

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
DOCTORADO EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

**“Identificación de compuestos con efecto antiobesogénico en
diferentes variedades de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctora en Ciencias de los Alimentos

Presenta

M.C.A. Elizabeth Morales Luna

Dirigida por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Co-dirigida por:

Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa- UAEH.

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Presidente

Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa

Secretario

Dr. Eduardo Castaño Tostado

Vocal

Dra. Minerva Ramos Gómez

Suplente

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Noviembre, 2019

México

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico recibido mediante una beca nacional durante todo el periodo cursado.

A SAGARPA por el apoyo recibido en el proyecto “Selección de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en base de su perfil de compuestos bioactivos para el desarrollo de productos de alto valor agregado” que fue parte del Programa de Fomento a la Agricultura. Componente de Innovación Agroalimentaria 2016

Dirección General de Bibliotecas

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	I
ABSTRACT	II
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Obesidad en México	3
2.2 Causas de la obesidad	3
2.3 Tejido adiposo	3
2.4 Alteraciones celulares en la obesidad.....	5
2.4.1 Hipertrofia	5
2.4.2 Hiperplasia.....	5
2.5 Metabolismo de lípidos y obesidad	6
2.6. Resistencia a insulina asociada con la obesidad	9
2.7 Tratamientos contra la obesidad.....	11
2.7.1 Tratamientos alternativos.....	11
2.8 Jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	12
2.8.1 Variedades de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	12
2.8.2 Composición proximal.....	13
2.8.3 Constituyentes bioactivos y sus beneficios a la salud	13
2.8.3.1 Antocianinas	16
2.8.3.2. Flavonoides y ácidos fenólicos.....	17
2.8.3.3. Ácidos orgánicos.....	18
2.9. Uso de la metabolómica para detección de metabolitos con actividad biológica	20
2.9.1. Extracción de compuestos fitoquímicos	20
2.9.2. Metabolómica	21
2.9.2.1. Cromatografía líquida.....	21
2.9.2.2. Espectrometría de masas	23
2.9.2.3. Análisis estadístico.....	25
2.9.3. Análisis metabolómico en Jamaica	26

3. JUSTIFICACIÓN.....	28
4. HIPÓTESIS	29
5. OBJETIVOS	30
5.1 Objetivo general.....	30
5.2 Objetivos específicos	30
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
6.1 Materiales.....	31
6.1.1 Material vegetal.....	31
6.1.2 Material biológico	31
6.2 Métodos.....	31
6.2.1 Obtención de extractos	31
6.2.2 Evaluación del perfil fitoquímico de los extractos: HPLC-DAD-MS.....	32
6.2.3. Determinación <i>in vivo</i> del efecto de los extractos sobre el peso corporal y resistencia a insulina.....	33
6.2.3.1 Administración de tratamientos	33
6.2.4 Diseño y análisis de datos.....	34
6.2.5 Selección de variedades de Jamaica con perfiles fitoquímicos diferenciales mediante un análisis jerárquico.....	35
6.2.5.1 Recolección de material.....	35
6.2.5.2 Determinación de características fisicoquímicas de las diferentes variedades en estudio.....	35
6.2.5.3 Cuantificación de fitoquímicos totales	37
6.2.5.4 Análisis metabolómico de las diferentes variedades de Jamaica mediante UPLC-ESI-QToF-MS/MS	38
6.2.6. Análisis de datos.....	39
6.2.7 Confirmación del efecto antiobesogénico de los compuestos previamente sugeridos en las variedades seleccionadas	39
6.2.7.1 Administración de tratamientos	39
6.2.8. Análisis de datos.....	40
7. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	41
7.1. Evaluación del perfil de fitoquímico de los extractos de Jamaica	41
7.2. Efecto de los extractos sobre el peso corporal, consumo de alimento y energía en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa	42
7.3. Grado de hiperplasia en tejido adiposo.....	46
7.4. Contenido de triglicéridos en hígado.....	48

7.5. Efecto del consumo de extractos de Jamaica sobre complicaciones de la obesidad	49
7.6. Asociación del perfil fitoquímico de los extractos de Jamaica con el efecto obtenido sobre la pérdida de peso y complicaciones de la obesidad en ratas tratadas	52
7.7 Selección de diferentes variedades con potencial antiobesogénico con base en su perfil metabolómico	58
7.7.1 Caracterización fisicoquímica de las 27 diferentes variedades de Jamaica	58
7.7.1.1 Color	58
7.7.1.2 pH y acidez titulable	61
7.7.2. Cuantificación de compuestos fitoquímicos totales	63
7.7.3 Análisis metabolómico de las diferentes variedades de Jamaica mediante UPLC-ESI-QTOF-MS-MS	68
7.7.4 Selección de variedades de acuerdo con sus perfiles fitoquímicos	76
7.8 Confirmación del efecto antiobesogénico de los compuestos previamente identificados	80
7.8.1 Asociación del perfil fitoquímico de los extractos de diferentes variedades de Jamaica con el efecto obtenido sobre el peso corporal de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa	82
8. CONCLUSIONES	86
9. REFERENCIAS	87

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química y contenido de compuestos fenólicos de cálices deshidratados de variedades de Jamaica.....	14
Cuadro 2. Componentes de extracto acuoso de cálices de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	15
Cuadro 3. Relación de variedades de Jamaica recolectadas en diferentes localidades de los estados reportados como productores en México.	36
Cuadro 3. Relación de variedades de Jamaica recolectadas en diferentes localidades de los estados reportados como productores en México (continuación).....	37
Cuadro 4. Cuantificación de compuestos polifenólicos y ácidos orgánicos de los extractos acuosos y metanólicos de Jamaica Criolla y Alma Blanca.	43
Cuadro 4. Continuación.	44
Cuadro 5. Consumo de alimento y energía de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.	46
Cuadro 6. Diámetro de los adipocitos en ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.	48
Cuadro 7. Concentración de triglicéridos en hígado de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.....	49
Cuadro 8. Concentración de triglicéridos y valores de HOMA de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.	52
Cuadro 9. Parámetros de color de diferentes variedades de Jamaica.....	60
Cuadro 10. Valores de pH y acidez titulable de las diferentes variedades de Jamaica....	62
Cuadro 11. Compuestos propuestos, identificados mediante UPLC- ESI- QToF- MS/MS en las diferentes variedades de cálices de Jamaica.	69
Cuadro 12. Consumo de alimento y energía de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.	82
Cuadro 13. Valores VIP de los diferentes compuestos, obtenidos por un análisis PLS-DA.....	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución del tejido adiposo en un torso humano.	4
Figura 2. Metabolismo de lípidos en células hepáticas.....	8
Figura 3. Cascada de señalización de insulina para el transporte de glucosa a tejidos dependientes de insulina	10
Figura 4. Estructura química de las principales antocianinas.	16
Figura 5. Ácido cítrico y sus derivados.....	20
Figura 6. Esquema general de un cromatógrafo de líquidos.	22
Figura 7. Sistema de ionización por electrospray (ESI).....	24
Figura 8. Sistema de un Cuadrupolo tiempo de vuelo (QTof).....	25
Figura 9. Peso corporal de ratas.	45
Figura 10. Micrografías de adipocitos teñidos con H&E.	47
Figura 11. Efecto de los extractos sobre diferentes parámetros en ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica	53
Figura 12. Gráfico descriptivo de la interpretación de un análisis de mínimos cuadrados parciales.	54
Figura 13. Análisis de mínimos cuadrados parciales.....	56
Figura 14. Efecto de los componentes de los extractos sobre la concentración de glucosa en suero.	57
Figura 15. Efecto de los componentes de los extractos sobre la concentración de insulina e índice HOMA.	58
Figura 16. Contenido de fenoles totales en diferentes variedades de Jamaica clasificadas en base a su coloración.	64
Figura 17. Contenido de antocianinas totales en diferentes variedades de Jamaica clasificadas en base a su coloración.....	65
Figura 18. Contenido de saponinas totales en diferentes variedades de Jamaica clasificadas en base a su coloración.....	66
Figura 19. Contenido de fitoesteroles totales en diferentes variedades de Jamaica clasificadas en base a su coloración.....	67

Figura 20. Imágenes de las variedades de acuerdo con su agrupación mediante análisis jerárquico.....	76
Figura 21. Análisis de componentes principales para las diferentes variedades de Jamaica	77
Figura 22. Análisis de componentes principales dispersos de los perfiles metabólicos de las diferentes variedades de Jamaica.....	78
Figura 23. Comportamiento de las variedades con respecto a los tres metabolitos importantes.....	79
Figura 24. Incremento del peso corporal de ratas alimentadas con dieta estándar o alta en grasa y fructosa y extracto de Jamaica.....	81
Figura 25. Gráfico del perfil metabolómico de los diferentes extractos de Jamaica.....	83
Figura 26. Gráfico de distribución de los grupos experimentales de acuerdo con los diferentes parámetros medidos en el estudio, incluyendo peso corporal.	84

RESUMEN

La obesidad desencadena enfermedades crónico-degenerativas que implican un alto costo en salud, lo que genera la búsqueda de moléculas bioactivas que controlen estas patologías. El consumo de extractos de Jamaica roja disminuye el peso corporal y mejora la resistencia a insulina (RI), efectos atribuidos a las antocianinas; sin embargo, también presenta flavonoides, ácidos fenólicos y orgánicos en su composición, de los cuales se desconoce el efecto. Alma Blanca, variedad sin antocianinas y altas concentraciones de flavonoides, ácidos orgánicos y fenólicos, podría presentar potencial antiobesogénico. El objetivo de este trabajo fue identificar fitoquímicos de extractos de Jamaica asociados al efecto antiobesogénico y disminución de RI. En la primera etapa se evaluaron dos extractos, acuosos y metanólicos, de dos variedades de Jamaica, con y sin antocianinas, en ratas alimentadas con dieta hipercalórica durante 16 semanas. Los extractos acuosos de ambas variedades presentaron menor ganancia de peso corporal (8.9 y 11.2 %, Alma Blanca y Criolla, respectivamente), menor hiperplasia (23%) y contenido de triglicéridos séricos (53%), que el control obeso, asociando estos efectos a los ácidos orgánicos y antocianinas. Mientras que, todos los extractos redujeron la RI en un 55%, efecto asociado con ácidos fenólicos y flavonoides. Para confirmar el efecto de los compuestos identificados, se realizó el análisis metabólico de 27 variedades de Jamaica, formando 4 grupos mediante un análisis jerárquico, estas se diferenciaron por la presencia de delfinidina 3-sambubiósido. Se seleccionó una variedad representativa de cada grupo: Alma Blanca (Oax), Jalisco (Col), Criolla (Oax) y Cuarenteña (Nay), estas fueron evaluadas para el control de peso corporal en ratas alimentadas con dieta hipercalórica. Alma Blanca (Oax) presentó un perfil más amplio de metabolitos comparada con las otras variedades y mostró el mayor efecto antiobesogénico (11.2%). La actividad de los extractos se asoció flavonoides (luteolina, quercetina y sus derivados) y ácidos fenólicos (clorogénico, siríngico, fumárico, vanílico y succínico). Por lo tanto, adicional a las antocianinas, los flavonoides, ácidos orgánicos y fenólicos están también asociados al efecto antiobesogénico de la Jamaica.

Palabras clave: *Hibiscus sabdariffa*, obesidad, ácidos orgánicos, antocianinas.

ABSTRACT

Obesity promote chronic degenerative diseases that involve a high cost in health, generating the search for bioactive molecules that control these pathologies. The consumption of red Roselle extracts decreases body weight and improves insulin resistance (IR), effects attributed to anthocyanins; however, it presents flavonoids, phenolic and organic acids in its composition, of which the effect is unknown. Alma Blanca, variety without anthocyanins and high concentrations of flavonoids, organic and phenolic acids, could present anti-obesogenic potential. The aim of this study was to identify phytochemical of Roselle extracts associated with anti-obesogenic effect and the decrease of IR. In the first stage, were evaluated two extracts (aqueous and methanolic) of two varieties of Roselle, with and without anthocyanins content, in rats fed with a hypercaloric diet for 16 weeks. The aqueous extracts of both varieties showed lower body weight gain (8.9 and 11.2%, Alma Blanca and Criolla, respectively), lower hyperplasia (23%) and serum triglyceride content (53%) than the obese control, associating the effects with organic acids and anthocyanins content. All extracts reduced IR by 55%, this effect was associated with phenolic acids and flavonoids. To confirm the effect of the identified compounds, metabolomic analysis of 27 varieties of Roselle was realized forming four groups through a hierarchical analysis, the varieties were differentiated by the presence of delphinidin 3-sambubioside. A representative variety was selected from each group: Alma Blanca (Oax), Jalisco (Col), Creole (Oax) and Quarantine (Nay), these were evaluated for the control of body weight in rats fed with a hypercaloric diet. Alma Blanca (Oax) presented a wide profile of metabolites compared to the other varieties and showed the greatest anti-obesogenic effect (11.2%). The activity of the extracts was associated with flavonoids (luteolin, quercetin and its derivatives) and phenolic acids (chlorogenic, syringic, fumaric, vanillic and succinic). Therefore, in addition to anthocyanins, flavonoids, organic and phenolic acids are also associated with the anti-obesogenic effect of Jamaica.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa*, obesity, organic acids, anthocyanins.

1. INTRODUCCIÓN

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación excesiva de grasa, principalmente en el tejido adiposo. A nivel mundial, México ocupa el segundo lugar en obesidad y el primer lugar en obesidad infantil (Organización Mundial de la Salud, 2012). El aumento de personas que desarrollan o presentan enfermedades crónico-degenerativas ha desencadenado la búsqueda e identificación de alimentos y compuestos bioactivos, que ayuden a prevenir dichas patologías.

México es el séptimo productor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en el mundo; este producto es ampliamente conocido por presentar un alto valor nutraceutico. Diversos estudios han demostrado que el consumo de extractos de Jamaica ayuda a disminuir el peso corporal y los lípidos séricos, como los triacilglicéridos y el colesterol, así como mejorar la resistencia a insulina. Estos estudios sólo se han realizado para variedades de Jamaica que presentan coloraciones rojas y dichos efectos se han atribuido principalmente a las antocianinas. Específicamente se ha reportado que extractos de Jamaica de coloraciones rojas, disminuyen el peso corporal, el peso de tejido adiposo, y disminuyen lípidos en sangre (Carvajal-Zarraval *et al.*, 2005, 2009; Gosain *et al.*, 2010). Los mecanismos relacionados con estos beneficios se atribuyen a una disminución en la absorción de triglicéridos en el intestino, disminución de la lipogénesis e incremento de la β -oxidación en hígado, así como una disminución en la diferenciación de adipocitos (Villalpando-Arteaga *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2003). Respecto a la resistencia a la insulina, se ha determinado que los extractos de Jamaica disminuyen la concentración de glucosa en suero y este efecto se asoció con un control sobre la glucosamina-nitrosourea que es un compuesto tóxico para las células β pancreáticas, mejorando así la secreción de insulina (Lee *et al.* 2009). Por otro lado, también se ha demostrado que los extractos de Jamaica presentan inhibición de la actividad de enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, las cuales hidrolizan los enlaces glucosídicos de los carbohidratos para ser absorbidos (Adisakwattana *et al.*, 2012). Adicionalmente, la Jamaica de

tonalidad roja presenta otros componentes como compuestos fenólicos y ácidos orgánicos que pudieran presentar estos beneficios, pero esto no ha sido evaluado.

Actualmente, en México se producen variedades de Jamaica de tonalidad clara como Alma Blanca; sin embargo, estos cálices no presentan antocianinas, pero son ricas en ácidos orgánicos como el hidroxicítrico, el cual ha sido ampliamente estudiado para la fruta *Garcinia cambogia*, en donde se ha observado un efecto importante sobre la disminución de peso corporal, y el mecanismo se ha relacionado con una disminución de la lipogénesis (Heymsfiel *et al.*, 1998; Hayamizu *et al.*, 2003). Es importante mencionar que el ácido hidroxicítrico presente en *Garcinia* (2S, 3S) tiene una conformación diferente al ácido de los cálices de Jamaica (2S, 3R), lo cual podría generar diferentes propiedades benéficas a la salud. Respecto a la resistencia a insulina, se ha encontrado que el ácido hidroxicítrico tiene un efecto hipoglucemiante cuando se administra para el control del peso corporal; sin embargo, no se ha elucidado un mecanismo de acción. La Jamaica también tiene importantes concentraciones de ácido hibiscus, el cual inhibe la actividad de la enzima α -amilasa pancreática y α -glucosidasa intestinal, lo que deriva en una menor concentración de glucosa en plasma (Yamada *et al.*, 2007).

El desarrollo de este proyecto consistió en dos etapas, la primera fue la evaluación del efecto de los extractos de dos variedades de Jamaica: Alma Blanca (sin contenido de antocianinas) y Criolla (con antocianinas presentes en su composición), sobre la disminución de la ganancia de peso y resistencia a insulina, en ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa; ambas variedades presentaron el mismo efecto benéfico y se asoció con compuestos diferentes a las antocianinas. La segunda etapa tuvo como objetivo comprobar la actividad de los fitoquímicos identificados en la etapa anterior sobre el efecto antiobesogénico, para lo cual se utilizaron 27 variedades de Jamaica, a estas se les determinó el perfil metabólico para agruparlas en función de los fitoquímicos diferenciales y se determinó su efecto sobre el control de la obesidad y se demostró que también ácidos fenólicos y flavonoides.

2. ANTECEDENTES

2.1 Obesidad en México

La obesidad y el sobrepeso son el principal problema de salud pública en nuestro país, ya que México presenta el primer lugar mundial en niños con obesidad y sobrepeso y el segundo en adultos. México gasta aproximadamente el 7% del presupuesto destinado a salud para atender la obesidad, menor a Estados Unidos que invierte el 9%. Según datos de la ENSANUT de medio camino (2016), en México, la prevalencia de obesidad y sobrepeso en adultos mayores de 20 años alcanzó un 72.5%, superando por 1.3 puntos porcentuales la prevalencia en 2012. De acuerdo con las cifras de la Secretaría de Salud, entre las principales consecuencias del incremento de las cifras de obesidad en el país se encuentra el aumento de 12 veces la mortalidad entre jóvenes de 25 a 35 años; en términos laborales, el número de horas perdidas es entre 25 y 68% de los empleos formales generados en 2014 (Staff, I. M. C. O., 2015).

2.2 Causas de la obesidad

La mayoría de los casos de obesidad son del origen multifactorial. Las causas más reconocidas son genéticas, metabólicas, endócrinas y ambientales. La obesidad por sobrealimentación constituye la principal causa. Si se ingiere mayor cantidad de energía de la necesaria, ésta se acumula en forma de grasa en el tejido adiposo. Por lo que, la obesidad se produce por exceso de energía, como resultado de las alteraciones en el equilibrio de ingesta y gasto energético. En el caso de los factores ambientales, también destaca la reducción de la actividad física. Sólo un pequeño porcentaje (2 a 3 %) de los obesos tienen como causa alguna patología de origen endócrino (Bastarrachea *et al.*, 2004).

2.3 Tejido adiposo

El tejido adiposo se diferencia en dos tipos, el tejido adiposo visceral (TAV) y el subcutáneo (TAS). El primero engloba el tejido adiposo omental, mesentérico,

retroperitoneal, así como el perigonadal y se localiza dentro de la cavidad abdominal (Wajchenberg, 2000). El tejido subcutáneo se localiza debajo de la piel a lo largo de todo el cuerpo (Figura 1) (Shi *et al.*, 2009).

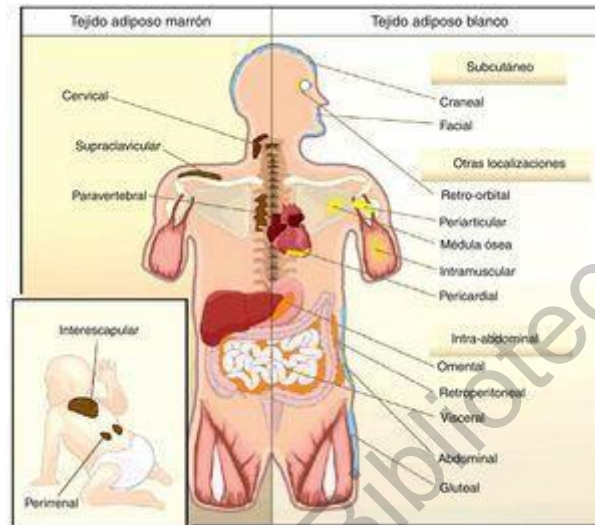


Figura 1. Distribución del tejido adiposo del torso humano (Ráfols, M. E., 2014).

El tejido adiposo está compuesto por adipocitos maduros, inmersos en una matriz de colágeno, donde también se encuentran células madre mesenquimales, preadipocitos, terminales nerviosas, células sanguíneas y tejido vascular, que en conjunto se denominan fracción de estroma vascular (Frayn *et al.*, 2003). Los adipocitos maduros y la fracción de estroma vascular son esenciales para el mantenimiento de la función del tejido adiposo.

Los adipocitos son las células más abundantes dentro del tejido adiposo, constituyen el 25% del número total de células, son esféricas, de tamaño muy variable, desde 20 μm hasta 200 μm de diámetro. Estas células acumulan triglicéridos, diglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos no esterificados y colesterol, los cuales son almacenados en el interior de orgánulos altamente especializados llamados gotas lipídicas (Frayn *et al.*, 2003).

2.4 Alteraciones celulares en la obesidad

En la obesidad existe un incremento del tejido adiposo y se presenta un aumento en el tamaño (hipertrofia) y número de los adipocitos (hiperplasia) (Söhle *et al.*, 2009).

2.4.1 Hipertrofia

La hipertrofia del adipocito se define como un aumento anormal del volumen de esta célula, debido a una mayor acumulación de triglicéridos y por lo tanto un aumento en el volumen del tejido adiposo.

En general, durante la hipertrofia existe una alteración en el metabolismo de lípidos presentándose una reducción en la actividad de la lipoproteína lipasa, se disminuye la lipólisis del tejido adiposo subcutáneo por un decremento en los receptores β -adrenérgicos, la hormona de crecimiento y las vías de señalización lipolíticas de la hormona tiroidea (De Glisezinski *et al.*, 1999; Drager *et al.*, 2012).

Adicional al efecto de lipólisis también se altera la capacidad del transporte de glucosa en adipocitos humanos, incrementándose la expresión de genes que codifican para sistemas facilitadores de transporte de glucosa (GLUT) como GLUT 1, GLUT 3 y GLUT 5; mientras que, algunos otros como GLUT4, GLUT 10 y GLUT12 no se ven afectados; dichos cambios acompañan a una mayor concentración de glucosa en este tejido y, por lo tanto, mayor síntesis de lípidos (Wood *et al.*, 2007).

2.4.2 Hiperplasia

La hiperplasia se define como el incremento en el número de adipocitos y, al igual que con la hipertrofia, esto deriva en el aumento del volumen del tejido adiposo. La hiperplasia está dada por un incremento en la diferenciación de preadipocitos, lo que causa que un mayor número de células puedan almacenar grasa (Jo *et al.*, 2009). La diferenciación de la célula adiposa se ha estudiado ampliamente estudiada, a nivel transcripcional en líneas celulares inmortalizadas de ratón, como son la línea celular 3T3-L1 y la línea celular 3T3-F442A (Green & Meuth, 1974).

La mayoría de las proteínas que permiten diferenciar al adipocito son reguladas por factores de transcripción que actúan como reguladores de la expresión génica. Entre los factores de transcripción más importantes para el proceso de diferenciación se incluyen el C/EBP α (CCAAT-enhancer-binding proteins) y el receptor nuclear PPAR γ .

La sobreexpresión de C/EBP α en células 3T3-L1 induce su diferenciación (Lin & Lane, 1992). C/EBP α se une y activa a genes relacionados con el fenotipo adipogénico como son aP2/FABP (adipocyte Protein 2/ fatty acid binding protein), SCD1 (stearoyl-Coa desaturase 1), GLUT4, leptina y el receptor de insulina (Lin *et al.*, 1993; Timchenko *et al.*, 1997; Umek *et al.*, 1991;).

El receptor nuclear PPAR γ , de todos los PPARs, es el más adipogénico y se expresa desde la etapa del preadipocito. PPAR γ tiene un papel crucial en la función de la mayoría de los genes específicos de célula adiposa (Tontonoz *et al.*, 1995).

2.5 Metabolismo de lípidos y obesidad

La utilización o almacenamiento de los depósitos grasos está determinado por la síntesis o degradación de éstos. Los procesos que determinan la acumulación de grasa incluyen la tasa de utilización de lípidos, síntesis de *novo* de ácidos grasos y transporte de ácidos grasos (Figura 2). En el metabolismo, las enzimas lipogénicas incluyen a la acetil-CoA carboxilasa (ACC), ácido graso sintasa (FAS) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y el cambio en su actividad puede modificar la tasa de biosíntesis de ácidos grasos. Además, la lipasa sensible a la hormona (LSH) y la carnitina palmitoiltransferasa (CPT) limitan la tasa de catabolismo y son responsables de la hidrólisis de triglicéridos y del transporte de ácidos grasos a la mitocondria para llevar a cabo la β -oxidación (Miján, 2004).

El transporte de lípidos en el organismo inicia con la absorción de los lípidos de la dieta en el intestino. Estas moléculas son incorporadas en quilomicrones (Qm), los cuales acarrear los lípidos a los tejidos periféricos. En el tejido adiposo y el músculo, la enzima lipoproteína lipasa (LPL) hidroliza a los Qm, produciendo ácidos grasos,

los cuales se transportan a los tejidos. Los remanentes de estos Qm son transportados hacia el hígado. La concentración de estos lípidos en el hígado y los provenientes de la síntesis *de novo* genera la secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las VLDL se someten a lipólisis por medio de la enzima LPL liberando ácidos grasos, que posteriormente se transportan al tejido adiposo para almacenarse o en el tejido muscular para ser catabolizado. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) son productos finales del metabolismo de las VLDL. Las LDL ricas en colesterol, son transportadas a tejidos extra hepáticos, en donde se unen a su receptor para ser endocitadas a la célula (Kahn & Flier, 2000). Por el contrario, las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se forman en el intestino y en el hígado, teniendo como principal función transportar el colesterol de tejidos periféricos hacia el hígado (Jon, 2008).

Las alteraciones de la lipólisis inducida por hormonas tienen un papel importante en el desarrollo de la obesidad y sus complicaciones metabólicas. Se han descrito modificaciones de la enzima que catalizan la hidrólisis de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo, la lipasa sensible a la hormona. En los adipocitos de pacientes obesos se induce la expresión de la enzima FAS, lo cual inhibe la lipólisis (Morales-González, 2010). La capacidad hepática de metabolizar ácidos grasos es regulada en gran medida por la actividad de PPAR α . Este receptor nuclear activa la transcripción de genes implicados en el catabolismo de los ácidos grasos, tanto proteínas que participan la captación de los ácidos grasos circulantes, como enzimas útiles en la oxidación mitocondrial. Por lo tanto, la deficiencia de PPAR α genera obesidad e hipertrigliceridemia y su activación podría contribuir a la reducción de la adiposidad, al favorecer la oxidación de los ácidos grasos en los adipocitos (Miján, 2004).

El tejido adiposo controla el metabolismo lipídico a través de señales endócrinas, parácrinas y autócrinas, que le permiten regular el metabolismo de adipocitos como de otros tipos celulares como el sistema nervioso central, hígado, músculo y páncreas (Kim & Moustid-Moussa, 2000). Tras el descubrimiento de la leptina

(Zhang *et al.*, 1994), el tejido adiposo se empezó a considerar como un órgano endócrino; en la actualidad se sabe que este tejido secreta, además de leptina, diversas hormonas y citocinas con actividad biológica (adipocinas) (Kershaw & Flier, 2004), las cuales participan en una gran variedad de funciones fisiológicas como la regulación de la homeostasis energética y vascular, la regulación del metabolismo lipídico, el control del apetito, la sensibilidad a la insulina, entre otras (Ronti *et al.*, 2006). Se requiere un control estricto de la secreción de éstas, debido a su efecto sobre una gran variedad de procesos, ya que la modificación de la concentración de adipocinas en el plasma causa alteraciones en la homeostasis energética corporal, dicha secreción se encuentra alterada en la obesidad (Maury & Brichrad, 2010).

