Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

Actividad antioxidante *in vivo* del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* "camu camu" y efecto hipolipemiante en ratas *Holtzman*

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con mención en Farmacología Experimental

AUTOR

Corina Ysabel ALVARADO PURAY

ASESOR

Dr. Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2019

Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Alvarado P. Actividad antioxidante *in vivo* del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* "camu camu" y efecto hipolipemiante en ratas *Holtzman* [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2019.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	0000-0003-4471-9845
DNI o pasaporte del autor	40149561
Código ORCID del asesor	0000-0002-7695-1908
DNI o pasaporte del asesor	06785241
Grupo de investigación	Fitofarmacos y Salud
Agencia financiadora	Ninguno
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Av. Miguel Grau 755 Cercado de Lima 15001 12°03'28''577°01'23''0/- 12.05777778,-77
Disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN FARMACOLOGÍA CON MENCIÓN EN FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL

Siendo las **08:30 hrs. del 10 de diciembre de 2019** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por el Dr. Luis Miguel Visitación Félix Véliz e integrado por los siguientes miembros: Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (Asesor), Dr. Luis Enrique Moreno Exebio, Mg. Luis Alberto Rojas Ríos y Mg. Luis Alberto Inostroza Ruíz; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"Actividad antioxidante *in vivo* del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* "camu camu" y efecto hipolipemiante en ratas *Holtzman*"**, presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica **CORINA YSABEL ALVARADO PURAY.**

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduando.

A continuación el Jurado Examinador y Calificador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:
DIECISIETE (17) MUY BUENO

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Farmacia y Bioquímica **CORINA YSABEL ALVARADO PURAY**, el Grado Académico de Magíster en **Farmacología con Mención en Farmacología Experimental.**

Siendo las 09:30 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 09:40 hrs. del 10 de diciembre de 2019.

Dr. Luis Miguel Visitación Félix Véliz (P.P., T.C.)
Presidente

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (P.P., T.C.)
Miembro - Asesor

Mg. Luis Alberto Rojas Ríos (P. P, T.C.)
Miembro

Dr. Luis Enrique Moreno Exebio (P.Aux., T.P.)
Miembro

Mg. Luis Alberto Inostroza Ruíz (P. Asoc., T.P.)
Miembro

Observaciones:

Jr. Puno 1002 – Lima 1
Apartado Postal 4559 Lima 1
Teléfono 619-7000 anexo 4812
Email:upg.farmacia@unmsm.edu.pe

A mi madre Sara

Gracias, mamá, por darme tu apoyo y tu amor infinito.
A cada uno de mis hijos que son mis pilares
y me alientan a terminar satisfactoriamente mi carrera.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por brindarme sabiduría, entendimiento y fortaleza en la conclusión de este trabajo de investigación.

Muy especial al Dr. Luis Rojas, profesor de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, jurado de tesis, por el tiempo dedicado, la paciencia brindada y las orientaciones en el proceso de la investigación.

Muy especial al Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo, profesor de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, asesor de tesis, por sus conocimientos impartidos durante todo el proceso de la investigación.

Muy especial al Dr. Luis Miguel Félix Veliz, profesor de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, jurado de tesis, por las orientaciones brindadas en el proceso de la investigación.

A los amigos que, en forma directa e indirecta, colaboraron amablemente brindando conocimiento y apoyo moral en la elaboración de esta tesis.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTO ..... **ii**

ÍNDICE GENERAL ..... **iii**

LISTA DE TABLAS ..... **vii**

LISTA DE FIGURAS ..... **viii**

RESUMEN ..... **ix**

SUMMARY ..... **x**

I. INTRODUCCIÓN **1**

1.1 Situación problemática 1
1.2 Formulación del problema 2
1.3 Justificación teórica 2
1.4 Justificación práctica 3
1.5 Objetivos 4
1.5.1. Objetivo general 4
1.5.2. Objetivos específicos 5

II. MARCO TEÓRICO **6**

2.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación 6
2.2 Antecedentes del estudio 7
2.2.1 Antecedentes internacionales 7
2.2.2 Antecedentes Nacionales 8
2.3. Bases teóricas 9
2.3.1 El colesterol 9
2.3.2 Transporte del colesterol 9
2.3.3 Metabolismo del Colesterol 12
2.3.3.1 Vía exógena 12
2.3.3.2 Vía endógena 13
2.3.4 Hipercolesterolemia 14

2.3.4.1 Tipos hipercolesterolemia 14
2.3.5 Myrciaria dubia “Camu camu” 17
2.3.5.1 Aspectos morfológicos de la planta 17
2.3.5.2 Composición nutricional 19
2.3.6 Estrés oxidativo 19
2.3.7 Flavonoides 21
2.3.7.1 Metabolismo del flavonoide: Quercetina. 22
2.3.7.2 Flavonoides: Relación estructura-actividad y Mecanismo antioxidante 23
2.3.8 Determinación de capacidad antioxidante in vitro 24
2.3.8.1 Método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH) 24
2.3.9 Determinación de capacidad antioxidante in vivo 25
2.3.9.1 Método para determinar Malondialdehido (MDA) 25
2.3.10 Consideraciones éticas 25
III. METODOLOGÍA 27
3.1 Tipología de la investigación 27
3.2 Diseño de investigación 27
3.3 Reactivos y materiales empleados 27
3.3.1 Reactivos 27
3.3.2 Materiales 28
3.3.3 Equipos 28
3.4 Preparación de insumos 29
3.4.1 Material vegetal 29
3.4.1.1 Recolección y selección de la muestra 29
3.4.1.2 Conservación y secado de la muestra 29
3.4.2 Preparación del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” 29

3.5 Análisis cualitativo preliminar del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” 30
3.6 Preparación del colesterol 30
3.7 Preparación de atorvastatina 30
3.8 Preparación de la muestra problema 30
3.9 Evaluación de la actividad hipolipemiante 30
3.9.1 Aclimatación y condicionamiento de los animales de estudio .. 30
3.9.2 Selección de animales 31
3.9.3 Identificación y registro de peso 31
3.9.4 Formación de grupos de trabajo 31
3.10 Inducción experimental a hipercolesterolemia 32
3.11 Determinación de perfil lipídico 32
3.12 Sacrificio de los animales 33
3.13 Evaluación de la actividad antioxidante 33
3.13.1 Método de inhibición frente al radical libre DPPH (1,1-Difenil-2-picrilhidracilo) con modificaciones (Brand Williams et al., 1995) 33
3.14 Evaluación de la actividad antioxidante in vivo 35
3.14.1 Determinación de Malondialdehido (MDA) 35
3.15 Tratamiento estadístico 36
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 37
4.1 Resultados 37
4.1.1 Análisis fitoquímico cualitativo preliminar del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” 37
4.1.2 Efecto antioxidante del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” 41
4.1.2.1 Determinación de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH (1,1 difenil-2-picri-hidrazil) del extracto acuoso Myrciaria dubia camu camu. 41

4.1.2.2 Efecto antioxidante in vivo del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” 42

4.2. Discusión 43

V. CONCLUSIONES 47

VI. RECOMENDACIONES 48

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 49

VIII. ANEXOS 57

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los niveles de lípido.....14
Tabla 2. Concentración de macronutrientes, micronutrientes y quercetina en 100 mL del jugo de Myrciaria dubia “camu camu”.....19
Tabla 3. Distribución de los animales de experimentación, según grupo control o experimental y tratamiento 32
Tabla 4. Resultados del análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” 37
Tabla 5. Resultados del perfil lipídico del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” en ratas hipercolesterolémicas..... 38
Tabla 6. Resultados del efecto antioxidante in vivo del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” en ratas hipercolesterolémicas 42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Se resumen las vías principales para el metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas humanas 12
Figura 2. Etapas de la síntesis de colesterol endógeno 13
Figura 3. La degradación del receptor LDL mediada por PCSK9. Un complejo de LDL-C, LDLR y PCSK9 se internaliza en hepatocitos en fosas recubiertas de clatrina y posteriormente sufre degradación lisosómica 15
Figura 4. Myrciaria dubia “camu camu” 18
Figura 5. Los radicales libres y sus principales rutas metabólicas productivas 21
Figura 6. Reacción del estándar trolox con el radical DPPH 24
Figura 7. Efecto del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” sobre los niveles de colesterol total 39
Figura 8. Efecto del extracto acuoso del fruto Myrciaria dubia “camu camu” sobre los niveles de colesterol HDL 39
Figura 9. Efecto del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” sobre los niveles de colesterol LDL 40
Figura 10. Efecto del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” sobre los niveles de colesterol VLDL 40
Figura 11. Efecto del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” sobre los niveles de triglicéridos 41
Figura 12. Curva de calibración de la CI50 del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia frente al radical DPPH 41
Figura 13. Curva de calibración de la CI50 del estándar Trolox frente al radical DPPH 42
Figura 14. Determinación del efecto antioxidante in vivo mediante la medición del malondialdehido en suero de ratas hipercolesterolémicas del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia “camu camu” 43

RESUMEN

Se determinó la actividad antioxidante *in vivo* y el efecto hipolipomiante del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* "camu camu" en ratas *Holtzman*. Se utilizó seis grupos de seis ratas *Holtzman* cada uno, cinco con hipercolesterolemia inducida por consumo de colesterol puro vía oral durante 10 semanas: control positivo, grupo patrón y tres para la dosis de 50, 250 y 500 mg/kg, respectivamente y un grupo sin hipercolesterolemia (control negativo). En la décima semana se determinaron los niveles séricos de colesterol total, lipoproteína de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) y triglicéridos (mg/dL), así como para 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) µg/mL y malondialdehido (MDA) mmol/L para determinar la actividad antioxidante. Se comparó las diferencias de medida con ANOVA y test de Tukey. En los resultados se observa una disminución de colesterol total en las ratas con hipercolesterolemia que consumieron la dosis de 250 mg/Kg en relación con el grupo control positivo (reducción de 21,56%) con una diferencia significativa de $p<0,002$, no se observa diferencia significativa para HDL. Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH, muestran los valores de concentración inhibitoria 50 (IC 50) para trolox es 1,42±0,02 µg/mL y para el extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* es 32,22±1,5 µg/mL. A mayor dosis de camu camu 500 mg/Kg se observa un valor de 0,50E-07 ± 0,21E-08, en comparación con atorvastatina que oscila entre 3,94E-07 ± 7,14E-08. En condiciones experimentales, el consumo de camu camu disminuye los niveles de colesterol total y aumenta la capacidad antioxidante.

Palabras clave: *Myrciaria dubia,* plantas medicinales, hipolipemiante, antioxidante.

SUMMARY

The antioxidant activity was determined *in vivo* and the hypolipominant effect of the aqueous extract of the fruit of *Myrciaria dubia* "camu camu" in *Holtzman* rats. Six groups of six *Holtzman* rats each were used, five with hypercholesterolemia induced by consumption of pure cholesterol orally for 10 weeks: positive control, standard group and three for the dose of 50, 250 and 500 mg / kg, respectively and a group without hypercholesterolemia (negative control). In the tenth week, serum levels of total cholesterol, HDL, LDL, VLDL and triglycerides (mg / dL) were determined, as well as for DPPH (µg / mL) and MDA (mmol / L) to determine antioxidant activity. Measurement differences were compared with ANOVA and Tukey test. In the results we observed a decrease in total cholesterol in rats with hypercholesterolemia who consumed the dose of 250 mg / kg in relation to the positive control group (reduction of 21.56%) with a significant difference of $p<0.002$, it is not observed significant difference for HDL. He results obtained in the determination of the antioxidant activity by the DPPH method, show the IC 50 values for trolox is 1.42 ± 0.02 µg / mL and for the aqueous extract of the fruit of *Myrciaria dubia* is 32.22 ± 1.5 µg / mL. A higher dose of camu camu 500 mg / kg shows a value of 0.50E-07 ± 0.21E-08, compared to atorvastatin ranging from 3.94E-07 ± 7.14E-08. Under experimental conditions, the consumption of camu camu lowers total cholesterol levels and increases antioxidant capacity.

Keywords: *Myrciaria dubia*, medicinal plants, lipid-lowering, antioxidant.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 Situación problemática

Hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia son factores de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular que es la causa número uno de muerte en el mundo (Wang et al*.,* 2011).

En la última década se han producido importantes cambios en los perfiles de mortalidad y morbilidad en el Perú. Muchos estudios han demostrado que la Diabetes Mellitus (DM), la intolerancia a la glucosa, la Hipertensión arterial (HTA), el tabaquismo, la obesidad y la hipercolesterolemia son factores de riesgo para enfermedad coronaria y accidentes cerebrovascular (ACV) en la población adulta. Estos son factores de riesgo que conllevan al aumento de la morbimortalidad, debido a estas patologías cardiovasculares se han alcanzado niveles de pandemia (Rosas, Lama, Llanos-Zavalaga y Dunstan, 2002).

La Fitoterapia es una de las alternativas utilizadas para controlar los resultados de colesterol y triglicéridos. Por tal motivo se utilizan plantas que tienen la capacidad de disminuir el colesterol alto y la hipertrigliceridemia. Algunas plantas poseen pectina y mucílagos, estos componentes son parte de la fibra soluble y se unen al colesterol, impiden su absorción y aumentan su excreción, o con los ácidos biliares, incrementa el uso del colesterol en la síntesis de ácidos biliares. Componentes como los esteroles compiten por los receptores del colesterol disminuyendo las concentraciones plasmáticas de este metabolito (González, Castillo, Santiesteban, Mena y Blanco, 2015).

Los fármacos hipolipemiantes se emplean en la cura de diversos tipos de hipercolesterolemia, particularmente cuando la dieta y el cambio de

estilo de vida no logran normalizar los parámetros lipídicos. La mayoría de los medicamentos hipolipemiantes pueden producir efectos adversos, en consecuencia, se tomará en cuenta la relación riego-beneficio, especialmente cuando se emplean asociaciones (Campos, Bobadilla, Huamán y Bazán, 2011; Betancourt et al., 2014).

Debido al costo elevado de los medicamentos y a los fracasos en la terapéutica alopática, hicieron que la gente recurra cada vez más a la medicina clásica para el alivio de sus dolencias.

1.2 Formulación del problema

¿La administración del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* "camu camu" tendrá actividad antioxidante *in vivo* y efecto hipolipemiante en ratas *Holtzman*?

1.3 Justificación teórica

Las LDL colesterol (LDL-c) transportan colesterol y ésteres de colesterol desde el hígado hacia los tejidos periféricos. La LDL es captada por su receptor para ser internalizado en la célula por endocitosis mediado por receptor. Este transporte regula la concentración plasmática de colesterol, el deterioro de este transporte lleva a hipercolesterolemia, uno de los componentes predisponentes del avance prematuro de patología cardiaca coronaria (Arráiz, 2007).

La actividad biológica de LOX-1 (receptor endotelial de la familia de las lectinas) tiene efecto en los fenómenos inflamatorios, oxidativos y aterogénicos endoteliales. Las lipoproteínas remanentes (RLPs) son oxidables en relación del estrés oxidativo y tienen la posibilidad de sumarse al LOX-1. LOX-1 en su estructura presenta dominio intracelular, estas reconocen a las LDL oxidadas y a las lipoproteínas remanentes (RLPs), la interacción entre ambas permite el ingreso de LDL oxidada y

de monocitos al subendotelio generando apoptosis en las células endoteliales y suprimiendo uniones intercelulares en el endotelio, favoreciendo la adhesión leucocitarias que estimula el ingreso al subendotelio de elementos como: plaqueta, monocitos, RLPs oxidables, LDL oxidadas y lipoproteínas (a). Los monocitos subendoteliales integran LDL oxidadas, cambiando sucesivamente a macrófagos, células espumosas y lesiones aterogénicas. Los anticuerpos inhiben a LOX-1 impidiendo su unión con LDL oxidadas, consecuentemente, restablece la barrera entre el subendotelio y el lumen vascular (Wigdorovitz-Wikinski, López y Lucero, 2016).

Las especies de oxígeno reactivo (ERO) se produce por un desbalance del equilibrio antioxidantes/pro-oxidantes que hace disrupción de los sistemas de señalización beneficiando los procesos de pro-oxidación y obstaculización de los mecanismos antioxidantes. Las ERO tiene la capacidad de oxidar lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, lo que resulta en un cambio de su conformación y funcionalidad (Delgado-Roche y Martínez-Sánchez, 2010).

