R. (2024). Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Prevention. *Cancers*, 16(8), 1530. <https://doi.org/10.3390/cancers16081530>
- Samee, W., Engkalohakul, M., Nebua, N., Direkrojanavuti, P., Sornchaithawatwong, C., & Kamkaen, N. (2006). Correlation Analysis between Total Acid, Total Phenolic and Ascorbic Acid Contents in Fruit Extracts and Their Antioxidant Activities. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 1(3), 196–203. www.pdffactory.com
- Sánchez-Barriga, J. J. (2017). Mortality trends and risk of dying from colorectal cancer in the seven socioeconomic regions of Mexico, 2000-2012. *Revista de*

Gastroenterología de México (English Edition), 82(3), 217–225.
<https://doi.org/10.1016/j.rgmxen.2017.03.010>

Sanchez-Martin, V., Plaza-Calonge, M. del C., Soriano-Lerma, A., Ortiz-Gonzalez, M., Linde-Rodriguez, A., Perez-Carrasco, V., Ramirez-Macias, I., Cuadros, M., Gutierrez-Fernandez, J., Murciano-Calles, J., Rodríguez-Manzaneque, J. C., Soriano, M., & Garcia-Salcedo, J. A. (2022). Gallic Acid: A Natural Phenolic Compound Exerting Antitumoral Activities in Colorectal Cancer via Interaction with G-Quadruplexes. *Cancers*, 14(11), 2648.
<https://doi.org/10.3390/cancers14112648>

Saxena, V. K., & Singhal, M. (1999). Novel prenylated flavonoid from stem of *Pithecellobium dulce*. *Fitoterapia*, 70(1), 98–100.
[https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(98\)00012-4](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(98)00012-4)

Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Chocolate: Modern Science Investigates an Ancient Medicine Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols 1. *Journal of Nutrition*, 130, 2073–2085.

Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1–2), 21–40.
[https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0)

Scott, M. B., Styring, A. K., & McCullagh, J. S. O. (2022). Polyphenols: Bioavailability, Microbiome Interactions and Cellular Effects on Health in Humans and Animals. *Pathogens*, 11(7), 770.
<https://doi.org/10.3390/pathogens11070770>

Servais, L., Wéra, O., Dibato Epoh, J., Delierneux, C., Bouznad, N., Rahmouni, S., Mazzucchelli, G., Baiwir, D., Delvenne, P., Lancellotti, P., & Oury, C. (2018). Platelets contribute to the initiation of colitis-associated cancer by promoting immunosuppression. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 16(4), 762–777.
<https://doi.org/10.1111/jth.13959>

- Sewduth, R. N., & Georgelou, K. (2024). Relevance of Carcinogen-Induced Preclinical Cancer Models. *Journal of Xenobiotics*, 14(1), 96–109. <https://doi.org/10.3390/jox14010006>
- Sharma, M. (2016). Selective cytotoxicity and modulation of apoptotic signature of breast cancer cells by *Pithecellobium dulce* leaf extracts. *Biotechnology Progress*, 32(3), 756–766. <https://doi.org/10.1002/btpr.2261>
- Sheikhnia, F., Rashidi, V., Maghsoudi, H., & Majidinia, M. (2023). Potential anticancer properties and mechanisms of thymoquinone in colorectal cancer. *Cancer Cell International*, 23(1), 320. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03174-4>
- Silva, G. V. da, Machado, B. A. S., Oliveira, W. P. de, Silva, C. F. G. da, Quadros, C. P. de, Druzian, J. I., Ferreira, E. de S., & Umsza-Guez, M. A. (2020). Effect of Drying Methods on Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity in Grape Skin Residues from the New Hybrid Variety “BRS Magna.” *Molecules*, 25(16), 3701. <https://doi.org/10.3390/molecules25163701>
- Silva-Pinto, P. A., de Pontes, J. T. C., Aguilar-Morón, B., Canales, C. S. C., Pavan, F. R., & Roque-Borda, C. A. (2025). Phytochemical insights into flavonoids in cancer: Mechanisms, therapeutic potential, and the case of quercetin. *Helijon*, 11(4), e42682. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42682>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sithara, T., Arun, K. B., Syama, H. P., Reshma, T. R., & Nisha, P. (2017). Morin Inhibits Proliferation of SW480 Colorectal Cancer Cells by Inducing Apoptosis Mediated by Reactive Oxygen Species Formation and Uncoupling of Warburg Effect. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00640>