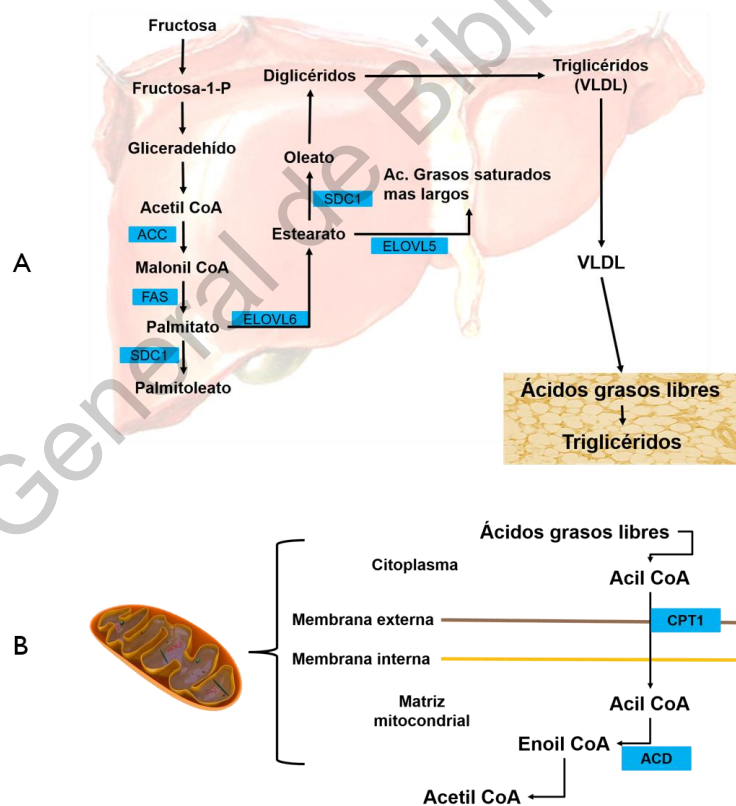


Figura 2. Metabolismo de lípidos en células hepáticas: síntesis de ácidos grasos y triglicéridos (A) y β - oxidación de ácidos grasos (B) (adaptado de Gropper *et al.*, 2009).

2.6. Resistencia a insulina asociada con la obesidad

La insulina desencadena diversas respuestas metabólicas, uniéndose y activando un receptor específico de la membrana plasmática; éste es un receptor extracelular acoplado a una enzima con actividad tirosina-cinasa. El receptor está formado por dos subunidades α y dos subunidades β , éstas últimas se encuentran insertadas en la membrana celular. Cuando la insulina se une a su receptor en las subunidades α , se produce un cambio conformacional en la proteína, lo que hace que las subunidades β tengan actividad de cinasa. Los sustratos del receptor (IRS) son fosforilados en sus residuos de tirosina de forma que servirán como anclaje a proteínas como la fosfatidil-inositol-3 cinasa (PI3K) a la cual fosforila y se forma el complejo IRS-1-PI3K. Posteriormente, PI3K fosforila fosfolípidos de membrana, formando fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3). PIP3 a su vez activa la enzima cinasa dependiente de PIP3 (PDK1). PDK1 activa otra cinasa llamada proteína cinasa B (PKB) o también llamada Akt (Pessin & Saltiel, 2000).

PKB/Akt ejerce efecto sobre diferentes vías que regulan homeostasis de lípidos y carbohidratos, tales como estimulación del transporte de glucosa y síntesis de glucógeno, activación de la lipogénesis y síntesis de proteínas e inhibición de la lipólisis, además la insulina también aumenta la captación de ácidos grasos desde lipoproteínas circulantes, estimulando la actividad de la lipoproteín lipasa en el tejido adiposo (Saltiel & Ronald, 2001). Por otro lado, la translocación de GLUT4 depende de la activación de PI3K y de la cinasa Akt, éstas involucran a AS160 (sustrato de Akt) el cual permite la movilización de las vesículas de GLUT4 y permiten su translocación a la membrana (Pessin & Saltiel, 2000) (Figura 3).

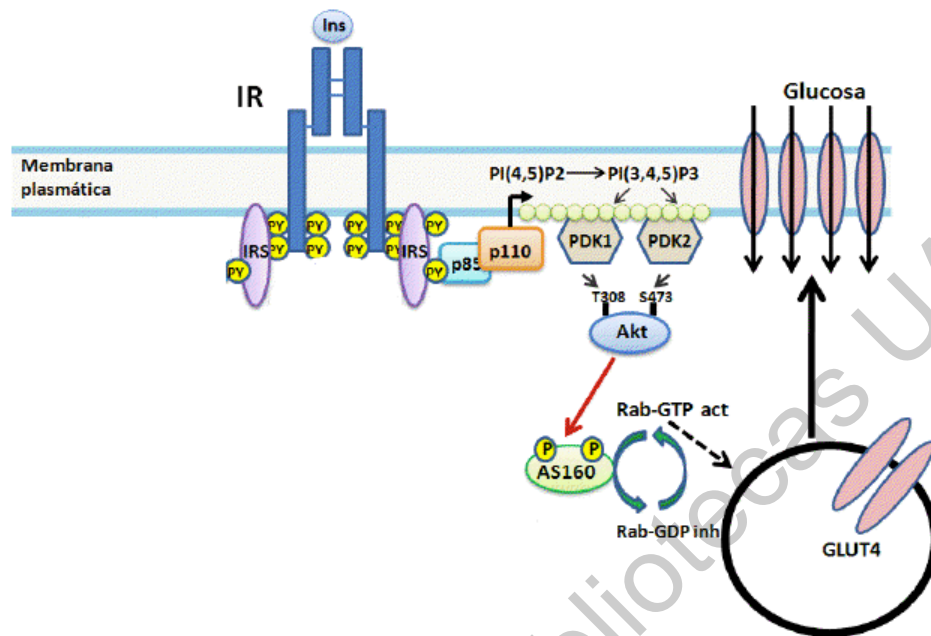


Figura 3. Cascada de señalización de insulina para el transporte de glucosa a tejidos dependientes de insulina. La estimulación de la insulina da como resultado la fosforilación de tirosina del IRS y la activación de PI3K, que cataliza la formación de PI(3,4,5)P3 a partir de PI(4,5)P2, lo que lleva a la acción de PDK1 y PDK2. El PDK fosforila y activa a Akt, que a su vez fosforila e inactiva a AS160, una proteína activadora de Rab-GTP. AS160 regula negativamente la traslocación de GLUT4 al convertir la forma activa de la proteína Rab unida a GTP a la forma inactiva unida a GDP. Ins, insulina; IR, receptor de insulina; IRS, sustrato del receptor de insulina; PY, fosforilación en residuos de tirosina; p85 y p110, subunidades de PI3K; PI3K fosfatidilinositol-3-cinasa; PI(4,5)P2, fosfatidilinositol-4,5-bifosfato; PI(3,4,5)P3, fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato; PDK1 y PDK2, serina treonina cinasas dependientes de fosfolípidos; Akt, proteína cinasa B; AS160, sustrato de Akt de 160kDa; GLUT4, transportador de glucosa 4.

En una condición de obesidad se produce una estimulación de una mayor síntesis de triglicéridos y se desarrolla la resistencia a insulina (Arner, 2003). La resistencia a la insulina se caracteriza como un estado en el que los efectos biológicos de esta hormona se ven disminuidos, principalmente con respecto a la utilización de la glucosa y síntesis de glucógeno por el músculo esquelético, así como la supresión de la producción endógena de glucosa por el hígado o en la activación de la lipólisis en tejido adiposo (Dinneen *et al.*, 1992).

2.7 Tratamientos contra la obesidad

Los fármacos son una de las opciones terapéuticas para el tratamiento de la obesidad. Sin embargo, este tipo de tratamiento se recomienda sólo como auxiliar a la dieta y el ejercicio, y debe considerarse únicamente en obesos con un IMC de 30 o mayor, en los que dieta y ejercicio no hayan producido una mejoría o que tengan algunos padecimientos como diabetes o hipertensión (Blackburn, 1995).

Los fármacos más utilizados se clasifican de acuerdo con su mecanismo de acción, entre los que se encuentran: los que disminuyen el apetito o aumentan la saciedad, los que disminuyen la absorción de nutrientes y los que aumentan el gasto energético (Skender *et al.*, 1996).

2.7.1 Tratamientos alternativos

Dentro de los tratamientos alternativos para la obesidad, existe la medicina china, la homeopatía, la fitoterapia, entre muchos otros. Esta última, también conocida como herbolaria es una ciencia que se encarga del uso de plantas medicinales con finalidad terapéutica, como la prevención o control de algún estado patológico (Hernando-Petierri, 2007).

Las plantas más utilizadas por la población en general para el tratamiento del sobrepeso y la obesidad, por mencionar algunas, son, alcachofa (*Cynara scolymus*), cola de caballo (*Equisetum arvense*), efedra (*Ephedra n.*), algas (*Fucus n.*), garcinia (*Garcinia cambogia*), guaraná (*Paullinia cupana*), hierba de San Juan (*Hypericum perforatum*), piña (*Ananas comosus*), plántago (*Plantago psyllium*), valeriana (*Valeriana officinalis*), toronja (*Citrus x paradisi*), nopal (*Opuntia ficus-indica*), Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), entre otras. La mayoría de las plantas se utilizan en forma de infusiones, las cuales pueden conferir efecto diurético, laxante, termogénico, entre otros (Villar *et al.*, 2002).

Una infusión es una bebida obtenida de las hojas secas, flores y/o frutos, los cuales se vierten o se introducen en agua a punto de hervir. Los principales compuestos con actividad biológica presentes en estas bebidas son los polifenoles, los cuales

se consideran constituyentes importantes en la dieta del ser humano, ya que su consumo provee efectos positivos a la salud (Apak *et al.*, 2007).

De acuerdo con estudios clínicos, estos efectos se atribuyen a compuestos como los compuestos polifenólicos; por ejemplo, el té verde, en el cual se encuentra el galato de epigallocatequina en mayor proporción, y a éste es al que se le atribuye el incremento en la termogénesis y la oxidación de grasa (Dullo *et al.*, 1999).

Los efectos antiobesigénicos del té verde y de los polifenoles provenientes de éste, han sido de los más estudiados hasta el momento; sin embargo, para la población mexicana, el consumo de té verde es poco común, ya que la mayoría de la población prefiere infusiones de materiales locales (Baladia *et al.*, 2014).

2.8 Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)

La Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una especie vegetal que se cultiva en México, cosechándose 18 mil hectáreas con un rendimiento promedio de 265 kg/ha. En los estados de Guerrero, Michoacán y Oaxaca se cultiva el 94.9 % de la superficie cosechada y se obtiene el 89.8 % de la producción nacional (SIAP, 2018). Actualmente, toda la producción proviene de una variedad Criolla, que se siembra únicamente en el ciclo agrícola de primavera-verano. Esta especie es de fotoperiodo (día) corto, por lo que la producción se concentra en una sola época del año y su rendimiento es bajo (Contreras *et al.*, 2009).

Los cálices o las flores se utilizan para preparar infusiones, vinos, salsas, mermeladas, dulces, entre otros productos procesados. Los cálices o las bebidas obtenidas a partir de éstos, son usados como medicina para la constipación, problemas del corazón, hipertensión, infecciones en vías urinarias, cáncer, diabetes y desórdenes nerviosos. *H. sabdariffa* L. tiene un perfil fitoquímico muy extenso, el cual es responsable de sus beneficios a la salud.

2.8.1 Variedades de *Hibiscus sabdariffa*

En el mundo existen diferentes variedades de Jamaica, de las cuales algunas como Sudán y China se importan en México, siendo éstas las más comerciales, debido a

su característico color rojo. Sin embargo, en el país existen cuatro variedades con número de registro provisional ante el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) y una de ellas es Alma Blanca (Ariza-Flores *et al.*, 2014).

Alma Blanca es una mutación natural de la Jamaica Criolla regional, colectada de las localidades de Cotzaltzin, Ayutla de los Libres y Chacalapa, Juan R. Escudero, ambos del estado de Guerrero. La característica distintiva de esta variedad es que sus tallos y sus hojas son de color verde, con cálices de la flor color amarillo claro, y al secarse los cálices adquieren un color café (Ariza-Flores *et al.*, 2014).

2.8.2 Composición proximal

La composición de la Jamaica es muy variable, la cual depende de las variedades, condiciones genéticas, ambientales, ecológicas y de cosecha. Estudios han reportado que 100 g de flor contienen 1.9 g de proteína, 0.1 g de grasa, 12.3 g de carbohidratos y 2.3 g de fibra, así como 14 mg de vitamina C, 300 µg de β-caroteno, 1.72 mg de calcio y 57 mg de hierro (Ismail *et al.*, 2008). También se ha reportado la concentración de algunos compuestos bioactivos (Cuadro 1).

2.8.3 Constituyentes bioactivos y sus beneficios a la salud

Respecto a los constituyentes bioactivos de Jamaica, los más relevantes en el contexto de sus propiedades farmacológicas incluyen los ácidos orgánicos, antocianinas, polisacáridos y flavonoides (Eggensperger & Wilker, 1996). Dentro de los ácidos orgánicos (13-24 %) se encuentran el ácido cítrico (12-20%), hidroxycítrico, hibiscus, málico (12-9 %) y tartárico (8 %) como los principales compuestos y oxálico y ascórbico (0.02-0.05 %) como compuestos minoritarios (Eggensperger & Wilker, 1996; Schiler, 1976) (Cuadro 2).

Cuadro 1. Composición química (g/100 g) y contenido de compuestos fenólicos (base seca) de cálices deshidratados de variedades de Jamaica

Compuesto		Alma Blanca	Rosaliz	Cotzaltzin	Tecoanapa	Criolla
Composición química	Proteína	4.2 ± 0.27	3.6 ± 0.59	3.4 ± 0.43	5.8 ± 0.10	6.0 ± 0.09
	Lípidos	17.7 ± 0.12	18.0 ± 0.28	17.7 ± 0.24	22.8 ± 1.35	20.9 ± 1.19
	Fibra	43.9 ± 2.7	40.1 ± 2.4	33.1 ± 1.2	34.0 ± 2.8	38.5 ± 1.7
	Ceniza	9.0 ± 0.18	7.1 ± 0.23	8.3 ± 0.15	6.2 ± 0.10	6.8 ± 0.53
	Carbohidratos	25.2 ± 0.82	31.2 ± 0.88	37.5 ± 0.51	31.2 ± 1.12	27.8 ± 0.88
Compuestos fenólicos	Fenoles solubles (mg EAG/100 g)*	2.54 ± 0.1	2.54 ± 0.2	2.58 ± 0.1	2.24 ± 0.1	5.09 ± 0.1
	Taninos (mg EC/100 g)**	65.5 ± 5.1	380.6 ± 20.4	1481.2 ± 36.5	1159.3 ± 25.9	729.5 ± 16.3
	Antocianinas (mg EA3G/100 g)***	0.1 ± 0.01	0.7 ± 0.04	3.0 ± 0.17	2.3 ± 0.13	20.6 ± 0.61

*Equivalentes de ácido gálico; **Equivalentes de catequina; ***Equivalentes de cianidina-3-glucósido (Ariza-Flores *et al.*, 2014).

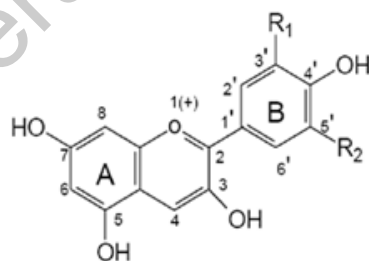
Cuadro 2. Componentes de extracto acuoso de cálices de *Hibiscus sabdariffa*

Clase	Compuesto
Antocianinas	Delfinidina-3-sambubiósido Cianidina-3-sambubiósido
Flavonoides y ácidos fenólicos	Acido gálico Ácido clorogénico 5-hidroximetilfurfural Metilgalato 5-ácido cafeoilquínico 3-ácido cafeoilquínico Ácido protocatecuico Ácido protocatecuico glucosilado Quercetina-3-sambubiósido Quercetina-3-rutinósido 5-O-ácido cafeilshiquínico Quercetina-3-glucósido Caempferol-3-O-rutinósido Mirecitina N-ferulotiramida 4-ácido cafeoilquínico Caempferol-3-p-coumarilglucósido Quercetina Ácido cafeico Caempferol-3-glucósido
Ácidos orgánicos	Ácido hidroxicítrico Ácido hibiscus Ácido hibiscus glucosilado Ácido hibiscus 6-metil éster

2.8.3.1 Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua, derivados de flavonoides. Están constituidas por una molécula de antocianidina a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. La estructura de las antocianinas está formada por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de tres carbonos (Figura 4). Una variación en los sustituyentes del anillo B resultan en las diferentes antocianidinas conocidas; el número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo del anillo B determina su color (Figura 4) y éste varía en función del pH (Garzón G., 2008). Las antocianinas derivadas de cianidina y delphinidina, incluyen delphinidina-3-sambubiósido (hibiscina), cianidina-3-sambubiósido, gospiscianina, cianidina-3-5-diglucosido, delphinidina (antocianidina) (Williamson *et al.*, 2009).

Varios estudios han identificado a la delphinidina-3-sambubiósido y a la cianidina-3-sambubiósido como las principales antocianinas presentes en los extractos de los cálices de Jamaica (Yamamoto & Osima, 1932). Alarcón-Alonso *et al.* (2012) reportaron que un gramo de extracto acuoso de Jamaica contiene 56.5 mg de delphinidina-3-sambubiósido y 20.8 mg de cianidina-3-sambubiósido.



	Sustituyentes		$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)
	R1	R2	
Aglicona			Espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delphinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvinidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Figura 4. Estructura química de las principales antocianinas (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Villalpando-Arteaga *et al.* (2013) realizaron estudios con ratones alimentados con una dieta alta en grasa, a éstos se les administró vía intragástrica un extracto de *Hibiscus*, equivalentes a 33 mg de antocianinas totales por kg de peso corporal, tres veces por semana durante 8 semanas. Esto redujo la ganancia de peso corporal en un 43 %, la acumulación de tejido adiposo y normalizó el índice glucémico, así como el colesterol HDL, LDL y VLDL, en ratones obesos inducidos con dieta. Se relacionó el consumo del extracto con una disminución en la expresión de los factores de transcripción SREBP-1c y PPAR γ que participan en la determinación y diferenciación de los adipocitos, este efecto se atribuyó a la presencia de cianidina-3-sambubiósido y delphinidina-3-sambubiósido.

A las antocianinas se les ha atribuido también un efecto hipoglucémico y mejora de la insulina, esto por diversos mecanismos como la protección de las células β del páncreas y la inhibición de la actividad de α -glucosidasas (Matsui *et al.*, 2001).

2.3.3.2. Flavonoides y ácidos fenólicos

Los flavonoides presentes en *Hibiscus* son tipo flavonol y flavanol simples o polimerizados, tales como hibiscetrina, sabdaritrina, gosipitrina, gositrina y otros glucósidos de gosipetina, quercetina y luteolina, así como ácido clorogénico, protocatecuico, pelargoninidico, eugenol, quercetina y luteolina (McKay, 2009; Williamson *et al.*, 2009). La presencia de estos glicósidos de flavonol fue baja, siendo hibiscetrina el principal compuesto, seguido de gosipitrina y sabdaritrina. La cantidad de quercetina en extractos de cálices fue de 3.2 mg/g, mientras que la rutina fue de 2.1 mg/g (Alarcón-Alonso *et al.*, 2012). En extractos acuosos de cálices secos se ha encontrado la presencia de ácido elágico, cafeíco, ferúlico, cumárico y protocatecuico, siendo este último un ácido fenólico importante en cálices de Jamaica (Lee *et al.*, 2002). Por otro lado, el ácido clorogénico es otro ácido fenólico presente en extractos de Jamaica reportando concentraciones hasta de 2.7 mg/g (Alarcón-Alonso *et al.*, 2012).

Se ha reportado que los flavonoides y los ácidos fenólicos, presentes en Jamaica, tienen efecto sobre prevención de la ganancia de peso corporal en ratas

alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa, así como la disminución en el diámetro de adipocitos y la disminución de esteatosis hepática no alcohólica (Morales-Luna *et al.*, 2019). Se ha estudiado el efecto de los flavonoides, como la quercetina y la luteolina, sobre disminución de obesidad, diabetes y lípidos en suero, encontrando un efecto sobre la disminución de la actividad de lipasa hasta en un 27 % (Zheng *et al.*, 2010). Por otro lado, se ha encontrado que la quercetina tiene un efecto en el decremento de la adipogénesis e inducción de apoptosis en pre adipocitos y adipocitos maduros mediante una disminución en el potencial de membrana, así como, la activación de caspasa-3 (Ahn *et al.*, 2008).

En estudios clínicos se ha encontrado que la catequina disminuye el peso corporal inhibiendo la actividad de lipasa gástrica e incrementando termogénesis (Chantre & Lairon, 2002; Boschmann & Thielecke, 2007). Por otro lado, se ha reportado que el ácido ferúlico tiene propiedades hipolipídicas y ayuda a la disminución del riesgo de padecer obesidad cuando se consume una dieta alta en grasa (Jin Son *et al.*, 2010).

También existen reportes en los que se demuestra que el ácido clorogénico y el cafeico tienen efectos importantes sobre la pérdida de peso corporal debido a un incremento de la β -oxidación (Ae-Sim *et al.*, 2010)

2.8.3.3. Ácidos orgánicos

Ácido hidroxicítrico

El ácido hidroxicítrico tiene un grupo hidroxilo adicional en el segundo carbono del ácido cítrico (Figura 5). Este ácido tiene 4 estereoisómeros (2S, 3S), (2R, 3R), (2S, 3R), (2R, 3S) y sus formas lactonas, el principal ácido orgánico encontrado en los cálices es el (2S, 3R). Se ha reportado que el (2S, 3S) es el ácido hidroxicítrico más común encontrado en *Garcinia* sp.; sin embargo, no se sabe si esto podría producir efectos farmacológicos diferentes comparados con los otros ácidos (Hida *et al.*, 2007). Se ha reportado que la Jamaica Criolla presenta una concentración de ácidos

orgánicos de 15.7 mg/g de cálices secos y la Alma Blanca de 47.7 mg/g de cálices secos (Morales-Luna *et al.*, 2019).

Se han realizado estudios en donde se evaluó el efecto de extractos acuosos de Jamaica a dosis 5, 10 y 15 g de extracto/100 g de alimento en ratas alimentadas con dieta alta en grasas, encontrándose que estos disminuyeron hasta en un 87 % la ganancia de peso corporal. También se reportó que el extracto etanólico de Jamaica aumenta la excreción de grasas, efecto que se atribuyó a la disminución en la actividad de lipasa pancreática, efecto atribuido al contenido de ácido hibiscus (Carvajal-Zarrabal *et al.*, 2005, 2009).

El ácido hidroxycítrico es un inhibidor competitivo potente de ATP-citrato liasa (Sullivan, 1977), la cual es una enzima que cataliza la conversión de citrato a acetil CoA en el citoplasma de las células para la síntesis de ácidos grasos o colesterol. Se ha reportado que la acción del ácido hidroxycítrico obtenido de *Garcinia cambogia* disminuye la síntesis de los compuestos anteriormente mencionados en hígado de ratas obesas (Berkhout *et al.*, 1990; Lowenstein, 1971; Sullivan *et al.*, 1972).

Por otro lado, Hayamizu *et al.* (2003) realizaron estudios en sujetos con sobrepeso, sin antecedentes de diabetes, problemas cardiacos, hipertensión, entre otros padecimientos, a los cuales se les administró durante 12 semanas una dosis de 1000 mg de ácido hidroxycítrico al día, proveniente de *Garcinia cambogia*. Se obtuvo un decremento entre el 10 y 15% en el contenido total de grasa y una disminución de peso corporal e IMC, no se observaron efectos adversos por su consumo.

Los resultados anteriormente mencionados sugieren que el ácido hidroxycítrico puede ejercer propiedades antiobesogénicas; sin embargo, este efecto no se ha reportado para el isómero de ácido hidroxycítrico encontrado en los extractos de Jamaica.

en el caso de los compuestos bioactivos de Jamaica, se han realizado diversos estudios sobre los mejores métodos y condiciones de extracción como los reportados por Cissé *et al.* (2012), Diessana *et al.* (2015) y Ramírez-Rodríguez *et al.* (2011).

2.9.2. Metabolómica

Dentro de las más recientes e importantes herramientas para el estudio de compuestos bioactivos derivados de plantas, se encuentra la metabolómica, la cual es una ciencia óhmica que se encarga del estudio del perfil de metabolitos que tiene una célula, tejido u organismo, en ciertas condiciones (tiempo, madurez, tratamiento, entre otras) (Goodacre *et al.*, 2004). Para poder llevar a cabo este tipo de estudio, se utilizan diversos análisis estadísticos de datos arrojados por técnicas cromatográficas (HPLC, UPLC, GC) y espectrometría (MS, H-RMN, IR) de extractos o mezclas complejas de compuestos con el fin de correlacionar la presencia de compuestos con un efecto biológico (Robinette *et al.*, 2012).

La metabolómica se ha utilizado para correlacionar la composición de diversos extractos, de plantas usadas en la medicina tradicional humana y animal, con los resultados de su actividad biológica, como lo es la identificación de metabolitos con actividad sedativa de *Galphimia glauca* (Sharma *et al.*, 2012) y la identificación de compuestos bioactivos presentes en variedades de moras (Stewart *et al.*, 2007).

2.9.2.1. Cromatografía líquida

La cromatografía líquida (Figura 6) se puede considerar como un método de separación de los componentes de una mezcla compleja, en función de su velocidad de elución de una fase estacionaria sobre un gradiente de fase móvil, debido a que algunos de los componentes de la muestra se sentirán más atraídos por la fase móvil y eluirán más rápidos, mientras que otros quedarán retenidos en la fase estacionaria y eluirán más lento, dando así a cada uno de los compuestos un tiempo de retención determinado. Los factores determinantes para la separación de

compuestos son la polaridad de la muestra, la composición de la fase móvil y las propiedades de la fase estacionaria.

La técnica conocida como HPLC (High Performance Liquid Chromatography) fue desarrollada el 1970, con el uso de altas presiones y resistencias de columna a esas presiones (500-6000 psi), logrando mejores separaciones de compuestos (Horváth *et al.*, 1981). Con el paso del tiempo se buscó un mejor método de separación optimizando el tamaño de la columna, el gasto de solventes, el tiempo de corrida y la presión en el sistema, debido a esto surgió la técnica conocida como UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) en 2004, ésta técnica duplicaba la presión de funcionamiento del sistema (aprox. 15,000 psi) para obtener velocidades de flujo más elevadas y tiempos más cortos con la misma o mejor resolución (Allwood *et al.*, 2010).

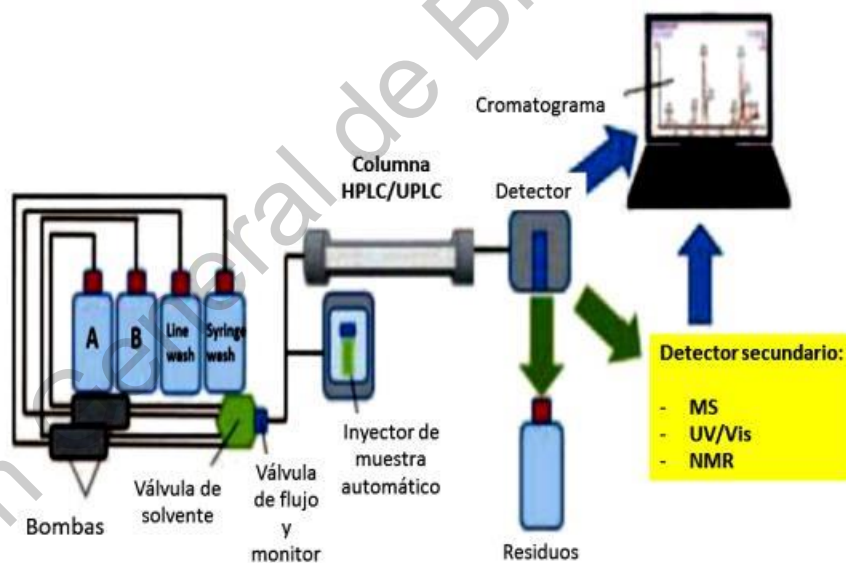


Figura 6. Esquema general de un cromatógrafo de líquidos (Saavedra-Charca *et al.*, 2015).

2.9.2.2. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas es una de las muchas variedades de detectores que se pueden acoplar a la cromatografía de líquidos, algunos otros detectores son espectrometría UV, espectrometría de fluorescencia, arreglo de diodos, infrarrojo. Los componentes principales de un espectrómetro de masas son la fuente de ionización, un analizador de masas y un detector de señal. En la espectrometría de masas se puede detectar la relación masa-carga (m/z) y la abundancia de los analitos o iones generados durante el proceso de ionización del extracto o muestra (Allwood *et al.*, 2010).

La ionización por electrospray (ESI) (Figura 7) es la más utilizada debido a que sirve para ionizar una amplia gama de metabolitos como ácidos orgánicos, azúcares, esteroides y ácidos fenólicos (Jander *et al.*, 2004; Tolstikov *et al.*, 2003; Vorst *et al.*, 2005). La ionización química a presión atmosférica (APCI) también es un método empleado principalmente para la ionización de metabolitos no polares como fosfolípidos, ácidos grasos, esteroides y aceites esenciales (Dachtler *et al.*, 2001; Schweiggert *et al.*, 2005). La ionización por ESI se lleva a cabo mediante la aplicación de una alta carga eléctrica (aprox. 5 kV) mediante un capilar en donde se vaporiza la muestra y se ioniza por la transferencia de protones cargando la muestra positivamente $[M+H]^+$ o negativamente $[M-H]^-$ (Zaikin & Halket, 2006).