La hipercolesterolemia induce el estrés oxidativo, se sabe que tiene consecuencias sobre la integridad de las células endoteliales. Agentes antioxidantes suprimen el desarrollo de la aterosclerosis y la hipercolesterolemia e inducen la regresión de la aterosclerosis. Los efectos fisiológicos de una dieta rica en flavonoles son de gran interés debido a su actividad antioxidante y antiinflamatorio (Najmeh, Sedigheh y Mahbubeh, 2011).

1.4 Justificación práctica

Muchas drogas químicas, como las estatinas y los fibratos, se caracterizan por tener buena eficacia. Sin embargo, estos fármacos pueden presentar numerosos efectos adversos (Li-Jun, Chen-Huan, Ke-Jing, Jian y Xiao-Jan, 2011; Campos et al., 2011). Desafortunadamente,

su alto costo los hace inaccesibles para la mayor parte de la población. Por esta razón, es importante identificar nuevas formas de tratamiento que puedan ser aplicadas a pacientes de escasos recursos económicos (Torres et al., 2001).

Los compuestos fenólicos han demostrado tener éxito en la atenuación de la hipercolesterolemia. Estas sustancias son conocidos por su capacidad para aumentar la actividad de la enzima antioxidante y a su vez reducir la formación de radicales libres, efectos que han sido de interés para los investigadores como posibles agentes protectores en enfermedades que implican estrés oxidativo (Alfonso et al*.,* 2013).

Camu-camu es un fruto silvestre que se caracteriza por ser una fuente natural de vitaminas C, además es fuente de fibra, y contiene antocianinas que son potentes antioxidantes (Zanatta, Cuevas, Bobbio, Winterhalter y Mercadante*,* 2005) también contiene niveles significativos de: potasio, calcio, magnesio, sodio, zinc, cobre, fierro, manganeso y flavonoides como quercetina (Cássia et al., 2012).

Por lo tanto, se considera que las dietas con alto consumo de frutas, verduras y granos pueden prevenir numerosas enfermedades, como beneficio asociado a la ingesta de antioxidantes. El camu camu es una fruta amazónica que está atrayendo gran interés debido a su contenido nutricional.

1.5 Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante *in vivo* y el efecto hipolipemiante del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* “camu camu” en ratas *Holtzman.*

1.5.2. Objetivos específicos

- Identificar los fitoconstituyentes del fruto de *Myrciaria dubia* “camu camu”.
- Determinar el efecto hipolipemiante de la fruta de *Myrciaria dubia* “camu camu”.
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* por el método DPPH del fruto de *Myrciaria dubia* “camu camu”.
- Medir el efecto antioxidante *in vivo* mediante la reacción del tiobarbitúrico con el malondialdehído (MDA) en suero plasmático obtenido de ratas hipercolesterolémicas.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación

Las comunidades originarias a nivel mundial, usaban las plantas con fines terapéuticos, en épocas anteriores eran la única medicina exclusiva, en la actualidad se preservan estas prácticas mediante la transmisión oral de generación en generación. Este conocimiento hereditario en la actualidad permite contar con agentes terapéuticos para el tratamiento de diferentes enfermedades; en la medicina actual el 40% de los medicamentos proviene de plantas utilizadas de manera convencional (Zambrana, 2007).

El camu camu, es una fruta tropical nativa de la Amazonía peruana proveniente de la familia botánica *Myrtaceae* género *Myrciaria,* constituyendo su hábitat natural en sitios inundables en la naciente del Amazonas, desembocaduras y en las orillas del Ucayali. Más allá de ser una clase originaria de zonas aluviales inundables, el camu camu brota bien en los pisos con buen drenaje, mientras que haya un óptimo abastecimiento de agua. Por esto, la planta se desarrolla bien en la región de Pucallpa, en el cual la precipitación pluvial es de 1 700 mm al año (Verde y Nazario, 2018).

Su potencial está en la utilización como fuente de vitamina C natural. La demanda en los mercados internacionales es creciente, tanto para la forma de pulpa liofilizada, comprimidos como para bebidas gaseosas. Es una de las especies de mayor potencial económico en la Selva Baja (Brack, 1999).

La siguiente investigación está orientada por el paradigma AXIOLÓGICO, cuya finalidad es la de investigar y demostrar el efecto hipolipemiante y la actividad antioxidante *in vivo* del fruto de *Myrciaria*

dubia camu camu en ratas inducidas a hipercolesterolemia. Es por eso que dicha investigación está además encaminada e influenciada por valores éticos que hacen que la investigación sea más confiable.

2.2 Antecedentes del estudio

2.2.1 Antecedentes internacionales

Cássia et al. (2012) realizó un estudio en el "Efeito hipolipiémico do suco de camu-camu em ratos". Para lo cual en la inducción de la dislipidemia utilizó 72 ratones, ellos recibieron la dieta alta en grasas (manteca de cerdo, colesterol y ácido cólico que se añadió a la alimentación) durante 21 días y para el tratamiento utilizó diferentes concentraciones de jugo de camu-camu (0.4Ml.kg^{-1}, 4.0mL.kg^{-1} y 10mL.kg^{-1}). Como resultado obtuvo que las diferentes dosis de jugo de camu-camu y la quercetina muestran efectos moduladores del perfil lipídico. Siendo la dosis de 10 mL.kg^{-1} el que tuvo mejores resultados, las ratas que recibieron la concentración de quercetina en jugo de camu-camu mostraron un peso significativamente menor que en los otros tratamientos.

Nascimento, Boleti, Yuyama y Lima (2013) en "Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity" utilizan ratas de raza Wistar después de 24 horas de su nacimiento, a las cuales se le inyectaron por vía subcutánea 4 mg/g de peso en un volumen de 0,2 mL de glutamato monosódico (Ajinomoto), durante 14 días. A los animales que se le administró pulpa de camu camu presentaron reducción en su peso, reducción en la grasa en tejidos adiposos blancos, también disminuyó la glucosa, el colesterol total, triglicéridos y colesterol LDL.

Inoue, Komoda, Uchida y Node (2008) en **"**Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties" utilizaron 20 voluntarios varones fumadores, considerados con un estado de estrés oxidativo acelerado, se les asignó de manera aleatoria tomar todos los días 70 mL de jugo de *Myrciaria dubia*. Correspondiente a 1050 mg de vitamina C (grupo camu-camu; n = 10) o 1050 mg de tabletas de vitamina C (grupo de vitamina C; n = 10) a lo largo de 7 días. Luego de 7 días, los marcadores de estrés oxidativo como: las especies reactivas de oxígeno total (P <0,01), los niveles de 8-hidroxi-desoxiguanosina urinaria (P <0,05) y los marcadores inflamatorios como: la interleucina 6 (P <0,05), la interleucina 8 (P <0,01) y los niveles séricos de proteína C reactiva de alta sensibilidad (P <0,05) disminuyeron relevantemente en el grupo que recibió camu-camu, en tanto no hubo cambios en el grupo que recibió vitamina C. Los resultados proponen que el jugo de camu camu probablemente posee características antioxidantes y antiinflamatorias, frente a las tabletas de vitamina C que tienen dentro un contenido semejante de vitamina C.

2.2.2 Antecedentes Nacionales

Villanueva-Tiburcio, Condeso y Asquieri (2010) tuvieron como objetivo considerar los siguientes componentes: polifenoles totales, ácido ascórbico y antocianinas en la cáscara seca y fresca de camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh) en distintos estadios de madurez; considerando la actividad antioxidante en la cáscara seca, utilizando diversos tipos de radicales (DPPH, ABTS y Peroxilo), se prueba que el extracto acuoso de la cáscara pintón tuvo más eficacia para inhibir el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo con 92,89 ± 0,44 %; el segundo lugar con 90,17 ± 3,02 % es para la cáscara del fruto maduro y finalmente 82,62 ± 8,54 % para la cáscara del fruto verde (P<0,05), demostrando que el consumo de extracto

acuoso de camu-camu presenta gran actividad para inhibir el radical DPPH, el extracto de la cáscara seca pintón demostró más valor en ácido ascórbico, para polifenoles totales fue de 53,49 mg. g^{-1} muestra y en acido Gálico/g muestra fue de 7,70 mg. Los extractos de la cáscara seca de muestra pintón presentaron mejor actividad antioxidante, con IC_{50} de 46.20, para el radical DPPH fue de 20, para el radical ABTS fue de 25 y para Peroxilo fue de 8,30 µg. mL^{-1}.

Alvis, Pino, Gonzáles, Francia y Shiga (2010) demostraron la acción citoprotectora *in vivo* del fruto de camu-camu ante el daño mutagénico causado por 68,5 mg/kg de bromato de potasio en tres líneas celulares de ratón (células sanguíneas, hígado y riñón). El efecto citoprotector de *Myrciaria dubia* se demuestra en todas las líneas celulares ($p< 0,05$). El extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia*, reprime el efecto perjudicial al DNA causado por la acción oxidativa del bromato de potasio, posiblemente por la presencia de antioxidantes como flavonoides y ácido ascórbico.

2.3. Bases teóricas

2.3.1 El colesterol

El colesterol ((3β)-cholest-5-en-3-ol) es una molécula indispensable para la vida, desempeña funciones estructurales y metabólicas vitales para el ser humano (Maldonado, Ramírez, Rubén, Ceballos y Méndez, 2012).

2.3.2 Transporte del colesterol

Las lipoproteínas. Siendo el colesterol poco soluble en agua no puede ser transportado de forma libre en la sangre, para ello se une a proteínas formando las lipoproteínas. Estas no solo permiten el transporte del colesterol sino también el de otros

lípidos como los triglicéridos, los fosfolípidos y las vitaminas liposolubles (A, D, E y K). Dentro de las lipoproteínas de mayor importancia clínica encontramos:

• VLDL *(very low-density lipoproteins):* lipoproteínas de muy baja densidad. Son abundantes en triglicéridos que provienen de la vía endógena, se sinterizan en el hígado. Tienen entre 10-15 % de fosfolípidos, colesterol plasmático y apolipoproteínas: apopoproteina B-100, apoproteina C-I, apoproteina C-II, apoproteina C-III y apoproteina E. Estas lipoproteínas son transportadas por la sangre desde el hígado hasta el tejido adiposo y el músculo, donde la LPL se activa por la apo C-II, hidrolizando los triglicéridos de las VLDL, liberando ácidos grasos que pueden ser almacenados en los adipositos. La pérdida de algunas apolipoproteínas y triglicéridos convierte a las VLDL en IDL y a partir de estas se forman las LDL (Maldonado et al., 2012).

• Las lipoproteínas (a) [Lp (a)], son ricas en ésteres de colesterol y fosfolípidos, presenta gran cantidad de apolipoproteína B-100 estas se encuentran unidas a la Lp (a) a través de un puente disulfuro, estructuralmente es semejante al plasminógeno, esta característica concede la unión con la fibrina y con las proteínas que se encuentran en la membrana celular. Al parecer las lipoproteínas (a) facilita los depósitos de lípidos e incentiva el desarrollo de células musculares lisas, beneficiando la aterogénesis, esto aumenta la probabilidad de sufrir aterosclerosis (Maldonado et al, 2012).

• Quilomicrones: Son partículas lipídicas gruesas, ricas en triglicéridos (exógeno), son sintetizados en el yeyuno y solamente se encuentran en el tiempo postprandial. Tienen la

función de transportar lípidos procedentes de la dieta hasta el hígado y otros tejidos.

• Las HDL *(high-densitylipoproteins):* lipoproteínas de alta densidad, se originan en el hígado y en menor proporción en el intestino. Siendo la apolipoproteína A-1 su principal proteína. En segundo lugar, la apolipoproteína más abundante es la apolipoproteína A-II cuya función no ha sido bien definida. En menor cantidad tenemos a la apolipoproteína C-1, apolipoproteína C-II, apolipoproteína C-III y apolipoproteína E. La LCAT (Éster de Colesterol Transferasa) transforma el colesterol HDL en un éster de colesterol. En el torrente sanguíneo el colesterol HDL obtiene más colesterol. La función principal del colesterol HDL es eliminar el colesterol a través del transporte reverso del colesterol desde los tejidos periféricos hasta el hígado para su supresión biliar (Maldonado et al., 2012).

• Las LDL *(low-density lipoproteins):* Las LDL en su mayor parte se sintetizan y emergen a partir de VLDL, en una proporción inferior se forma de lipoproteínas de intermedia densidad (IDL). El componente principal de las LDL es la apolipoproteína B-100 que es indispensable para unirse a los rLDL (receptores de LDL), situados en las membranas plasmáticas que reconoce la apolipoproteína B100 y apolipoproteína E. El LDL se une a su receptor que se encuentra especialmente en el hígado, quedando fijo por la proteína llamada clatrina, en sectores específico llamados hoyos revestidos, una vez reconocida la LDL esta se invagina formando una vesícula endocelular. El rLDL al completar su ciclo celular, puede ser reutilizado para empezar un nuevo ciclo o puede ser degradado por la proteína PCSK9 (Maldonado et al., 2012; Rodrigo y Yanqui, 2018).

2.3.3 Metabolismo del Colesterol

2.3.3.1 Vía exógena. Los lípidos de los alimentos son transportados desde el intestino hacia los tejidos. El colesterol, los fosfolípidos y triglicéridos que surgen del intestino son acoplados en los quilomicrones que tienen dentro la apoliproteína B48 sintetizada en el intestino, son vaciados desde el intestino a la linfa para llegar después al torrente sanguíneo. Más adelante pasan a la circulación para ser hidrolizados por la enzima lipasa lipoproteica (LPL) del endotelio vascular, del músculo y del tejido adiposo y en el hígado por la enzima lipasa hepática (LH). En la circulación los quilomicrones van perdiendo trigliceridos y van haciéndose más chicos, haciéndose más ricos en colesterol, transformándose en remanentes de quilomicrones, que introduce el resto de los lípidos de los alimentos al hígado (Maldonado et al., 2012).

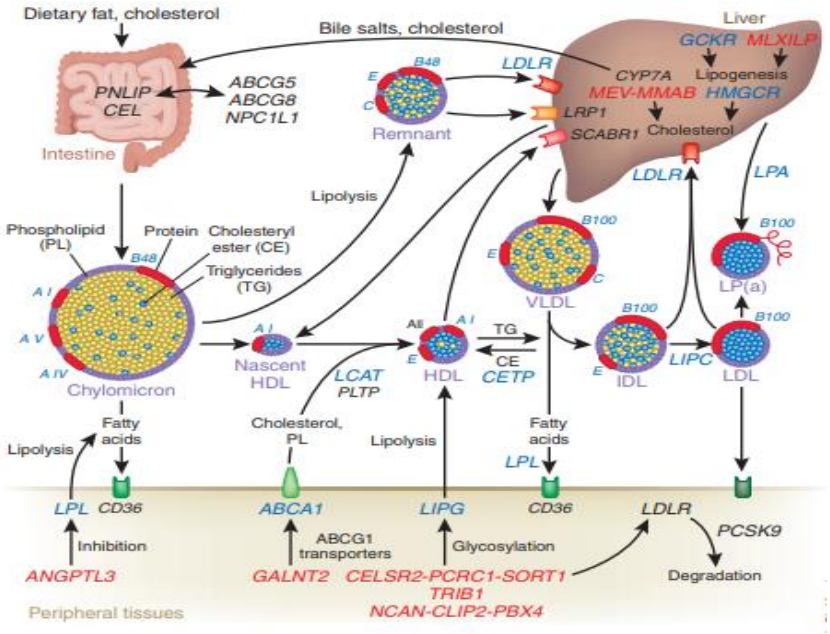


Figura 1. Se resumen las vías principales para el metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas humanas. Las lipoproteínas ricas en triglicéridos (TG) son secretadas por intestino (quilomicrones) e hígado (VLDL). Estos se someten a lipólisis en la circulación, por lo que entregan

ácidos grasos a los tejidos. Los restos de quilomicrones y aproximadamente la mitad de los restos de VLDL se recogen por el hígado. El resto de los restos de VLDL se metaboliza aún más a LDL rico en colesterol, que constituye el principal colesterol portador de partículas en humanos. HDL se forma en la circulación desde apolipoproteínas pobres en lípidos secretadas por el hígado y el intestino y de los componentes de la superficie que se desprenden durante lipólisis de lipoproteínas ricas en TG.
Fuente. Lusis y Pajukanta, 2008.