- Soltani, A., Shams Abadi, M. S., Raeisi, M., Kouhihabibidehkordi, G., Eshaghi, F., Mohreh, O., & Rafieian-Kopaei, M. (2023). Apoptosis-inducing Plant-based Phenolic Compounds are Effective on Leukemia Cell Lines. *Current Pharmaceutical Design*, 29(14), 1092–1104. <https://doi.org/10.2174/1381612829666230417110032>
- Srinivas, G., Geeta, H., Shashikumar, J., & Champawat. (2018). A review on *Pithecellobium dulce*: A potential medicinal tree. *International Journal of Chemical Studies*, 6(2), 540–544.
- Suganthi, A., & Josephine, R. M. (2018). Evaluating the Chemical Analysis Profile of Some Lesser Known Edible Fruits. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 05(02), 815–820. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1174321>
- Sulekha, S., Sudarsanan, D., & Chandrasekharan, D. (2020). Fruit Extract of *Pithecellobium dulce* (FPD) ameliorates carrageenan-induced acute inflammatory responses via regulating pro-inflammatory mediators. *Journal of Food Biochemistry*, 44(8), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13329>
- Sun, W., Gao, J., Yang, B., Chen, X., Kang, N., & Liu, W. (2023). Protocol for colitis-associated colorectal cancer murine model induced by AOM and DSS. *STAR Protocols*, 4(1), 102105. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2023.102105>
- Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants—Natural Health Products for Human Health. *Molecules*, 28(4), 1845. <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
- Tajasuwan, L., Kettawan, A., Rungruang, T., Wunjuntuk, K., Prombutara, P., Muangnoi, C., & Kettawan, A. K. (2022). Inhibitory Effect of Dietary Defatted Rice Bran in an AOM/DSS-Induced Colitis-Associated Colorectal Cancer Experimental Animal Model. *Foods*, 11(21), 3488. <https://doi.org/10.3390/foods11213488>

- Tang, D., Kroemer, G., & Kang, R. (2021). Oncogenic KRAS blockade therapy: renewed enthusiasm and persistent challenges. *Molecular Cancer*, 20(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01422-7>
- Tapia-Pastrana, F., & Gómez-Acevedo, S. L. (2005). El cariotipo de Pithecellobium dulce (Mimosoideae-Leguminosae). *Darwiniana*, 43(1–4), 52–56.
- Teixeira-Guedes, C. I., Oppolzer, D., Barros, A. I., & Pereira-Wilson, C. (2019). Phenolic rich extracts from cowpea sprouts decrease cell proliferation and enhance 5-fluorouracil effect in human colorectal cancer cell lines. *Journal of Functional Foods*, 60. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.103452>
- Tsouh Fokou, P. V., Kamdem Pone, B., Appiah-Oppong, R., Ngouana, V., Bakarnga-Via, I., Ntieche Woutouoba, D., Flore Donfack Donkeng, V., Tchokouaha Yamthe, L. R., Fekam Boyom, F., Arslan Ateşşahin, D., Sharifi-Rad, J., & Calina, D. (2025). An Update on Antitumor Efficacy of Catechins: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. *Food Science & Nutrition*, 13(4). <https://doi.org/10.1002/fsn3.70169>
- Valencia-Avilés, E., Ignacio-Figueroa, I., Sosa-Martínez, E., Carmen Bartolomé-Camacho, M., Martínez-Flores, H.-E., & García-Pérez, M.-E. (2016). *Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas Polyphenols: antioxidant and toxicological properties*.
- Valls, J., Lampreave, M., Nadal, M., & Arola, L. (2000). Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentacion, Equipos y Tecnologia*, 19(2), 119–124.
- Van Den Berg, R., Haenen, G. R. M. M., Van Den Berg, H., & Bast, A. (1999). Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, 66(4), 511–517.

