



Gonzalez Aguilar, Gustavo Adolfo <gustavo@ciad.mx>

Informe Técnico Final Fronteras de la Ciencia 563

2 mensajes

Gonzalez Aguilar, Gustavo Adolfo <gustavo@ciad.mx>

18 de mayo de 2018, 16:42

Para: Elizabeth Olivares Teran <eolivares@conacyt.mx>, Araceli Flores Chávez <arflores@conacyt.mx>, Angelica Cordova <acordova@ciad.mx>

Cco: Monica Villegas <mvillegas@ciad.mx>

Estimada Lic. Olivares

A continuación le envío el link para que pueda acesar al informe técnico final y todos los documentos comprobatorios del Proyecto Fronteras de la Ciencia No. 563 del cual soy responsable técnico. Le pido de la manera más atenta me confirme que haya podido abrirlo sin problemas. Muchas gracias por toda sus atenciones, quedo a sus órdenes para cualquier comentario o aclaración.

<https://drive.google.com/drive/folders/1HovX181VcncPnxS2yqNlgKymTXYvOpyh>

Saludos cordiales

Dr. Gustavo González

--

"He visto que todo trabajo y toda excelencia de obras despierta la envidia del hombre contra su prójimo. También esto es vanidad y aflicción de espíritu" Ecl.10.4

Dr. Gustavo A. González-Aguilar

SNI III Miembro AMC

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a la Victoria Km 0.6. Col. La Victoria, Hermosillo Sonora (83000) México

Lab. de Antioxidantes y Alimentos Funcionales

Tel 00-52-6622-892400 ext 272

fax 00-52-6622-80-0422

Elizabeth Olivares Teran <eolivares@conacyt.mx>

21 de mayo de 2018, 10:34

Para: "Gonzalez Aguilar, Gustavo Adolfo" <gustavo@ciad.mx>, Araceli Flores Chávez <arflores@conacyt.mx>, Angelica Cordova <acordova@ciad.mx>

Estimado Dr. González:

Acuso de recibida la documentación contenida en la liga.

Que tenga una bonita tarde.

Lic. Elizabeth Olivares Terán

Subdirectora de Gestión de Proyectos Institucionales.

CONACYT.

Av. Insurgentes Sur No. 1582, 6 Piso Ala Sur

Col. Crédito Constructor, C.P. 03490

Del. Benito Juárez, México, D.F.

eolivares@conacyt.mx

Tel. (55) 5322-7700 Ext. 6022

De: Gonzalez Aguilar, Gustavo Adolfo [mailto:gustavo@ciad.mx]

Enviado el: viernes, 18 de mayo de 2018 18:43

Para: Elizabeth Olivares Teran <eolivares@conacyt.mx>; Araceli Flores Chávez <arflores@conacyt.mx>; Angelica Cordova <acordova@ciad.mx>

Asunto: Informe Técnico Final Fronteras de la Ciencia 563

[El texto citado está oculto]