2.3.3.2 Vía endógena. La síntesis del colesterol se realiza en el retículo endoplasmático del hepatocito a partir de la acetil-CoA siendo la enzima limitante la HMG-CoA reductasa (3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa) por medio de una vía metabólica complicada (esta vía es inhibida por los fármacos como las estatinas) que produce colesterol a partir de su precursor de dos carbones, la acetil - CoA. El proceso tiene cinco pasos importantes:

Figura 2. Etapas de la síntesis de colesterol endógeno.
Fuente. Maldonado et al., 2012; Murray et al., 2010.

2.3.4 Hipercolesterolemia

Se estima que la hipercolesterolemia un problema de salud pública, además se debe tener en cuenta que puede estar asociada a otras enfermedades concomitantes que incitan al daño cardiovascular. El tratamiento consiste en mejorar la dieta e incrementar ejercicios, además usar medicamentos como las estatinas para disminuir las LDL, estas a su vez podrían presentar limitaciones como la insuficiente respuesta terapéutica para casos especiales (Canalizo-Miranda et al., 2013).

Tabla 1. Clasificación de los niveles de lípido

Tipos de colesterol	Rangos	Interpretación
Colesterol total (mg/dL)	< Menos 200 mg/dL	Deseable
	200-250 mg/dL	Limite alto
	≥ 250 mg/dL	Alto
Colesterol LDL (mg/dL)	< 100 mg/dL	Optimo
	< 130 mg/dL	Límite superior deseado
	130-150 g/dL	Limite alto
	> 150 mg/dL	Alto
Colesterol HDL (mg/dL)	Hombres:	
	> 40 mg/Dl	Deseable
	≤ 40 mg/dL	Bajo
	Mujeres	
	> 50 mg	Deseable
	≤ 50 mg/dL	Bajo

Fuente. Guía del Paciente con trastorno Lipídico 2017 / Adut Tratamet Panel III 2004.

2.3.4.1 Tipos hipercolesterolemia

a) Hipercolesterolemia primaria

La HF (Hipercolesterolemia Familiar) es una enfermedad hereditaria de transmisión autosómica dominante, se caracteriza por presentar niveles altos de colesterol LDL. Los individuos afectados carecen de receptores de LDL (LDLr), al tener mutado ambos alelos del gen. Recientemente se ha observado que otros genes como

APOB puede estar alterada cuando el defecto está en el gen que codifica su expresión y la PCSK9 (Convertasa de proteínas subtilisina/kexina 9) Como mecanismo interno de regulación del colesterol, la PCSK9 disminuye la recirculación de los RLDL porque estimula su degradación una vez que ha liberado el LDL en el interior de la célula. Estas condiciones elevan las concentraciones del C-LDL (Maldonado et al., 2012).

La función de PCSK9 es la regulación de los receptores de superficie para LDL, a los que se une en el exterior del hepatocito. El LDL ligado al LDLR se internalizan en fosas recubiertas de clatrina y posteriormente sufre degradación lisosomal. El LDLR se recicla de nuevo a la membrana plasmática donde puede unir más LDL. La internalización y devolución del receptor hacia la membrana plasmática es un proceso continuo. PCSK9 juega un papel fundamental en este proceso ya que promueve la degradación de los LDLR y evita que se recicle a la membrana (Lambert, Sjouke, Choque, Kastelein y Hovingh, 2012).

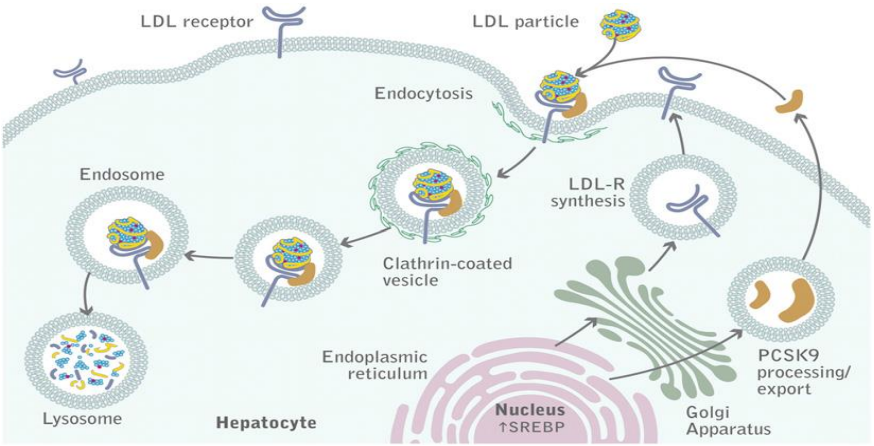


Figura 3. La degradación del receptor LDL mediada por PCSK9. Un complejo de LDL-C, LDLR y PCSK9 se internaliza en hepatocitos en fosas recubiertas de clatrina y posteriormente sufre degradación lisosómica.
Fuente. Lambert et al., 2012.

- **La Hipercolesterolemia familiar homocigota**, se caracteriza por las mutaciones en ambos alelos del loci del receptor LDL. Los individuos con esta característica, presentan valores elevados de colesterol sérico total generalmente >500 mg/dl y valores de colesterol LDL >450 mg/dl. El depósito de colesterol insoluble causa xantomas en los tendones de los pies, las manos y arco corneal (Maldonado et al., 2012; Osorio y Aguirre, 2013; Lambert et al., 2012).

- **La Hipercolesterolemia familiar heterocigota**, se manifiesta en individuos con mutación única en el alelo del loci del receptor LDL, estos pacientes se caracterizan por presentar cifras de colesterol sérico que oscilan entre 250-450 mg/dl y C-LDL entre 200-400 mg/dl. Se manifiestan las características clínicas de la Hipercolesterolemia Familiar homocigota, de no existir un tratamiento adecuado, los individuos pueden sufrir un infarto de miocardio grave y la muerte inesperada o problemas cardiovasculares a los cuarenta o cincuenta años de edad (Maldonado, et al., 2012).

b) Hipercolesterolemia secundaria

El aumento de los niveles de colesterol se asocia a enfermedades hepáticas (cirrosis, hepatitis y colestasis), renales (síndrome nefrótico o la insuficiencia renal crónica), endocrinas (diabetes mellitus y el hipotiroidismo). Además, hay fármacos que favorecen el desarrollo de hipercolesterolemia, como los glucocorticoides, betabloqueantes y progestágenos.

2.3.5 Myrciaria dubia "Camu camu"

El camu-camu es un fruto silvestre que ha sido consumido desde tiempos inmemoriales por los pueblos indígenas de la cuenca amazónica. La planta crece en zonas con temperaturas entre 22 °C y 26 °C, requiere de suelos que no tengan drenaje excesivo y que los periodos secos no sean muy prolongados. La radiación solar parece ser un factor importante para la producción de estos frutos nativos. En el Perú, su cosecha se da entre los meses de diciembre y marzo (Brack, 2011).

Esta fruta, presenta compuestos fenólicos como: pro-antocianinas, antocianinas, flavonoides, elagitaninos, derivados del ácido gálico y elágico. En la pulpa fresca el contenido fenólico es de 8,66 mg en 100 g. En la pulpa en polvo es de 48,5 mg en 100 g, en la cáscara es de 10,50 mg en 100 g, en las semillas es de 336,03 mg en 100 g en tanto el mejor valor está en la harina de camu camu con 672,49 mg en 100g (Arellano-Acuña, Rojas-Zavaleta y Paucar-Menacho, 2016).

Los efectos fisiológicos de una dieta rica en flavonoles son de gran interés debido a su actividad antioxidante y antiinflamatorio (Najmeh et al., 2011).

2.3.5.1 Aspectos morfológicos de la planta

Descripción: Árbol de 4 a 8 m de altura; columna delgada de más o menos 15 cm de diámetro, con ramificaciones desde la base, corteza exterior pardo claro a bronceado con ritidoma; corteza interior lisa gris o pardo pardo verdoso; sus hojas son simples, opuestas y sin estípulas; presenta lámina lanceolada u ovoide de 1,5 a 4,5 cm de ancho y 3 a 12 cm de largo, sus márgenes son enteros y ligeramente ondulados, el ápice es caudado acuminado, la base es sub obtusa a redondeada, en cuanto al haz es

verde oscuro ligeramente lustroso, el envés es verde claro y opaco, la nerviación de las hojas es prominente en el envés, muestra numerosos puntos traslúcidos; peciolo reducido de 3 a 8 mm y 1 mm de diámetro; la inflorescencia es axiliar; las flores se caracterizan por estar agrupadas de 1 a 12, subsésiles, además son bisexuales, presenta cáliz con 4 lóbulos ovoides, la corola tiene 4 pétalos blancos; tiene 1256 estambres y ovario ínfero; el fruto es esférico de 1 a 3 cm de diámetro, el peso varía de 2 a 20 gr; el epicarpio es liso, delgado, brillante con puntos glandulares y de color rosado a negro púrpura; la pulpa es carnosa, ácida, de sabor y aroma grato; presenta de 1 a 4 semillas, elípticas o reniformes (Brack, 1999).

Figura 4. Myrciaria dubia “camu camu”.
Fuente. Elaboración propia, octubre de 2013.

2.3.5.2 Composición nutricional

Tabla 2. Concentración de macronutrientes, micronutrientes y quercetina en 100 mL del jugo de Myrciaria dubia "camu camu"

Nutrientes	Concentración
Carbohidrato	5,33 g
Proteína	0.16 g
Lípidos	0,60 g
Fibra total	1,23 g
Fibra soluble	0,48 g
Fibra insoluble	0,75 g
Vitamina C	1.686,00 mg
Cálcio	7,18 mg
Potásio	14,27 mg
Magnésio	0,40 mg
Sódio	1,96 mg
Zinc	0,52 Pg
Cobre	0,19 Pg
Fierro	0,27 Pg
Manganeso	0,59 Pg
Quercetina	400,00 mg

Fuente. Datos tomados de Cassia et al., 2012.

2.3.6 Estrés oxidativo

Puede decirse que el estrés oxidativo (EO) es ocasionado por una perturbación del equilibrio a causa de una excesiva elaboración de especies reactivas de oxígeno (EROs o ROS) y una organización biológica para eliminar tóxicos rápidamente, de evitar el exceso de oxidación a nivel celular o reparar el daño causado. En bioquímica se considera oxidación a los procesos donde se pierden electrones y reducción cuando se captan electrones, estas son reacciones de óxido reducción o reacciones redox. El tripéptido glutation, debido a su alta concentración intracelular (5-10 mM), se considera un regulador homeostático del estado de óxido- reducción celular. Desequilibrios en el estado normal redox pueden causar efectos tóxicos como la producción de peróxidos y radicales libres, estos

dañan a todos los componentes de la célula, como las proteínas, los lípidos y el ADN (Vásquez, 2018).

Entre las especies reactivas de oxígeno ERO inorgánicas sobresalen el radical anión superóxido, el radical hidroxilo, el peróxido de hidrógeno (el cual no es precisamente un radical libre (RL) pero genera radical hidroxilo frente a metales como el hierro, por consiguiente, se considera como tal), el oxígeno singlete o molecular (O_2) y los RL orgánicos el radical peroxilo (ROO-), el hidro-peróxido orgánico (ROOH) y los lípidos peroxidados. Otros radicales tóxicos son el peroxinitrito (ONOO) y el ácido hipocloroso (HOCl). La mitocondria es el principal productor de las ERO, el 5% de oxígeno que consumimos origina metabolitos intermediarios parcialmente reducidos o con deficiente grado de oxidación los cuales componen RL. En consecuencia, el metabolismo normal que ocurre en la célula origina especies reactivas. Otra fuente de radicales libres es el metabolismo de fagocitos (neutrófilos y macrófagos). Estos están dotados de enzimas líticas (proteasas, lipasas, nucleasas) y de vías metabólicas (mieloperoxidasa para neutrófilos) que originan especies químicas agresivas como O_2, H_2O, $OH^{\cdot}$ En la membrana de los leucocitos encontramos la enzima NADPH oxidasa generadora de O_2, el cual en presencia de hierro se transforma en $OH^{\cdot}$ Estas situaciones se dan en procesos inflamatorios. Las especies reactivas de oxígeno pueden oxidar lípidos (perioxidación lipídica), ácidos nucleicos y proteínas, con la consecuente afectación en sus estructuras y funciones (León-Regal et al., 2018).

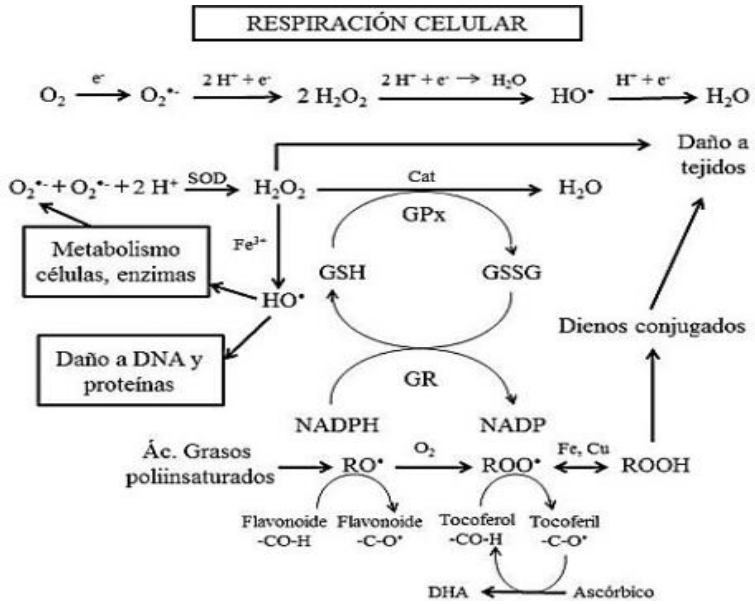


Figura 5. Los radicales libres y sus principales rutas metabólicas productivas.
Fuente. Extraído de Martínez-Florez, González-Gallego, Culebras y Tuñón, 2002.

Por otra parte, el ser humano tiene defensas antioxidantes endógenas ya sea de origen enzimático como el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), el glutatión reducido (GSH) etc., los de origen no enzimático como ácido úrico, glutatión, ferritina, transferrina, bilirrubina ceruloplasmina, etc. Estos son en sistema de defensa antioxidante que el organismo genera, para ello debemos ingerir diariamente sustancias con capacidad antioxidante, como la vitamina C, flavonoides, B-caroteno, vitamina E, etc. Sin embargo, bajas concentraciones de antioxidantes hacen al ser humano más susceptible al daño oxidativo (Delgado-Roche y Martínez-Sánchez, 2010; León-Regal et al., 2018).

2.3.7 Flavonoides

La quercetina es el flavonoide que se encuentra en grandes concentraciones en el jugo de camu-camu, este es el flavonoide más abundante en la dieta humana, con aproximadamente el

95% del total de flavonoides ingeridos. Las fuentes alimentarias ricas en flavonoides en primer lugar son: cacao, café, té negro, vino y cerveza (consumir aproximadamente 420 mg por día), en segundo lugar, tenemos las frutas (consumir aproximadamente 290mg por día). Sin embargo, no hay una recomendación en la ingesta diaria de flavonoides, pero se estima un consumo promedio, entre 26 mg y 1g / día, para obtener beneficios en la salud. De esta forma, se obtiene alta concentración de quercetina presente en el refresco de camu camu, esto revela que es buena fuente alimentaria de flavonoides (Cassia et al., 2012).

2.3.7.1 Metabolismo del flavonoide: Quercetina.

La quercetina en la circulación sanguínea se vincula a la albúmina siendo transportada al riñón, hígado, colon e intestino delgado, aquí sufre metabolismo de fase II (conjugaciones con glucurónico, sulfataciones o metilaciones). Escasos metabolitos nuevamente son transportados al tracto digestivo donde son reabsorbidos, ingresando a un ciclo enterohepático que aumenta el tiempo de vida media de la quercetina en la circulación sanguínea.