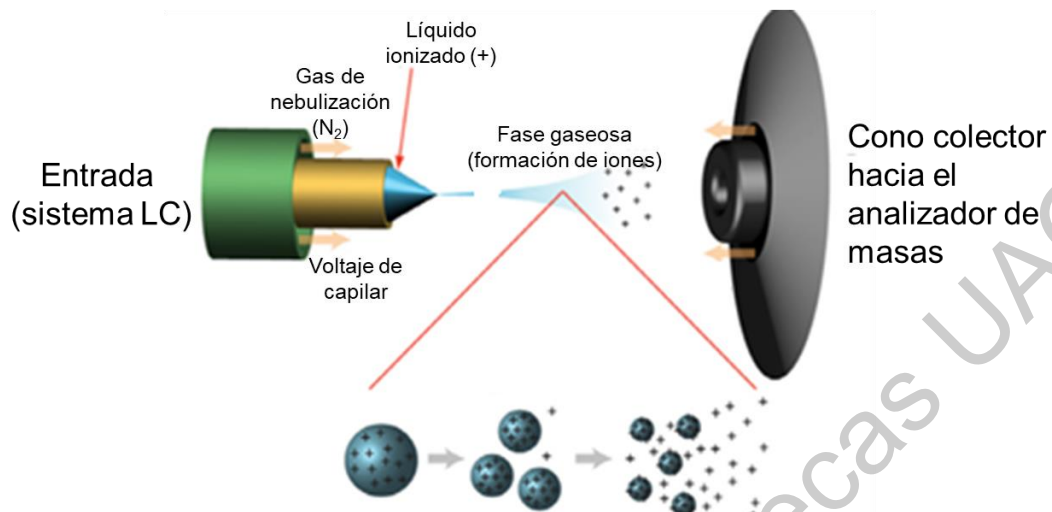


Figura 7. Sistema de ionización por electrospray (ESI), adaptado de: http://www.cbm.uam.es/joomla-rl/images/Servicios/080.Proteomica/documentos/Espectrometria_de_masas_ESI-MSMS_enero_2015.pdf

El analizador de masas tiempo de vuelo (ToF) (Figura 8) se basa en que la masa de un ion está relacionada con su velocidad de vuelo a lo largo del instrumento, es decir, el tiempo que tarda un ion en llegar al detector es proporcional a su masa (Guilhaus *et al.*, 1997) el QToF consiste en un añadir un cuadrupolo para filtrar los iones en un rango de interés, obteniendo iones precursores y fragmentos obtenidos de una molécula. El desarrollo de analizadores y detectores tipo QToF ha desarrollado niveles muy altos de resolución y precisión de masa, así es posible detectar incluso isómeros de un compuesto dentro de una muestra (Kanu *et al.*, 2008).

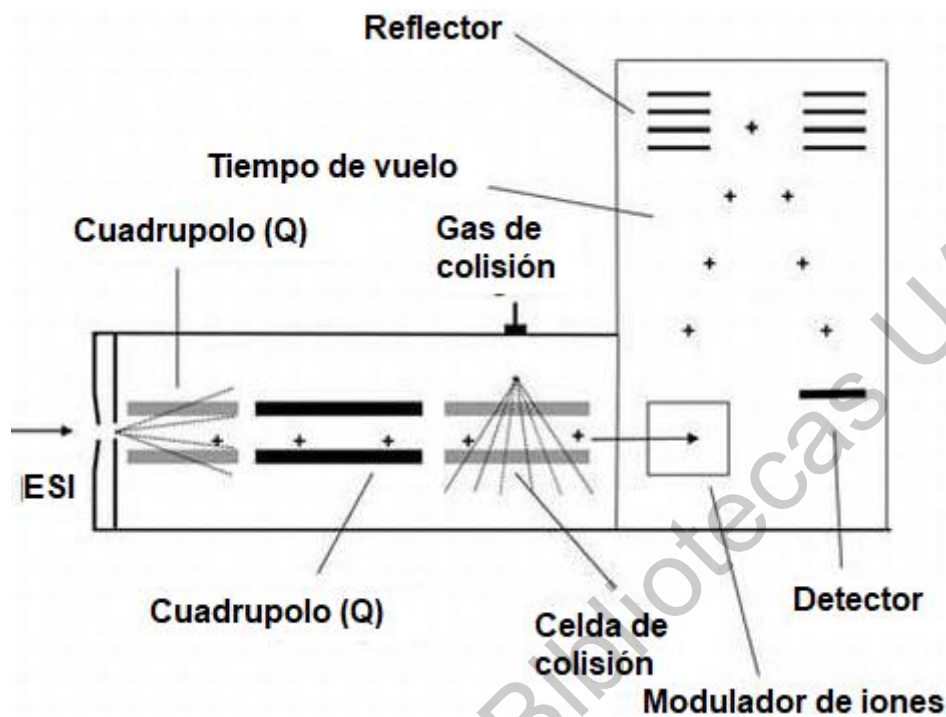


Figura 8. Sistema de un Cuadrupolo tiempo de vuelo (QToF) adaptado de Veeravalli *et al.* (2019).

2.9.2.3. Análisis estadístico

Una de las técnicas de estadística multivariada es el análisis de componentes principales (PCA) este tipo de análisis permite comparar datos obtenidos de diferentes grupos o tratamientos para identificar similitudes y cómo se relacionan entre sí, por otro lado, también es posible identificar qué variable son responsables de los patrones de agrupamiento encontrados en el análisis (Ward *et al.*, 2007).

Otro análisis utilizado en el estudio metabolómico es el PLS-DA (Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales). En este tipo de análisis se puede correlacionar estadísticamente múltiples factores (compuestos) con múltiples variables respuesta (actividad biológica), permitiendo también conocer el grado de intervención de los factores en las variables respuesta (Szymaríska *et al.*, 2012).

De manera particular, este trabajo aportará información acerca de los compuestos

presentes en la Jamaica y su influencia en el efecto antiobesogénico que presenta esta planta. Por otro lado, se aplicará el estudio metabólico como herramienta para la identificación de compuestos bioactivos no reportados previamente en Jamaica.

2.9.3. Análisis metabólico en Jamaica

En la actualidad no existen reportes de análisis metabólicos de extractos de Jamaica; sin embargo, se pueden encontrar estudios con perfiles realizados mediante cromatografía de líquidos y análisis multivariados para analizar diferencias entre variedades.

Borrás-Linares *et al.* (2015) realizaron un perfil de compuestos mediante HPLC-DAD-ESI-Tof, del cual reportaron 37 compuestos presentes en 25 variedades mexicanas de Jamaica; algunos derivados del ácido hibiscus se encontraron en los extractos de todas las variedades, mientras que los ácidos hibiscus e hidroxícitrico se encontraron sólo en algunas variedades. Posteriormente, mediante análisis multivariados de componentes principales y jerarquización pudieron clasificar a las variedades en 4 grupos los cuales se relacionaron con el contenido de cianidina sambubiósido y delfinidina sambubiósido.

Camelo-Méndez *et al.* (2013) analizaron el contenido de antocianinas y de compuestos volátiles de cuatro variedades de Jamaica mexicana (negra, rosa, sudan y blanca) de diferentes tonalidades, en dos tipos de extractos (acuoso y etanólico) y encontraron que los extractos etanólicos presentaron un mayor contenido de antocianinas y compuestos volátiles, el geraniol fue el compuesto volátil mayoritario en todos los extractos. Mediante un análisis de componentes principales se observó que los ocho extractos se agrupan de manera independiente, siendo factores importantes el color, es decir, el contenido de antocianinas y el tipo de solvente que se usó durante la extracción.

Rasheed *et al.* (2018) realizaron la caracterización de los metabolitos presentes en extractos (decocción, infusión y maceración) de dos variedades de Jamaica usando UPLC-MS y resonancia magnética nuclear y encontraron 33 metabolitos, los cuales

incluyen azúcares, ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas y ácidos orgánicos. Mediante componentes principales asociaron que la maceración es el método óptimo para extraer antocianinas, mientras que la infusión es el mejor método para extraer ácidos orgánicos.

Hasta el momento no se tienen reportes de una asociación estadística entre un perfil metabolómico de los fitoquímicos de Jamaica con los beneficios a la salud relacionados con la obesidad y sus complicaciones. Esto es de gran relevancia ya que, además de las antocianinas, existen otros compuestos que podrían tener un efecto a la salud similar o mayor al de estos compuestos fenólicos y en futuros trabajos se propondría buscar aquellas variedades que sean mayoritarias en los perfiles identificados, para estudiar sus efectos en la prevención y control de la obesidad y sus complicaciones.

3. JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas, las principales prevalencias de enfermedades crónicas no transmisibles se presentan en obesidad (71 %) y sus problemas asociados como resistencia a insulina. Estos problemas se han reconocido como prioritarios, y requieren de atención, siendo una de las principales estrategias el control del consumo de alimentos hipercalóricos, dentro de los cuales se encuentran las bebidas ya que en 2012 el consumo de calorías provenientes de bebidas fue de 1.8 a 2.26 veces más de lo recomendado. Por lo tanto, bebidas hipocalóricas ricas en compuestos fitoquímicos podría ser una opción de consumo, dentro de éstas se encuentran las elaboradas con cálices de Jamaica.

México es uno de los principales productores de Jamaica a nivel mundial y registra un consumo aproximado de 14 mil toneladas al año. Además de su gran aceptación por parte de los consumidores, esta planta tiene efectos benéficos en la salud, como disminución del peso corporal y resistencia a insulina. Dicha propiedad se ha determinado en variedades de Jamaica de tonalidad roja y, de manera particular, se ha relacionado principalmente con el contenido de antocianinas. Sin embargo, se ha reportado que los extractos de Jamaica roja tienen cantidades importantes de flavonoides y ácidos fenólicos, así como ácidos orgánicos como los ácidos hidroxycítrico e hibiscus, los cuales se ha sugerido que pudieran tener beneficios a la salud; sin embargo, esto no se ha mostrado. Adicionalmente, en México se cultivan variedades de Jamaica de diferentes tonalidades, como Alma Blanca, la cual no contiene antocianinas y es rica en ácidos orgánicos, lo que sugiere que esto podría presentar diferentes beneficios a la salud. En el presente trabajo se evaluó el efecto de los cálices de Jamaica de diversas coloraciones sobre el control del peso corporal y la resistencia a insulina, y se asoció a dichos beneficios con el perfil fitoquímico de los diversos extractos, esto permitirá identificar a las variedades de Jamaica con propiedades antiobesogénicas.

4. HIPÓTESIS

Variedades de Jamaica que no contienen antocianinas, pero son una fuente de ácidos fenólicos y ácidos orgánicos, controlan el peso corporal y la resistencia a insulina en animales tratados con dietas altas en grasa, de manera similar a variedades rojas. Por lo tanto, el efecto de los extractos de Jamaica sobre el control del peso corporal y resistencia a insulina no solamente está relacionado al contenido de antocianinas, también depende de otros compuestos, y dichos fitoquímicos pueden ser utilizados para identificar a las variedades de Jamaica sembradas en nuestro país con potencial antiobesogénico.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Identificar compuestos bioactivos de los cálices de Jamaica asociados con la disminución de peso corporal y resistencia a insulina, mediante análisis metabolómicos y análisis estadísticos multivariados

5.2 Objetivos específicos

1. Determinar el perfil fitoquímico de los extractos de dos variedades de Jamaica (Criolla y Alma Blanca) con contenido de antocianinas contrastante.
2. Evaluar el efecto del consumo de los extractos de Jamaica sobre la pérdida de peso corporal y la resistencia a la insulina en un modelo *in vivo*.
3. Asociar los compuestos presentes en los extractos de Jamaica con el efecto antiobesogénico y de resistencia a la insulina.
4. Seleccionar variedades de Jamaica con perfiles fitoquímicos diferenciales mediante un análisis jerárquico.
5. Confirmar el efecto antiobesogénico de los compuestos previamente sugeridos en las variedades seleccionadas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materiales

6.1.1 Material vegetal

Se utilizaron 29 variedades de *Hibiscus sabdariffa*, dos de ellas en la primera etapa del proyecto y las restantes en la segunda etapa. Las variedades fueron obtenidas directamente de productores de Jamaica de los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán, Colima, Nayarit y Puebla.

6.1.2 Material biológico

Se utilizaron ratas albinas Wistar machos, adquiridas en el Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Querétaro. Los animales se aclimataron por 7 días bajo condiciones ambientales estándar (40-60% humedad relativa, 24 ± 2 °C de temperatura y un ciclo de 12 h de luz-obscuridad), se alimentaron con alimento comercial y se les administró agua *ad libitum*.

6.2 Métodos

6.2.1 Obtención de extractos

Se obtuvieron dos tipos de extractos (metanólico y acuoso) de las variedades de Jamaica Alma Blanca y Criolla del estado de Guerrero. El extracto metanólico se obtuvo por el método de maceración. Se pesó la cantidad necesaria de la planta y se colocó en un recipiente ámbar, se le adicionó el disolvente (metanol) necesario para obtener una proporción 1:15 planta/disolvente (g/mL). La mezcla se colocó en un lugar donde no tenga luz directa y se dejó por 7 días, agitando diariamente. Tras el tiempo de maceración, se retiró el disolvente por filtración al vacío, el cual se almacenó en recipientes de plástico con tapón de rosca, mientras que los restos de planta se recuperaron en el matraz de maceración. A esta etapa se le denominó lavado y la obtención de los extractos lo constituyó un lavado sucesivo, por lo que a la muestra recuperada en el matraz se le adicionó nuevamente disolvente, que se

recuperó y se maceró por 7 días más. Los extractos se almacenaron a temperatura ambiente hasta su concentración.

El extracto acuoso se preparó colocando la cantidad necesaria de planta en un matraz Erlenmeyer con tapón de rosca y se le adicionó la cantidad suficiente de agua destilada para alcanzar una proporción 1:15 planta/agua destilada (g/mL). Se calentó hasta punto de ebullición, una vez alcanzado este punto, se dejó hervir por 15 min. Se retiró de la parrilla de calentamiento, se dejó enfriar y se filtró al vacío. El líquido se almacenó en refrigeración hasta su concentración.

Para la concentración de los extractos se utilizaron rotaevaporadores con vacío, la temperatura del baño se mantuvo a 40 °C, la presión del vacío (mbar) varió dependiendo del disolvente (metanol 337, agua 72) y la temperatura del refrigerante se mantuvo menor a 20 °C.

Una vez evaporado el disolvente, los extractos se colocaron en cristalizadores para secarse en una estufa con recirculación de aire a 40 °C y se dejaron el tiempo suficiente hasta obtener sequedad. Al final se obtuvieron 4 extractos que se denominaron de la siguiente manera: extracto acuoso de Jamaica Criolla (CA), extracto metanólico de Jamaica Criolla (CM), extracto acuoso de Jamaica Alma Blanca (ABA) y extracto metanólico de Jamaica Alma Blanca (ABM).

6.2.2 Evaluación del perfil fitoquímico de los extractos: HPLC-DAD-MS

Los ácidos fenólicos, ácidos orgánicos, antocianinas y flavonoides se identificaron y cuantificaron mediante la metodología descrita por Rodríguez-Medina *et al.* (2009). Se empleó un sistema de cromatografía líquida de alta resolución con un sistema HPLC con inyección automática (Agilent HP 1100 Systems, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA) acoplado a masas. Se utilizó una columna de fase reversa Zorbax octadecilsilano (150 x 4.6 mm, ODS-C18). El equipo se operó a 34 °C con un flujo de 0.5 mL/min. La fase móvil utilizada fue el solvente A: acetonitrilo:agua (10:90 v/v) con 1% ácido fórmico y el solvente B: acetonitrilo. Durante el análisis, el gradiente programado fue 95% A y 5 % B al tiempo cero, 20%

B a los 20 min, 40% B a los 25 min, 5% B a los 35 min y 5 % B a los 35 min. El volumen de inyección del extracto fue de 20 μ L. Se utilizaron las siguientes longitudes de onda: 214, 280, 320, 365 y 520 nm, con un barrido de 190 a 560 nm.

Para el análisis de masas, las condiciones fueron las siguientes: [M-H]⁻ 100-1200 m/z, 120 °C de temperatura de fuente, 800 L/h de nitrógeno a 250 °C como gas de desolvatación, los voltajes del cono y del capilar fueron de 39 V y 3.2 kV, respectivamente, y se realizó tanto ionización negativa como positiva.

La identificación de los compuestos se realizó mediante la comparación con el tiempo de retención de los estándares comerciales, los cuales se inyectaron de manera independiente. La cuantificación se realizó mediante curvas de calibración de estos. De los compuestos de los cuales no se contó con estándar comercial se realizó la identificación mediante su masa carga (m/z).

6.2.3. Determinación *in vivo* del efecto de los extractos sobre el peso corporal y resistencia a insulina

6.2.3.1 Administración de tratamientos

Las ratas sanas se alimentaron con una dieta estándar y para incrementar el peso corporal e inducir obesidad en las ratas se les alimentó con una dieta hipercalórica, la cual fue alta en grasa saturada y fructosa.

La dieta se preparó con un 61.94% de alimento estándar, 20% de manteca de cerdo, 18% de fructosa, 0.03% de vitaminas y 0.03% de minerales. El alimento se preparó moliendo el alimento estándar (Rodent Lab Chow 5001, Purina) y se mezcló con los ingredientes que conforman la dieta. Los animales se dividieron en 6 grupos: control sano (1), control obeso (2), tratamiento con CA (3), tratamiento con CM (4), tratamiento con ABA (5), tratamiento con ABM (6). El grupo control sano se alimentó con una dieta estándar (alimento base molido). El grupo obeso y los cuatro grupos experimentales se alimentaron con dieta alta en grasa y fructosa. Durante 16 semanas a los grupos con tratamiento se les administraron diariamente extractos preparados (1 g de extracto metanólico o 1.5 g de extracto acuoso por cada 100 mL

de agua potable) mientras que a los grupos control se les administró agua potable; ambas bebidas se administraron *ad libitum*.

Cada dos semanas se monitoreó el peso corporal de las ratas, el consumo de alimento y de bebida y se hicieron monitoreos periódicos de glucosa y triglicéridos. Al finalizar las 16 semanas, se recolectaron las heces y orina de 24 h previas al sacrificio, posteriormente las ratas se sacrificaron y se obtuvieron muestras de sangre y tejido adiposo.

La cuantificación de triglicéridos y glucosa en suero se realizaron por medio de kits colorimétricos/enzimáticos de la marca Spinreact y los resultados se expresaron como mg/dL de suero; mientras que, la cuantificación de insulina se hizo mediante un kit de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) de insulina de rata de la marca Millipore, todo de acuerdo con las instrucciones en la ficha técnica del fabricante.

6.2.4 Diseño y análisis de datos

Se realizó un diseño bifactorial, en donde los factores a evaluar fueron: variedad de Jamaica (Criolla y Alma Blanca) y tipo de extracto (acuoso y metanólico). Como controles se tuvieron dos grupos de tratamiento, uno alimentado con dieta estándar y agua, el otro control, alimentado con dieta obesogénica y agua, ambos grupos consumieron comida y bebida *ad libitum*. La unidad experimental constó de cuatro animales y se contó con dos unidades experimentales por tratamiento. Se realizaron mediciones repetidas en el tiempo y se obtuvieron como variables respuesta: peso corporal, consumo de alimento, consumo de bebida, consumo energético, parámetros bioquímicos (glucosa, insulina y triglicéridos en suero, triglicéridos en hígado), hipertrofia y grado de esteatosis hepática.

Para los análisis *in vitro*, los resultados se reportaron como la media \pm desviación estándar, mientras que para los estudios *in vivo* se reportarán como media \pm error estándar.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%. La comparación entre todos los tratamientos se realizó con la prueba de Tukey para los ensayos *in vitro* y prueba de Dunnett para pruebas *in vivo*, con la ayuda del paquete estadístico JMP 10.0. Posteriormente, se realizó la búsqueda de asociaciones entre los componentes de los extractos y las variables de respuesta, con ayuda del método de mínimos cuadrados parciales.

6.2.5 Selección de variedades de Jamaica con perfiles fitoquímicos diferenciales mediante un análisis jerárquico

6.2.5.1 Recolección de material

Se colectaron 27 variedades de 7 estados de la República, las cuales se muestran en el Cuadro 3.

6.2.5.2 Determinación de características fisicoquímicas de las diferentes variedades en estudio

Para la determinación del color se utilizó un espectrofotómetro (CM-2002, Minolta Co., Ltd, Osaka, Japan) y los resultados se expresaron como L^* (luminosidad), a^* (rojo/verde) y b^* (amarillo/azul). El equipo se calibró con un plato blanco ($L^* = 96.67$, $a^* = -0.14$, $c^* = 0.23$). Para la medición de pH se utilizó un pHmetro con electrodo de vidrio (CM-2002, Minolta Co., Ltd, Osaka, Japan). La acidez titulable se determinó por titulación con hidróxido de sodio 0.1 N hasta pH 8.1 y los resultados se expresaron como equivalentes de ácido málico por g de muestra seca.

Cuadro 3. Relación de variedades de Jamaica recolectadas en diferentes localidades de los estados reportados como productores en México.

No.	Variedad	Localidad	Municipio	Estado
1	Criolla	El Ranchito	Ayutla de los Libres	Guerrero
2	Negra	Zempazulco	Ayutla de los Libres	Guerrero
3	Cuacoyula	Cuacoyula de Álvarez	Iguala de la Independencia	Guerrero
4	Reyna	San José Cayaco	La Huacana	Michoacán
5	Morada	La Huacana	La Huacana	Michoacán
6	Criolla	La Huacana	La Huacana	Michoacán
7	Negra	Piscila	Colima	Colima
8	Colima	Piscila	Colima	Colima
9	Jalisco	Piscila	Colima	Colima
10	Roja clara	Puerta de Anzar	Colima	Colima
11	Tempranilla	Puerta de Anzar	Colima	Colima
12	Alma Blanca	Puerta de Anzar	Colima	Colima
13	Jersey	Chiautla de Tapia	Chiautla de Tapia	Puebla
14	Criolla	Chiautla de Tapia	Chiautla de Tapia	Puebla
15	Sudan Morada	Palma Larga	Santa María Tonameca	Oaxaca
16	Sudan Roja	Palma Larga	Santa María Tonameca	Oaxaca
17	Alma Blanca	Palma Larga	Santa María Tonameca	Oaxaca
18	Criolla	Palma Larga	Santa María Tonameca	Oaxaca
19	Tempranilla	Río Grande	Villa de Tututepec de Melchor Ocampo	Oaxaca
20	Costeña	Río Grande	Villa de Tututepec de Melchor Ocampo	Oaxaca

Cuadro 3. Relación de variedades de Jamaica recolectadas en diferentes localidades de los estados reportados como productores en México (continuación).

No.	Variedad	Localidad	Municipio	Estado
21	UAN-8	Río Grande	Villa de Tututepec de Melchor Ocampo	Oaxaca
22	UAN-13	Río Grande	Villa de Tututepec de Melchor Ocampo	Oaxaca
23	UAN-16	Río Grande	Villa de Tututepec de Melchor Ocampo	Oaxaca
24	UAN-29	Río Grande	Villa de Tututepec de Melchor Ocampo	Oaxaca
25	Criolla	El Venado	Ruiz	Nayarit
26	Colimeña	El Venado	Ruiz	Nayarit
27	Cuarenteña	Hacienda de Mariquita	Acaponeta	Nayarit

6.2.5.3 Cuantificación de fitoquímicos totales

Se determinó el contenido de fenoles usando el ensayo de Folin-Cioacaltea, y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por g de muestra seca (mg EAG/g MS). El total de antocianinas monoméricas se determinó por medio del método de pH diferencial y los resultados se expresaron como mg equivalentes de cianidina-3-glucósido por g de muestra seca (mg EC3G /g MS). Se utilizó la metodología descrita por Araújo *et al.* (2013) para la determinación de fitoesteroles y los resultados se expresaron como mg equivalentes de β -sitoesterol por kg de muestra seca (mg E β S/kg MS). Las saponinas totales se cuantificaron mediante el método descrito por Uematsu *et al.* (2000) y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido oleanólico por kg de muestra seca (mg EAO/kg MS).

6.2.5.4 Análisis metabolómico de las diferentes variedades de Jamaica mediante UPLC-ESI-QToF-MS/MS

Se obtuvieron los extractos de 27 variedades mediante un proceso de decocción. Se pesaron 1.5 g de cada variedad y se le colocaron 50 mL de agua destilada, se llevaron a ebullición durante 15 min, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se centrifugaron a 4 °C, 15000 g, durante 10 min. Los sobrenadantes se utilizaron para las determinaciones de los perfiles.

Antes de inyectar los extractos al sistema UPLC, 1 mL de cada extracto se filtró con Econofiltros de la marca Agilent (13 mm x 0.45 µm) y se colocaron en viales ámbar de 2 mL.

Se empleó un sistema UPLC con inyección automática (Waters Class I) acoplado a un detector de diodos (PDA eλ detector). Se utilizó una columna Acquity UPLC BEH C18 (2.1 x 100 mm, tamaño de partícula 1.7 µm)). El equipo se operó a temperatura ambiente con un flujo de 0.4 mL/min. La fase móvil utilizada fue el solvente A: agua con 0.1 % ácido fórmico y el solvente B: acetonitrilo con 0.1 % ácido fórmico. Durante el análisis, el gradiente programado con relación A/B fue: 95/5 al tiempo cero, 95/5 a los 2 min, 5/95 a los 22 min, 5/95 a los 25 min, 95/5 a los 27 min, 95/5 a los 30 min, seguido de un ciclo de 5 min con las condiciones iniciales para acondicionar para la siguiente inyección. El volumen de inyección del extracto fue de 5 µL. Se realizó un barrido de 210 a 600 nm.

Para el análisis de masas se utilizó un sistema de detección Vion IMS QToF (Waters) acoplado al sistema UPLC mediante interfase ESI, se operó tanto en ionización tipo positivo (para detectar antocianinas) como negativo (para detectar ácidos y flavonoides). Las condiciones fueron las siguientes: el rango de búsqueda para los compuestos de interés, 50-1800 m/z, voltaje de capilar, 2kV, temperatura del gas de secado, 250 °C, flujo de gas de secado, 13.3 L/min; presión de gas nebulizador, 30 psi.

6.2.6. Análisis de datos

Los resultados se reportaron como la media \pm desviación y se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con $\alpha=0.05$. La comparación entre los extractos de las variedades de Jamaica se realizó con la prueba de Tukey con la ayuda del paquete estadístico JMP.

Para el análisis metabolómico de las muestras se utilizaron los softwares Progenesis y UNIFI ambos de Waters, estos softwares permitieron el manejo, normalización, filtración e identificación de los metabolitos.

Para el análisis de clusters se utilizó el software JMP, mientras que para los análisis de componentes principales se utilizó el software R.

6.2.7 Confirmación del efecto antiobesogénico de los compuestos previamente sugeridos en las variedades seleccionadas

6.2.7.1 Administración de tratamientos

Las ratas sanas se alimentaron con una dieta estándar y para incrementar el peso corporal e inducir obesidad en las ratas se les alimentó con una dieta hipercalórica, alta en grasa saturada y fructosa, como se mencionó en la sección 6.2.3.1.

Los animales se dividieron en 6 grupos: dieta estándar (1), dieta alta en grasa y fructosa (2), tratamiento con extracto de Jamaica Alma Blanca Oaxaca (3), tratamiento con extracto de Jamaica jalisco Colima (4), tratamiento con extracto de Jamaica Cuarenteña Nayarit (5), tratamiento con extracto de Jamaica Criolla Oaxaca (6). El grupo control sano se alimentó con una dieta estándar (alimento base molido). El grupo obeso y los cuatro grupos experimentales se alimentaron con dieta alta en grasa y fructosa. A los grupos con tratamiento se les administraron diariamente extractos al 3%, mientras que a los grupos control se les administró agua potable; ambas bebidas se administraron *ad libitum*.

Cada semana se monitoreó el peso corporal de las ratas y el consumo de alimento.

6.2.8. Análisis de datos

Como controles se tuvieron dos grupos, uno alimentado con dieta estándar y agua, el otro control, alimentado con dieta obesogénica y agua, ambos grupos tuvieron la administración de comida y bebida *ad libitum*. Cada rata se consideró como una unidad experimental y se contó con seis unidades experimentales por tratamiento. Se realizaron mediciones semanales y se obtuvo como variables respuesta el peso corporal, el consumo de alimento y energía. Los resultados se reportaron como la media \pm error estándar. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con $\alpha=0.05$ y la comparación entre todos los tratamientos se realizó con la prueba Dunnett y/o Tukey-Kramer con la ayuda del paquete estadístico JMP. Se utilizó un análisis de mínimos cuadrados parciales para realizar la asociación del perfil metabólico de las variedades de Jamaica con el efecto sobre el peso corporal por medio del software R.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1. Evaluación del perfil de fitoquímico de los extractos de Jamaica

En la caracterización fitoquímica de los dos extractos acuosos y metanólico de las dos variedades en estudio, se identificaron tres ácidos orgánicos, cuatro flavonoides, once ácidos fenólicos y doce antocianinas; la mayoría de éstos han sido reportados previamente para variedades de Jamaica con tonalidades rojas (Borras-Linares *et al.*, 2015; Rodríguez-Medina *et al.*, 2009).