ID_PROYECTO	SUJETO DE APOYO	TÍTULO
1	Universidad Nacional Autónoma de México	Nano-vehículos biocatalíticos para usos médicos.
2	Universidad Nacional Autónoma de México	Resiliencia al Cambio Climático por Asimilación Genética, "Un Nuevo Paradigma en Biología Evolutiva"
6	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Viviendo dentro del otro: la endosimbiosis bacteria-hongo y su regulación epigenética
8	Universidad Nacional Autónoma de México	Desarrollo de nuevas toxinas insecticidas de Bacillus thuringiensis contra la plagas invasivas de cultivos primordiales para México como maíz y algodón
11	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Proteínas con nuevos mecanismos de ensamblaje: Ingeniería de proteínas, métodos de selección, diseño de fármacos
15	Universidad Nacional Autónoma de México	Enfrentando el Reto de Integración Genómico y Bioinformático en dos modelos biológicos: E.coli y genoma humano. Transformar datos e información en conocimiento comprensible.
16	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Vesículas de levaduras como nano-reactores para la producción de nuevos materiales
20	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Inspección global, evolución y análisis funcional de pseudogenes de tipo "afásico" en plantas.
23	Universidad Nacional Autónoma de México	Papel de la cinasa SPAK en la regulación del metabolismo energético y en la obesidad
35	Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.	Cambios metabólicos y el sistema de transducción de señales asociados a la interacción de Capsicum chinense con Phytum sp.
57	Universidad Nacional Autónoma de México	Arquitectura funcional de los microcircuitos corticales
63	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Control optogenético del apetito: uso de microendoscopios para visualizar la actividad de ensamblajes neuronales relacionados a la alimentación
65	Instituto Politécnico Nacional	Nuevos modelos neuro-computacionales y su aplicación en el diseño y control de robots
71	Universidad Nacional Autónoma de México	Nuevas herramientas de fluorescencia para identificar en nanodominios la actividad de canales de Ca ²⁺ individuales y cambios en el pH local y potencial eléctrico importantes en la fisiología del espermatozoide
76	Universidad Nacional Autónoma de México	Física de la Materia Condensada Blanda
77	Universidad Nacional Autónoma de México	Nuevos paradigmas en el estudio del alosterismo de proteínas de membrana
96	Universidad Nacional Autónoma de México	Implementación de un sistema de transformación de plástidos como una alternativa para el análisis y manipulación de la síntesis de isoprenoides

ID_PROYECTO	SUJETO DE APOYO	TÍTULO
101	Instituto Politécnico Nacional	Electrónica de Potencia de Alta Densidad de Energía para Vehículos Sustentables
110	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Perovskitas híbridas: relación entre propiedades estructurales, opto-electrónicas y eficiencia en el proceso de conversión de luz a electricidad.
115	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán	Inmunoterapia de la tuberculosis
117	Universidad Nacional Autónoma de México	Modulación dinámica de las redes neurales por la microglía
118	Universidad Nacional Autónoma de México	Biosíntesis y función de esfingolípidos en bacterias
122	Tecnológico Nacional de México	Lógica Difusa en Algoritmos de Optimización Bio-Inspirados para Adaptación Dinámica de Parámetros
137	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Uso de herramientas genómicas y metabolómicas para la caracterización de las redes de regulación genética responsables del control de la tolerancia a la desecación en las semillas.
138	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	DESARROLLO Y APLICACIÓN DE MATERIALES AVANZADOS PARA LA RESTAURACIÓN Y CONSERVACIÓN DE MONUMENTOS HISTÓRICOS
140	Universidad de Colima	Señalización por calcio, sus vías de modulación y potencial terapéutico en las células iniciadoras de la leucemia
141	Instituto Politécnico Nacional	Desarrollo de fibras poliméricas antimicrobianas en sistemas precosecha, para la conservación de frutas y hortalizas
152	Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares	Polímeros particulados con aplicación en el sistema nervioso central con lesiones crónicas
157	Universidad Autónoma de San Luis Potosí	Interferometría atómica potenciada por cavidades ópticas
177	Universidad Nacional Autónoma de México	Genómica de la Diversidad de Vertebrados Mexicanos 1: Leptonycteris y la evolución de la nectarivoría en murciélagos y aves.
179	Universidad Nacional Autónoma de México	Fotoquímica Ultrarrápida y de Molécula Individual Aplicada a Sensores y Máquinas Moleculares
184	Universidad Nacional Autónoma de México	La metilación de adenosinas en RNA y su papel en la regulación de la expresión genética en plantas terrestres
187	Universidad Nacional Autónoma de México	Papel de los adiposomas y los exosomas tumorales en la regulación del proceso inflamatorio asociado al cáncer de mama en obesidad.
189	Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B.C.	Desarrollo de un sistema de Imágenes Cuánticas con fotones entrelazados