En humanos la vida media de la quercetina está entre 31 a 50 horas, con una máxima concentración en plasma en media hora, el siguiente es 8 horas después de ingerir 100 mg. Los flavonoides se excretan lentamente, especialmente por la orina o por vía biliar, después son eliminadas por las heces. En el intestino grueso la quercetina pasa por degradación microbiana dando como resultado CO2, que es expulsado mediante la respiración, los subproductos son eliminados por las heces (Vicente-Vicente, Prieto y Morales, 2013).

2.3.7.2 Flavonoides: Relación estructura-actividad y Mecanismo antioxidante

La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de su capacidad de reducir radicales libres y quelar metales, impidiendo las reacciones catalizadoras de los radicales libres. Otro de los mecanismos antioxidante de los flavonoides es la inhibición sobre determinadas oxidasas como: la ciclooxigenasa (CO), la NADPH oxidasa, la lipoxigenasa (LO), la mieloperoxidasa (MPO), y la xantina oxidasa (XO), que impiden la generación de las especies reactivas de oxígeno in vivo y de hidroperóxidos orgánicos. Por otro lado, también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como es el caso de la fosfolipasa A2. A su vez favorece otras actividades antioxidantes como: la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa. Otra característica de los flavonoides es que secuestran aniones superóxido (O_2^-) y radical hidroxilo (•OH), a su vez bloquea el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y sus efectos degradativos.

La quercetina pertenece a la familia de los flavonoides y se caracteriza por presentar potencial antioxidante, debido a que reacciona con iones metálicos, atrapa radicales OH, redox y anión superóxido O'2 (López-de-Dicastillo, Alonso, Catalá, Gavara y Hernández-Muñoz, 2010). El potencial antioxidante de quercetina se debe a la presencia de cinco grupos OH que pueden representar un sitio de ataque para el proceso de radicalización efectuado por el radical peróxido lipídico. El grupo 4'OH es el más reactivo, ya que desde su radicalización es estable debido al fenómeno de deslocalización y conjugación, así como por un enlace de H entre O˙ y el OH contiguo (Chiodo, Leopoldini, Russo y

Toscano, 2010). El grupo OH libre de la posición 3 del grupo C le da a este antioxidante propiedades lipofílicas. La conjugación total del anillo piránico con el resto de la molécula incrementa la estabilización de los radicales formados, produciendo un aumento en la actividad antioxidante (Pérez, 2003).

2.3.8 Determinación de capacidad antioxidante in vitro

2.3.8.1 Método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH)

El fundamento del método desarrollado por Brand-Willams, Cuvelier y Berset (1995), DPPH, consiste en la deslocalización de un electrón desapareado dando como resultado un color azul-violeta. Cuando el DPPH reacciona con un antioxidante, se produce la forma reducida del DPPH decolorándose hacia amarillo pálido y por tanto pérdida de absorbancia, siendo medida espectrofotométricamente a 515 nm. Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radical libre DPPH a una concentración de 20 mg/L.

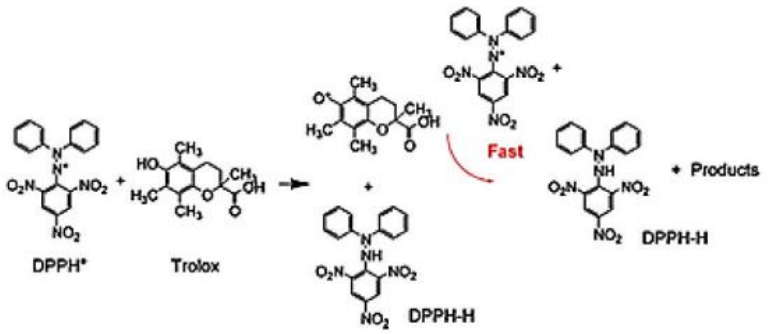


Figura 6. Reacción del estándar trolox con radical DPPH. *Fuente.* Brand-Williams et al., 1995.

- **Trolox**

Trolox es un antioxidante, semejante de vitamina E, tiene alta solubilidad en agua, comúnmente utilizado para medir

la capacidad antioxidante o daño celular. Los resultados demostraron que Trolox es fácil de superponerse por el ascorbato y ciertos tioles, a diferencia de NADH, galato de propilo o urato. Los ensayos evidenciaron que Trolox puede restaurar proteínas que fueron oxidadas por RL.

2.3.9 Determinación de capacidad antioxidante in vivo

2.3.9.1 Método para determinar Malondialdehido (MDA)

El malondialdehido se forma por la peroxidación lipídica de ácidos grasos insaturados y es un marcador de la degradación oxidativa de la membrana celular. Se cuantifica fundamentalmente, los diferentes aldehídos reactivos formados por la descomposición de los peróxidos lipídicos presentes en el suero. De dicha degradación el malondialdehído (MDA) es el aldehído más significativo y también el más cuantificado. EL método el más usado se basa en la reacción del mismo con el TBA (ácido 2-tiobarbitúrico). El malondialdehido, en condiciones de pH bajo y temperatura alta, reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) produciendo aductos MDA-TBA cromógeno o pigmento rosado que se detecta mediante fluorimetría o espectrofotometría (Estepa, Ródenas y Martín, 2001).

2.3.10 Consideraciones éticas

Se basa en la Ley Nº 27265: Ley de protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio.
El número de animales requeridos son justificados, considerando los procedimientos menos invasivos, además se evitó la duplicación innecesaria de experimentos. Se utilizó la eutanasia con Pentobarbital sódico a dosis de 100mg/kg si se anticipaba

estrés o dolor y al finalizar etapa experimental (American Veterinary Medical Association, 2007).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipología de la investigación

Es de tipo observacional, prospectivo, longitudinal, analítico.

3.2 Diseño de investigación

Diseño experimental.

3.3 Reactivos y materiales empleados

3.3.1 Reactivos

- Colesterol 97 %
- Twin N° 20
- Pentobarbital sódico 1 g
- Atorvastatina 20 mg.
- Ác. 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
- Cloroformo
- Metanol
- Alcohol de 70 ºGL
- Alcohol etílico de 96 °GL
- Tricloruro férrico
- Dicromato de Potasio
- Gelatina
- Magnesio metálico.
- Ác. clorhídrico Q.P.
- Ácido tricloroacético 20 %
- Anhidrido acético QP
- Ácido sulfúrico 97 %
- Benceno VWR
- Hidróxido de sodio al 5 %

- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Bertrand
- Ácido tiobarbiturico
- Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico 97 %

3.3.2 Materiales

- Celdas de cuarzo
- Desecador
- Embudos
- Espátulas de metal
- Fiolas
- Gradillas
- Luna de reloj
- Lápiz marcador
- Matraces
- Micropipetas
- Beaker de 100 mL
- Papel de filtro
- Papel Tissue
- Pinzas metálicas
- Pipetas
- Propipeta
- Porta embudo
- Varillas de vidrio
- Soporte universal
- Tubos de ensayo
- Tubos eppendorff
- Papel de aluminio

3.3.3 Equipos

- Estufa (Thelco 31480, USA)
- Balanza Analítica BOECO Germany
- Micromolino de cuchillas (WILEY MILL made in USA)
- Agitador Vortex Wizard VELP CIENTIFICA
- Plancha calefactora VELP ® SCIENTIFICA
- Espectrofotómetro UNICO 2802 ®
- Centrifuga de mesa GEMMY Model PLC- 36
- Caja de pesas de laboratorio de precisión

3.4 Preparación de insumos

3.4.1 Material vegetal

3.4.1.1 Recolección y selección de la muestra

Camu camu se recolectó en octubre del 2013 en la Provincia Coronel Portillo región Ucayali, ubicado a una Latitud: 8°22′44″ S, Longitud: 74°33′13″ o altitud de 155 m. Después la muestra fue clasificada botánicamente en el Museo de Historia Natural, de la UNMSM, por Mag. Asunción A. Cano Echevarría con Nº de constancia 341-USM-2018 (ver Anexo 1).

3.4.1.2 Conservación y secado de la muestra

Luego de la recolección de la fruta de "camu camu" se procedió a lavarlas, deshidratarla en una estufa a 40 °C y posteriormente a moler en un micromolino de cuchillas obteniendo un polvo consistente, envasado en recipientes, protegidos de la humedad y la luz. Este procedimiento se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (ver Anexo 2).

3.4.2 Preparación del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu"

El extracto acuoso se preparó por el método de infusión, para ello en un recipiente adecuado se agregó una mezcla de polvo en agua hervida (a temperatura de 55 – 60 °C) a 10 % (m/v), se tapó y se dejó reposar durante 5 a 10 minutos, finalmente se filtró. Una vez obtenido el extracto acuoso se llevó a sequedad total en una estufa a 40 °C, se almacenó en frasco de vidrio ámbar a 4 °C hasta su estudio. A partir de este extracto seco se realizaron las diluciones (ver Anexo 2).

3.5 Análisis cualitativo preliminar del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu"

Se realizó para detectar los metabolitos secundarios, mediante un análisis fitoquímico preliminar. Se pesó 5 mg de muestra y se procedió a realizar las reacciones de coloración y precipitación para identificar flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, triterpenos y esteroides, alcaloides, saponinas, grupos aminos libres y quinonas, según el método de Lock (1994) (ver Anexo 3).

3.6 Preparación del colesterol

Se utilizó el colesterol Q.P, del cual se extrajo 2.5 g y se agregó 480 mL de agua mas 20 mL de tween 80. (ver Anexo 4).

3.7 Preparación de atorvastatina

Se utilizó un mortero de porcelana para triturar los comprimidos de atorvastatina 20 mg (Lipitor) y se procedió a preparar una suspensión patrón de atorvastatina 20 mg que contenía 10 mg/mL de atorvastatina, para la disolución se utilizó agua destilada (ver Anexo 4).

3.8 Preparación de la muestra problema

Del extracto seco se pesó 10 g y se completó a 100 mL (agua destilada más polisorbato de sodio 80) (ver Anexo 4).

3.9 Evaluación de la actividad hipolipemiante

3.9.1 Aclimatación y condicionamiento de los animales de estudio

Para el modelo animal se utilizaron 36 ratas *Holtzman* machos de 200 a 250 gramos de peso corporal procedentes del Bioterio del

INS, del Ministerio de Salud (Lima, Perú). Las ratas fueron alimentadas con 30 g diario de una dieta comercial para roedores procedente de la Universidad Nacional Agraria La Molina y agua *ad libintum*, a lo largo del experimento las ratas se distribuyeron en jaulas de 6 cada una y expuestos a temperatura ambiente y periodos de oscuridad y luz. Los animales tuvieron un período de adaptación de 48 horas antes de iniciar el periodo de experimentación.

3.9.2 Selección de animales

Se realizó teniendo en cuenta el buen estado de salud, el aspecto físico y lo más importante libres de experimentos anteriores, asimismo se mantuvieron en cuarentena (48 horas) para su adaptación, teniendo que cumplir con los requisitos básicos para el estudio: ratas albinas machos, jóvenes – adultos de la cepa *Holtzman*, con pesos entre 200 g a 250 g y una edad de aproximadamente 90 días.

3.9.3 Identificación y registro de peso

Después de seleccionar a los animales se les asignó una marca en el lomo para su identificación. En cuanto al peso se registró cada semana durante la fase de estudio.

3.9.4 Formación de grupos de trabajo

Las ratas fueron distribuidas en forma aleatoria, en 6 grupos de trabajo (ver Tabla 3). El tratamiento fue por vía oral y se utilizó cánula intragástrica, primero se le administraba colesterol y luego se le administraba el tratamiento con Camu-camu una vez por día, durante 10 semanas.

Tabla 3. Distribución de los animales de experimentación, según grupo control o experimental y tratamiento

Grupo	Tratamiento	N°	Vía de administración
Control negativo (G1)	Suero Fisiológico (SSF) 2 mL/kg	6	Vía oral
Control positivo (G2)	Colesterol 200 mg/kg (C)	6	Vía oral
Grupo patrón (G3)	C + Atorvastatina 20 mg/kg	6	Vía oral
Grupo experimental (G4)	C + Myrciaria dubia 50 mg/kg **	6	Vía oral
Grupo experimental (G5)	C + Myrciaria dubia 250 mg/kg	6	Vía oral
Grupo experimental (G6)	C + Myrciaria dubia 500 mg/kg	6	Vía oral

C: Colesterol, **: Extracto seco

Fuente. Elaboración propia, noviembre de 2013.

3.10 Inducción experimental a hipercolesterolemia

La hipercolesterolemia fue inducida considerando el método seguido por Ruiz-Roso et al. (2003) con modificación en la forma de administración del colesterol (colesterol al 97% Sigma).

Después del periodo de adaptación se administró colesterol químicamente puro por vía intragástrica, a cada rata en dosis de 200 mg/kg suspendido en Twin N° 80 diluida en agua destilada.

El colesterol suspendido en Twin N° 80 se administró todas las mañanas y a una hora determinada, durante el periodo de 10 semanas de forma ininterrumpida a excepción de los domingos. Previamente se determinó el peso del animal (ver Anexo 5).

3.11 Determinación de perfil lipídico

Las mediciones del hipercolesterolemia, se realizaron 10 semanas después de la administración de colesterol, los animales fueron puestos en ayuna 12 horas antes de la toma de muestra, para ello fueron

anestesiadas por inhalación de éter posteriormente se tomaron 5 mL de muestra de sangre mediante punción cardiaca, luego la muestra fue centrifugada obteniéndose el suero libre de hemólisis, el que se utilizó para evaluar el efecto de los tratamientos experimentales: colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL y triglicéridos. Una vez obtenida la muestra de análisis, los sueros fueron almacenados de 5 – 10 °C para posteriores pruebas (efecto antioxidante *in vivo*).

• Fundamento del método: El esquema siguiente muestra el mecanismo de la reacción del colesterol enzimático.

Principio:

Colesterol $\longrightarrow$ C. Esterarasa Colesterol + ácidos grasos

Colesterol + O_2 $\longrightarrow$ C. Oxidasa Colesterol – 4-en-3-ona + H_2O

$2H_2O_2$ + HBA + 4AAP $\longrightarrow$ Peroxidasa Quinoneimina + $4H_2O$

3.12 Sacrificio de los animales

Al término del experimento los animales fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital sódico 1 g intraperitoneal, teniendo en consideración los principios éticos en la experimentación animal que permite disminuir al máximo el sufrimiento de los mismos (American Veterinary Medical Association, 2007).

3.13 Evaluación de la actividad antioxidante

3.13.1 Método de inhibición frente al radical libre DPPH (1,1-Difenil-2-picrilhidracilo) con modificaciones (Brand Williams et al., 1995)

El método usado para determinar la actividad antioxidante *in vitro* del fruto de camu camu fue con el ensayo de la inhibición del radical 1,1-Difenil-2-picrilhidracilo (DPPH), expresado como IC50 (µg/mL).

El resultado se expresó en concentraciones de la muestra problema que produce una inhibición del 50% del radical libre DPPH. En relación con eso, se considera que el valor IC50 es dependiente de la concentración DPPH, así como, de la naturaleza del compuesto oxidante. Como estándar se usó el reactivo TROLOX. La actividad antioxidante se expresó en porcentaje según la siguiente formula.

$$AA\ \% = 100 - \left\{ \frac{(Am - Ab)\ 100}{Acontrol} \right\}$$

A control	=	Absorbancia del reactivo DPPH.
Ab	=	Absorbancia del blanco.
Am	=	Absorbancia de la muestra.
AA %	=	Porcentaje de actividad antioxidante.

a) Preparación de las soluciones:

- **Preparación del radical DPPH:**

Para la elaboración del radical DPPH primero se preparó una solución madre 0,1 mM de DPPH, luego se pesó un matraz aforado y se completó a 100 mL con metanol, posteriormente se comprobó que la absorbancia a 517 nm esté ente 0,6 y 0,7. Finalmente se protege de la luz cubriéndolo con papel de aluminio.