Vargas-Madriz, Á. F., Kuri-García, A., Vargas-Madriz, H., Chávez-Servín, J. L., Ferriz-Martínez, R. A., Hernández-Sandoval, L. G., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2020). Phenolic profile and antioxidant capacity of *Pithecellobium dulce* (Roxb) Benth: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 57(12), 4316–4336. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04453-y>

Vargas-Madriz, Á. F., Lizardo-Ocampo, I., Chávez-Servín, J. L., Moreno-Celis, U., Roldán-Padrón, O., Vargas-Madriz, H., Vergara-Castañeda, H. A., & Kuri-García, A. (2023a). Comparison of Phenolic Compounds and Evaluation of Antioxidant Properties of *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass (Asteraceae) from Different Geographical Areas of Queretaro (Mexico). *Plants*, 12(20), 3569. <https://doi.org/10.3390/plants12203569>

Vargas-Madriz, Á. F., Lizardo-Ocampo, I., Moreno-Celis, U., Roldán-Padrón, O., Chávez-Servín, J. L., Vergara-Castañeda, H. A., Martínez-Pacheco, M., Mejía, C., García-Gasca, T., & Kuri-García, A. (2023b). Comparison of Phytochemical Composition and Untargeted Metabolomic Analysis of an Extract from *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I. I. Johnst and *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass. and Biological Cytotoxic and Antiproliferative Activity In Vitro. *Plants*, 12(10), 1987. <https://doi.org/10.3390/plants12101987>

Villota, H., Santa-González, G. A., Uribe, D., Henao, I. C., Arroyave-Ospina, J. C., Barrera-Causil, C. J., & Pedroza-Díaz, J. (2022). Modulatory Effect of Chlorogenic Acid and Coffee Extracts on Wnt/β-Catenin Pathway in Colorectal Cancer Cells. *Nutrients*, 14(22), 4880. <https://doi.org/10.3390/nu14224880>

Wall-Medrano, A., González-agUILAR, G. A., Loarca-piña, G. F., López-díaz, J. A., & Villegas-ochoa, M. A. (2016). Ripening of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. [Guamúchil] Fruit: Physicochemical, Chemical and Antioxidant Changes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(4), 396–401. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0575-0>

- Wang, L., Lin, S., Yang, C., Cai, S., & Li, W. (2022). Effect of <scp>KRAS</scp> mutations and p53 expression on the postoperative prognosis of patients with colorectal cancer. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 10(7). <https://doi.org/10.1002/mgg3.1905>
- Wargovich, M. J., Brown, V. R., & Morris, J. (2010). Aberrant Crypt Foci: The Case for Inclusion as a Biomarker for Colon Cancer. *Cancers*, 2(3), 1705–1716. <https://doi.org/10.3390/cancers2031705>
- Zhang, X.-A., Zhang, S., Yin, Q., & Zhang, J. (2015). Quercetin induces human colon cancer cells apoptosis by inhibiting the nuclear factor-kappa B Pathway. *Pharmacognosy Magazine*, 11(42), 404. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.153096>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559.
- Zhu, L., & Xue, L. (2019). Kaempferol Suppresses Proliferation and Induces Cell Cycle Arrest, Apoptosis, and DNA Damage in Breast Cancer Cells. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 27(6), 629–634. <https://doi.org/10.3727/096504018X15228018559434>

XI. ANEXOS.

Tabla A1. Parámetros analíticos de los patrones de compuestos fenólicos utilizados en el análisis HPLC-DAD.