ID_PROYECTO	SUJETO DE APOYO	TÍTULO
192	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	DESARROLLO DE METODOLOGÍAS TEÓRICAS Y EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO Y CONTROL DE FENÓMENOS DE TRANSPORTE DE CALOR A NANOESCALA
196	Universidad Nacional Autónoma de México	Procesamiento de información río-arriba y río-abajo en el circuito audiomotor durante el seguimiento del ritmo de un metrónomo en primates humanos y no-humanos
201	Universidad Nacional Autónoma de México	Nuevas técnicas de análisis y modelación multivariados: Econofísica y otros sistemas complejos
214	Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias	La función enzimática de CD38 y sus efectos en las células T: nuevo paradigma en la patogénesis de la enfermedad por el virus de la inmunodeficiencia humana
219	Universidad Nacional Autónoma de México	Multifuncionalidad y Propiedades Emergentes en Proteínas
225	Universidad Nacional Autónoma de México	Estudio de las bases neurales y cognitivas del lenguaje pragmático.
226	Universidad Nacional Autónoma de México	FRIDA: INSTRUMENTO ASTRONÓMICO INFRAROJO DE MUY ALTA RESOLUCIÓN ESPACIAL Y ESPECTRAL
245	Universidad Nacional Autónoma de México	Mecanismos de integración sensorial y toma de decisiones en el sistema somatosensorial de primates.
251	Universidad Nacional Autónoma de México	PAPEL DEL EJE PROLACTINA/VASOINHIBINAS EN LA REGULACION FISIOPATOLÓGICA DE LA UNIDAD NEUROVASCULAR: IMPLICACIONES EN ALTERACIONES CEREBROVASCULARES.
268	Centro de Investigación en Química Aplicada	Nanofertilizantes y promotores del crecimiento de plantas para una agricultura sustentable usando nanopartículas metálicas y grafenos
281	Universidad Nacional Autónoma de México	DESI: Determinando la naturaleza de la Energía Oscura, Materia Oscura, Neutrinos y sus interacciones, a través de la dinámica y estructura del Universo
290	Universidad Nacional Autónoma de México	La organización tridimensional del genoma en la regulación de la expresión génica
292	Universidad Autónoma de Baja California Sur	Estudio integrativo de la biodiversidad y la conservación del Golfo de California, bajo un enfoque de paisaje genético marino y conectividad
296	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Asimetría materia-antimateria en el universo y la búsqueda de nuevas leyes fundamentales de la física mediante medidas de alta precisión
301	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Bases moleculares de la regeneración de tejidos a través de la evolución
312	Universidad Nacional Autónoma de México	SOSTENIBILIDAD ECOLÓGICA: INDICADORES, LEYES EMERGENTES Y CASCADAS MULTIFRACTALES
319	Universidad Nacional Autónoma de México	La Dinámica y Función de las Mitocondrias y el Citoesqueleto Como Integradores de la Señalización por Especies de Oxígeno Reactivas
341	Universidad Autónoma de San Luis Potosí	DETECCIÓN, MANIPULACIÓN E INTERACCIONES A NIVEL DE MOLECULAS INDIVIDUALES