Los resultados de la cuantificación de compuestos fitoquímicos se muestran en Cuadro 4. Los compuestos más abundantes encontrados en los cuatro extractos son ácido hibiscus (ácido orgánico), ácidos gálico y cafeico (ácidos fenólicos), epicatequina (flavonoide) y delphinidina 3-sambubiósido (antocianina). Se puede apreciar también que los extractos tienen diferencias marcadas en sus perfiles siendo ABA el que presentó una mayor concentración de ácidos orgánicos, principalmente el ácido hibiscus encontrándose 3, 62 y 17 veces más con respecto a CA, ABM y CM, respectivamente. Por otro lado, ABM tiene mayor concentración de flavonoides (catequina, epicatequina y kaempferol) y ácidos fenólicos (ácidos gálico, cafeico y vanílico) con respecto a los otros tres extractos. También es importante resaltar que no se encontraron antocianinas en los extractos de Jamaica Alma Blanca.

Para la mayoría de los compuestos identificados en los extractos se ha reportado un efecto biológico relacionado con la disminución de obesidad y algunas de sus complicaciones. Por ejemplo, con respecto a los ácidos orgánicos, al ácido hidroxycítrico (proveniente de *Garcinia cambogia*) se le ha atribuido un efecto sobre la pérdida de peso debido a que inhibe la acción de la enzima citrato liasa, disminuyendo la síntesis de ácidos grasos *de novo* (Heymsfiel *et al.*, 1998); mientras que, para el ácido hibiscus, Hansawasdi *et al.* (1999) atribuyeron el efecto de la pérdida de peso, a la capacidad de este ácido de evitar la absorción de carbohidratos en el intestino debido a la inhibición de enzimas como la α -amilasa.

Con respecto a los ácidos fenólicos, se ha reportado que la disminución del peso corporal, el peso de tejido adiposo, la disminución de lípidos en suero y esteatosis en roedores alimentados con una dieta alta en grasa se relacionó a la presencia de los ácidos clorogénico, cafeíco, gálico, cumárico y la rutina (Ae-Sim *et al.*, 2010). Respecto a las antocianinas contenidas en los extractos de Jamaica se ha reportado un efecto importante sobre la disminución de la obesidad y sus complicaciones, y dicho efecto se atribuyó a la cianidina y la delfinidina, antocianinas mayoritarias en Jamaica (Alarcón-Aguilar *et al.*, 2007; Villalpando-Arteaga *et al.*, 2013; Gurrola-Díaz *et al.*, 2010). Estos resultados sugieren que los extractos acuosos y metanólicos de Jamaica Criolla y Alma Blanca, presentan un efecto importante sobre la disminución de la obesidad y sus complicaciones.

7.2. Efecto de los extractos sobre el peso corporal, consumo de alimento y energía en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa

En la Figura 9 se presentan los resultados del peso corporal de las ratas desde el inicio del experimento. Se puede observar que el control obeso ganó más peso corporal que el control sano (24.6%). En el caso de los grupos que consumieron los extractos, las ratas que consumieron extractos acuosos presentaron una mayor pérdida de peso (8.9 y 11.2 %, ABA y CA, respectivamente) comparado con las ratas pertenecientes al control obeso.

Los grupos que consumieron los extractos metanólicos de ambas variedades de Jamaica no presentaron diferencias significativas respecto al control obeso.

En el Cuadro 5 se muestran los datos del monitoreo del consumo de alimento y de energía. Con respecto al consumo de alimento, existe una diferencia significativa del grupo sano con respecto al grupo obeso, esto debido a que la dieta administrada al grupo obeso es hipercalórica; sin embargo, se puede observar que en cuanto a la ingesta de calorías estos dos grupos (sano y obeso) no tuvieron diferencias significativas. Los grupos que consumieron los extractos no presentaron diferencias significativas con respecto al obeso, se observó un efecto similar fue observado para el caso de consumo de ingesta de calorías, solamente los que consumieron el

extracto CA presentaron un menor consumo de calorías comparado con el grupo control obeso (19%).

Cuadro 4. Cuantificación de compuestos polifenólicos y ácidos orgánicos de los extractos acuosos y metanólicos de Jamaica Criolla y Alma Blanca.

Compuesto	TR (min)	Criolla acuoso	Alma Blanca acuoso	Criolla metanólico	Alma Blanca Metanólico
Ácidos orgánicos					
Hidroxicítrico	1.65	114 ± 5b	133 ± 4a	27 ± 1c	27 ± 2c
Hibiscus	3.31	1084 ± 21b	3187 ± 40a	51 ± 1d	182 ± 12 c
Hibiscus dimetilado	3.21	373 ± 12b	1451 ± 34a	34 ± 2c	47 ± 5c
Ácidos fenólicos					
Clorogénico	2.16	187 ± 5a	99 ± 5c	70 ± 0.3d	133 ± 11b
Gálico	3.08	142 ± 4c	84 ± 3d	902 ± 17a	648 ± 17b
Cafeíco	6.94	80 ± 4c	84 ± 6c	179 ± 2b	361 ± 11a
Vanílico	7.14	43 ± 7c	131 ± 4b	9 ± 1c	370 ± 24a
Protocatecuico	8.31	53 ± 2a	11 ± 2c	2 ± 0.2d	35 ± 0.2b
4-hidroxibenzoico	8.99	28 ± 1d	109 ± 4c	212 ± 4a	123 ± 1b
Isovanílico	9.91	13 ± 1a	8 ± 1b	11 ± 0.4ab	13 ± 2a
Ferúlico	10.92	18 ± 1b	24 ± 3b	28 ± 1b	51 ± 5a
Sinápico	11.44	2 ± 0b	50 ± 1a	4 ± 1b	47 ± 3a
Cumárico	16.25	12 ± 1c	52 ± 4b	53 ± 1b	90 ± 4a
Elágico	27.87	34 ± 1c	50 ± 4b	35 ± 3c	75 ± 5a
Flavonoides					
Kaempferol	13.98	10 ± 1d	46 ± 2b	19 ± 0.2c	59 ± 0.2a
Rutina	23.51	58 ± 1b	28 ± 0d	90 ± 3a	44 ± 4c
Catequina	5.23	120 ± 5c	137 ± 6c	392 ± 5b	465 ± 21a
Epicatequina	4.80	112 ± 7c	341 ± 5c	349 ± 12b	1213 ± 19a

Los datos se expresan como mg/100 g cálices secos. TR: tiempo de retención, G: glucósido, AG: acetilglucósido, CG: cumarilglucósido. Los resultados están expresados como la media ± DS. Diferentes letras en la misma línea indican diferencias significativas entre extractos por prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). LDL: por debajo del límite de detección.

Cuadro 4. Cuantificación de compuestos polifenólicos y ácidos orgánicos (continuación).

Compuesto	TR (min)	Criolla acuoso	Alma Blanca acuoso	Criolla metanólico	Alma Blanca Metanólico
Antocianinas					
Cianidina-3-G	3.89	903 ± 5b	LDL	1065 ± 12a	LDL
Delfinidina-3-S	2.72	1559 ± 5a	LDL	14172 ± 7b	LDL
Peonidina-3-G	2.30	68 ± 4a	LDL	36 ± 4b	LDL
Malvidina-3-G	1.81	135 ± 4b	LDL	182 ± 5a	LDL
Cianidina-3-AG	5.03	18 ± 0b	LDL	22 ± 0a	LDL
Delfinidina-3-AG	4.45	23 ± 0a	LDL	16 ± 1b	LDL
Peonidina-3-AG	5.23	27 ± 1a	LDL	21 ± 1b	LDL
Malvidina-3-AG	6.43	24 ± 2a	LDL	13 ± 1b	LDL
Cianidina-3-CG	7.38	2 ± 0b	LDL	7 ± 0a	LDL
Delfinidina-3-CG	6.77	23 ± 1a	LDL	6 ± 0b	LDL
Peonidina-3-CG	7.99	4 ± 0a	LDL	3 ± 0b	LDL
Malvidina-3-CG	8.19	5 ± 0a	LDL	4 ± 1a	LDL

Los datos se expresan como mg/100 g cálices secos. TR: tiempo de retención, G: glucósido, AG: acetilglucósido, CG: cumarilglucósido. Los resultados están expresados como la media ± DS. Diferentes letras en la misma línea indican diferencias significativas entre extractos por prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). LDL: por debajo del límite de detección.

Con estos resultados se puede descartar que la disminución de peso corporal presentada por las ratas que consumieron el extracto acuoso de Alma Blanca se deba a una disminución en el apetito. Con respecto a diferentes estudios realizados con extractos acuosos de Jamaica de coloración roja se atribuye la pérdida de peso corporal a diversos mecanismos de acción como son la disminución en la diferenciación de adipocitos por el decremento en la expresión de factores de transcripción como PPAR γ y C/EBP α . Otro mecanismo de acción propuesto es la inhibición de lipogénesis por la inhibición del factor de transcripción SREBP-1, el cual es esencial para la síntesis de enzimas como FAS y ACC, las cuales son

enzimas importantes en la síntesis de ácidos grasos (Kim *et al.*, 2007; Villalpando-Arteaga *et al.*, 2013).

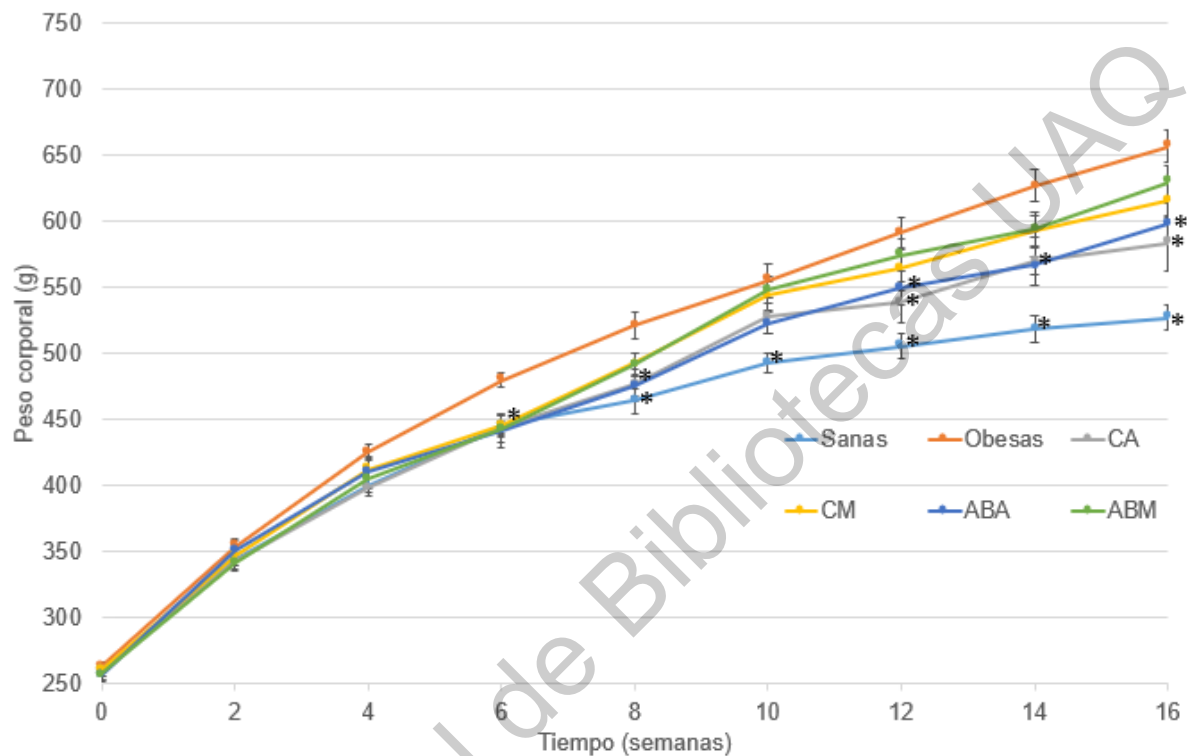


Figura 9. Peso corporal de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa, tratadas con extractos acuosos y metanólicos de Jamaica Criolla y Alma Blanca.

Los resultados se representan como la media \pm EE. Los asteriscos en los diferentes tiempos representan diferencias estadísticas contra el control obeso por prueba de Dunnett ($\alpha=0.05$)

Cuadro 5. Consumo de alimento y energía de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.

	Consumo de alimento (g/día/rata)	Consumo de energía (kcal/día/rata)
Sanas	25.9 ± 0.6a*	106.3 ± 2.1ab
Obesas	18.0 ± 0.6bc	107.1 ± 5.4ab
Criolla acuoso	16.7 ± 0.8c	87.8 ± 4.4b*
Alma Blanca acuoso	18.6 ± 1.0bc	97.2 ± 3.4ab
Criolla metanólico	18.3 ± 1.0bc	95.9 ± 5.5 ab
Alma Blanca metanólico	20.5 ± 0.9b	107.8 ± 5.3a

Los resultados se expresan como la media ± EE. Los resultados se analizaron estadísticamente con ANOVA. * $\alpha=0.05$ comparado contra el grupo obeso (Dunnett). Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer)

7.3. Grado de hiperplasia en tejido adiposo

Durante la obesidad se aumenta el tamaño y el número de las células grasas (adipocitos), cada célula grasa pesa de 0.4 a 0.6 μg (Hernán-Daza, 2002). La función principal de estas células es el almacenamiento de triglicéridos (Guilherme *et al.*, 2008). Cuando existe una pérdida de peso corporal, se presenta una reducción en el tamaño de estas células producto de la disminución del contenido de triglicéridos (Hernán-Daza, 2002).

En este trabajo se realizó la evaluación del efecto del consumo de los extractos sobre el tamaño de los adipocitos de ratas con obesidad inducida con dieta alta y fructosa mediante análisis histopatológico y con apoyo del software Zen 2.3 (ZEIZZ) se obtuvo el promedio del diámetro de los adipocitos. Los resultados obtenidos a partir de las micrografías muestran una diferencia estadística entre los diámetros de los adipocitos de los grupos control, siendo los adipocitos de las ratas sanas los que menor diámetro presentaron. Con respecto a los grupos que consumieron los extractos de Jamaica se puede observar que el consumo de CA y ABA disminuyó el diámetro de los adipocitos comparados con los del control obeso, siendo estadísticamente iguales a los del control sano. Por otro lado, el consumo de ABM

aumentó el diámetro de adipocitos aún más que los del grupo obeso (Figura 10 y Cuadro 6). Una disminución de triglicéridos en adipocitos se ve reflejado en el tamaño de éstos, por lo que se puede sugerir que el consumo de CA y ABA promueve un menor almacenamiento o una lipólisis en el tejido adiposo. El efecto observado en el diámetro de adipocitos de las ratas que consumieron ABM podría estar relacionado a pesticidas, como los organofosforados, los cuales se pueden extraer con metanol y estos fueron detectados en esta variedad. Se ha reportado que dichos pesticidas influyen en el desarrollo de obesidad (Czajka *et al.*, 2019).

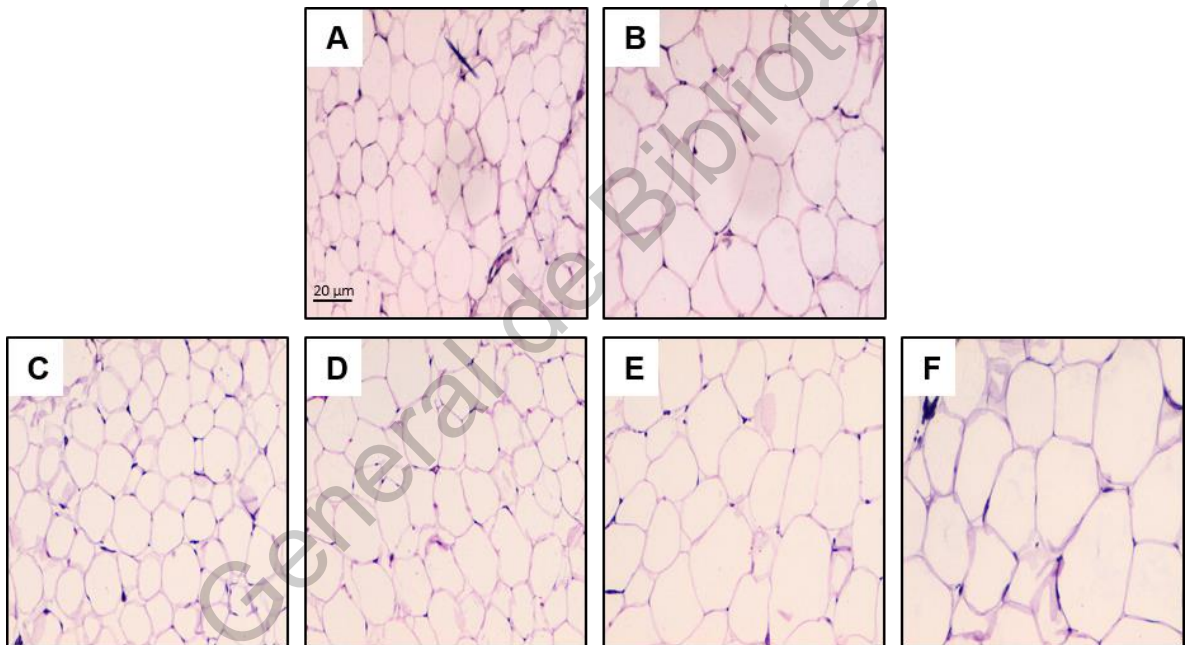


Figura 10. Micrografías de adipocitos teñidos con H&E de A: control sano, B: control obeso, C: extracto acuoso de Jamaica Criolla, D: extracto acuoso de Jamaica Alma Blanca, E: extracto metanólico de Jamaica Criolla y F: extracto metanólico de Jamaica Alma Blanca.

Cuadro 6. Diámetro de los adipocitos en ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.

Tratamientos	Diámetro de adipocitos (μm)
Sana	$22.3 \pm 0.9\text{c}^*$
Obesa	$29.1 \pm 1.3\text{b}$
Criolla acuoso	$22.7 \pm 0.8\text{c}^*$
Alma Blanca acuoso	$22.6 \pm 1.3\text{c}^*$
Criolla metanólico	$29.0 \pm 1.0\text{b}$
Alma Blanca metanólico	$34.2 \pm 0.7\text{a}^*$

Los resultados se expresan como la media \pm EE. Los resultados se analizaron estadísticamente con ANOVA. * $\alpha=0.05$ comparado contra el grupo obeso (Dunnett); Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer)

7.4. Contenido de triglicéridos en hígado.

En las células adiposas se almacenan los ácidos grasos libres provenientes del torrente sanguíneo, principalmente de triglicéridos circulantes. Esta capacidad de absorber el flujo de ácidos grasos libres de la circulación al tejido adiposo protege a otros tejidos del flujo excesivo de ácidos grasos libres; sin embargo, cuando hay un exceso, estos lípidos se transportan a otros órganos, principalmente al hígado (McCullough, 2004). Al hígado pueden llegar ácidos grasos provenientes del tejido adiposo, transportándose unidos a albúmina o pueden provenir directamente de la dieta en forma de quilomicrones.

Por su parte, los hepatocitos llevan a cabo la síntesis de triglicéridos y los secretan como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés). El exceso de ácidos grasos libres en el hígado tiene un papel primordial en la elevada secreción de VLDL que lleva a hipertrigliceridemia y a dislipidemias asociadas al desarrollo de hígado graso no alcohólico (Luyckx *et al.*, 2000).

Se evaluó el contenido de triglicéridos en hígado con el objetivo de determinar el efecto de los extractos sobre el almacenamiento de éstos, ya sea por los provenientes del tejido adiposo o bien por la síntesis *de novo*. Los resultados de la cuantificación del contenido de triglicéridos en tejido hepático de ratas alimentadas

con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica se presentan en la Cuadro 7. Se puede observar que el contenido de triglicéridos en hígados de las ratas que consumieron los extractos son estadísticamente menores comparados con el control obeso, y este efecto fue más significativo para el consumo de CA y ABA, los cuales presentaron una concentración similar a la encontrada para el control sano. Es posible que este resultado se deba a una menor síntesis *de novo* de lípidos en este órgano o bien que se estén metabolizando en β -oxidación.

El efecto encontrado en este estudio es similar al reportado por Huang *et al.* (2015), quienes trabajaron con hámsteres alimentados con dieta alta en grasa saturada y tratados con extracto acuoso de Jamaica y encontraron una menor síntesis *de novo* de triglicéridos en hígado, atribuyendo esto a las antocianinas las cuales además disminuyen la absorción de lípidos en el intestino (Crosignani *et al.*, 2011).

Cuadro 7. Concentración de triglicéridos en hígado de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.

Tratamientos	Triglicéridos en hígado (mg/g tejido)
Sana	16.8 ± 1.1d*
Obesa	41.3 ± 1.4a
Criolla acuoso	18.1 ± 0.6d*
Alma Blanca acuoso	20.7 ± 1.6cd*
Criolla metanólico	25.8 ± 1.4bc*
Alma Blanca metanólico	30.1 ± 0.7b*

Los resultados se expresan como la media \pm EE. Los resultados fueron analizados estadísticamente con ANOVA. * $\alpha=0.05$ comparado contra el grupo obeso (Dunnett). Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer).

7.5. Efecto del consumo de extractos de Jamaica sobre complicaciones de la obesidad

La hipertrigliceridemia es una de las complicaciones más comunes de la obesidad y se caracteriza por una concentración de triglicéridos en suero mayor a 150 mg/dL

(Stern *et al.*, 2014). Esta condición está estrechamente relacionada con la resistencia a la insulina, algunos estudios han demostrado que pacientes con hipertrigliceridemia fueron diagnosticados con resistencia a la insulina en tejido adiposo, dichos pacientes presentaban una elevada concentración de ácidos grasos no esterificados en suero independientemente del contenido de grasa abdominal (Kissebah *et al.*, 1976; Steiner, 1994; Després, 1998).

Los resultados obtenidos en este estudio (Cuadro 8) muestran que, si bien la concentración de triglicéridos en suero de las ratas obesas no está por encima del límite para diagnosticar hipertrigliceridemia, si existe una diferencia estadística significativa con respecto a las ratas sanas, siendo hasta un 38% más alta esta concentración en las ratas obesas. Con respecto a los grupos que consumieron los extractos de Jamaica, las ratas que consumieron ABA presentaron una disminución en la concentración de triglicéridos en suero del 11% comparada con las del grupo obeso, mientras que el consumo de ABM presentó un incremento importante de este lípido siendo superior al límite de 150 mg/dL, este fue un resultado no esperado y se asocia a los compuestos anteriormente mencionados, los pesticidas. Los compuestos organofosforados tienen efectos en el metabolismo de las lipoproteínas (Kutty *et al.*, 1973); esto debido a que inhiben la actividad enzimática de la lipoproteína lipasa, incrementando los niveles de VLDL y LDL en suero y, por lo tanto, los niveles de triglicéridos (Kozłowska *et al.*, 1988).

Gurrola-Díaz *et al.* (2009), realizaron un estudio clínico en el cual se evaluó el perfil lipídico en pacientes sanos y con síndrome metabólico a quienes se les administró extracto de Jamaica en polvo, encontrando que estos tratamientos disminuyeron las concentraciones de varios parámetros, entre ellos triglicéridos en suero, este estudio atribuye este efecto al contenido de antocianinas presente en el extracto. Por otro lado, en un estudio en ratas hiperlipidémicas se encontró que la administración de extracto etanólico de Jamaica disminuye la concentración de triglicéridos en suero debido a la disminución de síntesis *de novo*, derivada de una menor absorción de carbohidratos en el intestino, efecto atribuido al ácido hibiscus,

el cual inhibe la actividad de α -amilasa pancreática y α -glucosidasa en el intestino delgado (Gosain *et al.*, 2010).

La determinación de glucosa en estado de ayuno se emplea como un indicador del equilibrio que tienen los animales entre la producción de glucosa por el hígado y la utilización de glucosa por el músculo y el tejido adiposo (Barros *et al.*, 2007). Al evaluar la concentración de glucosa en suero se pudo observar una diferencia significativa entre los grupos controles, el grupo obeso es el que presentó la concentración más alta, hasta en un 83%; mientras que, todos los tratamientos tuvieron un decremento importante con respecto al control obeso, con valores similares al grupo control sano, mostrando el efecto más importante el grupo tratado con el extracto acuoso de Jamaica Alma Blanca (Cuadro 8).

El beneficio hipoglucémico observado por el consumo de CA y ABA podría asociarse al contenido de ácido hidroxycítrico; si bien, su mecanismo de acción no se ha elucidado, se atribuye este efecto a que mejora la resistencia a la insulina en pacientes obesos, por lo tanto, permite una mayor internalización de glucosa a los tejidos para ser metabolizada (Clouatre & Dunn, 2002).

Una consecuencia del consumo de una dieta alta en grasa y fructosa es la resistencia a la insulina que induce una hiperinsulinemia compensatoria (Elliott *et al.*, 2002). Esto explica el hecho de que los animales alimentados con la dieta alta en grasa y fructosa presentaran mayores concentraciones séricas de esta hormona en comparación con el grupo sano (66%). Los grupos que consumieron CA y CM presentaron decrementos significativos en la concentración de esta hormona, siendo el efecto más importante el obtenido por el consumo de CM, el cual presentó valores menores al grupo sano (Cuadro 7).

El índice HOMA es una medida de la resistencia a insulina y se calcula a partir de los valores de insulina y glucosa, con respecto a los grupos controles el índice HOMA del grupo obeso es 2.7 veces mayor que el grupo sano, mientras que todos los grupos que consumieron los extractos de Jamaica mostraron una disminución de este parámetro siendo similar al grupo sano. Este efecto puede atribuirse a la

protección de las células β del páncreas y la inhibición de la actividad de α -glucosidasa, dada principalmente por las antocianinas (Matsui *et al.*, 2001).

Cuadro 8. Concentración de triglicéridos y valores de HOMA de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.

	Triglicéridos (mg/dL)	Glucosa (mg/dL)	Insulina (ng/μL)	HOMA
Sanas	83.8 \pm 3.6c*	111.3 \pm 6.8bc*	1.2 \pm 0.09bc*	7.7 \pm 1.5bc*
Obesas	135.8 \pm 6.9b	204.0 \pm 6.7a	2.0 \pm 0.09a	20.9 \pm 1.8a
Criolla acuoso	120.6 \pm 4.1b	119.4 \pm 6.4b*	1.1 \pm 0.1cd*	9.6 \pm 1.1bc*
Alma Blanca acuoso	100.9 \pm 6.1c*	84.2 \pm 5.8c*	1.8 \pm 0.09a	9.1 \pm .8bc*
Criolla metanólico	120.4 \pm 6.1b	103.6 \pm 6.5bc*	0.7 \pm 0.1d*	5.4 \pm 1.4c*
Alma Blanca metanólico	154.7 \pm 7.2a*	98.4 \pm 6.9bc*	1.6 \pm 0.09ab*	11.4 \pm 1.1b*

Los resultados se expresan como la media \pm EE. Los resultados fueron analizados estadísticamente con ANOVA. * α =0.05 comparado contra el grupo obeso (Dunnett). Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer).

7.6. Asociación del perfil fitoquímico de los extractos de Jamaica con el efecto obtenido sobre la pérdida de peso y complicaciones de la obesidad en ratas tratadas

De acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio *in vivo* se observa que CA y ABA son los extractos que presentan mejores efectos, seguidos por CM, ya que ABA y CA muestran un comportamiento similar al grupo sano (Figura 11A). En la Figura 11B se incluyen los gráficos que representan el perfil de compuestos fitoquímicos de los extractos.

Se realizó un análisis de mínimos cuadrados parciales para determinar la asociación entre el perfil de compuestos de todos los extractos con las variables respuesta obtenidas en el estudio *in vivo* (Figura 12). Si el eje de las X muestra números negativos (a la derecha de la línea azul), la variable respuesta tiene una disminución; mientras que, los números positivos (a la izquierda de la línea azul) indican un aumento. Por otro lado, en el eje de las Y se muestra el límite de corte, los valores por arriba de la línea roja determinan un efecto significativo y por debajo

de ésta, no existe efecto. Por lo tanto, todos los compuestos que se muestran en el cuadrante superior izquierdo, sombreado en verde, son los que presentan un efecto benéfico y significativo para este estudio.