- **Preparación del Trolox:**

- Se preparó una solución stock 1 mM o 250 µg/mL de Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico 97%).
- De la solución anterior se cogió 1 ml y se adicionó 1 ml de agua destilada, de esta nueva dilución se cogió 300 µL de trolox y se le adicionó 2700 µL de DPPH.

- La mezcla se homogenizó y se sometió a la oscuridad por 30 minutos, posteriormente se tomó lectura en un espectrofotómetro UV/VIS a 517 nm (ver Anexo 6).

b) Determinación de la CI50:

- Se pesó 36,6 µg de los diferentes formulados de camu camu y se disolvió en 10 mL de agua destilada (1 mg/mL).
- De la solución anterior se cogió 1 ml y se adicionó 1 ml de agua destilada, de esta nueva dilución se cogió 300 µL de camu camu y se le adicionó 2700 µL de DPPH.
- La mezcla se homogenizó y se sometió a la oscuridad por 30 minutos, posteriormente se tomó lectura en un espectrofotómetro UV/VIS a 517 nm (ver Anexo 6).

3.14 Evaluación de la actividad antioxidante *in vivo*

3.14.1 Determinación de Malondialdehido (MDA)

Las ratas fueron anestesiadas por inhalación de éter para el análisis de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) formado por la peroxidación lipídica para ello se extrajo la sangre vía punción cardiaca. Se siguió la técnica de Draper et al. (1993) y Arroyo, Rojas y Chenguayen (2004), el plasma reacciona con el TBA, formando un complejo coloreado leído a 535 nm en espectrofotómetro.

- **Preparación del Malondialdehido**

a) En un tubo de ensayo con tapa rosca se colocó 0,6 mL de ácido tricloroacético al 20 % y 0,3 mL de suero, se tapó y se mezcló.

b) Se colocó en Baño María hirviente, aproximadamente 10 minutos.

c) Luego se procedió a enfriar y se añadió 0,9 mL de ácido 2-tiobarbitúrico al 0,67 % (TBA) en ácido clorhídrico (HCL) 0,25 N. Mezclar.

d) Después se llevó a Baño María hirviente por espacio de 30 minutos y se dejó enfriar con agua helada.

e) Se centrifugó a 4000 revoluciones por minuto durante 10 min, el sobrenadante se separó con una pipeta Pasteur y se leyó el sobrenadante en el espectrofotómetro a 535 nm.

f) Para los cálculos se utilizaron el coeficiente de extinción molar 1,56 x 10^5 $mmol^{-1}$ cm^{-1} del complejo coloreado formado por el malondialdehído-tiobarbitúrico.

3.15 Tratamiento estadístico

Los resultados fueron expresados en valores medios y desviación estándar. La comparación múltiple de medias se efectuó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguidos de una prueba de Tukey, para buscar diferencias significativas entre los grupos. Se consideró significativo todo resultado cuyo valor asociado de $p < 0,05$. Se utilizó el paquete estadístico SPSS (versión 20.0).

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Análisis fitoquímico cualitativo preliminar del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu"

Los resultados del análisis fitoquímico cualitativo se observan en la siguiente tabla.

Tabla 4. Resultados del análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu"

Metabolitos	Ensayos	Evidencia	Resultado
Compuestos Fenólicos	$FeCl_3$	Verde oscuro	+
Taninos	Sol Gelatina	Precipitado	+
Flavonoides	Shinoda	Rojo	+
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado rojo naranja	+
	Wagner	Precipitado marrón	+
	Mayer	Precipitado blanco	+
Triterpenos y Esteroides	Lieberman-Burchardat	Verde oscuro	-
Saponinas	Espuma	Espuma persistente	+
Grupos aminos libres	Ninhidrina	Violeta	+
Quinonas	Bornträger	Rojo	-

(-): ausente, (+): presente.

Fuente. Elaboración propia, octubre de 2013.

Tabla 5. Resultados del perfil lipídico del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu" en ratas hipercolesterolémicas

Grupo experimental (n=6)	Colesterol total mg/dL	% de variación	HDL mg/dL	% de variación	LDL mg/dL	% de variación	VLDL mg/dL	% de variación	Triglicéridos	% de variación
SSF 2 mL/Kg	68,67		14,8		33,67		12		60	
Colestero 200 mg/Kg (C)	100,5	46,35 ↑	16,45	11,14 ↑	69,58	105 ↑	14,47	20,58	72,33	20,55 ↑
C + Atorvastatina 20 mg/kg	79,5	20,89 ↓	15,9	7,43 ↑	54,07	22,29 ↓	9,53	34,13 ↓	47,67	34,09 ↓
C + Camu camu 50 mg/kg	85,17	12,25 ↓	17,78	20,13 ↑	54,22	22,07 ↓	13,17	8,9 ↓	65,83	8,98 ↓
C + Camu camu 250 mg/kg	78,83	21,56 ↓	15,77	6,55 ↓	48,9	29,72 ↓	14,17	2,07 ↓	70,83	2,07 ↓
C + Camu camu 500 mg/kg	77,33	23,05 ↓	15,47	4,52 ↓	49,67	28,61 ↓	12,2	15,68 ↓	61	15,66 ↓
Significación	p<0,002		p>0,05		p<0,001		p<0,034		p<0,040	

- Datos expresados en media ± SD, n = 6, se realizó el análisis de ANOVA post Hoc prueba de Tukey.
- Para el colesterol total se observa que camu camu de 500 mg/Kg lo disminuye en un 23,05 %, para HDL el camu camu de 50 mg lo aumenta en 20,13 %.

Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

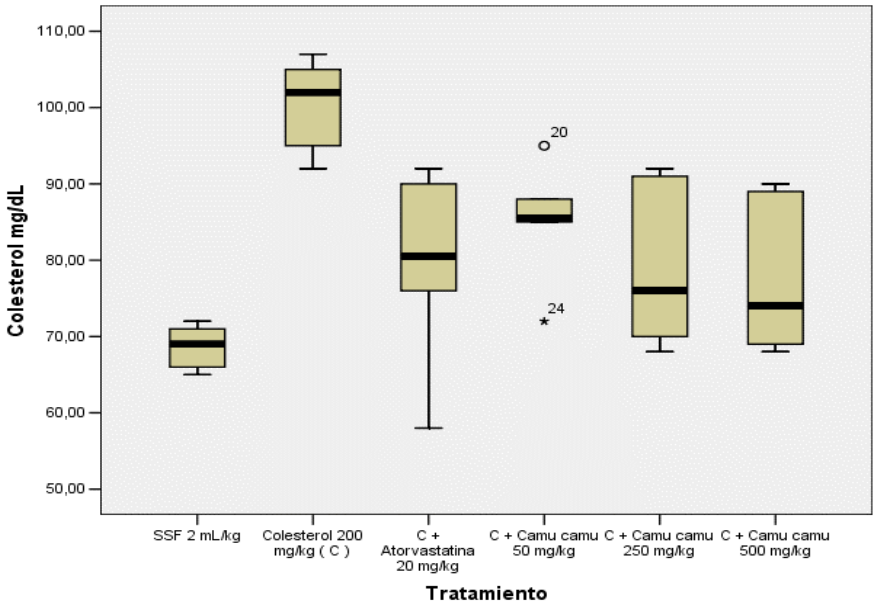


Figura 7. Efecto del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu" sobre los niveles de colesterol total.Se observa que camu camu de 500 mg/Kg tuvo mayor disminución.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

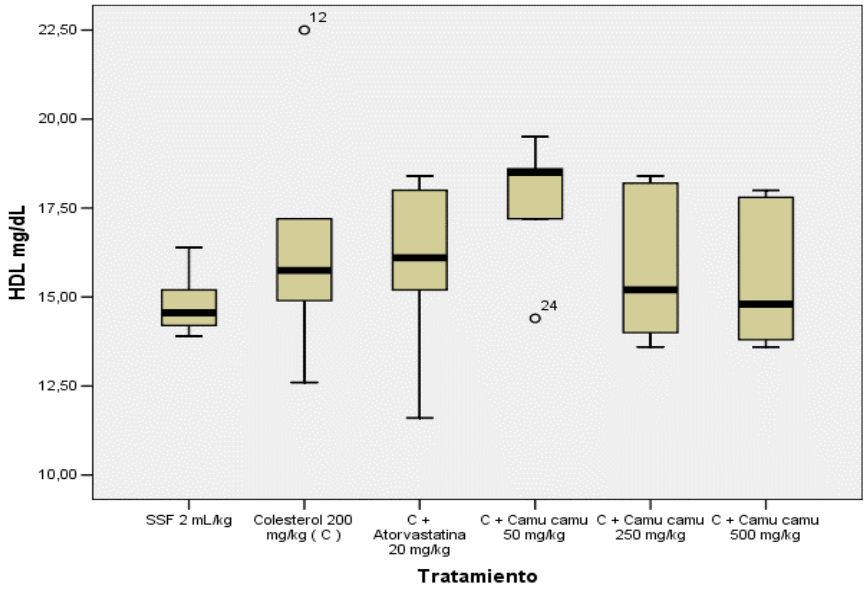


Figura 8. Efecto del extracto acuoso del fruto Myrciaria dubia "camu camu" sobre los niveles de colesterol HDL. Se observa que camu camu de 50 mg/Kg presenta mejor resultado.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

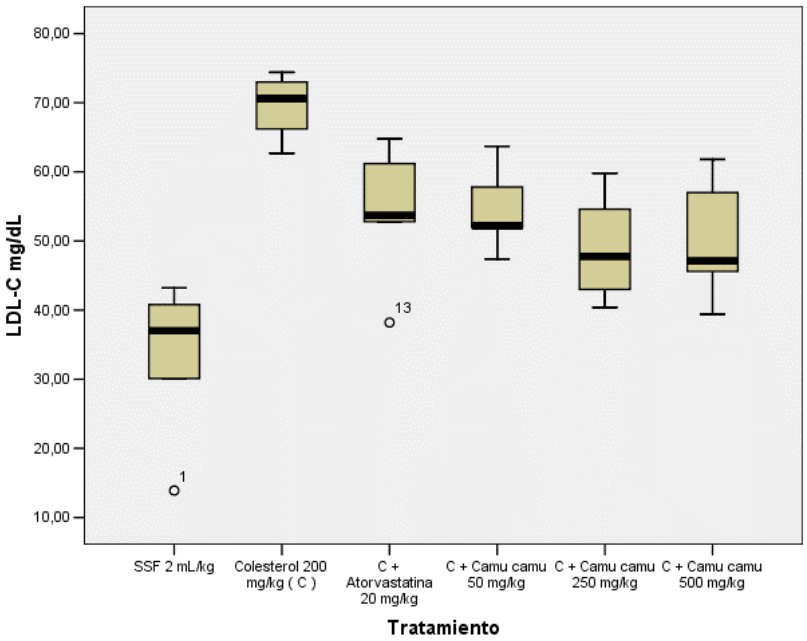


Figura 9. Efecto del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu" sobre los niveles de colesterol LDL. Se observa mayor disminución para camu camu de 500 mg/Kg.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

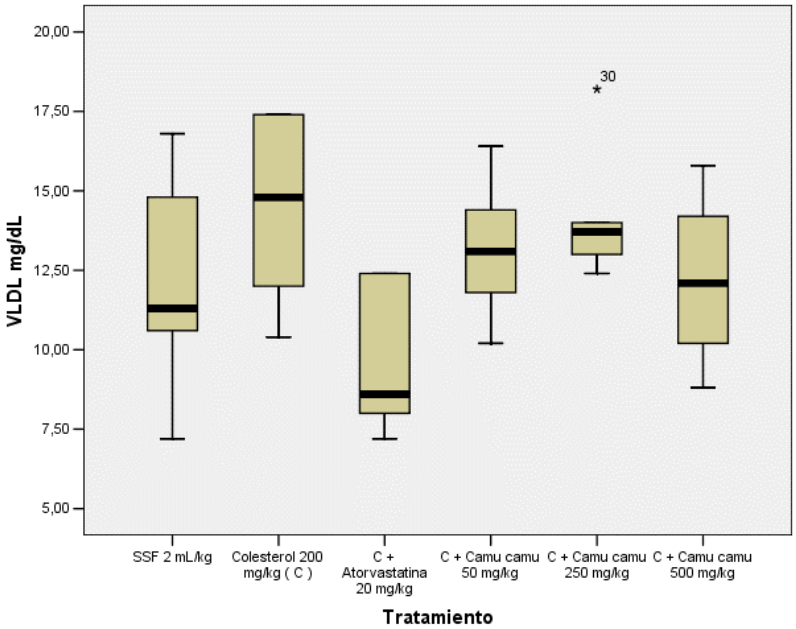


Figura 10. Efecto del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu" sobre los niveles de colesterol VLDL, siendo esta disminución mayor para Atorvastatina 20 mg/Kg.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

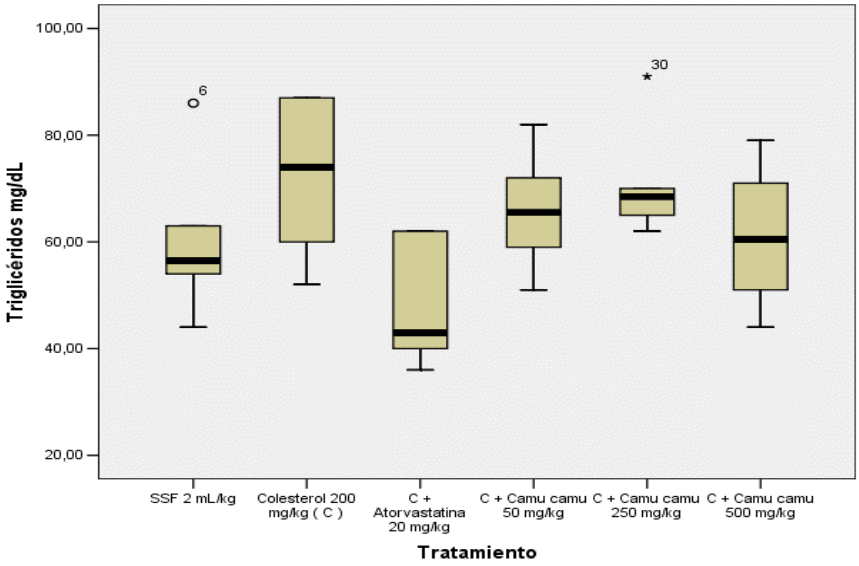
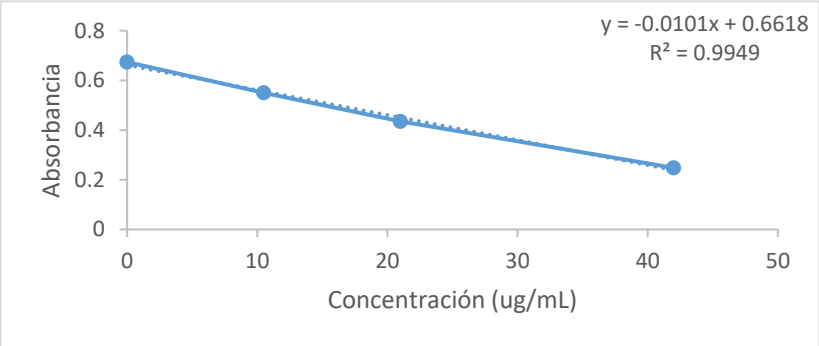


Figura 11. Efecto del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu" sobre los niveles de triglicéridos, siendo esta disminución mayor para Atorvastatina 20 mg/Kg.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

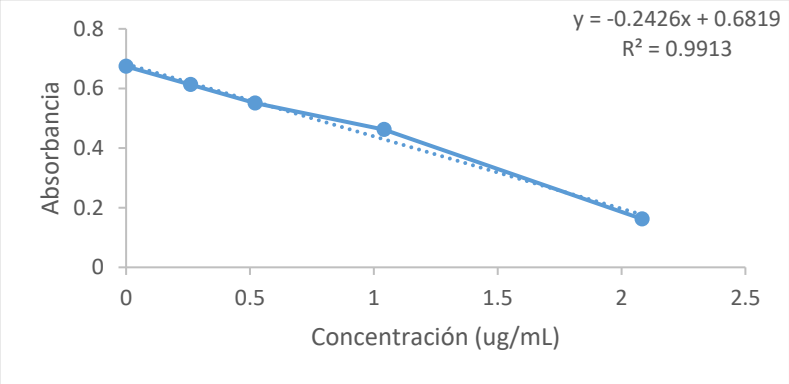
4.1.2 Efecto antioxidante del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu"

4.1.2.1 Determinación de la actividad antioxidante mediante la captación del radical DPPH (1,1 difenil-2-picri-hidrazil) del extracto acuoso Myrciaria dubia camu camu.