Nombre del estándar	Peso molecular (g/mol)	Referencia del producto	Grado de pureza
<i>Ácidos fenólicos</i>			
Ácido elágico	302.19	E2250	≥ 95.0 %
Ácido 4-hidroxibenzoico	138.12	240141	≥ 99.0 %
Ácido gálico	188.13	27645	≥ 98.50 %
Ácido clorogénico	354.31	C3878	≥ 95.0 %
Ácido cafeico	180.16	C0625	≥ 98.0 %
Ácido <i>p</i> -cumárico	164.16	C9008	≥ 98.0 %
Ácido ferúlico	194.18	W518301	≥ 99.0 %
Ácido 4-hidroxifenilacético	152.15	H50004	≥ 98.0 %
<i>Flavonoides</i>			
(+)-Catequina	290.27	C1251	≥ 98.0 %
(-)-Epicatequina	290.27	E4018	≥ 98.0 %
(-)-Epigalocatequina-3-O-galato	458.37	E4143	≥ 95 %
Rutina	610.52	R5143	≥ 94 %
Quercetina	302.24	Q4951	≥ 95 %

Tabla A2. Parámetros analíticos de los estándares de compuestos fenólicos utilizados en el análisis HPLC-DAD

Nombre del estándar	Longitud de onda de detección (nm)	TR (min)	Rango de linealidad (mg/mL)	Coeficiente de correlación (R^2)	Ecuación calculada	LOD (mg/mL)	LOQ (mg/mL)
Ácido Fenólicos							
Ácido elágico	280	3.34	0-100	0.982	y: 10.950x + 2.591	0.01	0.56
Ácido 4-hidroxibenzoico	280	12.34	0-100	0.990	y: 2.441x + 0.1016	0.22	0.98
Ácido gálico	280	7.49	0-100	0.999	y: 29.814x + 125.69	0.16	0.52
Ácido clorogénico	280	10.57	0-100	0.999	y: 56.690x - 208.28	0.11	0.38
Ácido cafeico	280	11.82	0-100	0.999	y: 75.693x + 382.11	0.11	0.38
Ácido p-cumárico	280	14.42	0-100	0.999	y: 129.146x + 60.01	0.61	2.04
Ácido ferúlico	280	15.34	0-100	0.999	y: 98.987x - 621.23	0.31	1.03
Ácido 4-hidroxifenilacético	280	9.88	0-100	0.999	y: 5.3642x - 5.7511	0.34	1.10
Flavonoides							
(+)-Catequina	320	10.85	0-100	0.998	y: 12.77x + 11.607	0.05	0.17
(-)-Epicatequina	320	11.55	0-100	0.991	y: 7.434x + 16.403	0.03	0.22
(-)-Epigalocatequina-3-O-galato	320	11.79	0-100	0.999	y: 12.14x - 1.7373	0.12	0.41
Rutina	320	12.89	0-100	0.999	y: 18.14x - 35.55	0.04	0.14
Quercetina	320	18.44	0-100	0.998	y: 45.26x - 565.14	0.08	0.27

Tabla A3. Secuencias de cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR).

Gen	Cebador directo (5'-3')	Cebador inverso (5'-3')
p53	CCAACAAACACCAGCTCTCT	TCAGGAAGTAACACCATCGTAAG
Kras	TGTGATTGCCTCTAGAACAGT	ACACCCCTGTCTTGCTTTGCT

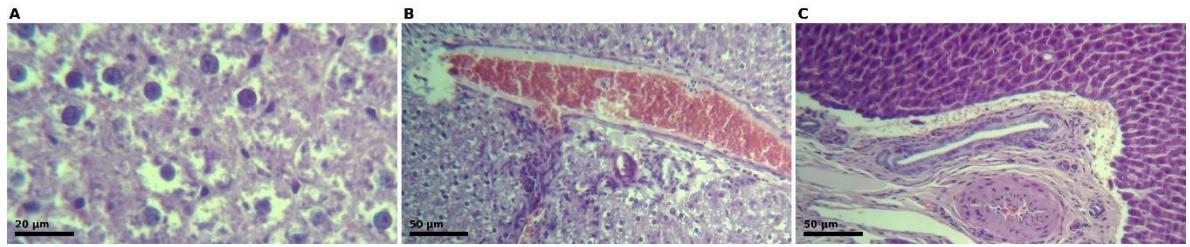


Figura A1. Alteraciones histológicas en tejido de colon e hígado inducidas por AOM/DSS y efecto modulador del arilo de *P. dulce*.