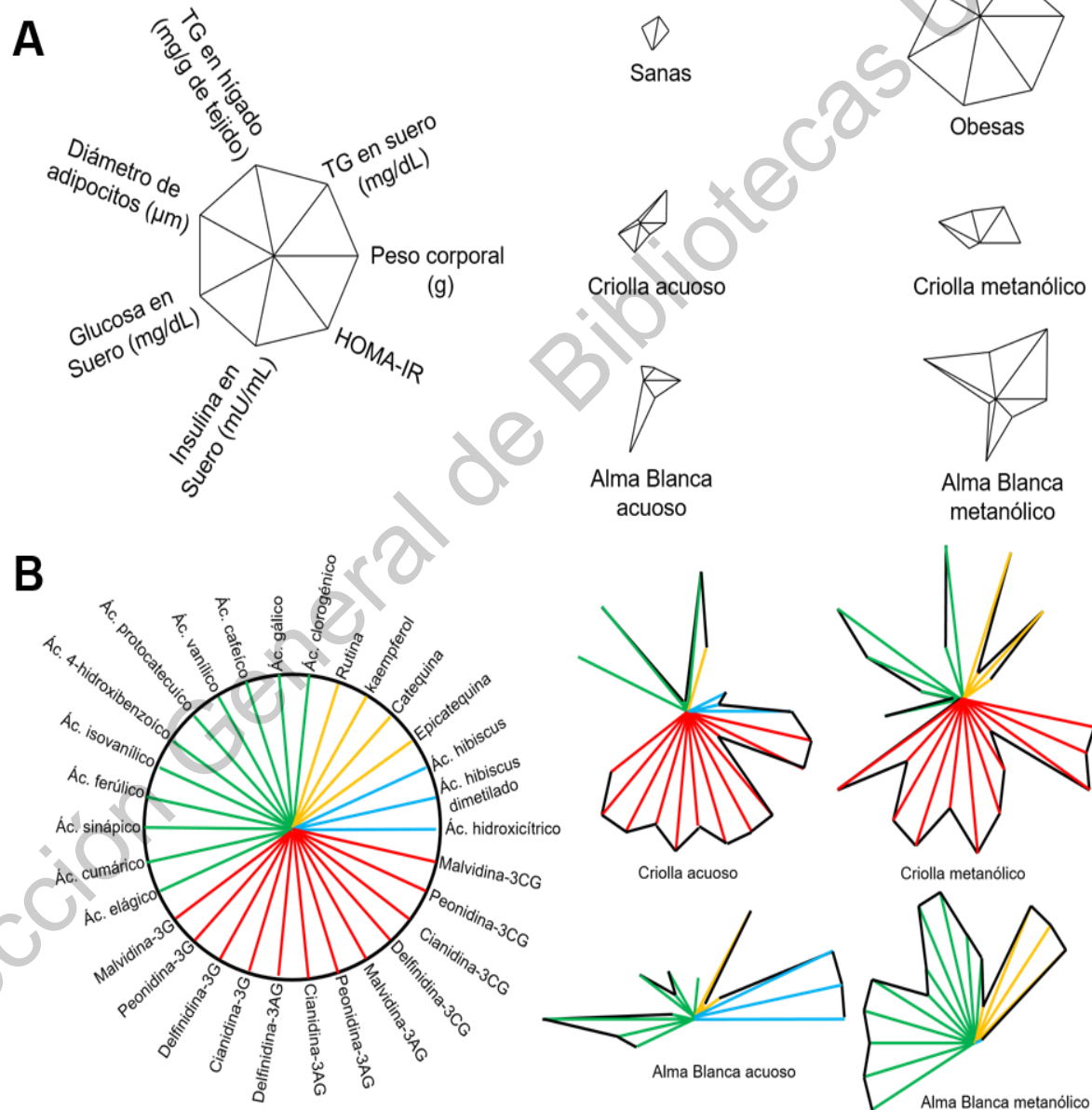


Figura 11. A) Efecto de los extractos sobre diferentes parámetros en ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica, B) Perfil fitoquímico de los extractos de Jamaica Criolla y Alma Blanca.

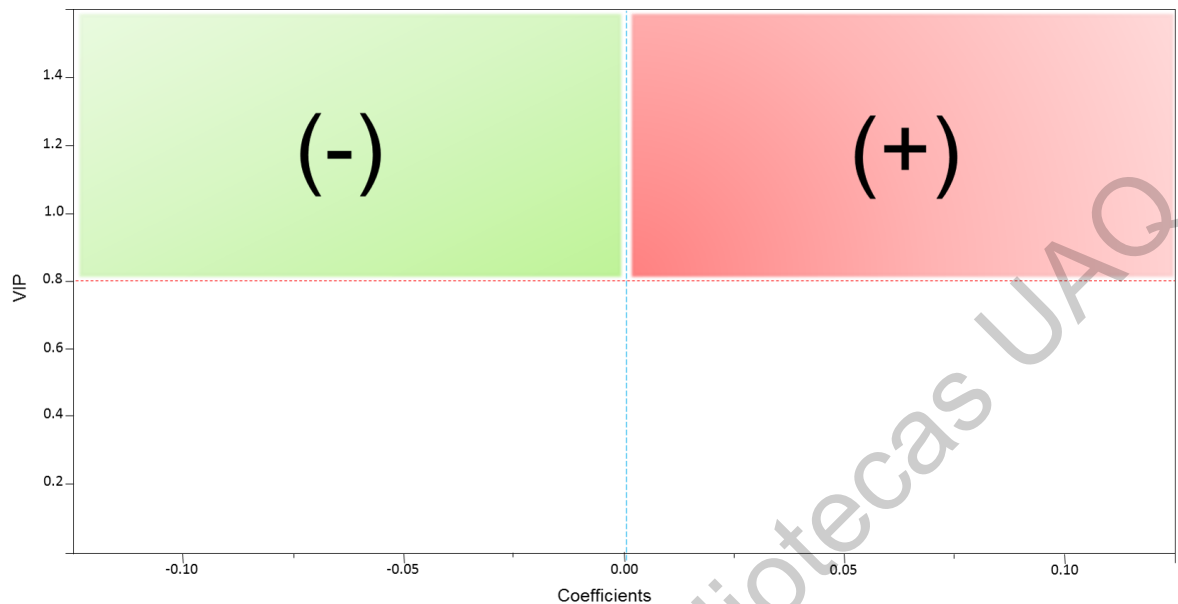


Figura 12. Gráfico descriptivo de la interpretación de un análisis de mínimos cuadrados parciales.

En este análisis se obtuvo un comportamiento similar de los componentes de los extractos con respecto al peso corporal (g), triglicéridos en hígado (mg/dL), triglicéridos en suero (mg/dL) y diámetro promedio de adipocitos (μm). Se puede apreciar en la Figura 13, que el efecto sobre la disminución de las variables respuesta indicadas anteriormente se puede atribuir al contenido de ácidos orgánicos presentes en los extractos, los cuales están presentes en CA y ABA; así mismo se observó un efecto de las antocianinas y estos compuestos están presentes solo en la variedad Criolla.

Villalpando-Arteaga *et al.* (2013) realizaron estudios con ratones alimentados con una dieta alta en grasa, a éstos se les administró vía intragástrica un extracto de *Hibiscus*, equivalentes a 33 mg de antocianinas totales por kg de peso corporal tres veces por semana durante 8 semanas. Esto redujo la ganancia de peso corporal en un 43 %, la acumulación de tejido graso y normalizó el índice glucémico, así como el colesterol HDL, LDL y VLDL, en ratones obesos inducidos con dieta. Se relacionó el consumo del extracto con una disminución en la expresión de los factores de

transcripción SREBP-1c y PPAR γ que participan en la determinación y diferenciación de los adipocitos, este efecto se atribuyó a la presencia de cianidina-3-sambubiósido y delphinidina-3-sambubiósido.

Se han realizado estudios en donde se evaluó el efecto del consumo de extracto de Jamaica a dosis 5, 10 y 15 g de extracto/100 g de alimento en ratas alimentadas con dieta alta en grasas, encontrándose que estos disminuyeron hasta en un 87 % la ganancia de peso corporal. También se reportó que el extracto etanólico de Jamaica disminuye la absorción e incrementa la excreción de grasas efecto que se le atribuyó a la disminución en la absorción de carbohidratos mediante la inhibición de la actividad de amilasa pancreática, efecto atribuido al contenido de ácido hibiscus (Carvajal-Zarrabal *et al.*, 2005, 2009). El ácido hidroxicítrico es un inhibidor competitivo potente de ATP-citrato liasa (Sullivan, 1977), la cual es una enzima que cataliza la conversión de citrato a acetil CoA en el citoplasma de las células. Se ha reportado que la acción del ácido hidroxicítrico obtenido de *Garcinia cambogia* disminuye la síntesis de ácidos grasos y colesterol en hígado de ratas obesas (Berkhout *et al.*, 1990; Lowenstein, 1971; Sullivan. *et al.*, 1972).

Por otro lado, Hayamizu *et al.* (2003) realizaron estudios en sujetos con sobrepeso, sin antecedentes de diabetes, problemas cardiacos, hipertensión, entre otros padecimientos, a los cuales se les administró durante 12 semanas una dosis de 1000 mg de ácido hidroxicítrico al día, proveniente de *Garcinia cambogia*. Se observó un decremento entre el 10 y 15% en el contenido total de grasa y una disminución de peso corporal e IMC; además, no se observaron efectos adversos por su consumo subcrónico.

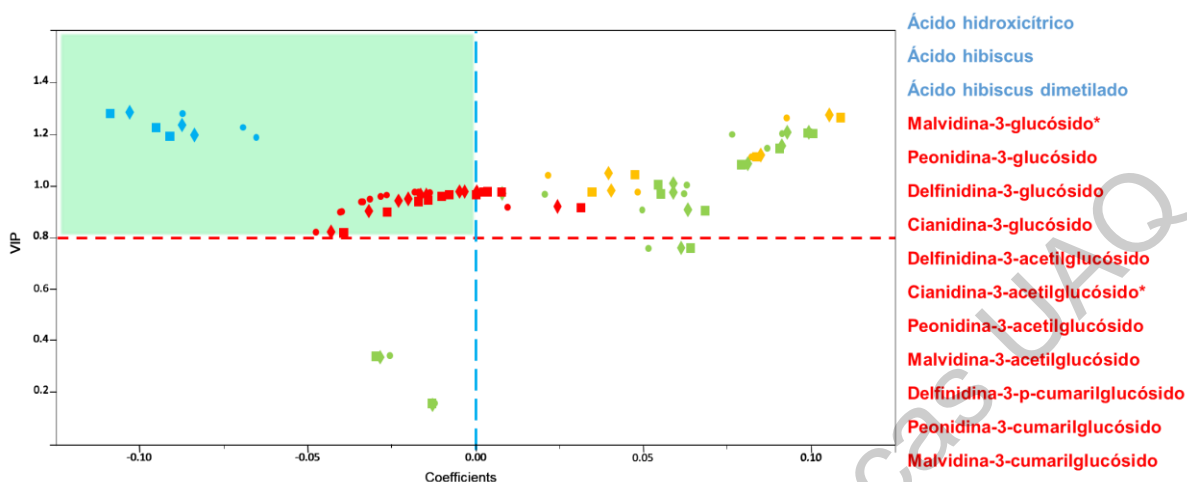


Figura 13. Análisis de mínimos cuadrados parciales para: ● peso corporal (g), ◆ triglicéridos en hígado (mg/dL), ▲ triglicéridos en suero (mg/dL) y ■ diámetro promedio de adipocitos (μm). Los ácidos orgánicos están representados en color azul, las antocianinas en rojo, los ácidos fenólicos en verde y los flavonoides en naranja. Del lado derecho se muestran los metabolitos importantes. *No significativos para triglicéridos en suero y diámetro de adipocitos

La Figura 14 muestra el efecto de los componentes sobre la concentración de glucosa en suero (mg/dL) en donde el análisis indica que el efecto sobre su disminución se puede atribuir al contenido de ácidos orgánicos, seis ácidos fenólicos (ácidos sinápico, vanílico, cafeíco, ferúlico, elágico y cumárico) y dos flavonoides (epicatequina y kaempferol) presentes en los extractos, principalmente en ABA y ABM. Por otra parte, se obtuvo un comportamiento similar de los componentes de los extractos en la concentración de insulina e índice HOMA, el cual se muestra en la Figura 15. De acuerdo al análisis se observa que el efecto sobre la disminución de estas variables respuesta se atribuye al contenido de cuatro ácidos fenólicos (ácidos gálico, cafeíco, ferúlico e isovanílico), dos flavonoides (catequina y rutina) y las doce antocianinas identificadas en los extractos, los cuales están presentes principalmente en CM y ABM, siendo más importante el efecto de CM.

No existen estudios que demuestren el efecto hipoglucémico, así como el efecto sobre la resistencia a la insulina de flavonoides y ácidos fenólicos provenientes de Jamaica; sin embargo, estudios de otros frutos y plantas indican que los flavonoides y los ácidos fenólicos tienen un efecto importante sobre la disminución de glucosa en sangre y resistencia a insulina, como es el caso del kaempferol (de Sousa *et al.*, 2004), la catequina (Valsa *et al.*, 1997), la quercetina y la luteolina (Matsui *et al.*, 2001), el ácido ferúlico (Ohnishi *et al.*, 2004), el ácido protocatecuico (Harini & Pugalendi, 2010), entre otros, con mecanismos de acción variados que van desde la disminución en la absorción intestinal de carbohidratos hasta la mejora en la cascada de señalización de la insulina (Iwai, 2008). A las antocianinas se les atribuye también un efecto hipoglucémico, regulado por diversos mecanismos de acción como son la protección de las células β del páncreas y la inhibición de la actividad de α -glucosidasa (Matsui *et al.*, 2001).

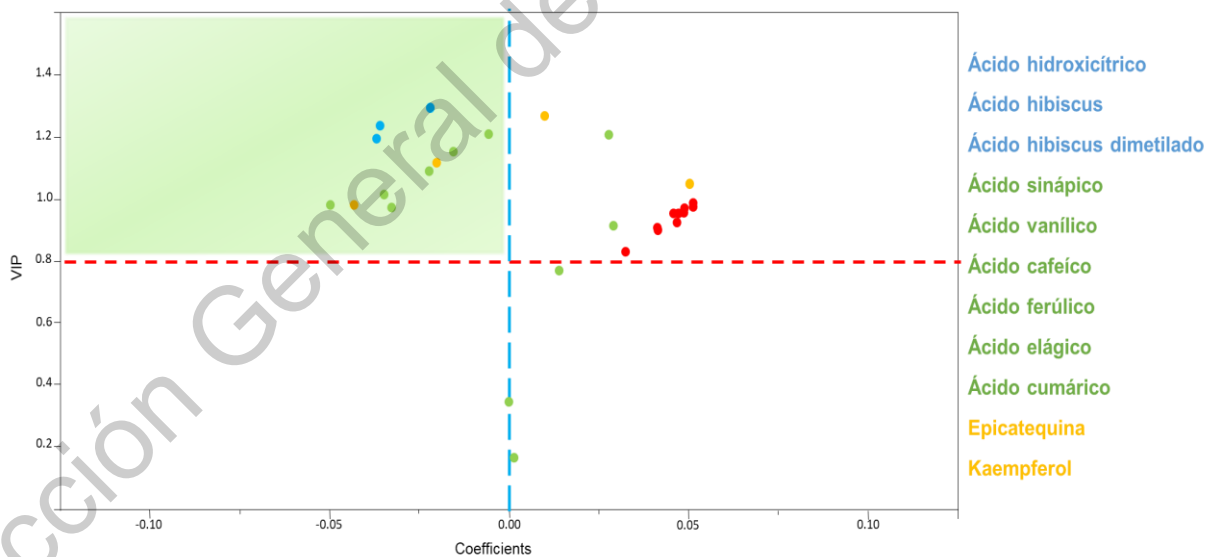


Figura 14. Efecto de los componentes de los extractos sobre la concentración de glucosa en suero (mg /dL). Los ácidos orgánicos están representados en color azul, las antocianinas en rojo, los ácidos fenólicos en verde y los flavonoides en naranja. Del lado derecho se muestran los metabolitos importantes.

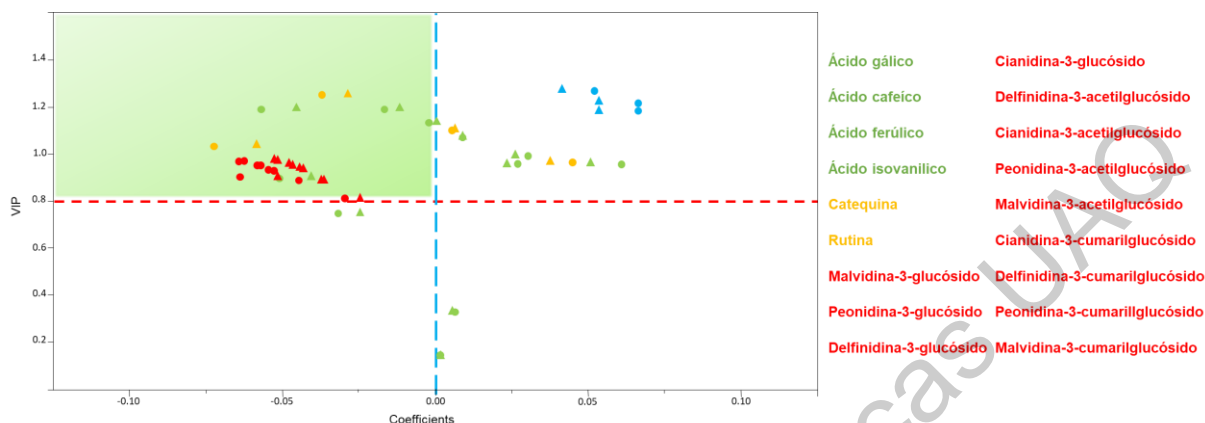


Figura 15. Efecto de los componentes de los extractos sobre la concentración de: ● insulina (ng/ μ L) e ▲ índice HOMA. Los ácidos orgánicos están representados en color azul, las antocianinas en rojo, los ácidos fenólicos en verde y los flavonoides en naranja. Del lado derecho se muestran los metabolitos importantes.

Una vez concluida la primera etapa se determinó que el efecto antiobesogénico está asociado a ácidos orgánicos principalmente y antocianinas, mientras que RI se asoció a ácidos fenólicos y flavonoides. Para comprobar esta asociación, se decidió evaluar diferentes variedades de Jamaica que por su tonalidad pueden presentar perfiles diferenciales de los compuestos previamente mencionados.

7.7 Selección de diferentes variedades con potencial antiobesogénico con base en su perfil metabolómico

7.7.1 Caracterización fisicoquímica de las 27 diferentes variedades de Jamaica

7.7.1.1 Color

Los efectos de la variación en los parámetros de color dependiendo de la variedad de Jamaica se muestran en el Cuadro 9. Los valores de L^* fueron significativamente más bajos (color más oscuro) en las variedades Sudán roja (Oax), Morada (Mich), Costeña (Oax), Reyna (Mich), Cuarenteña (Nay), Negra (Gro), UNA-29 (Oax), Sudán morada (Oax), Jersey (Pue), Negra/Morada (Col) y

Cuacoyula (Gro), con un promedio de 41.36 ± 2.06 , seguidas de las variedades Roja clara (Col), Criolla (Mich), Criolla (Pue), UNA-13 (Oax), Criolla (Gro), Colima (Col), Criolla (Oax) y Tempranilla (Col), (49.65 ± 1.75), Criolla (Nay), Colimeña (Nay), Jalisco (Col), Tempranilla (Oax), UAN-16 (Oax) y UAN-8(Oax), (56.27 ± 1.47) y el valor de luminosidad más alto (color más claro) lo presentaron las variedades Alma Blanca ($64.23 - 67.99$). Con respecto a los valores de a^* , que indican la tendencia de rojo a verde, la variedad Criolla (Mich) presentó el valor más alto (29.75 ± 0.01); mientras que, las variedades con valores más bajos son Alma Blanca y UAN-29, con 7.03 y 17.54 ± 0.03 , respectivamente. De acuerdo con los valores de b^* , la variedad de Jamaica que presenta una mayor tonalidad amarilla es Alma Blanca (21.19 ± 0.01) y las que presentan una mayor tonalidad azul son las variedades Reyna (3.16 ± 0.02) y Jersey (3.85 ± 0.01).

Con base en los parámetros de luminosidad y su parámetro a^* , se agruparon las Jamaicas, quedando de la siguiente manera:

BLANCAS (W): Alma Blanca (Oax) y Alma Blanca (Col)

ROSAS (P): Criolla (Nay), Colimeña (Nay), Jalisco (Col), Tempranilla (Oax), UAN-16 (Oax) y UAN-8(Oax)

ROJAS (R): Roja clara (Col), Criolla (Mich), Criolla (Pue), UNA-13 (Oax), Criolla (Gro), Colima (Col), Criolla (Oax) y Tempranilla (Col)

NEGRAS/MORADAS (PP): Sudán roja (Oax), Morada (Mich), Costeña (Oax), Reyna (Mich), Cuarenteña (Nay), Negra (Gro), UNA-29 (Oax), Sudán morada (Oax), Jersey (Pue), Negra/Morada (Col) y Cuacoyula (Gro)

Cuadro 9. Parámetros de color de diferentes variedades de Jamaica

No.	VARIEDAD	L*	a*	b*	h°	C*
1	Criolla (Gro)	50.18 ± 0.02	26.07 ± 0.02	5.86 ± 0.02	12.67 ± 0.05	26.72 ± 0.01
2	Negra (Gro)	39.67 ± 0.03	23.65 ± 0.03	4.64 ± 0.04	11.10 ± 0.09	24.10 ± 0.04
3	Cuacoyula (Gro)	41.10 ± 0.01	25.47 ± 0.02	4.51 ± 0.05	10.04 ± 0.11	25.86 ± 0.02
4	Reyna (Mich)	43.52 ± 0.02	27.22 ± 0.00	3.91 ± 0.04	8.18 ± 0.08	27.50 ± 0.00
5	Morada (Mich)	40.38 ± 0.02	21.90 ± 0.02	5.88 ± 0.02	15.04 ± 0.04	22.68 ± 0.02
6	Criolla (Mich)	48.64 ± 0.01	29.75 ± 0.01	6.61 ± 0.01	12.53 ± 0.02	30.47 ± 0.01
7	Negra (Col)	40.83 ± 0.01	25.01 ± 0.03	4.18 ± 0.01	9.49 ± 0.02	25.35 ± 0.03
8	Colima (Col)	51.11 ± 0.01	23.82 ± 0.01	6.81 ± 0.00	15.95 ± 0.01	24.77 ± 0.01
9	Jalisco (Col)	56.52 ± 0.01	18.93 ± 0.02	8.61 ± 0.03	24.45 ± 0.10	20.80 ± 0.01
10	Roja Clara (Col)	52.56 ± 0.01	28.06 ± 0.01	5.50 ± 0.01	11.08 ± 0.01	28.59 ± 0.01
11	Tempranilla (Col)	47.83 ± 0.01	23.63 ± 0.03	6.06 ± 0.02	14.38 ± 0.05	24.39 ± 0.03
12	Alma Blanca (Col)	64.23 ± 0.02	6.81 ± 0.01	22.46 ± 0.02	73.14 ± 0.03	23.47 ± 0.02
13	Jersey (Pue)	42.50 ± 0.01	22.13 ± 0.04	3.85 ± 0.01	9.86 ± 0.05	22.46 ± 0.04
14	Criolla (Pue)	47.54 ± 0.01	28.55 ± 0.01	6.79 ± 0.03	13.38 ± 0.06	29.35 ± 0.02
15	Sudán Morada (Oax)	39.79 ± 0.01	25.28 ± 0.02	5.21 ± 0.03	11.65 ± 0.08	25.81 ± 0.02
16	Sudán Roja (Oax)	45.22 ± 0.02	27.40 ± 0.03	4.61 ± 0.01	9.55 ± 0.02	27.79 ± 0.02
17	Alma Blanca (Oax)	67.99 ± 0.00	7.03 ± 0.00	21.19 ± 0.01	71.65 ± 0.01	22.32 ± 0.01
18	Criolla (Oax)	49.49 ± 0.01	28.36 ± 0.01	6.76 ± 0.03	13.41 ± 0.05	29.15 ± 0.01
19	Tempranilla (Oax)	54.65 ± 0.01	20.38 ± 0.01	7.69 ± 0.01	20.66 ± 0.03	21.78 ± 0.01
20	Costeña (Oax)	39.85 ± 0.01	24.91 ± 0.03	4.98 ± 0.02	11.32 ± 0.04	25.40 ± 0.04
21	UAN-8 (Oax)	54.24 ± 0.00	18.95 ± 0.01	6.01 ± 0.01	17.61 ± 0.03	19.88 ± 0.02
22	UAN-13 (Oax)	47.76 ± 0.00	23.95 ± 0.03	4.65 ± 0.03	10.99 ± 0.05	24.40 ± 0.03
23	UAN-16 (Oax)	55.94 ± 0.01	20.33 ± 0.01	6.58 ± 0.01	17.95 ± 0.03	21.37 ± 0.01
24	UAN-29 (Oax)	38.13 ± 0.03	17.54 ± 0.03	4.60 ± 0.01	14.68 ± 0.01	18.14 ± 0.03
25	Criolla (Nay)	58.75 ± 0.01	20.11 ± 0.01	7.70 ± 0.03	20.94 ± 0.06	21.54 ± 0.01
26	Colimeña (Nay)	57.49 ± 0.01	21.69 ± 0.01	7.62 ± 0.02	19.36 ± 0.06	22.99 ± 0.01
27	Cuarenteña (Nay)	41.39 ± 0.02	28.01 ± 0.05	4.64 ± 0.00	9.41 ± 0.02	28.40 ± 0.05

Los datos se muestran como la media ± desviación estándar de tres mediciones del parámetro.

7.7.1.2 pH y acidez titulable

Los valores de pH y acidez titulable se muestran en el Cuadro 10. Todas las variedades presentaron un pH ácido, siendo las variedades Criolla (Nay), Colimeña (Nay) y Cuarenteña (Nay) las que presentaron los valores más bajos (1.96-1.99); mientras que, las variedades UAN-16 (Oax) y UAN-29 (Oax) son las que presentaron un pH más alto con valores de 2.86 ± 0.07 y 2.95 ± 0.02 , respectivamente. Los resultados obtenidos en la determinación de acidez titulable mostraron que la variedad Criolla y UAN-29, ambas de Oaxaca, son las que presentaron mayor y menor contenido de mg equivalentes de ácido málico por g de materia seca (235.5 ± 1.9 y 124.0 ± 2.3), respectivamente. Los resultados de acidez titulable están relacionados con la determinación de pH ya que ésta es una medida indirecta del contenido de ácidos orgánicos presentes. Los datos obtenidos en las cuantificaciones son similares a los reportados por otros autores con un rango de pH de 2 a 3 y valores mínimos de acidez de 20 mg EAM/g muestra seca (Chumsri & Itharat, 2008; Prenesti *et al.*, 2007; Wong *et al.*, 2002).

Cuadro 10. Valores de pH y acidez titulable de las diferentes variedades de Jamaica.

VARIEDAD	pH	Acidez titulable (mg EAM/g)
Alma Blanca (Oax, W)	2.47 ± 0.08defgh	186.37 ± 1.34fgh
Alma Blanca (Col, W)	1.74 ± 0.01o	191.51 ± 7.04efg
Criolla (Nay, P)	1.99 ± 0.02mn	199.11 ± 5.49def
Colimeña (Nay, P)	1.96 ± 0.02no	213.19 ± 2.92bcd
Jalisco (Col, P)	2.60 ± 0.01cdef	166.48 ± 6.37ij
Tempranilla (Oax, P)	2.70 ± 0.04bcde	151.73 ± 3.87jklm
UAN-16 (Oax, P)	2.86 ± 0.07ab	131.85 ± 5.42no
UAN-8 (Oax, P)	2.82 ± 0.03abc	134.75 ± 4.08mno
Roja Clara (Col, R)	2.37 ± 0.08fghij	199.11 ± 5.96def
Criolla (Mich, R)	2.21 ± 0.02ijklm	225.25 ± 3.55
Criolla (Pue, R)	2.23 ± 0.20hijkl	222.35 ± 2.71abc
UAN-13 (Oax, R)	2.67 ± 0.05bcde	141.23 ± 6.23lmno
Criolla (Gro, R)	2.39 ± 0.06fghij	188.16 ± 6.75fgh
Colima (Col, R)	2.31 ± 0.05ghijk	203.13 ± 3.73cdef
Criolla (Oax, R)	2.17 ± 0.06jklmn	235.53 ± 1.94
Tempranilla (Col, R)	2.45 ± 0.08efghi	169.61 ± 5.32hij
Sudán roja (Oax, PP)	2.65 ± 0.03bcde	154.86 ± 3.55jkl
Morada (Mich, PP)	2.67 ± 0.09bcde	190.62 ± 6.05efg
Costeña (Oax, PP)	2.41 ± 0.19fghij	152.18 ± 3.07jklm
Reyna (Mich, PP)	2.55 ± 0.02defg	177.21 ± 6.08ghi
Cuarenteña (Nay, PP)	2.00 ± 0.02lmn	191.06 ± 2.42efg
Negra (Gro, PP)	2.36 ± 0.04fghil	209.39 ± 6.01bcde
UAN-29 (Oax, PP)	2.95 ± 0.02a	124.02 ± 2.32o
Sudán morada (Oax, PP)	2.66 ± 0.07bcde	174.53 ± 7.04ghi
Jersey (Pue, PP)	2.71 ± 0.14abcd	164.92 ± 5.32ijk
Negra (Col, PP)	2.48 ± 0.04defg	170.95 ± 4.69hij
Cuacyula (Gro, PP)	2.09 ± 0.04klmn	158.88 ± 12.84ijkl

Los valores se muestran como la media ± desviación estándar de tres repeticiones de la medición. Los resultados fueron analizados estadísticamente con ANOVA. * $\alpha=0.05$. Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer). W: blanca, P: rosa, R: roja, PP: morada.