CI50 =32,22 ± 1,5 µg/mL

Figura 12. Curva de calibración de la CI50 del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia frente al radical DPPH. Se observa linealidad en el método de inhibición del radical DPPH.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.



CI50 = 1,42 ± 0,02 µg/mL

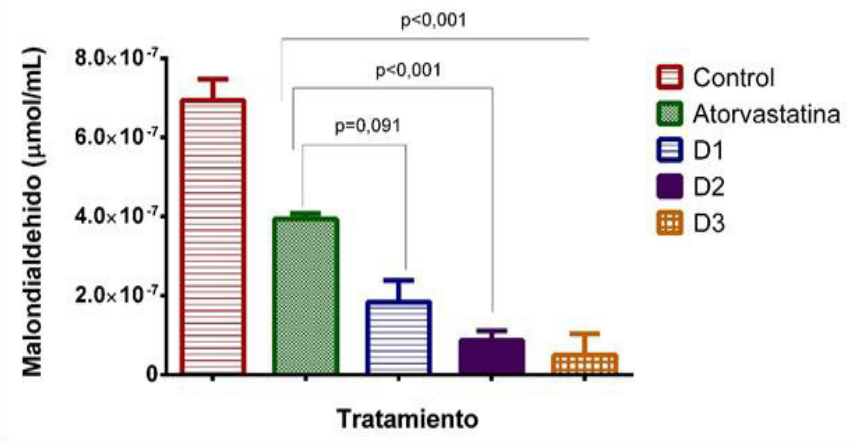
Figura 13. Curva de calibración de la CI50 del estándar Trolox frente al radical DPPH. Se observa linealidad en el método de inhibición del radical DPPH.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

4.1.2.2 Efecto antioxidante in vivo del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu"

Tabla 6. Resultados del efecto antioxidante in vivo del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu" en ratas hipercolesterolémicas

Grupo experimental (n=6)	Malondialdehído (µmol/mL)
Colesterol 200 mg/kg (C)	6,94E-07 ± 5,41E-08
C + Atorvastatina 20 mg/kg	3,94E-07 ± 7,14E-08
C + Camu Camu 50 mg/kg	1,84E-07 ± 3,24E-08
C + Camu Camu 250 mg/kg	0,87E-07 ± 1,43E-08
C + Camu Camu 500 mg/kg	0,50E-07 ± 2,14E-08

+: Valores expresados como media aritmética, ±: Error estándar
Esta disminución es mayor con camu camu 500 mg/kg.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.



Control = Grupo que recibió colesterol.
Leyenda: Control = colesterol, D1 = camu camu 50 mg/kg, D2 = camu camu 250 mg/kg, D3 = camu camu 500 mg/kg.

Figura 14. Determinación del efecto antioxidante in vivo mediante la medición del malondialdehido en suero de ratas hipercolesterolémicas del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu". Se observa según el dato que camu camu de 500 mg/kg presenta es significativo ($p<0.001$) comparado con el grupo atorvastatina.
Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014

4.2. Discusión

El análisis fitoquímico cualitativo del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* indicó la presencia de varias clases de metabolitos secundarios: principalmente: flavonoides y compuestos fenólicos, taninos, saponinas, aminoácidos, alcaloides (ver Tabla 4). Estos hallazgos tienen relación con lo expresado por Herrera-Calderón et al. (2018) al reportar que *Myrciaria dubia* contiene alcaloides, flavonoides, fenoles, terpenos y esteroides. Otros estudios evidenciaron la presencia antocianinas (Zanata et al. 2005; Nascimiento et al., 2013). El camu-camu es una fruta amazónica con un alto contenido de antioxidantes, especialmente compuestos fenólicos y vitamina C (De Souza Schmidt Gonçalves, Lellis-Santos, Curi, Lajolo y Genovese, 2014).

Los resultados del perfil lipídico en la *Tabla 5* del presente estudio, muestran una reducción de 23,05 % para colesterol total al usar camu

camu 500 mg/kg, ($p<0,002$, test de tukey), en el caso de HDL se observó un incremento de 20.13% al usar camu camu 50 mg/kg, ($p>0,05$), en cuanto al LDL se evidencia un reducción de 29,72% para la dosis de camu camu 250 mg/kg, ($p<0,001$, test de tukey), la atorvastatina reduce el VLDL en 34,13% ($p<0,034$, test de tukey) y los triglicéridos en 34.09% ($p<0,040$, test de tukey).

Estos hallazgos son concordantes con lo expresado por Nascimento et al. (2013) quienes al administrar 25 mL de jugo de pulpa de camu-camu vía oral por 12 semanas, observaron una reducción de los valores de colesterol en un (39,6%), los triglicéridos en un (40,6%), LDL (2,14%).

En ambos estudios se incrementaron los niveles de HDL no siendo estadísticamente significativo para este estudio en tanto Cássia et al. (2012) expresan haber observado aumento del HDL carente de significación. La concentración de HDL-c, puede estar relacionada con el metabolismo de los triglicéridos. Después de la lipólisis de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad por la lipoproteína lipasa, los fosfolípidos y las apolipoproteínas son capturados por HDL-c, que modifican su densidad de HDL3 a HDL2, haciendo que la concentración de triglicéridos sea inversamente proporcional a la concentración de HDL-c. (Tall, 1979*)*. En el caso de colesterol total y triglicéridos el porcentaje de reducción es más elevado para Nascimento et al 2013. Esta situación podría deberse al tiempo de tratamiento, el estrés de los animales o los diferentes componentes de *Myrciaria dubia* camu camu.

La reducción de CT y LDL-c, se explicaría por los flavonoides presentes en camu camu, los que permiten una mayor excreción de sales biliares en las heces, lo que aceleraría la actividad del sistema mitocondrial hepático, con el consiguiente aumento en el metabolismo de los lípidos (Cassia et al., 2012); por otro lado, la reducción del colesterol total se debería a un aumento en la actividad de los receptores de LDL en los hepatocitos, responsables del aumento de la endocitosis y la reducción

de los niveles plasmáticos del colesterol total (Pinto et al., 1999; Kirk, Sutherland, Wang, Shait y Leboeuf, 1998).

Myrciaria dubia es excelente fuente de vitamina C (Casia et al., 2012); el ácido ascórbico tiene gran capacidad de reducir el CT y el LDL-c, por el hecho de actuar como cofactor de la enzima hepática α-hidroxilasa, responsable del metabolismo del colesterol en ácidos biliares; al parecer puede desempeñar un papel en la eliminación de las moléculas de LDL-c del plasma, actuando sobre el funcionamiento de la enzima lecitina colesterol aciltransferasa, que es responsable de la esterificación y secuestro de estas moléculas dentro de las HDL-c, aumentando así la eliminación del LDL-c periférico y su devolución al hígado (Mcrae, 2006).

En el caso de Triglicéridos se observa que el mejor efecto es para atorvastatina 20 mg/Kg esto podría deberse por el menor tiempo de tratamiento con camu camu (10 semanas), de igual modo estudios demuestran que la quercetina disminuye la concentración de triglicéridos (Casia et al., 2012). Con este Hallazgo se demuestra que el extracto acuoso del fruto de camu camu evita la elevación del perfil lipídico inducida por colesterol.

Los resultados de la actividad antioxidante por el método de DPPH, muestran los valores de IC 50 para trolox es 1,42±0,02 ug/mL y para el extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* es 32,22±1,5 ug/mL (ver Figura 10 y 11). Esto se debe a que el estándar Trolox siempre presentará un valor menor de IC 50 comparado con el extracto (Hurtado-Manrique, Jurado, Ramos y Calixto, 2015). Estos hallazgos son corroborados por Villanueva-Tiburcio et al. (2010), donde demuestra los resultados del extracto de la cáscara seca de la muestra pintón tuvo mejor actividad antioxidante, expresado en IC50 = 46,20 µg. mL^{-1} para DPPH; 20,25 µg. mL^{-1} para ABTS y 8,30 µg. mL^{-1} para Peroxilo. Diferentes autores refieren que la actividad antioxidante de los flavonoides es resultado de la combinación de sus cualidades quelantes

de hierro y de secuestrar los radicales libres (Böhm, Boeing, Hempel, Raab y Kroke, 1996).

La determinación del efecto antioxidante *in vivo* mediante la medición del malondialdehido en suero de ratas hipercolesterolémicas del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* a dosis de C + camu camu 500 mg/kg presenta un valor de 0,50E-07 ± 0,21E-08, en comparación con atorvastatina que oscila entre 3,94E-07 ± 7,14E-08 (ver Figura 12), esto indica que el marcador de la peroxidación lipídica MDA disminuye a medida que se incrementa la dosis de camu camu, observándose una destacada acción antioxidante dosis dependiente (ver Tabla 6). Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Aguilar y Ávalos (2018), donde demostraron que los niveles de MDA para el grupo blanco (agua) fue 0,794 mmol/g, en el grupo control (ratas con cancer) fue 3,146 mmol/g y en los grupos 1 (camu camu 50 mg/kg) fue de 2,280 mmol/g y en el grupo problema 2 (camu camu 150 mg/kg) fue de 1,849 mmol/g, siendo este último el que presento menor daño oxidativo. Otros trabajos además argumentan inhibición de la lipooxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (COX), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO), evitando la formación de ERO *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos. Así mismo existe inhibición enzimática implicadas indirectamente en procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2, además estimula sistemas de defensa enzimático como el superóxido dismutasa (SDO) y la catalasa (CAT). Quedando demostrado que los flavonoides se interponen en la formación y propagación de radicales libres (Enciso y Arroyo, 2011).

En la presente investigación se evidencia que el consumo de extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* camu camu disminuye los niveles de malondialdeido, evidenciándose mejor efecto a la dosis de 500 mg/kg (ver Tabla 6).

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

1. El extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh “camu camu” contiene polifenoles, flavonoides, taninos, terpenoides y esteroides.

2. Se ha demostrado que la administración de 500 mg/Kg de peso del extracto acuoso de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh “camu camu” presentó efecto hipolipemiante sobre las ratas inducida con colesterol, reduciendo el colesterol total, LDL, VLDL y triglicéridos, para el caso de HDL presentó mejor resultado la dosis de 50 mg/kg de camu-camu.

3. El método DPPH evidencia que el extracto acuoso de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh tiene una actividad antioxidante correspondiente a un IC50 =32,22 ± 1,5 µg/mL.

4. El efecto antioxidante *in vivo* mediante la medición sérica del MDA demuestra que a dosis de 500 mg/kg de camu camu presenta una notable acción antioxidante dosis dependiente.

CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES

1. Se sugiere continuar con la investigación fitoquímica para identificar nuevos metabolitos con actividad quelante de hierro y además con propiedades secuestradoras de radicales libres.

2. Evaluar otras dosificaciones (1 gramo que es el límite permitido) de *Myrciaria dubia* frente al tratamiento de colesterol total y triglicéridos. Considerando que a dosis intermedias tenemos mejor efecto frente a HDL-C. Así como la comparación de dichas dosis con fármacos de efecto hipolipemiante.

3. Medir la actividad antioxidante *in vitro* utilizando otros modelos de actividad antioxidante como el ABTS y el FRAP.

4. Realizar estudios más profundos para confirmar los hallazgos reportados en este trabajo de investigación.

VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afonso, M., de O, A., Carvalho, E., Rivelli, D., Barros, S., Rogero, M., Lottenberg, A., Torres, R. y Mancini-Filho, J. (2013). Phenolic compounds from Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Nutrition & Metabolism*, *10(1)*, 19. doi: 10.1186/1743-7075-10-19

Aguilar, D. y Ávalos, A. (2018). *Efecto del zumo del fruto de Myrciaria dubia H.B.K McVaugh sobre la lipoperoxidación inducida en tejido hepático de Rattus norvegicus var. Albinus con cáncer de colon*. (Tesis para optar el grado académico de bachiller en Farmacia y Bioquímica). Universidad Nacional de Trujillo.

Alvis, R., Pino, J., Gonzáles, J., Francia, J. y Shiga, B. (2010). Efecto citoprotector del camu-camu *Myrciaria dubia* en tres líneas celulares de ratón expuestos in vivo a bromato de potasio. *Revista Peruana de Biología, 17(3)*, 389-392. doi: 10.15381/rpb.v17i3.17

American Veterinary Medical Association (AVMA). (2007). *Guidelines on euthanasia (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia).* Washington DC: Autor.

Arellano-Acuña, E., Rojas-Zavaleta, I., Paucar-Menacho, L. (2016). Camu-camu (*Myrciaria dubia*): Fruta tropical de excelentes propiedades funcionales que ayudan a mejorar la calidad de vida. *Scientia Agropecuaria*, *7(4)*, 433-443. doi: 10.17268/sci.agropecu.2016.04.08

Arráiz, N. (2007). Alteraciones en genes del metabolismo lipídico y enfermedad cardiovascular. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica, 26(1)*, 1-9. Recuperado de http://www.revistaavft.com/images/revistas/2007/avft_1_2007/alteraciones.pdf

Arroyo, J., Rojas, J. y Chenguayen, J. (2004). *Manual de modelos experimentales de farmacología* (1ª ed.). Lima: Editorial Asdimor.

Betancourt, E., González, Y., Bermúdez, D., Escobar, R., Alonso, B. y Blanco, F. (2014). Evaluación del potencial hipolipemiante de dos plantas medicinales en un modelo de hiperlipidemia crónica. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *9(1),* 133-143. Recuperado de http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v19n3/pla02314.pdf

Böhm, H., Boeing, H., Hempel, J., Raab, B. y Kroke, A. (1998). [Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases]. *Zeitschrift fur Ernährungswissenschaft, 37(2)*, 147-63. doi: 10.1007/pl00007376

Brack, A. (1999). *Diccionario enciclopédico de Plantas útiles del Perú*. Cuzco: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo – Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de Las Casas.

Brack, A. (2011). *ATLAS. Tesoros del Perú* (1ª ed.). Lima: UNIMUNDO.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. y Berset., C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology, 28(1)*, 25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Campos, J., Bobadilla, D., Huamán, M. y Bazán, M. (2011). Efecto del extracto del fruto de *Physalis peruviana* "tomatillo" en Mus musculus var. swis con hiperlipidemia inducida. *Scientia Agropecuaria, 2(2)*, 83-89. Recuperado de https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/47/56

Canalizo-Miranda, E., Favela-Pérez, E., Salas-Anaya, J., Gómez-Díaz, R., Jara-Espino, R., Torres-Arreola, L., Viniegra-Osorio, A. (2013). Guía de práctica clínica Diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias. *Revista Médica del* Instituto Mexicano del Seguro Social, 51(6), 700-709. Recuperado de https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2013/im136t.pdf

Cássia, M., Patrocínio, J., Fernandes, R., Lopes, J., Ozaki, L. y Silva, E. (2012). Efeito hipolipidêmico do suco de camu-camu em ratos. Revista de Nutrição, 25(1), 35-44. doi: 10.1590/S1415-52732012000100004

Chiodo, S., Leopoldini, M., Russo, N. y Toscano, M. (2010). The inactivation of lipid peroxide radical by quercetin. A theoretical insight. *Physical Chemistry Chemical Physics, 12,* 7662-7670. doi: 10.1039/B924521A

Delgado-Roche, L. y Martínez-Sánchez, G. (2010). Papel de las especies reactivas del oxígeno en el daño al miocardio inducido por isquemia/reperfusión. *Revista Argentina de Cardiología, 78(1)*, 54-60. Recuperado de https://www.redalyc.org/pdf/3053/305326908013.pdf

De Souza Schmidt Gonçalves, A., Lellis-Santos, C., Curi, R., Lajolo, F. y Genovese, M. (2014). Frozen pulp extracts of camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) attenuate the hyperlipidemia and lipid peroxidation of Type 1 diabetic rats. *Food Research International, 64*, 1–8. doi: 10.1016/j.foodres.2014.05.074

Draper, H., Squires, E., Mahmmoodi, H., Wu, J., Agarwal, S. y Hadley, M. (1993). A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free radical biology & medicine, 15(4)*, 353-363. doi: 10.1016/0891-5849(93)90035-S

Enciso, E. y Arroyo, J. (2011). Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de Jungia rugosa Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina, 72(4)*, 231-237. doi: 10.15381/anales.v72i4.1074

Estepa, V., Ródenas, S. y Martín, M. (2001). Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia, 67(3)*, 1-16.