7.7.2. Cuantificación de compuestos fitoquímicos totales

En cuanto al contenido de fenoles totales, las variedades que presentaron mayor contenido de estos compuestos son aquellas que están clasificadas en el grupo de las variedades Negras/Moradas. Con respecto a las variedades Blancas, éstas tienen un contenido de fenoles totales similar al de las variedades clasificadas como Rojas (Figura 16). El contenido de antocianinas (Figura 17) varía dependiendo de la tonalidad de los cálices, las que presentan menores contenidos son las variedades agrupadas en tonos blancos y rosas; mientras que, los contenidos más altos están asociados con variedades de tonalidades moradas o negras; esto era de esperarse ya que las antocianinas son aquellos compuestos que confieren el color a las flores y frutos. Por otro lado, en cuanto al contenido de saponinas (Figura 18), la mayor concentración se encuentra en la variedad UAN-29 (Oax) y en la misma clasificación (Negras/Moradas) se encuentra Cuarenteña (Nay) que es una de las variedades con un menor contenido de estos compuestos. De manera general, se observa que las negras/moradas son las que presentan mayor cantidad de estos compuestos, seguida de las rojas, rosas y la Alma Blanca (Col) con la menor concentración. En cuanto al contenido de fitoesteroles (Figura 19), se puede apreciar que la mayoría de las variedades tienen un valor muy bajo de estos compuestos, observándose a las variedades Criolla (Nay), Cuarenteña (Nay) y Alma Blanca (Col), como aquellas que presentaron estos compuestos por debajo del límite de detección; mientras que, el mayor contenido se observó en las variedades Sudan morada (Oax) y Morada (Mich) con 0.51 ± 0.08 mg y 0.48 ± 0.02 μ g E β S /g MS. El contenido de fitoesteroles en extractos de cálices de Jamaica no se había reportado previamente, debido a que estos son componentes principalmente de las semillas como se ha reportado por otros autores previamente, en donde se han obtenido concentraciones de entre el 2.5 al 3.5% de la composición del aceite de semilla de Jamaica (Atta & Imaizumi, 2002; Mohamed *et al.*, 2007).

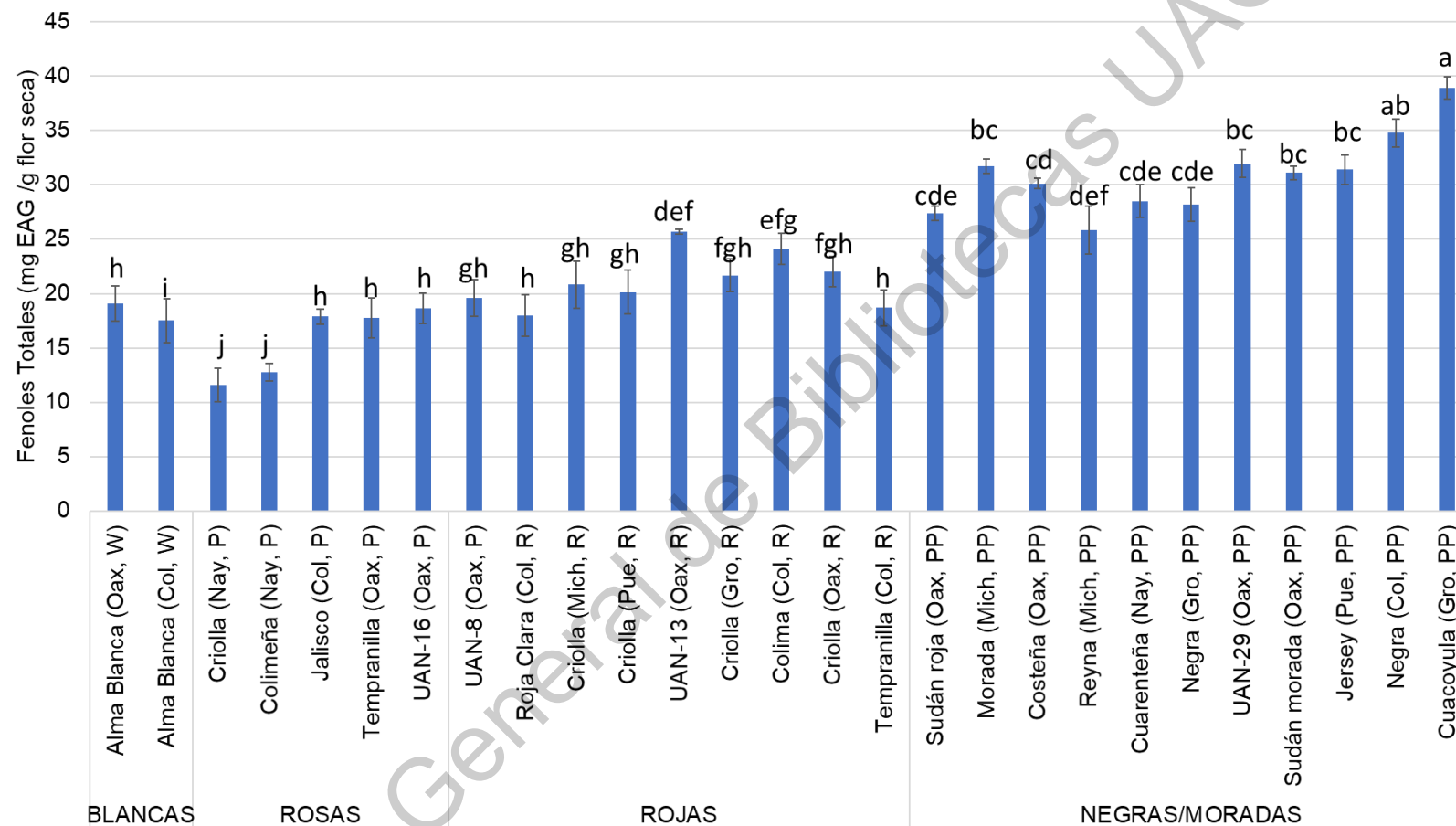


Figura 16. Contenido de fenoles totales en diferentes variedades de Jamaica clasificadas en base a su coloración.

Los resultados se expresan como la media \pm DE. Los resultados se analizaron estadísticamente con ANOVA. $\alpha=0.05$. Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer)

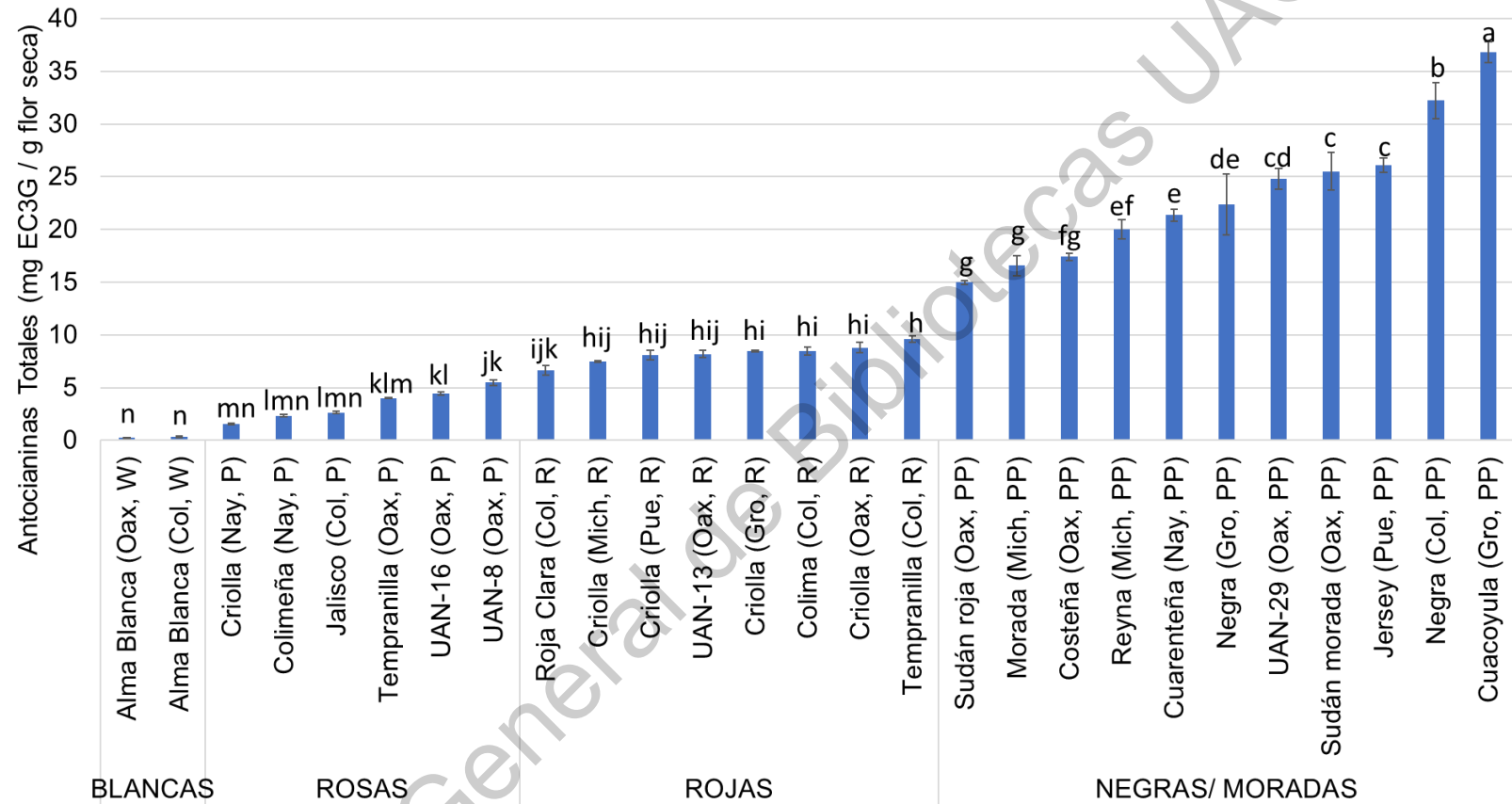


Figura 17. Contenido de antocianinas totales en diferentes variedades de Jamaica clasificadas en base a su coloración.

Los resultados se expresan como la media \pm DE. Los resultados se analizaron estadísticamente con ANOVA. $\alpha=0.05$. Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer)

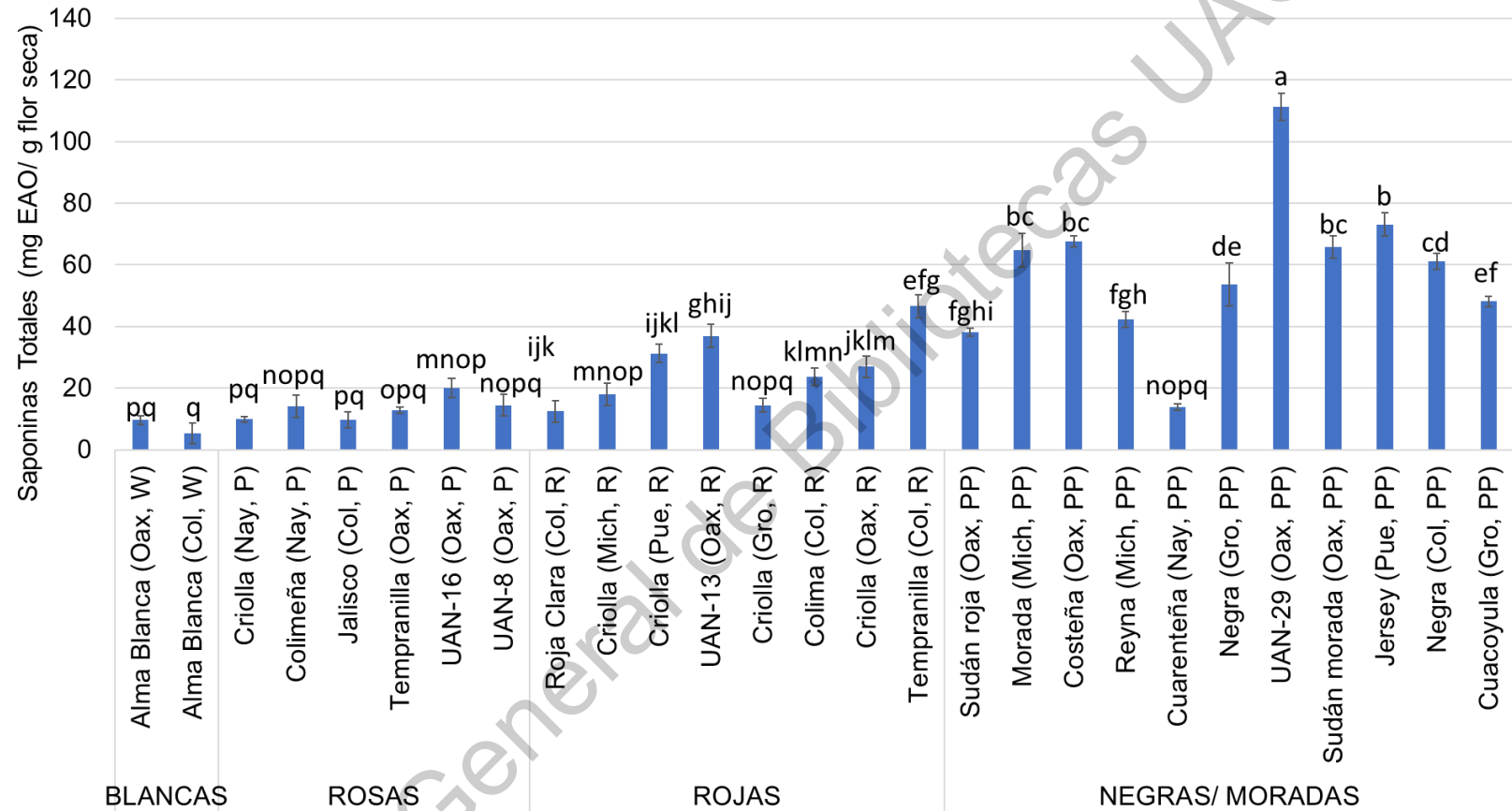


Figura 18. Contenido de saponinas totales en diferentes variedades de Jamaica clasificadas en base a su coloración.

Los resultados se expresan como la media \pm DE. Los resultados se analizaron estadísticamente con ANOVA. $\alpha=0.05$. Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer)

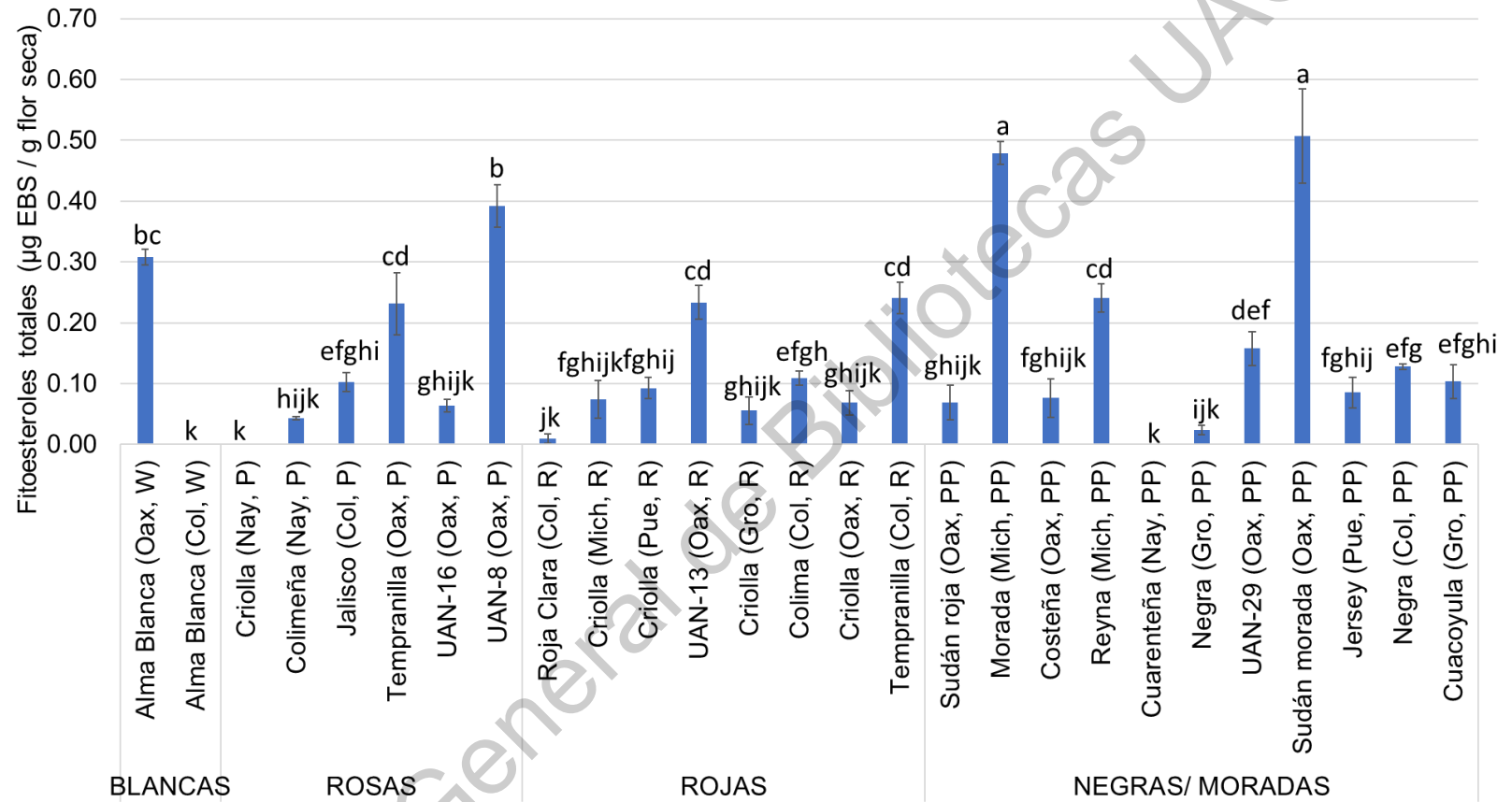


Figura 19. Contenido de fitoesteroles totales en diferentes variedades de Jamaica clasificadas en base a su coloración.

Los resultados se expresan como la media \pm DE. Los resultados se analizaron estadísticamente con ANOVA. $\alpha=0.05$. Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer)

7.7.3 Análisis metabólico de las diferentes variedades de Jamaica mediante UPLC-ESI-QTOF-MS-MS

Una vez obtenidos los contenidos totales de los fitoquímicos se procedió a realizar un análisis metabólico de las diferentes variedades por medio de UPLC-MS-MS, se identificaron y cuantificaron algunos compuestos, de los cuales en estudios previos, se determinó su relación estadística con beneficios a la salud como disminución en la ganancia de peso corporal, disminución en los niveles de triglicéridos séricos, protección contra esteatosis hepática, disminución en los niveles séricos de glucosa y protección contra resistencia a la insulina. Se identificaron 26 antocianinas, 44 ácidos fenólicos, 16 flavonoides y 8 ácidos orgánicos, 1 carotenoide, 1 hidroxycoumarina y 6 fitoesteroles. Dicha identificación se realizó basados en la masa, la fórmula molecular, el patrón de fragmentación, así como, en los aductos formados (Cuadro 11).

Cuadro 11. Compuestos propuestos, identificados mediante UPLC- ESI- QTof- MS/MS en las diferentes variedades de cálices de Jamaica.

Familia	Compuesto	TR	Masa calculada	Masa observada	Error (ppm)	Aductos	Fragmentos	Variedades que lo contienen
Ácidos fenólicos	Ácido dihidroxibenzoico	1.1	154.0	153.0	1.2	-H	81.09, 108.92	1-27
	Isómero del ácido dihidroxibenzoico	2.0	154.0	153.0	2.5	-H	81.09, 108.94	1-27
	Ácido hidroxibenzoico	1.2	138.0	137.0	1.8	-H	65.04, 93.05	1-27
	Ácido dicafeoilquínico	6.8	516.1	515.1	0.5	-H	173.01, 179.06	1-27
	Ácido dihidroxibenzoico metil éster dihexósido	5.2	492.1	491.1	0.9	-H	239.0559, 209.0442, 167.0342	1-27
	Isómero 2 de ácido dihidroxibenzoico	3.4	154.0	153.0	1.3	-H	81.09, 108.92	1-27
	Ácido neoclorogénico	4.2	354.1	353.1	1.6	-H	173.01, 179.06	1-27
	Ácido feruolquínico	4.2	368.1	367.1	1.7	-H	193, 191	1-27
	Isómero del ácido hidroxibenzoico	3.1	138.0	137.0	2.0	-H	65.04, 93.05	1-27
	ácido coumaroilquínico	3.7	338.1	337.1	2.6	-H	163	1-27
	Ácido dicafeoilquínico	4.9	516.1	515.1	-0.5	-H	173.01, 179.06, 515, 111	1-27
	Ácido criptoclorogénico	4.7	354.1	353.1	1.9	-H	173.01, 179.06, 353	1-27
	Ácido feruloilquínico	5.2	368.1	367.1	1.7	-H	173, 191	1-27
	Isómero del ácido hidroxibenzoico	6.7	138.0	137.0	1.4	-H	65.04, 93.05	1-27

Ácido clorogénico	2.6	354.1	353.1	1.3	-H	85.05, 191.06	1-27
Ácido benzoico	4.2	122.0	121.0	4.1	-H	77.06, 92.08	1-27
Ácido cafeico	2.6	180.0	179.0	0.4	-H	89.09, 135.08	1-27
Ácido cafeoil-málico	1.2	296.1	295.0	1.3	-H	295, 277, 133, 115	1, 3-26
Ácido caftárico	1.2	312.0	311.0	-1.0	-H	135.01, 149.05, 179.09	1-6, 8-27
Ácido coumárico	3.7	164.0	163.0	2.1	-H	119.0507	1-27
Ácido dihidroxibenzoico pentósido	3.0	286.1	285.1	1.2	-H	152.0111, 108.0212	1-27
Ácido elágico	5.7	302.0	301.0	2.7	-H	229	1-5, 7-13, 15-27
Ácido ferúlico	4.6	194.1	193.1	1.4	-H	134.04, 178.07	1-27
Ácido ferúlico hexósido	4.6	356.1	355.1	1.7	-H	135, 175, 193, 217, 236	1-5, 7-27
Ácido gálico	1.1	170.0	169.0	2.1	-H	79.07, 125.05	1-27
Ácido glucónico	0.6	196.1	195.1	2.6	-H	75.04, 129.06	1-27
Ácido isocítrico	0.8	192.0	191.0	-2.0	-H	85, 155, 111	1-27
Ácido maléico	0.8	116.0	115.0	2.9	-H	71, 79, 97	1-27
Isómero del monogaloil- hexósido	1.5	332.1	331.1	2.1	-H	271, 241, 169	1-27
Isómero ácido coumárico	4.1	164.0	163.0	1.0	-H	98.07, 119.08	1-27
Ácido protocatecuico	3.0	154.0	153.0	0.5	-H	91.04, 109.5	1-3, 5-7, 11, 13- 25,27

	Ácido protocatecuico hexósido	1.6	316.1	315.1	1.3	-H	153.0169, 152.0108, 109.0286	1-27
	Ácido quínico	3.9	192.1	191.1	0.6	-H	85.06, 93.06	1-27
	Ácido rosmarínico	3.7	360.1	359.1	-4.4	-H	161.04, 197.06	1,2, 6, 8-23, 25-27
	Ácido shikímico	4.2	174.1	173.0	1.0	-H	93.06, 111.07	1-27
	Ácido sinápico	5.8	224.1	223.1	1.9	-H	149.04, 164.06	1-27
	Ácido siríngico	2.4	198.1	197.0	0.4	-H	153.11, 182.05	1-27
	Ácido trans-cinámico	1.5	148.1	147.0	1.9	-H	77.07, 103.08	1, 3-7, 9-13, 15-19, 21-27
	Trigaloilhexósido	5.8	636.1	635.1	1.0	-H	465, 483, 466, 313, 484, 271	1-6, 8-27
	Ácido vanílico	1.1	168.0	167.0	-3.2	-H	123.09, 152.02	1-27
	Isómero del ácido dihidroxibenzoico	1.6	154.0	153.0	-1.0	-H	81.09, 108.93	1-5, 7,8, 10-20, 22, 24-27
	Ácido pirúvico	0.6	88.0	87.0	2.9	-H	43	1-4, 6-22, 24-27
Ácidos orgánicos	Ácido alfaetoglutárico	0.7	146.0	145.0	2.0	-H	75, 101	1-27
	Ácido cisaconítico	0.7	174.0	173.0	1.6	-H	85, 111	1-27
	Ácido fumárico	0.6	116.0	115.0	0.9	-H	59, 71, 97	1-12, 14-27
	Ácido hibiscus	0.6	190.0	189.0	0.8	-H	127	1-27
	Ácido hidroxicitrico	0.6	208.0	207.0	1.9	-H	127, 189	1-27
	Ácido málico	0.6	134.0	133.0	3.4	-H	71, 73, 115	1-27
	Ácido malónico	0.6	104.0	103.0	2.2	-H	69	1-27
	Ácido succínico	0.9	118.0	117.0	2.0	-H	73, 99	1-27
Antocianinas	(epi)cat-etil-peonidina-hexósido	5.2	779.2	779.2	4.3	-e	779.2, 327.1, 489.1	1-27

Carboxipianodelfinidina hexósido	5.2	533.2	533.2	4.4	-e	371.2	1,2, 5-14, 16-19, 21, 22, 24-26
Carboxipiranomalvidina acetil-hexósido	6.6	603.2	603.2	8.3	-e	399.2, 383.2	1-27
Carboxipiranopeonidina coumaroil-hexósido	2.7	677.2	677.2	2.5	-e	369.2, 354.1	1-6, 8, 10-12, 15-18, 20, 22, 27
Catequipliranopeonidina hexósido	8.1	595.2	595.2	-8.6	-e	433.2, 418.1	1-14, 16-20, 22-27
Cianidina sambubiósido	5.4	616.1	616.1	-0.3	-e	616.1, 287.1	1-27
Cianidina dihexósido	5.7	611.2	611.2	0.4	-e	287.2, 449.2	1-27
Delfinidina dihexósido	5.2	627.2	627.2	0.3	-e	303.2, 465.2	1-27
Delfinidina acetil-hexósido	6.6	507.1	507.1	2.2	-e	303, 229	5, 6, 11-14, 16-18, 20-27
Delfinidina hexósido	7.0	465.1	465.1	2.4	-e	303.1, 229,162	1-24, 26,27
Delfinidina sambubiósido	3.7	597.1	597.1	0.3	-e	303.1, 597.1	1-27
Delfinidina coumaroil-hexósido	7.4	611.1	611.1	0.2	-e	303.1, 229.1	1-11, 13-24, 27
Malvidina acetil-hexósido	6.8	535.1	535.1	1.3	-e	331.2, 315	1-27
Peonidina hexósido	3.6	463.1	463.1	0.5	-e	301.2, 286.1	1,2,4-6,8,10-12,14-23,25-27
Petunidina acetil-hexósido	7.3	521.1	521.1	-6.7	-e	317.2, 302.3	1-3, 6, 8, 11,12, 14, 16-20
Petunidina acetil-hexósido-(epi)catequina	2.6	809.2	809.2	-3.3	-e	359.1, 605.2, 317.1	1-8, 10-24, 27

	Pirancianidina hexósido	6.0	473.2	473.2	-1.1	-e	311.2	1-27
	Piranodelfinidina hexósido	4.8	489.2	489.2	-4.8	-e	327.2	1-27
	Vitisin B	6.2	517.1	517.1	0.6	-e	355.1, 339.2	1-27
	Piranopetunidina acetil-hexósido	4.9	545.2	545.2	-0.3	-e	341.2	1-27
	Carboxipirancianidina acetil-hexósido	5.6	559.2	559.2	-0.5	-e	355.2, 527.2	1, 3,4, 6, 14-18, 24
	Catequilpiranopetunidina acetil-hexósido	8.6	653.2	653.2	-1.2	-e	449.2	1,2,5-14, 16,17,19,21-27
	Piranomalvidina acetil-hexósido	6.7	559.2	559.2	3.5	-e	355.2, 339.2	1-3, 6-19,21-27
	Cianidina hexósido	6.4	449.1	449.1	0.4	-e	287.2, 162	1-17, 19-27
	Peonidina acetil-hexósido	5.6	505.1	505.1	-0.5	-e	301.1, 286.2	1, 5, 10, 12, 15-17, 19, 22,23
	Carboxipirancianidina acetil-hexósido	5.6	559.2	559.2	2.6	-e	355.2, 527.2	12
Fitoesteroles	Brassicasterol	20.9	398.4	399.4	0.7	+H	381, 297	1-27
	Lanosterol	17.1	426.4	427.4	-9.4	+H	409	2,3,7-14,16,18,20,21,23-26
	Estigmastadieno	23.3	396.4	397.4	1.1	+H	397	1-27
	Ergosterol	25.8	396.3	397.3	0.3	+H	379, 395, 393	2, 5,6,11-13,17,24,25,27

	Esqualeno	26.1	410.4	411.4	4.7	+H	411	1,4- 6,8,9,12,14,15,17 -20,22,23,26,27
	B-sitosterol hexósido	23.2	576.4	577.4	4.2	+H	594, 397	3,7,10,12,18
Flavonoides	(-)-Epicatequina	3.9	290.1	289.1	3.5	-H	245.12, 123.03	1-13, 15-19, 21- 27
	(-)-Epigallocatequina	3.6	306.1	305.1	1.9	-H	179, 221, 261,219,165,137,1 35	1-5, 7-13, 15-19, 21-25, 27
	(+)-Catequina	4.7	290.1	289.1	1.6	-H	245.12, 123.03	1-27
	(+)-Galocatequingalato	5.2	458.1	457.1	-8.5	-H	125.09	1,2,5,8-11,13- 16,18,19,21- 23,25-27
	Luteolina	8.9	286.0	285.0	0.2	-H	151.05, 133.04	1-27
	Metildihidroquercetina hexósido	2.0	480.1	479.1	2.8	-H	317, 299	1-27
	Miricetina arabinogalactósido	4.5	611.1	610.1	-1.1	-H	316, 317	2-5, 7, 9,11- 13,15-17,19- 24,27
	Miricetina hexósido	5.3	480.1	479.1	1.4	-H	316, 317	1-27
	Quercetina	7.9	302.0	301.0	0.5	-H	179.04, 151.02	1-27
	Quercetina pentósido	5.9	464.1	463.1	0.7	-H	301, 239, 151, 271, 255, 179	1-27
	Quercetina hexósido	6.4	448.1	447.1	1.2	-H	301	1-27
	Quercetina dihexósido	5.5	596.1	595.1	0.9	-H	301	1-27
Rutina	5.8	610.2	609.1	0.0	-H	300.24, 271.13	1-27	

	Vicenina 2	6.3	594.2	593.2	-0.1	-H	593, 473, 353, 325	1-27
	(+)-Galocatequina	4.7	306.1	305.1	4.3	-H	179, 221, 261,219,165,137,1 35	2,11,12,15- 17,20,23-25,27
	Eriocitrina	4.5	596.2	595.2	9.7	-H	595, 287, 151, 107	6,9,12,14,16,17
Carotenoide	Beta-caroteno	23.7	536.4	537.4	6.8	+H	409, 539, 543, 662	1-6, 8,9,11- 17,19-24,26,27
Hidroxi_ cumarina	Esculetina hexósido	3.2	340.1	339.1	1.8	-H	219.0276, 203.0361, 191.0327, 189.0181, 177.0187, 159.0443, 133.0274	1-27

Las variedades están basadas en la numeración colocada en el Cuadro 3

Dirección General de Bibliotecas UAO

7.7.4 Selección de variedades de acuerdo con sus perfiles fitoquímicos

Con los datos obtenidos en el análisis metabolómico se llevó a cabo un análisis jerárquico para conocer el agrupamiento de las diferentes variedades de acuerdo con su perfil metabolómico, el análisis obtenido se muestra en la Figura 20.