González, Y., Castillo, O., Santiesteban, D., Mena, Y. y Blanco, F. (2015). Evaluación del efecto hipolipemiante de *Talinum triangulare* (falsa espinaca) y Abelmoschus esculentus (quimbombó). *Revista Cubana de*

Plantas Medicinales, 20(3), 290-300. Recuperado de https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2015/cpm153d.pdf

Herrera-Calderón, O., Alvarado-Puray, C., Arroyo-Acevedo, J., Rojas-Armas, J., Chumpitaz-Cerrate, V., Hañari-Quispe, R. y Valenzuela-Herrera, R. (2018). Phytochemical Screening, Total Phenolic Content, Antioxidant, and Cytotoxic Activity of Five Peruvian Plants on Human Tumor Cell Lines. *Pharmacognosy Research, 10(2),* 161-165. doi: 10.4103/pr.pr_109_17

Hurtado-Manrique, P., Jurado, B., Ramos, E. y Calixto, M. (2015). Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de juglans neotropica Diels (nogal peruano). *Revista de la Sociedad Química del Perú, 81(3)*, 283-291. doi: 10.37761/rsqp.v81i3.35

Inoue, T., Komoda, H., Uchida, T. y Node, K. (2008). Tropical fruit camu-camu (Myrciaria dubia) has antioxidative and anti-inflammatory properties. *Journal of Cardiology, 52(2)*, 127-132. doi: 10.1016/j.jjcc.2008.06.004

Kirk, E., Sutherland, P., Wang, S., Chait, A. y Leboeuf, R. (1998). Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL-receptor-deficient mice. *The Journal of Nutrition, 128(6)*, 954-959. doi: 10.1093/jn/128.6.954

Lambert, G., Sjouke, B., Choque, B., Kastelein, J. y Hovingh, K. (2012). The PCSK9 decade. *Journal of Lipid Research, 53(12)*, 2515-2524. doi: 10.1194/jlr.R026658

León-Regal, M., Cedeño-Morales, R., Rivero-Morey, R., Rivero-Morey, J., García-Pérez, D. y Bordón-González, L. (2018). La teoría del estrés oxidativo como causa directa del envejecimiento celular. *Medisur, 16(5),* 699-710. Recuperado de http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v16n5/ms12516.pdf

Li-Jun, F., Chen-Huan, Y., Ke-Jing, Y., Jian. H. y Xiao-Yan, D. (2011). Hypolipidemic and antioxidant effects of total flavonoids of Perilla Frutescens leaves in hyperlipidemia rats induced by high-fat diet. *Food Research International*, *44(1)*, 404-409. doi: 10.1016/j.foodres.2010.09.035

Lock O. (1994). *Investigación Fotoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales* (2ª ed.). Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú.

López-de-Dicastillo, C., Alonso, J., Catalá, R., Gavara, R. y Hernández-Muñoz, P. (2010). Improving the antioxidant protection of packaged food by incorporating natural flavonoids into ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH) films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(29),* 10958-10964. doi: 10.1021/jf1022324

Lusis, A. y Pajukanta, P. (2008). A treasure trove for lipoprotein biology. *Nature Genetics, 40(2),* 129-130. doi: 10.1038/ng0208-129

Maldonado, O., Ramírez, I., García, J., Ceballos, G. y Méndez, E. (2012). Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 43(2),* 7-22. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v43n2/v43n2a2.pdf

Martínez-Florez, S., González-Gallego, J., Culebras., J y Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria, 17(6),* 271-78.

Mcrae, M. (2006). The efficacy of vitamin C supplementation on reducing total serum cholesterol in Human subjects: a review and analysis of 51 experimental trials. *Journal of Chiropractic Medicine, 5(1)*, 2-12. doi: 10.1016/S0899-3467(07)60127-X

Murray, R., Bender, D., Botham, K., Kennelly, P., Rodwell, V. y Weil, A. (2010). *HARPER. Bioquímica Ilustrada* (28ª edición). México D.F.: McGraw-Hill.

Najmeh, K., Sedigheh, A. y Mahbubeh, S. (2011). Lipid lowering by hydroalcoholic extracts of Amaranthus Caudatus L. induces regression of rabbit's atherosclerotic lesions. *Lipids in Health and Disease, 10*, 89. doi: 10.1186/1476-511X-10-89

Nascimento, O., Boleti, A., Yuyama, L. y Lima, E. (2013). Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências, 85(1)*, 355-363. doi: 10.1590/S0001-37652013005000001

Osorio, J. y Aguirre, C. (2013). Relación entre el metabolismo de los triglicéridos y aterosclerosis en la hipercolesterolemia familiar. *Biosalud, 12(1),* 39 – 48. Recuperado de http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n1/v12n1a06.pdf

Pérez, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 22(1)*, 48-57. Recuperado de http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v22n1/ibi07103.pdf

Pinto, A., Oliveira, T., Nagem, T., Gomes, S., Costa, N., Oliveira, M. (1999). Ação de flavonóides sobre os níveis de lipídios em ratos tratados com triton e seus efeitos antioxidantes. *Revista da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, 21*, 21-28.

Rodrigo, G. y Yanqui, Y., (2018). *Efecto del extracto de Guayaba (psidium guajava l.) sobre los triglicéridos totales y los niveles séricos de colesterol total, HDL, LDL, en ratas hipercolesterolemicas inducidas experimentalmente, Arequipa – 2017*. (Tesis para optar el Título Profesional de Licenciadas en Nutrición Humana). Universidad Nacional San Agustín de Arequipa.

Rosas, A., Lama, G., Llanos-Zavalaga, F. y Dunstan, J. (2002). Prevalencia de obesidad e hipercolesterolemia en trabajadores de una institución estatal de Lima – Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 19(2)*, 87-92. Reccuperado de http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v19n2/a07v19n2.pdf

Ruiz-Roso, B., Pérez-Olleros, L., Requejo, A. (2003). El Exxenterol, un extracto polifenólico natural de fibra vegetal insoluble con un potente efecto de reducción de los valores séricos de colesterol. *Schironia, 2,* 5-9.

Tall, A., Green, P., Glickman, R. y Riley, J. (1979) Metabolic fate of chylomicon phospholipids and apoproteins in the rat. *The Journal of Clinical Investigation, 64(4)*, 977-989. doi: 10.1172/JCI109564

Torres, M., Trejo, A., Posadas, R., Zamora, J., Ichazo, M., Meave, A., Cardoso, G. y Posadas, C. (2001). Efecto del extracto de nopal sobre lípidos y lipoproteínas en hipercolesterolemia moderada. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, 39(6)*, 491-499.

Vásquez, M. (2018). *Polifenoles y actividad antioxidante del extracto etanólico de* Gentianella dianthoides *(Kunth) Fabris y elaboración de una crema dermocosmética.* (Tesis para optar al Grado Académico de Magister en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética). Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Verde, W. y Nazario, J. (2018). Suelos potenciales para el cultivo de camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.McVaugh) en la provincia de Coronel Portillo, región Ucayali. *Anales Científicos*, *79 (1)*, 151-158.

Vicente-Vicente, L., Prieto, M. y Morales, A. (2013) Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. *Revista de Toxicología, 30(2),* 171-181.

Villanueva-Tiburcio, J., Condeso, L y Asquieri, E. (2010). Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh). *Food Science and Techonology, 30(1),* 151-160. doi: 10.1590/S0101-20612010000500023

Wang, X., Hasegawa, J., Kitamura, Y., Wang, Z., Matsuda, A., Shinoda, W., Miura, N. y Kimura, K. (2011). Effects of Hesperidin on the Progression of Hypercholesterolemia and Fatty Liver Induced by High-Cholesterol

Diet in Rats. *Journal of Pharmacological Sciences, 117(3)*, 129 – 138. doi: 10.1254/jphs.11097FP

Wigdorovitz-Wikinski, R., López, G y Lucero, D. (2016). Efectos inflamatorios, oxidativos y aterogénicos del receptor endotelial de la lipoproteína de baja densidad oxidada-1. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 50(4)*, 6296-34.

Zambrana, S. (2007). *Caracterización de la actividad biológica de* Opuntia soehrensii *empleando como modelo la infección in vitro del virus herpes simple* (Tesis para optar el grado de Magister Scientiarum con mención en Virología). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.

Zanatta, C., Cuevas, E., Bobbio, F., Winterhalter, P. y Mercadante, A. (2005). Determination of Anthocyanins from Camu-camu (Myrciaria dubia) by HPLC - PDA, HPLC - MS, and NMR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53(24)*, 9531-9535. doi: 10.1021/jf051357v

VIII: ANEXOS

Anexo 1. Constancia de clasificación y posición taxonómica de *Myrciaria dubia* Camu camu

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA Nº 341-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (frutos), recibida de **Corina Ysabel ALVARADO PURAY**, estudiante de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; ha sido estudiada y clasificada como ***Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh**; y tiene la siguiente posición taxonómica; según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: MYRTALES

FAMILIA: MYRTACEAE

GENERO: *Myrciaria*

ESPECIE: *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh

Nombre vulgar: "Camu camu"
Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 24 de setiembre de 2018

MUSEO DE HISTORIA NATURAL – Herbario San Marcos – USM – JEFE

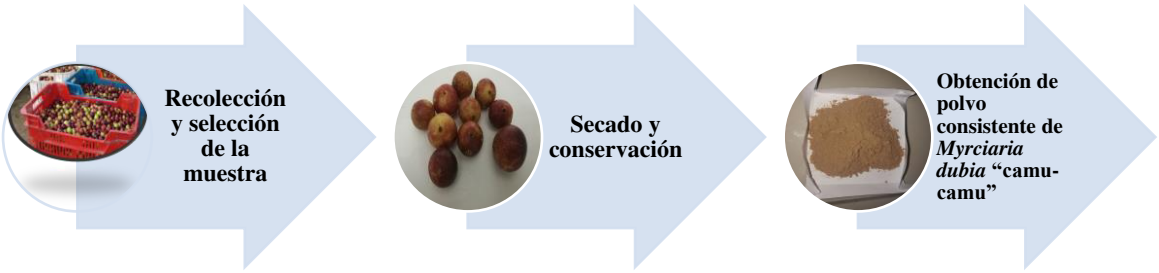
Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

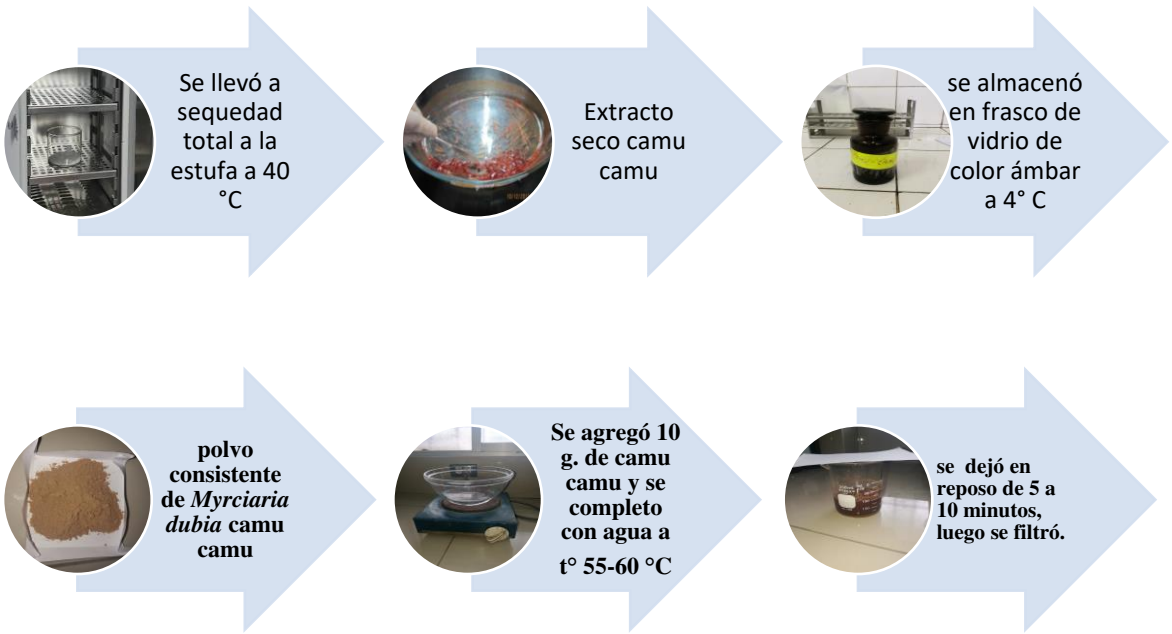
Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú
Teléfono: 619-7000 anexo 5701, 5703, 5704
E-mail: museohn@unmsm.edu.pe
http://museohn.unmsm.edu.pe

Anexo 2. Preparación del material vegetal de *Myrciaria dubia* Camu camu

a) Preparación del material vegetal



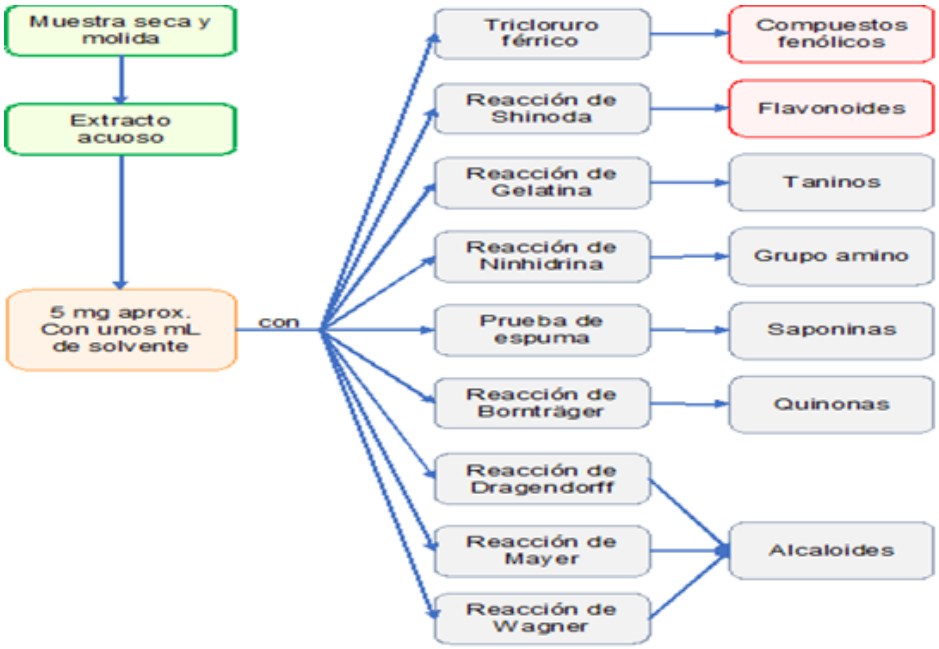
b) Preparación del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* camu camu, Método de infusión.



*Fuente***.** Elaboración propia, diciembre de 2014.