Figura 20. Imágenes de las variedades de acuerdo con su agrupación mediante análisis jerárquico.

Como se puede observar se obtuvieron 4 grupos, los cuales, de manera general, coinciden con la clasificación previamente realizada con respecto a los parámetros de color. En el primer grupo, marcado en color rojo, se pueden observar las dos variedades blancas, el segundo grupo (verde) está conformado en su mayoría por Jamaica de tonalidades rosas, el grupo 3 (azul) está conformado por Jamaica de color morado y el grupo 4 (café) tiene como mayoritarias las Jamaica de coloración roja.

En la Figura 21 se muestra el análisis de componentes principales de las diferentes variedades de Jamaica, se puede observar que el grupo 1 (puntos rojos) es el único grupo que se separa de los demás, mientras que los otros 3 grupos tienen mayor dispersión y más metabolitos en común; por lo tanto, no se puede observar una separación definida de los grupos.

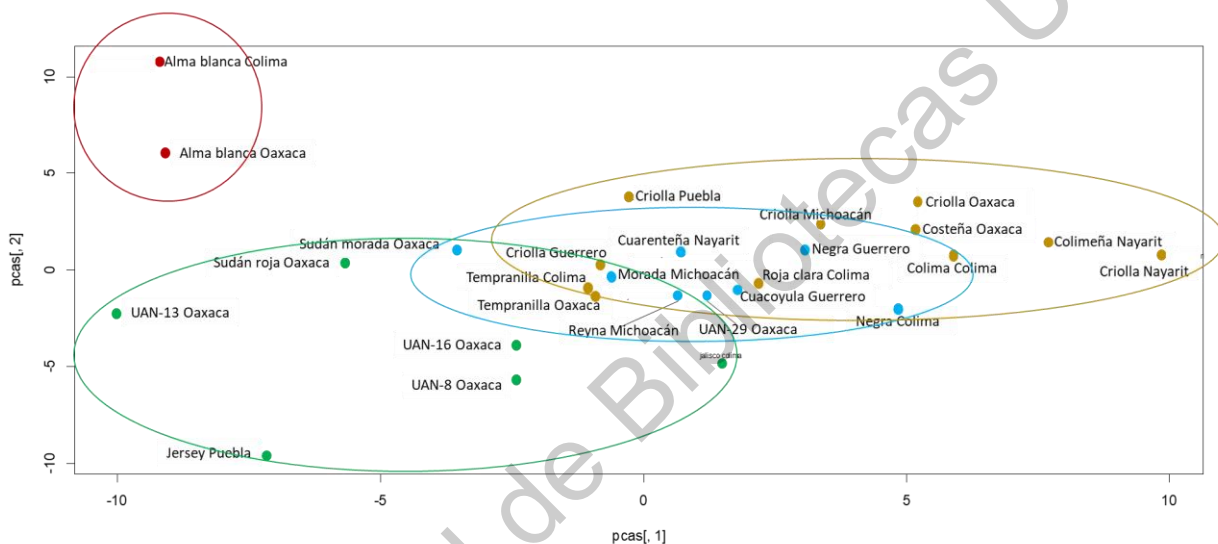


Figura 21. Análisis de componentes principales para las diferentes variedades de Jamaica

Realizando un análisis de componentes principales dispersos de los metabolitos (Figura 22), se puede observar que la delfinidina 3-sambubiósido, antocianina mayoritaria para cálices de Jamaica, es el metabolito que tiene un mayor impacto en la agrupación de las Jamaicas, por lo cual, estas Jamaicas se agrupan en su mayoría por color, seguida del ácido clorogénico y de la quercetina 3-O-arabinosil glucósido. Por otro lado, los metabolitos que todas las variedades presentan en común son los ácidos succínico, malónico y vanílico.

En la figura 23 se muestra el comportamiento de las variedades con respecto a los metabolitos que determinan su agrupación, en esta se puede observar que para la delfinidina 3-sambubiósido (barras grises), el cluster 3 (compuesto principalmente

por jamaicas moradas) es el que presenta mayores concentraciones mientras que el grupo 1 (formado por las dos variedades blancas) es el que tiene menores concentraciones. Para el contenido de ácido clorogénico (barras naranjas), el grupo 3 (variedades moradas) es el que presenta mayores concentraciones y el grupo 4 (variedades rojas) las menores. Para la quercetina 3-O-arabinosil glucósido (barras azules), las menores concentraciones las tiene el grupo 4 (variedades rojas) y las mayores el grupo 1 (variedades blancas).

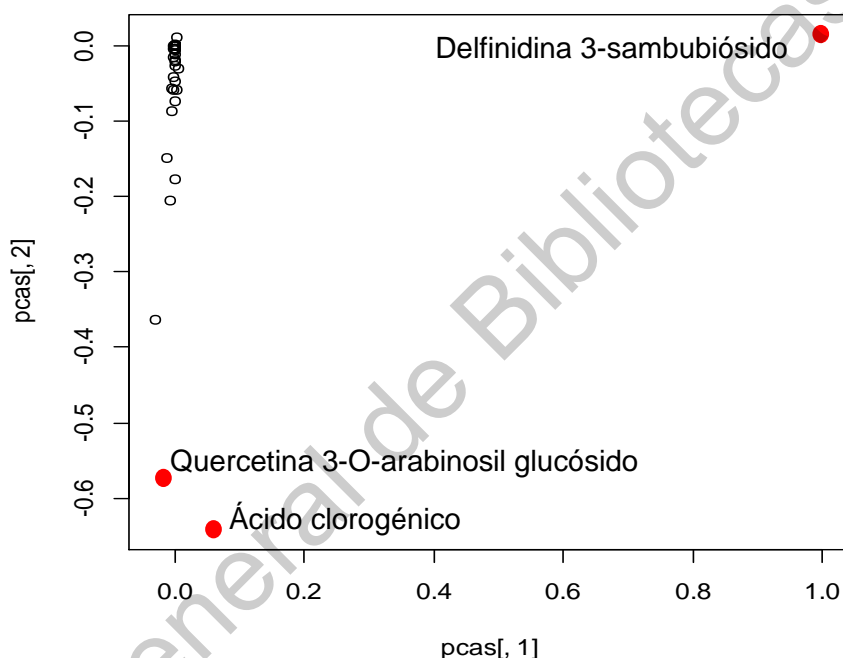


Figura 22. Análisis de componentes principales dispersos de los perfiles metabólicos de las diferentes variedades de Jamaica.

Considerando las caracterizaciones fisicoquímicas, fitoquímicas y el análisis metabólico se seleccionaron 4 variedades, una de cada grupo: Alma Blanca (Oax), Jalisco (Col), Criolla (Oax) y Cuarenteña (Nay) para su posterior estudio *in vivo*, en el que se evaluó el efecto de sus extractos acuosos, con diferentes características, sobre la obesidad y sus complicaciones.

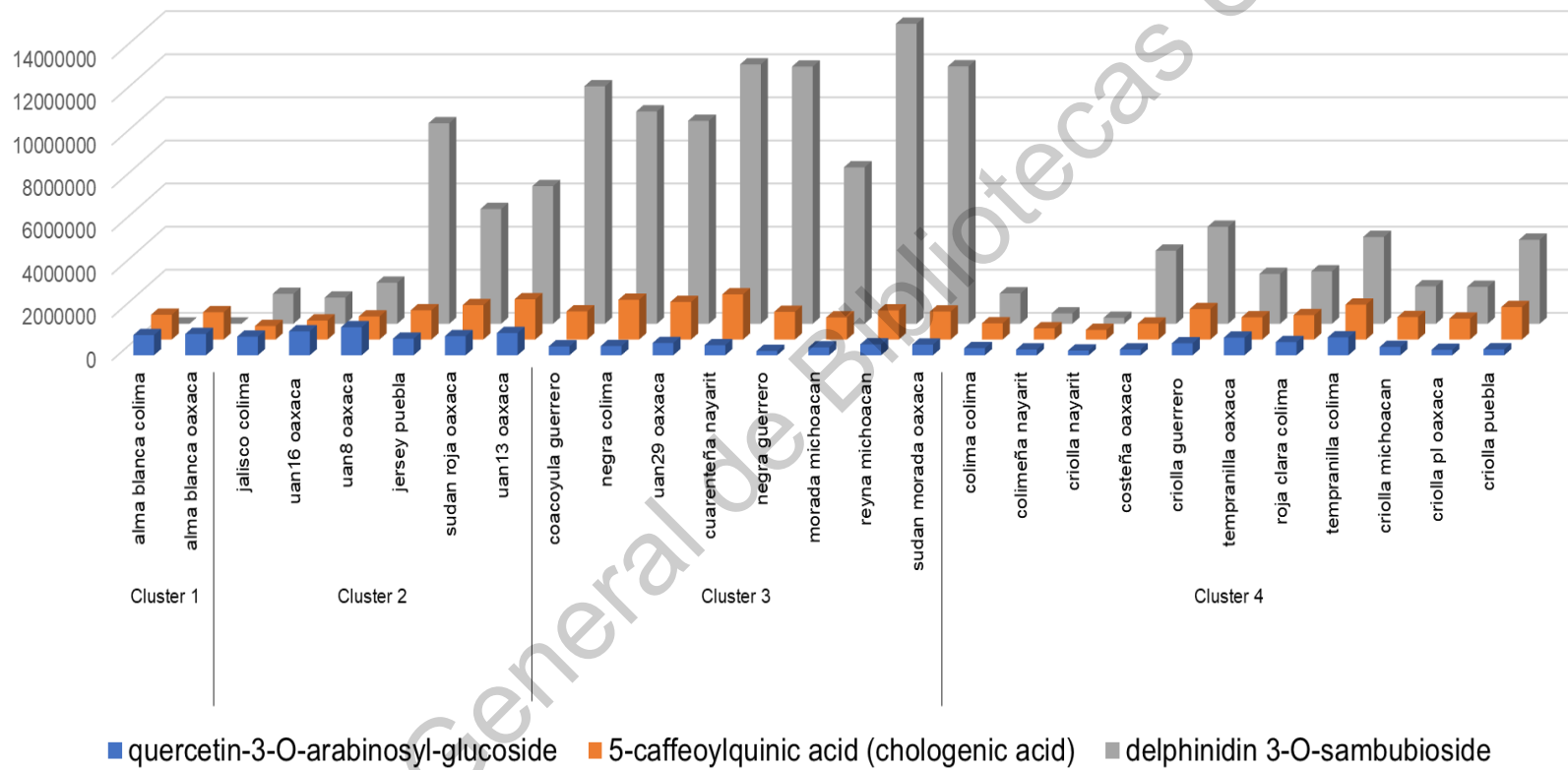


Figura 23. Comportamiento de las variedades con respecto a los tres metabolitos importantes.

Con respecto a los extractos evaluados en la segunda etapa del proyecto, el comportamiento de los compuestos fue el siguiente:

Ácidos orgánicos: Alma Blanca > Cuarenteña > Jalisco > Criolla

Ácidos fenólicos: Cuarenteña > Alma Blanca > Criolla > Jalisco

Flavonoides: Jalisco > Alma Blanca > Criolla = Cuarenteña

Antocianinas: Cuarenteña > Criolla > Jalisco > Alma Blanca

7.8 Confirmación del efecto antiobesogénico de los compuestos previamente identificados

En la Figura 24 se presentan los resultados del peso corporal de las ratas desde el inicio del experimento. Se puede observar que el control obeso ganó más peso corporal que el control sano (63%). En el caso de los grupos tratados con los extractos, el consumo de la variedad Alma Blanca (Oax) presentó una mayor pérdida de peso corporal (11%) comparado con el control obeso, seguida del consumo del extracto de las variedades Jalisco (Col) y Cuarenteña (Nay) (9% ambas); por último, el grupo que consumió la variedad Criolla (Oax) presentó un 5% menos de peso con respecto al control obeso al final del experimento.

Durante el experimento se llevó a cabo el monitoreo del consumo de alimento y de calorías los cuales se muestran en la Cuadro 12. En cuanto al consumo de alimento, sólo existe una diferencia significativa del grupo sano al hacer la comparación contra el grupo obeso. Al comparar el consumo de alimento entre todos los grupos, es posible observar que el grupo sano es el que presentó un mayor consumo de alimento y que los grupos que consumieron los extractos de las variedades Alma Blanca (Oax) y Jalisco (Col) presentaron menor consumo de alimento a lo largo del experimento; sin embargo, se puede observar que en cuanto al consumo de calorías entre todos los grupos no hubo diferencias significativas; esto es debido a que tanto el grupo control obeso y los grupos tratados con extractos de Jamaica se alimentaron con una dieta hipercalórica. Con estos resultados se descarta a la

disminución en el apetito como el mecanismo de acción para el control del peso corporal cuando se consumen extractos de Jamaica.

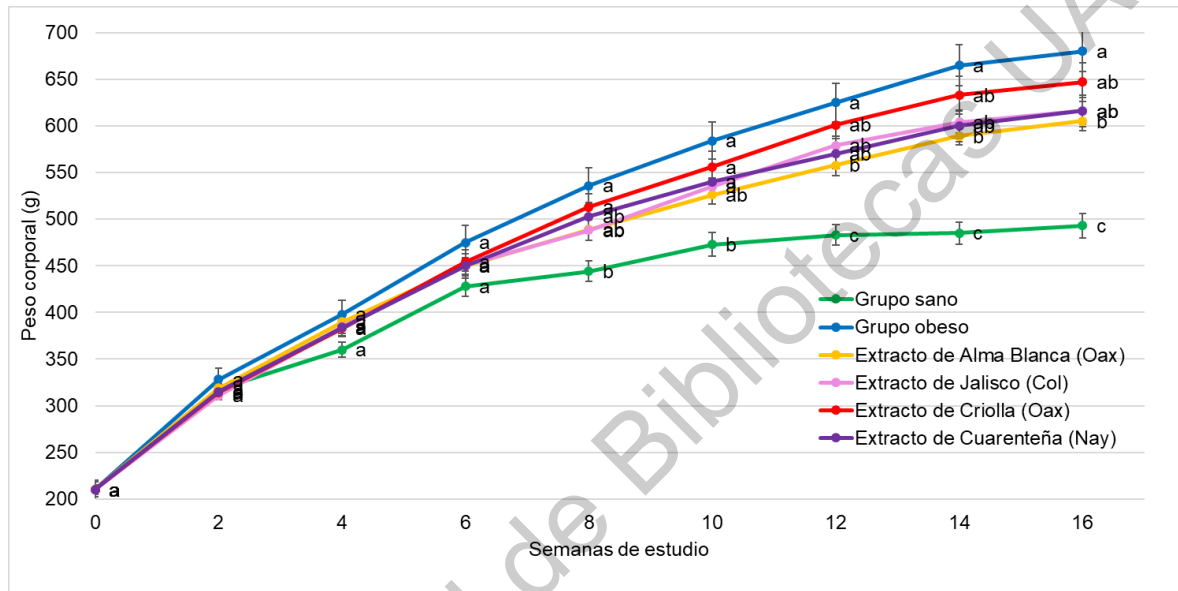


Figura 24. Incremento del peso corporal de ratas alimentadas con dieta estándar o alta en grasa y fructosa y extracto de Jamaica.

Los resultados se representan como la media \pm EE. Las diferentes letras en cada tiempo del experimento de la gráfica representan diferencias estadísticas entre los tratamientos en ese tiempo, por prueba de Tukey ($p > 0.05$)

Cuadro 12. Consumo de alimento y energía de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa y tratadas con extractos de Jamaica.

	Consumo de alimento (g/día/rata)	Consumo de energía (kcal/día/rata)
Sanas	37.5 ± 1.2a*	154.1 ± 4.9a
Obesas	30.4 ± 2.2ab	159.9 ± 11.7a
Alma Blanca (Oax)	28.4 ± 2.3b	148.9 ± 12.4a
Jalisco (Col)	28.8 ± 2.4b	151.3 ± 12.8a
Criolla (Oax)	32.1 ± 3.1ab	170.4 ± 16.5a
Cuarenteña (Nay)	29.5 ± 1.3ab	155.5 ± 6.9a

Los resultados se expresan como la media ± EE. Los resultados fueron analizados estadísticamente con ANOVA. *p<0.05 comparado contra el grupo obeso (Dunnett). Las diferentes letras indican diferencias entre grupos (Tukey-Kramer).

7.8.1 Asociación del perfil fitoquímico de los extractos de diferentes variedades de Jamaica con el efecto obtenido sobre el peso corporal de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y fructosa

De acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio *in vivo* se observa que el consumo del extracto de la variedad Alma Blanca (Oax) presentó un mayor efecto sobre el peso corporal. Como se observa en la Figura 25, esta variedad también presenta un perfil metabólico más abundante en composición y concentración.

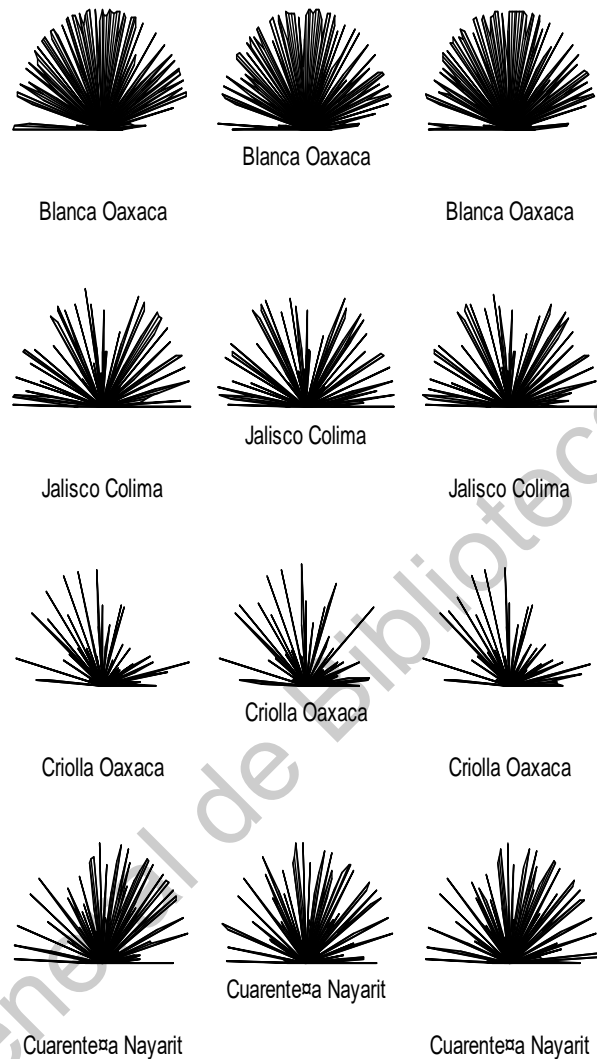


Figura 25. Gráfico del perfil metabolómico de los diferentes extractos de Jamaica. Se presenta un gráfico independiente de cada réplica del extracto, las líneas representan a los compuestos y la longitud representa su intensidad en la muestra.

Mediante técnicas de discriminación lineal, usando como variables predictoras todos los parámetros medidos, incluyendo peso corporal, se observa la distribución de los grupos de estudio. En la Figura 26 se aprecia una clara separación entre el grupo sano y el obeso. En cuanto a los grupos de tratamiento, las ratas que

consumieron el extracto de la variedad Alma Blanca (Oax) son las que se encuentran más alejadas del grupo obeso; mientras que, las ratas que consumieron el extracto de la variedad Criolla (Oax) presentan más similitudes con ese mismo grupo control.

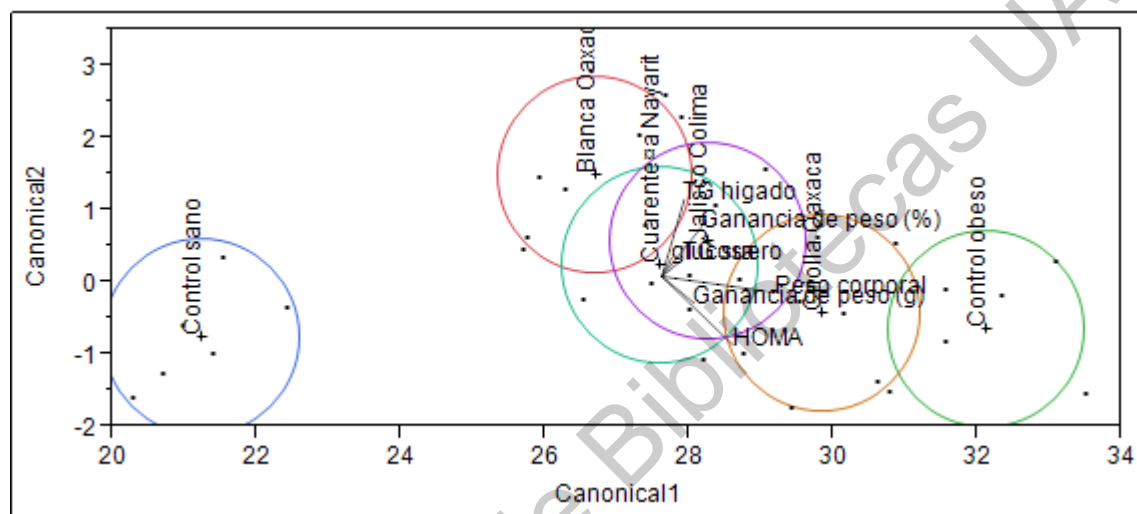


Figura 26. Gráfico de distribución de los grupos experimentales de acuerdo con los diferentes parámetros medidos en el estudio, incluyendo peso corporal.

Se realizó un análisis de mínimos cuadrados parciales para determinar la asociación entre el perfil de compuestos de los cuatro extractos con las variables respuesta obtenidas en el estudio *in vivo* incluido el peso corporal (Cuadro 13). Se muestra el compuesto perteneciente al perfil con su Importancia Variable en Proyección (VIP, por sus siglas en inglés), un valor más grande de VIP indica una mayor influencia sobre los parámetros medidos en el estudio *in vivo*, los compuestos con mayor importancia, considerando un valor igual o mayor a 1.3, son once siendo el principal la luteolina.

Cuadro 13. Valores VIP de los principales compuestos, obtenidos por un análisis PLS-DA.

Compuesto	VIP
Luteolina	1.4321
Ácido siríngico	1.4217
Quercetina 3-O-ramnosido	1.4195
Ácido fumárico	1.3805
Quercetina	1.3792
Cianidina 3-O-glucósido	1.3736
Delfinidina 3-O-glucósido	1.3585
Quercetina 3-O-galactósido	1.3365
Ácido vanílico	1.3236
Ácido succínico	1.3068
Miricetina 3-arabinogalactósido	1.3012

Se ha determinado, en estudios publicados, que la luteolina tiene un efecto antiobesogénico por diversos mecanismos de acción como la supresión de la adipogénesis (Cao, 2010; Lijnen, 2008; Puhl *et al.*, 2012). Se conoce que el ácido siríngico tiene efecto sobre la modulación de adipocinas (leptina y adiponectina) relacionadas con la homeostasis de procesos metabólicos como la regulación energética, la acción de la insulina, el metabolismo de glucosa, entre otros (Ham *et al.*, 2016). La quercetina y sus derivados tienen efecto sobre la disminución de la adipogénesis y la inhibición de la síntesis de lípidos mediante el incremento en la fosforilación de AMPK, así como el aumento en la expresión de STIR1 (Nabavi *et al.*, 2015). El ácido vanílico tiene efecto sobre la regulación de AMPK y el incremento en la expresión de factores mitocondriales y termogénicos en tejido adiposo blanco, convirtiendo este en tejido adiposo pardo (Jung *et al.*, 2018). Si bien, el efecto de las antocianinas sobre la disminución de peso corporal ha sido ampliamente reportado, no se encuentran reportes del efecto del ácido fumárico sobre el control del peso corporal.

8. CONCLUSIONES

El efecto del consumo de los extractos de Jamaica sobre el peso corporal y resistencia a la insulina no está relacionado solamente con el contenido de antocianinas, también está asociado al contenido de ácidos orgánicos, ácidos fenólicos y flavonoides.

La clasificación de la mayoría de las variedades de Jamaica, de acuerdo con su perfil de compuestos fitoquímicos, está relacionada con su coloración.

El análisis jerárquico generó 4 grupos que se caracterizaron por tener uno de ellos mayor presencia de ácidos orgánicos (1), otro rico en flavonoides (2), otro con mayor presencia en antocianinas (3) y por último uno rico en ácidos fenólicos (4).

El consumo del extracto de la variedad Alma Blanca (Oax) tuvo un mayor efecto en la reducción del aumento de peso corporal y esta variedad contiene principalmente ácidos orgánicos, con eso se confirma que dichos ácidos tienen un efecto mayor que el de las antocianinas.

Las antocianinas y los flavonoides presentan el mismo efecto, esto se comprobó ya que el consumo de la variedad Cuarenteña (rica en antocianinas) y Jalisco (rica en flavonoides) tuvieron un efecto similar sobre el control del peso corporal.

Las variedades de Jamaica presentan un efecto sobre peso corporal y estas pueden ser seleccionadas por su color ya que los resultados muestran que las blancas presentan un mayor efecto antiobesogénico, seguido de la tonalidades rosa y morada.

9. REFERENCIAS

- Adisakwattana, S., Ruengsamran, T., Kampa, P. & Sompong, W. (2012). *In vitro* inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1): 110.
- Ae-Sim, C., Jeon, S. M., Kim, M. J., Yeo, J., Seo, K. I., Choi, M. S. & Lee, M. K. (2010). Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3): 937-943.
- Ahn, J., Lee, H., Kim, S., Park, J. & Ha, T. (2008). The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 373(4): 545-549.
- Alarcón-Aguilar, F. J., Zamilpa, A., Pérez-García, M. D., Almanza-Pérez, J. C., Romero-Núñez, E., Campos-Sepúlveda, E. A. & Román-Ramos, R. (2007). Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 114(1): 66-71.
- Alarcón-Alonso, J., Zamilpa, A., Alarcón-Aguilar, F., Herrera-Ruiz, M., Tortoriello, J. & Jiménez-Ferrer, E. (2012). Pharmacological characterization of the diuretic effect of *Hibiscus sabdariffa* Linn (Malvaceae) extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 139: 751-756.
- Allwood, J. W. & Goodacre, R. (2010). An introduction to liquid chromatography–mass spectrometry instrumentation applied in plant metabolomic analyses. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 21(1): 33-47.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Esin Çelik, M., Bektaşoğlu, S., Işıl, B., Berker, K. & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various

Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 12: 1496-1547

- Araújo, L. B., Silva, S. L., Galvão, M. A., Ferreira, M. R., Araújo, E. L., Randau, K. P., & Soares, L. A. (2013). Total phytosterol content in drug materials and extracts from roots of *Acanthospermum hispidum* by UV-VIS spectrophotometry. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(5): 736-742.
- Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M. E., Vázquez-García, E., Barrios-Ayala, A., Michel-Aceves, A. C., Guzmán-Maldonado, S. H. & Otero-Sánchez, M. A. (2014). Variedades mexicanas de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) 'Alma Blanca' y 'Rosaliz' de color claro, y 'Cotzaltzin' y 'Tecoanapa' de color rojo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37: 181-185.
- Arner, P. (2003). The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 14(3): 137-145.
- Atta, B. M., & Imaizumi, K. (2002). Some characteristics of crude oil extracted from roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds cultivated in Egypt. *Journal of Oleo Science*, 51(7): 457-461.
- Baladia, E., Basulto, J., Manera, M., Martínez, R. & Calbet, D. (2014). Efecto del consumo de té verde o extractos de té verde en el peso y en la composición corporal: revisión sistemática y metaanálisis. *Nutrición Hospitalaria*, 29: 479-490.
- Barros, L. F., Bittner, C. X., Loaiza, A. & Porras, O. H. (2007). A quantitative overview of glucose dynamics in the gliovascular unit. *Glia*, 55(12): 1222-1237.
- Bastarrachea R., Cole S. & Comuzzie A. (2004). Genómica de la regulación del peso corporal: mecanismos moleculares que predisponen a la obesidad. *Medicina Clinica*, 123: 104-17.
- Berkhout, T.A., Havekes, L.M., Pearce, N.J. & Groot, P.H.E. (1990). The effect of (+)-hydroxycitrate on the activity of the low-density lipoprotein

receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase levels in the human hepatoma cell line Hep G2. *Biochemical Journal*, 272: 181–186.

- Blackburn, G. (1995). Effect of Degree of Weight Loss on Health Benefits. *Obesity Research*, 3: 211s-216s.
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Román, D., Palmeros-Suárez, P. A., Del Val-Díaz, R., Andrade-González, I. & Segura-Carretero, A. (2015). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Industrial Crops and Products*, 69: 385-394.
- Boschmann, M. & Thielecke, F. (2007). The effects of epigallocatechin-3-gallate on thermogenesis and fat oxidation in obese men: a pilot study. *Journal of the American College of Nutrition*, 26(4): 389S-395S.
- Camelo-Méndez, G. A., Ragazzo-Sánchez, J. A., Jiménez-Aparicio, A. R., Vanegas-Espinoza, P. E., Paredes-López, O. & Del Villar-Martínez, A. A. (2013). Comparative study of anthocyanin and volatile compounds content of four varieties of Mexican roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) by multivariable analysis. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(3): 229-234.
- Cao, Y. (2010). Adipose tissue angiogenesis as a therapeutic target for obesity and metabolic diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9: 107-115.
- Carvajal-Zarraval, O., Hayward-Jones, P., Orta-Flores, Z., Nolasco-Hipólito, C., Barradas-Dermitz, D., Aguilar-Uscanga, M. & Pedroza-Hernández, M. (2009). Effect of *Hibiscus sabdariffa* L. Dried Calix Ethanol Extract on Fat Absorption-Excretion, and Body Weight Implication in Rats. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*.
- Carvajal-Zarraval, O., Waliszewski, S. M., Ma. Barradas-Dermitz, D., Orta-Flores, Z., Hayward-Jones, P. M., Nolasco-Hipólito, C. & Trujillo, P. R. (2005). The Consumption of *Hibiscus sabdariffa* Dried Calix Ethanol Extract Reduced Lipid Profile in Rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60: 153-159.

- Chantre, P. & Lairon, D. (2002). Recent findings of green tea extract AR25 (Exolise) and its activity for the treatment of obesity. *Phytomedicine*, 9(1): 3-8.
- Chumsri, P., Sirichote, A. & Itharat, A. (2008). Studies on the optimum conditions for the extraction and concentration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 30.
- Cissé, M., Bohuon, P., Sambe, F., Kane, C., Sakho, M. & Dornier, M. (2012). Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa*: Experimental kinetics and modeling. *Journal of Food Engineering*, 109(1): 16-21.
- Clouatre, D. L. & Dunn, J. M. (2002). U.S. Patent No. 6,476,071. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Contreras, G. J. A., Soto, R. J., Huchin C. A. (2009). Tecnología para el cultivo de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Quintana Roo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Sureste. Chetumal, Quintana Roo, México. Folleto Técnico. (3): 48.
- Crosignani, A., Zuin, M., Allocca, M. & Del Puppo, M. (2011). Oxysterols in bile acid metabolism. *Clinica Chimica Acta*, 412(23): 2037-2045.
- Czajka, M., Matysiak-Kucharek, M., Jodłowska-Jędrych, B., Sawicki, K., Fal, B., Drop, B. & Kapka-Skrzypczak, L. (2019). Organophosphorus pesticides can influence the development of obesity and type 2 diabetes with concomitant metabolic changes. *Environmental Research*.
- Dachtler, M., Glaser, T., Kohler, K. & Albert K. (2001). Combined HPLC-MS and HPLC-NMR on-line coupling for the separation and determination of lutein and zeaxanthin stereoisomers in spinach and retina. *Analytical Chemistry*, 73:667--674.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I. & Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L.- A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165: 424-443

- De Glisezinski, I., Crampes, F., Harant, I., Havlik, P., Gardette, B., Jammes, Y., Souberbielle, J.C., Richalet, J.P. & Riviere, D. (1999). Decrease of subcutaneous adipose tissue lipolysis after exposure to hypoxia during a simulated ascent of Mt. Everest. *European Journal of Physiology*, 439: 134–140.
- de Sousa, E., Zanatta, L., Seifriz, I., Creczynski-Pasa, T. B., Pizzolatti, M. G., Szpoganicz, B. & Silva, F. R. M. B. (2004). Hypoglycemic Effect and Antioxidant Potential of Kaempferol-3, 7-O-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* Leaves. *Journal of Natural Products*, 67(5): 829-832.
- Després, J. P. (1998). The insulin resistance-dyslipidemic syndrome of visceral obesity: effect on patients' risk. *Obesity Research*, 6(S1): 8S-17S.
- Diessana, A., Parkouda, C., Cissé, M., Diawara, B. & Dicko, M. H. (2015). Optimization of aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces for food application. *Food Science and Quality Management*, 45.
- Dinneen, S., Gerich, J. & Rizza, R. (1992). Carbohydrate metabolism in non-insulindependent diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*. 327: 707-713.
- Drager L.F., Li J., Shin M.K., Reinke C., Aggarwal N.R., Jun J.C., Bevans-Fonti S., Sztalryd C., O'Byrne S.M. & Kroupa O. (2012). Intermittent hypoxia inhibits clearance of triglyceride-rich lipoproteins and inactivates adipose lipoprotein lipase in a mouse model of sleep apnea. *European Heart Journal*, 33: 783–790.
- Dullo, A. G., Claudette Duret, D. R., Mensi, N., Fathi, M., Chantre, P. & Vandermander, J. (1999). Efficacy of a green tea extract rich in catechins polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70:1040-1045.
- Eggensperger, H. & Wilker, M. (1996). *Hibiscus*-Extrakt-Ein hautverträglicher Wirkstoffkomplex aus AHA'a und polysacchariden. *Parfumerie und Kosmetik*, 9: 540–543.

- Elliott, S. S., Keim, N. L., Stern, J. S., Teff, K. & Havel, P. J. (2002). Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(5): 911-922.
- ENSANUT, M. (2016). Instituto Nacional de Salud Pública. *Secretaría de salud. Informe Final de Resultados. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino*.
- Frayn, K. N., Karpe, F., Fielding, B. A., Macdonald, I. A. & Coppack, S. W. (2003) Integrative physiology of human adipose tissue. *International Journal of Obesity and Relative Metabolism Disorder*, 27: 875-888.
- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3): 27-36.
- Goodacre, R., Vaidyanathan, S., Dunn, W. B., Harrigan, G. G. & Kell, D. B. (2004). Metabolomics by numbers: Acquiring and understanding global metabolite data. *Trends in Biotechnology*, 22: 245–252.
- Gosain, S., Ircchiaya, R., Sharma, P. C., Thareja, S., Kalra, A., Deep, A. & Bhardwaj, T. R. (2010). Hypolipidemic effect of ethanolic extract from the leaves of *Hibiscus sabdariffa* L. in hyperlipidemic rats. *Acta Pol Pharm*, 67(2): 179-184.
- Green, H. & Meuth, M. (1974). An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. *Cell*, 3(2): 127-133.
- Gropper, S. S., Smith, J. L. & Groff, J. L. (2009). *Advanced nutrition and human metabolism*. Canada: Wadsworth/Cengage Learning.
- Guilhaus, M., Mlynski, V. & Selby, D. (1997). Perfect timing: time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications of Mass Spectrometry*, 11: 951–962.
- Guilherme, A., Virbasius, J. V., Puri, V. & Czech, M. P. (2008). Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(5): 367-377.

- Gurrola-Díaz, C. M., García-López, P. M., Sánchez-Enríquez, S., Troyo-Sanromán, R., Andrade-González, I. & Gómez-Leyva, J. F. (2010). Effects of *Hibiscus sabdariffa* extract powder and preventive treatment (diet) on the lipid profiles of patients with metabolic syndrome (MeSy). *Phytomedicine*, 17(7): 500-505.
- Ham, J. R., Lee, H.-I., Choi, R.-Y., Sim, M.-O., Seo, K.-I. & Lee, M.-K. (2016). Anti-steatotic and anti-inflammatory roles of syringic acid in high-fat diet-induced obese mice. *Food & Function*, 7(2): 689–697.
- Hansawasdi, C., Kawabata, J. & Kasai, T. (1999). α -amylase inhibitors from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn) tea. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 64: 1041-1043.
- Harini, R. & Pugalendi, K. V. (2010). Antihyperglycemic effect of protocatechuic acid on streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 21(1): 79-92.
- Hayamizu, K., Ishii, Y., Kaneko, I., Shen, M., Okuhara, Y., Shigematsu, N., Tomi, H., Furuse, M., Yoshino, G. & Shimasaki, H. (2003). Effects of *Garcinia cambogia* (hydroxycitric acid) on visceral fat accumulation: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Current Therapeutic Research*, 64: 551-567.
- Hernán-Daza, C. (2002). La obesidad: un desorden metabólico de alto riesgo para la salud. *Colombia Médica*, 33(2): 72-80.
- Hernando-Petierri, B. (2007). Libro blanco de los herbolarios y las plantas medicinales. Fundación Salud y Naturaleza.
- Heymsfield, S. B., Allison, D. B., Vasselli, J. R., Pietrobelli, A., Greenfield, D. & Nunez, C. (1998). *Garcinia cambogia* (hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent: a randomized controlled trial. *Jama*, 280(18): 1596-1600.
- Hida, H., Yamada, T. & Yamada, Y. (2007). Genome shuffling of *Streptomyces* sp. U121 for improved production of hydroxycitric acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73: 1387-1393.

- Horváth, C. S., Nahurn, A. & Frenz, J. (1981). High performance displacement chromatography. *Journal of Chromatography*, 215: 365–374.
- Huang, T. W., Chang, C. L., Kao, E. S., & Lin, J. H. (2015). Effect of *Hibiscus sabdariffa* extract on high fat diet–induced obesity and liver damage in hamsters. *Food & nutrition research*, 59(1): 29018.
- Ismail, A., Ikram, E. H. K. & Nazri, H. S. M. (2008). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds nutritional composition protein quality and health benefits. *Food*, 2(1): 1-16
- Iwai, K. (2008). Antidiabetic and antioxidant effects of polyphenols in brown alga *Ecklonia stolonifera* in genetically diabetic KK-Ay mice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(4): 163-169.
- Jander, G., Norris, S. R., Joshi, V., Fraga, M., Rugg, A., Yu, S. Li, L. & Last R. L. (2004). Application of a high throughput HPLC-MS/MS assay to *Arabidopsis* mutant screening; evidence that threonine aldolase plays a role in seed nutritional quality. *The Plant Journal*, 39: 465-475.
- Jin Son, M., W. Rico, C., Hyun Nam, S. & Young Kang, M. (2010). Influence of oryzanol and ferulic Acid on the lipid metabolism and antioxidative status in high fat-fed mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 46(2): 150-156.
- Jo, J., Gavrilova, O., Pack, S., Jou, W., Mullen, S., Sumner, A. E. & Periwai, V. (2009). Hypertrophy and/or hyperplasia: dynamics of adipose tissue growth. *PLoS Computational Biology*, 5(3).
- Jon K. (2008). Molecular process the handle-and mishandle–dietary lipids. *The Journal of Clinical Investigation*, 118: 3247-3259.
- Jung, Y., Park, J., Kim, H.-L., Sim, J.-E., Youn, D.-H., Kang, J. Um, J.-Y. (2018). Vanillic acid attenuates obesity via activation of the AMPK pathway and thermogenic factors in vivo and in vitro. *The FASEB Journal*, 32(3): 1388–1402.

- Kahn, B. B. & Flier, J. S. (2000). Obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigations*, 106: 473-81.
- Kanu, A. B., Dwivedi, P., Tam, M., Matz, L. & Hill, H. H. (2008). Ion mobility–mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 43: 1–22.
- Kershaw, E. & E., Flier, J.S. (2004). Adipose tissue as an endocrine organ. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 89: 2548-2556.
- Kim, K. H., Hong, S. P., Kim, K., Park, M. J., Kim, K. J. & Cheong, J. (2007). HCV core protein induces hepatic lipid accumulation by activating SREBP1 and PPAR γ . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 355(4): 883-888.
- Kim, M.S., Kim, J.K., Kim, J., Moon, S.R., Shin, B.C., Park, K.W., Yang, H.O., Kim, S.M. & Park, R. (2003). *Hibiscus* extract inhibits the lipid droplet accumulation and adipogenic transcription factors expression of 3T3-L1 preadipocytes. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 4: 499-504.
- Kim, S. & Moustaid-Moussa, N. (2000). Secretory, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte; *Journal of Nutrition*, 130: 3110S-3115S.
- Kissebah, A. H., Alfarsi, S., Adams, P. W. & Wynn, V. (1976). Role of insulin resistance in adipose tissue and liver in the pathogenesis of endogenous hypertriglyceridaemia in man. *Diabetologia*, 12(6): 563-571.
- Kozłowska, A., Sadurska, B. & Szymczyk, T. (1988). Effect of dichlorvos on the activity of lipoprotein lipase from adipose tissue, on plasma lipids and postheparin lipolytic plasma activity in rats. *Archives of toxicology*, 62(2-3): 227-229.
- Kutty, K. M., Rowden, G., & Cox, A. R. (1973). Interrelationship between serum β -lipoprotein and cholinesterase. *Canadian Journal of Biochemistry*, 51(6): 883-887.

- Lee, M. J., Chou, F. P., Tseng, T. H., Hsieh, M. H., Lin, M. C. & Wang, C. J. (2002). *Hibiscus* protocatechuic acid or esculetin can inhibit oxidative LDL induced by either copper ion or nitric oxide donor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7): 2130-2136.
- Lee, W. C., Wang, C. J., Chen, Y. H., Hsu, J. D., Cheng, S. Y., Chen, H. C. & Lee, H. J. (2009). Polyphenol extracts from *Hibiscus sabdariffa* Linnaeus attenuate nephropathy in experimental type 1 diabetes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6): 2206-2210.
- Lijnen, H. R. (2008). Angiogenesis and obesity. *Cardiovascular Research*, 78: 286-293.
- Lin, F.T. & Lane, M.D. (1992). Antisense CCAAT/Enhancer-binding protein RNA suppresses coordinate gene expression and triglyceride accumulation during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Genes & Development*, 6: 533-544.
- Lin, F.T., MacDougald, O.A., Diehl, A.M., Lane, M.D. (1993). A 30-KDA alternative translation product of the CCAAT/Enhancer binding protein alpha message: transcriptional activator lacking antimitotic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90: 9606-9610.
- Lowenstein, J. M. (1971). Effect of (-) hydroxycitrate on fatty acid synthesis by rat liver *in vivo*. *The Journal of Biological Chemistry*, 246:629-32.
- Luyckx, F. H., Lefebvre, P. J. & Scheen, A. J. (2000). Non-alcoholic steatohepatitis: association with obesity and insulin resistance, and influence of weight loss. *Diabetes and Metabolism*, 26(2): 98-106.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N. & Matsumoto, K. (2001). α -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4): 1948-1951.

- Maury, E. & Brichard, S.M. (2010). Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Molecular Cell Endocrinology*, 314: 1-16.
- McCullough, A. J. (2004). The clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *Clinics in liver disease*, 8(3): 521-533.
- McKay, D. (2009). Can *Hibiscus* tea lower blood pressure? *AfroFood Industry Hi-Tech*. 20: 40–42.
- Miján A. (2004). Nutrición y metabolismo en trastornos de la conducta alimentaria. España. 205-207.
- Mohamed, R., Fernández, J., Pineda, M. & Aguilar, M. (2007). Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) seed oil is a rich source of γ -Tocopherol. *Journal of Food Science*, 72(3): S207-S211.
- Morales-González, J. A. (2010). Obesidad. Un enfoque multidisciplinario. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias de la Salud. Área Académica de Medicina. Pachuca, Hidalgo, México.
- Morales-Luna, E., Pérez-Ramírez, I. F., Salgado, L. M., Castaño-Tostado, E., Gómez-Aldapa, C. A. & Reynoso-Camacho, R. (2019). The main beneficial effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) on obesity is not only related to its anthocyanin content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(2): 596-605.
- Nabavi, S. F., Russo, G. L., Daglia, M. & Nabavi, S. M. (2015). Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat! *Food Chemistry*, 179: 305–310.
- Ohnishi, M., Matuo, T., Tsuno, T., Hosoda, A., Nomura, E., Taniguchi, H. & Morishita, H. (2004). Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in STZ-induced diabetic mice and KK-Ay mice. *Biofactors*, 21(1-4): 315-319.

- Pessin, J. E. & Saltiel, A. R. (2000). Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 106(2): 165-169.
- Prenesti, E., Berto, S., Daniele, P. G. & Toso, S. (2007). Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. *Food Chemistry*, 100(2): 433-438.
- Puhl, A. C., Bernardes, A., Silveira, R. L., Yuan, J., Campos, J. L., Saidemberg, D. M. & Reinach, P. S. (2012). Mode of peroxisome proliferator-activated receptor γ activation by luteolin. *Molecular Pharmacology*, 81(6): 788-799.
- Ràfols, M. E. (2014). Tejido adiposo: heterogeneidad celular y diversidad funcional. *Endocrinología y Nutrición*, 61(2): 100-112.
- Ramírez-Rodríguez, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O. & Marshall, M. R. (2011). Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of food science*, 76(3): C428-C435.
- Rasheed, D. M., Porzel, A., Frolov, A., El Seedi, H. R., Wessjohann, L. A. & Farag, M. A. (2018). Comparative analysis of *Hibiscus sabdariffa* (roselle) hot and cold extracts in respect to their potential for α -glucosidase inhibition. *Food Chemistry*, 250: 236-244.
- Robinette, S. L., Brüscheiler, R., Schroeder, F. C. & Edison, A. S. (2012). NMR in metabolomics and natural products research: two sides of the same coin. *Accounts of Chemical Research*, 45: 288–297.
- Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Molina, V. M., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Menéndez, J. A. & Fernández-Gutiérrez, A. (2009). Direct characterization of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* using HPLC with diode array detection coupled to ESI and ion trap MS. *Journal of Separation Science*, 32(20): 3441-3448.

- Ronti, T., Lupattelli, G. & Mannarino, E. (2006). The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clinical Endocrinology*, 64: 355-365.
- Saavedra-Charca, S., Vásquez-Villalobos, V. & Rojas-Padilla, C. (2015). Técnicas analíticas empleadas en metabolómica de alimentos. *Agroindustrial Science*. 5(2)
- Saltiel, A.R. & Ronald C.K. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 144: 799-806
- Schilcher, H. (1976). *Deutsch Apoth. Ztg.* (116), 1155 In: Franz, M. and Regensburg, G. Franz. 1988. *Hibiscus sabdariffa* – Hibiscusblüten. *Zeitschrift fur Phytotherapie*, 1159: 1163–1166.
- Schweiggert, U., Kammerer, D. R., Carle, R., & Schieber A. (2005). Characterisation of carotenoid esters in red pepper pods (*Capsicum annuum* L) by high performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Rapid Communications of Mass Spectrometry*. 19: 2617–2628.
- Sharma, A., Cardoso-Taketa, A., Choi, Y. H., Verpoorte, R. & Villarreal, M. L. (2012). A comparison on the metabolic profiling of the Mexican anxiolytic and sedative plant *Galphimia glauca* four years later. *Journal of Ethnopharmacology*, 141: 964–974.
- Shi, H. & Clegg, D.J. (2009). Sex differences in the regulation of body weight. *Physiology Behavior*. 97: 199-204.
- SIAP. Sistema de Información Agropecuaria (2018). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). *Anuario Estadístico 2012*, México, D.F.
- Skender, M. L., Goodrick, G. K., Junco, D. J., Reeves, R. S., Darnell, L., Gotto, A. M. & Foreyt, J. P. (1996). Comparison of 2-year weight loss trends in behavioral treatments of obesity: Diet, exercise, and combination interventions. *Journal of American Dietetic Association*, 96: 342-346.
- Söhle, J., Knott, A., Holtzmann, U., Siegner, R., Grönniger, E., Schepky, A., & Winnefeld, M. (2009). White Tea extract induces lipolytic activity and inhibits

adipogenesis in human subcutaneous (pre)-adipocytes. *Nutrition & Metabolism*,6(1): 1.

- Staff, I. M. C. O. (2015). Kilos de más, pesos de menos: Los costos de la obesidad en México.
- Steiner, G. (1994). The dyslipoproteinemias of diabetes. *Atherosclerosis*, 110: S27-S33.
- Stern, D., Piernas, C., Barquera, S., Rivera, J. A. & Popkin, B. M. (2014). Caloric beverages were major sources of energy among children and adults in Mexico, 1999–2012. *The Journal of nutrition*. 144: 949-956.
- Stewart, D., McDougall, G. J., Sungurtas, J., Verrall, S., Graham, J. & Martinussen, I. (2007). Metabolomic approach to identifying bioactive compounds in berries: Advances toward fruit nutritional enhancement. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51: 645–651.
- Sullivan, A. C., Hamilton, J. G., Miller, O. N. & Wheatley V. R. (1972). Inhibition of lipogenesis in rat liver by (-) hydroxycitrate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 150: 183-90.
- Sullivan, A.C., Triscari, J., (1977). Metabolic regulation as a control for lipid disorders. I. Influence of (-)-hydroxycitrate on experimentally induced obesity in the rodent. *American Journal of Clinical Nutrition*, 30: 767–776.
- Szymańska, E., Saccenti, E., Smilde, A. K. & Westerhuis, J. A. (2012). Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. *Metabolomics*, 8(1): 3-16.
- Timchenko, N.A., Harris, T.E., Wilde, M., Bilyeu, T.A., Burgess-Beusse, B.L., Finegold, M.J. & Darlington, G.J. (1997). CCAAT//Enhancer binding protein alpha regulates P21 protein and hepatocyte proliferation in newborn mice. *Molecular and cellular biology*, 17: 7353-7361.
- Tolstikov, V. V. & Fiehn, O. (2002). Analysis of highly polar compounds of plant origin: combination of hydrophilic interaction chromatography and electrospray ion trap mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 301: 298–307.

- Tontonoz, P., Hu, E., Devine, J., Beale, E.G. & Spiegelman, B.M. (1995). PPAR γ 2 regulates adipose expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Molecular and Cellular Biology*, 15: 351-357.
- Uematsu, Y., Hirata, K., Saito, K., & Kudo, I. (2000). Spectrophotometric determination of saponin in Yucca extract used as food additive. *Journal of AOAC International*, 83(6): 1451-1454.
- Umek, R.M., Friedman, A.D. & Mcknight, S.L. (1991). CCAAT/Enhancer binding protein: a component of a differentiation switch. *Science*, 251: 288-292.
- Valsa, A. K., Sudheesh, S. & Vijayalakshmi, N. R. (1997). Effect of catechin on carbohydrate metabolism. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 34(4): 406-408.
- Veeravalli, V., Madgula, L. M. V., & Srivastava, P. (2019). Mass Spectrometry as a Workhorse for Preclinical Drug Discovery: Special Emphasis on Drug Metabolism and Pharmacokinetics. *In Mass Spectrometry-Future Perceptions and Applications. IntechOpen*.
- Villalpando-Arteaga, E. V., Mendieta-Condado, E., Esquivel-Solís, H., Canales-Aguirre, A. A., Gálvez-Gastélum, F. J., Mateos-Díaz, J. C. & Márquez-Aguirre, A. L. (2013). *Hibiscus sabdariffa* L. aqueous extract attenuates hepatic steatosis through down-regulation of PPAR- γ and SREBP-1c in diet-induced obese mice. *The Royal Society of Chemistry*, 4:618-626.
- Villar, N. P., Koning, F., Loria, V., Monereos, S. & Gómez-Enterria, P. (2002). La obesidad y la SEEN: Centro de Información de la Obesidad. Actas del 44 Congreso de la Sociedad de Endocrinología y Nutrición. Alicante.
- Vorst, O. F., de Vos, C. H. R., Lommen, A., Staps, R. V., Visser, R. G. F., Bino, R. J. & Hall, R. D. (2005). A non-directed approach to the differential analysis of multiple LC/MS-derived metabolic profiles. *Metabolomics*, 1: 169–180.
- Wajchenberg, B. (2000). Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. *Endocrine Reviews*, 21: 697-738.

- Ward, J. L., Baker, J. M. & Beale, M. H. (2007). Recent applications of NMR spectroscopy in plant metabolomics. *FEBS Journal*, 274: 1126–1131.
- Williamson, E. M., Driver, S. B. & Baxter, K. (2009). Stockley's herbal medicines interactions: a guide to the interactions of herbal medicines, dietary supplements and nutraceuticals with conventional medicines. *London: Pharmaceutical Press*.
- Wong, P. K., Yusof, S., Ghazali, H. M. & Che Man, Y. B. (2002). Physico-chemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Nutrition & Food Science*, 32(2): 68-73
- Wood, I.S., Wang, B., Lorente-Cebrian, S. & Trayhurn, P. (2007). Hypoxia increases expression of selective facilitative glucose transporters (glut) and 2-deoxy-d-glucose uptake in human adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 361: 468–473.
- Yamada, T., Hida, H. & Yamada, Y. (2007). Chemistry, physiological properties, and microbial production of hydroxycitric acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(5): 977-982.
- Yamamoto, R., & Osima, Y. (1932). On the Red Colouring Matter of *Hibiscus Sabdariffa* L: (A New Glycoside Hivistin.). *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 8(10-12:): 142-149.
- Zaikin, V. G. & Halket, J. M. (2006). Derivatization in mass spectrometry Soft ionization mass spectrometry of small molecules. *European Journal of Mass Spectrometry*, 12: 79–115.
- Zhang, R.Y. Liou, J.G. & Cong, B.L. (1994). Petrogenesis of garnet-bearing ultramafic rocks and associated eclogites in the Su-Lu ultrahigh-pressure metamorphic terrane, China. *Journal of Metamorphic Geology*, 12: 169–186.
- Zheng, C. D., Duan, Y. Q., Gao, J. M. & Ruan, Z. G. (2010). Screening for anti-lipase properties of 37 traditional Chinese medicinal herbs. *Journal of the Chinese Medical Association*, 73(6): 319-324.