Anexo 3. Análisis cualitaivo preliminar del extrcto acuosos del fruto de *Myrciaria dubia* "camu camu"

a) Flujograma del análisis cualitativo preliminar del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* "camu camu"



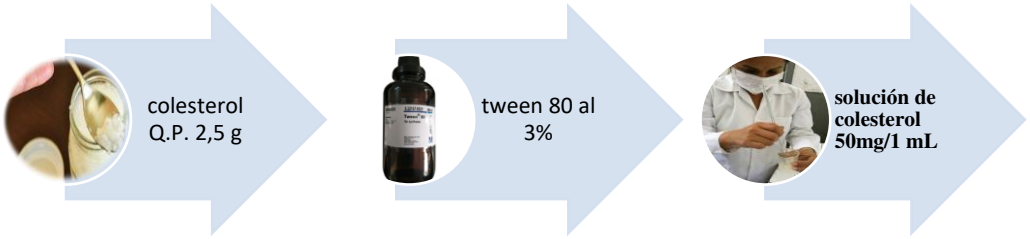
Prueba de identificación Fitoquímica – Análisis de metabolitos secundarios

Marcha Fitoquímica del fruto de *Myrciaria dubia*

Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

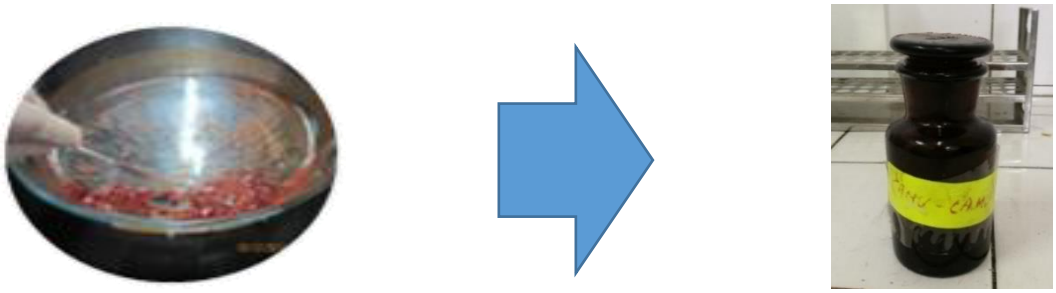
Anexo 4. Preparación de insumos para demostrar el efecto hipolipemiante de *Myrciaria dubia* "Camu camu"

a) Preparación de la dosis de colesterol 50 mg/mL.



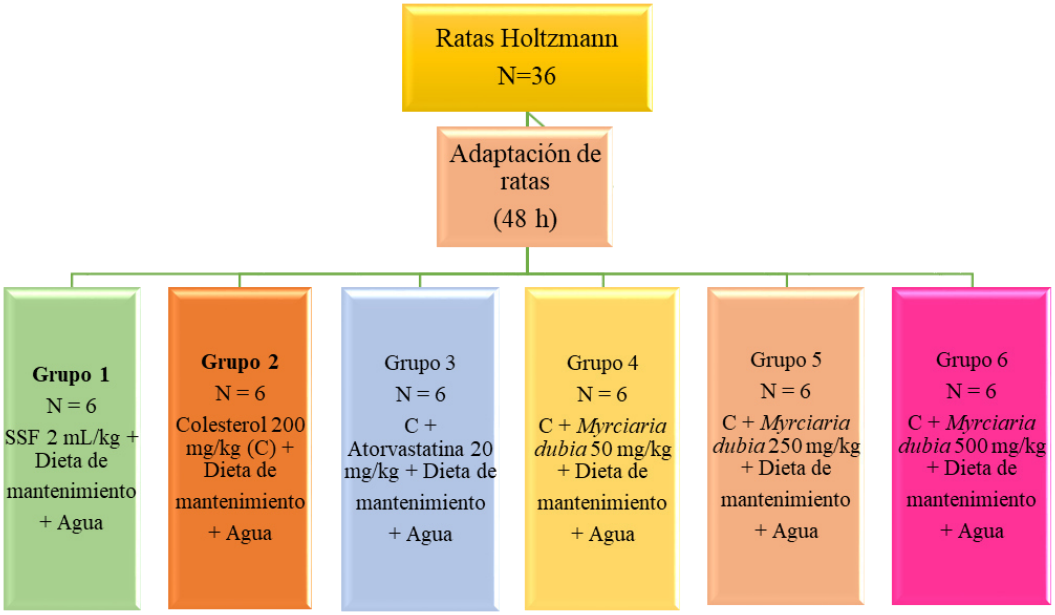
b) Preparación de la solución de atorvastatina 10 mg/mL.

c) Preparación de la muestra problema de camu camu.



Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

Anexo 5. Diagrama de distribución de los animales en grupos de experimentación



Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

Identificación y registro de peso de los animales de experimentación

Día	15/11/2013	20/11/2013	28/11/2013	05/12/2013	13/12/2013	20/12/2013	07/01/2014	17/01/2014	24/01/2014
Grupos	1° PESO	2° PESO	3° PESO	4° PESO	5° PESO	6° PESO	7° PESO	8° PESO	9° PESO
BLANCO	234,5	235	241,1	243,4	265,7	275,3	278,9	280	297,5
ROJO	244,3	252,0	279,2	292,5	319,7	323,7	329,8	322,3	325,2
AMARILLO	228,5	237,7	261,8	269,5	284,3	294,2	276,2	287,7	300,2
AZUL	238,3	241,2	262,5	278,7	301,7	305,3	327,5	318,5	316,7
NEGRO	228,0	238,0	260,0	278,3	306,8	309,2	324,5	322,7	328,5
VERDE	210,0	222,3	250,0	261,5	287,2	272,2	304,3	302	304

Fuente. Elaboración propia, diciembre 2014.

➢ Tratamiento para los grupos

Grupos		TRATAMIENTO				
		Colesterol 50 mg/mL	Atorvastatina 10mg/mL	10 % de solución de camu camu 50 mg/Kg	10% de solución de camu camu 250 mg/Kg	10% de solución de camu camu 500 mg/Kg
15/11/2013	BLANCO					
	ROJO	0.73				
	AMARILLO	0.69	0.46			
	AZUL	0.72		0.12		
	NEGRO	0.68			0.60	
	VERDE	0.63				1.05
20/11/2013	BLANCO					
	ROJO	1.01				
	AMARILLO	0.95	0.48			
	AZUL	0.96		0.12		
	NEGRO	0.95			0.60	
	VERDE	0.89				1.11
28/11/2013	BLANCO					
	ROJO	1.12				
	AMARILLO	1.05	0.52			
	AZUL	1.05		0.13		
	NEGRO	1.04			0.65	
	VERDE	1.00				1.25
05/12/2013	BLANCO					
	ROJO	1.17				
	AMARILLO	1.08	0.54			
	AZUL	1.11		0.14		
	NEGRO	1.11			0.70	
	VERDE	1.05				1.31
13/12/2013	BLANCO					
	ROJO	1.28				
	AMARILLO	1.14	0.57			
	AZUL	1.21		0.15		
	NEGRO	1.23			0.77	
	VERDE	1.15				1.44
20/12/2013	BLANCO					
	ROJO	1.29				
	AMARILLO	1.18	0.59			
	AZUL	1.22		0.15		
	NEGRO	1.24			0.77	
	VERDE	1.09				1.36
07/01/2014	BLANCO					
	ROJO	1.32				
	AMARILLO	1.10	0.55			
	AZUL	1.31		0.16		
	NEGRO	1.30			0.81	
	VERDE	1.22				1.52
17/01/2014	BLANCO					
	ROJO	1.48				
	AMARILLO	1.32	0.58			
	AZUL	1.47		0.16		
	NEGRO	1.48			0.81	
	VERDE	1.39				1.51

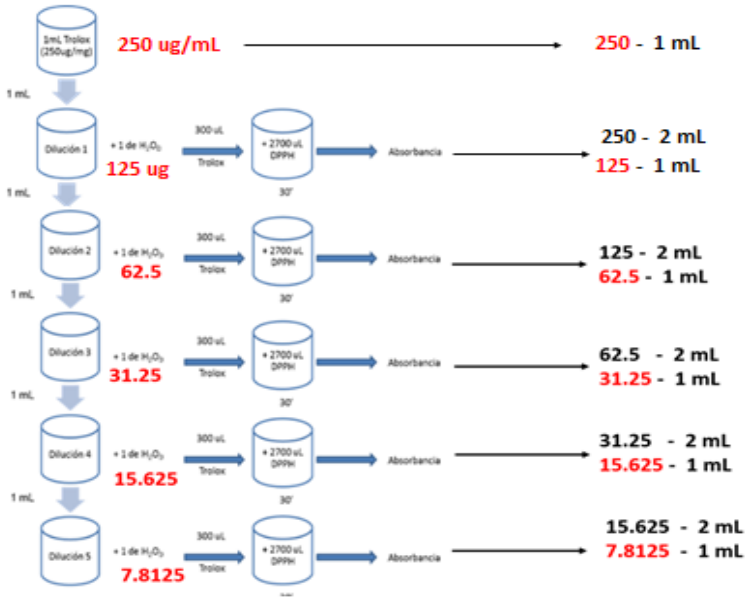
Fuente. Elaboración propia, noviembre de 2014.

- **Todos los animales de experimentación.**

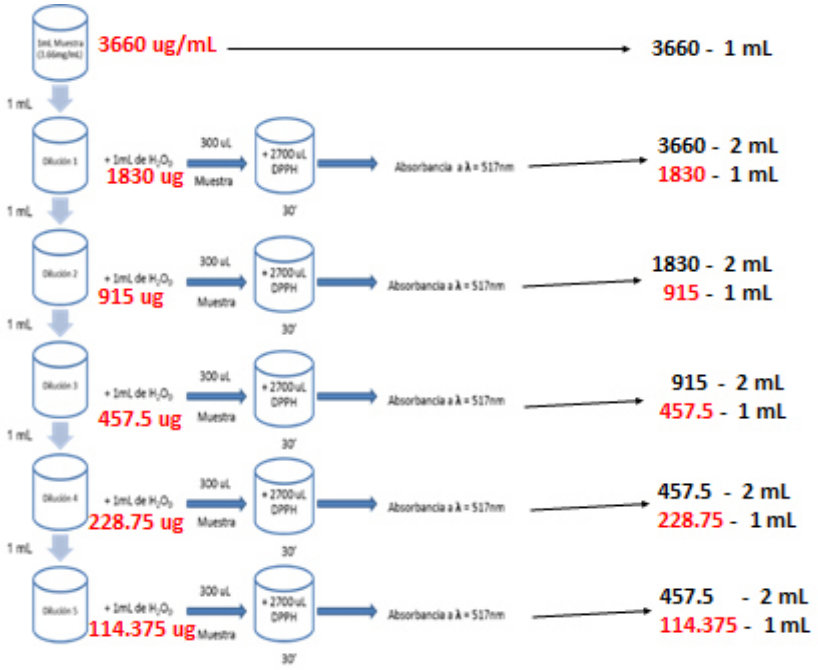
EFECTO HIPOLIPEMIANTE CAMU CAMU SOLUCIÓN AL 10% 28 DE NOVIEMBRE 2013												
Nro.	Rata	3° Peso (g)	Colesterol 200 mg/Kg	Colesterol 50 mg/mL	Atorvastatina 20 mg/kg	Atorvastatina 10 mg/mL	10% 50 mg/Kg	Solución de camu camu al 10% 100 mg/mL	10% 250 mg/Kg	Solución de camu camu al 10% 100 mg/mL	10% 500 mg/Kg	Solución de camu camu al 10% 100 mg/mL
1	Rojo	257	51,4	1,028								
2	Rojo	268	53,6	1,072								
3	Rojo	292	58,4	1,168								
4	Rojo	320	64	1,28								
5	Rojo	282	56,4	1,128								
6	Rojo	256	51,2	1,024								
PROMEDIO		279,2	55,8	1,117								
1	Amarillo	253	50,6	1,012	5,06	0,506						
2	Amarillo	272	54,4	1,088	5,44	0,544						
3	Amarillo	263	52,6	1,052	5,26	0,526						
4	Amarillo	278	55,6	1,112	5,56	0,556						
5	Amarillo	267	53,4	1,068	5,34	0,534						
6	Amarillo	238	47,6	0,952	4,76	0,476						
PROMEDIO		261,8	52,4	1,047		0,524						
1	Azul	274	54,8	1,096			13,7	0,137				
2	Azul	297	59,4	1,188			14,85	0,1485				
3	Azul	190	38	0,76			9,5	0,095				
4	Azul	262	52,4	1,048			13,1	0,131				
5	Azul	261	52,2	1,044			13,05	0,1305				
6	Azul	291	58,2	1,164			14,55	0,146				
PROMEDIO		262,5	52,5	1,050				0,131				
1	Negro	269	53,8	1,076					67,25	0,6725		
2	Negro	243	48,6	0,972					60,75	0,608		
3	Negro	260	52	1,04					65	0,65		
4	Negro	238	47,6	0,952					59,5	0,595		
5	Negro	271	54,2	1,084					67,75	0,678		
6	Negro	279	55,8	1,116					69,75	0,698		
PROMEDIO		260	52	1,04						0,65		
1	Verde	221	44,2	0,884							110,5	1,105
2	Verde	223	44,6	0,892							111,5	1,115
3	Verde	254	50,8	1,016							127	1,270
4	Verde	260	52	1,04							130	1,3
5	Verde	270	54	1,08							135	1,350
6	Verde	272	54,4	1,088							136	1,36
PROMEDIO		250,0	50,0	1,000								1,250

Fuente. Elaboración propia, noviembre de 2013.

Anexo 6. Flujograma del procedimiento de la evaluación de la acitividad antioxidante



A. Dilución del estándar de Trolox



B. Dilución de la muestra

Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.

Anexo 7. Prueba Post Hoc Tukey.

Prueba post hoc tukey HDL-C del efecto hipolipemiante del extracto acuoso del fruto de *Myrciaria dubia* Camu camu.

Análisis de múltiples comparaciones de Tukey HSD de los datos obtenidos al evaluar el efecto hipolipemiante del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia "camu camu" en ratas Holtzman

Dependent Variable	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Mean Differ	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Colesterol mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Atorvastatina 20 mg/kg	21.00	5.07	0.003	5.59	36.41
Colesterol mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Camu camu 50 mg/kg	15.33	5.07	0.052	-0.07	30.74
Colesterol mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Camu camu 250 mg/kg	21.67	5.07	0.002	6.26	37.07
Colesterol mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Camu camu 500 mg/kg	23.17	5.07	0.001	7.76	38.57
Colesterol mg/dL	C + Atorvastatina 20 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-21.00	5.07	0.003	-36.41	-5.59
Colesterol mg/dL	C + Camu camu 250 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-21.67	5.07	0.002	-37.07	-6.26
Colesterol mg/dL	C + Camu camu 500 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-23.17	5.07	0.001	-38.57	-7.76
LDL-C mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Atorvastatina 20 mg/kg	15.52	4.58	0.022	1.58	29.45
LDL-C mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Camu camu 50 mg/kg	15.37	4.58	0.024	1.43	29.30
LDL-C mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Camu camu 250 mg/kg	20.68	4.58	0.001	6.75	34.62
LDL-C mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Camu camu 500 mg/kg	19.92	4.58	0.002	5.98	33.85
LDL-C mg/dL	C + Atorvastatina 20 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-15.52	4.58	0.022	-29.45	-1.58
LDL-C mg/dL	C + Camu camu 50 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-15.37	4.58	0.024	-29.30	-1.43
LDL-C mg/dL	C + Camu camu 250 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-20.68	4.58	0.001	-34.62	-6.75
LDL-C mg/dL	C + Camu camu 500 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-19.92	4.58	0.002	-33.85	-5.98
VLDL mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Atorvastatina 20 mg/kg	4.93	1.54	0.034	0.26	9.61
VLDL mg/dL	C + Atorvastatina 20 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-4.93	1.54	0.034	-9.61	-0.26
Triglicéridos mg/dL	Colesterol 200 mg/kg (C)	C + Atorvastatina 20 mg/kg	24.67	7.38	0.025	2.22	47.11
Triglicéridos mg/dL	C + Atorvastatina 20 mg/kg	Colesterol 200 mg/kg (C)	-24.67	7.38	0.025	-47.11	-2.22
Triglicéridos mg/dL	C + Atorvastatina 20 mg/kg	C + Camu camu 250 mg/kg	-23.17	7.38	0.040	-45.61	-0.72
Triglicéridos mg/dL	C + Camu camu 250 mg/kg	C + Atorvastatina 20 mg/kg	23.17	7.38	0.040	0.72	45.61
*	The mean difference is significant at the .05 level.						

Fuente. Elaboración propia, diciembre de 2014.