ID_PROYECTO	SUJETO DE APOYO	TÍTULO
344	Universidad Nacional Autónoma de México	Control del campo electromagnético en el campo cercano extremo
367	Universidad Nacional Autónoma de México	Transferencia de calor en la micro y nanoescala
372	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	La manipulación genética de los hongos filamentosos: Una revolución en ciernes
374	Universidad Nacional Autónoma de México	Identificación por resonancia magnética funcional de circuitos neuronales que controlan conductas motivadas
398	Universidad Nacional Autónoma de México	La Sobre-Nutrición Materna Como Factor De Riesgo Para El Desarrollo De Alteraciones Cronostáticas, Metabólicas Y Genotóxicas De La Descendencia
407	Centro de Investigación y Estudios Superiores en Antropología Social	Análisis de los sistema locales de salud en comunidades mayas del oriente de Yucatán, México: alimentación, enfermedad, prácticas e ideas
440	Universidad Autónoma de San Luis Potosí	Física de la materia blanda fuera de equilibrio
446	Universidad Autónoma de Querétaro	Patrones espacio-temporales de la diversidad de receptores antigénicos del lobo marino de California: una aproximación eco-inmunogenómica.
449	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Nuevas terapias génicas contra el cáncer fundamentadas en la teoría embriológica de la tumorigénesis y su convergencia con la reproducción vegetal.
471	Centro de Investigaciones en Óptica, A.C.	Estudio de regímenes no estacionarios, fenómenos dinámicos complejos y eventos ópticos extremos en láseres de fibra pulsados
474	Universidad Nacional Autónoma de México	La corteza insular como nuevo blanco para estudiar los mecanismos celulares de la formación y mantenimiento de las memorias adictivas
487	Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.	Desarrollo de micro y nano partículas de arabinosidos ferulados con estructura de tipo núcleo-coraza y alta densidad de entrecruzamiento covalente para la administración oral de insulina
493	Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B.C.	Ecología, balance de carbono y adaptaciones del zooplancton de la Zona del Mínimo de Oxígeno del Pacífico tropical mexicano.
536	Benemérita Universidad Autónoma de Puebla	Resonancia estocástica optogenética en la corteza cerebral
540	Universidad Autónoma del Estado de México	Diseño e implementación de tecnologías sostenibles para reducir la pobreza extrema de las mujeres rurales mexicanas
541	Universidad Nacional Autónoma de México	Constructivismo Jurídico: cognición, complejidad y derecho.
544	Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Edo. de Jalisco	Doble fertilización en especies de la familia Asparagaceae sub-familia Agavoidea: el papel de la actina en el movimiento de los espermatozoides dentro del saco embrionario.
549	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran	Mecanismos que limitan la duración de la respuesta inmune y su participación en el desarrollo de autoinmunidad

ID_PROYECTO	SUJETO DE APOYO	TÍTULO
563	Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.	Un enfoque multidisciplinario de la farmacocinética de polifenoles de mango Ataulfo: interacciones moleculares, estudios preclínicos y clínicos.
579	Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.	Elucidación del Mecanismo Molecular de Biosíntesis de Cutícula Utilizando como Modelo Frutas Tropicales
611	Universidad Autónoma de Querétaro	Uso de fluidos corporales para la generación de energía en sistemas microfluidicos dérmicos
612	Centro de Investigaciones en Óptica, A.C.	Técnicas ópticas para la formación de imágenes resueltas mediante polarización
635	Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C.	Materiales magnetocalóricos de manganitas de $La_{0.7}(Ca,Sr,Mg)_{0.3}MnO_3$ para refrigeradores magnéticos con regeneradores multicapas
637	Universidad Autónoma Metropolitana	Lixiviación Selectiva: Una Solución Ecológica para Recuperar Metales de Minerales y Materiales Complejos
682	Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey	Desarrollo de novedosos vectores selectivos cargados con moduladores del Uniplex para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca
689	Instituto de Ecología, A.C.	El modelo de la neurona vacía: ciencia de frontera para entender el sistema olfativo de la plaga <i>Euwallacea</i> sp.
733	Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubiran	Uso de células de cáncer de mama como biosensores en la identificación de subgrupos de pacientes con obesidad que responden a metformina asociados a un menor riesgo de desarrollar cáncer de mama
736	Instituto Politécnico Nacional	Origen y evolución de los esfuerzos residuales en componentes en servicio para la industria del transporte
771	Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN	Modeling decision making in bacteria and community assembly through a Synthetic Ecology approach
773	Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)	Búsqueda de biomarcadores genómicos y proteómicos útiles para identificar riesgo, diagnóstico temprano y pronóstico de cáncer de mama y cáncer gástrico.
774	Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Edo. de Jalisco	INTERACCIONES MOLECULARES EN SISTEMAS NANOENCAPSULADOS
783	Universidad de Guadalajara	Endofenotipos del manejo numérico en población abierta y poblaciones de alto y bajo rendimiento
788	Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez	Marcadores pronósticos en las enfermedades vasculares cerebrales: estudios de imagen por resonancia magnética nuclear y neuroquímica

Proyecto Frontera de la Ciencia

I.D. 563

**Un enfoque multidisciplinario de la farmacocinética de polifenoles de mango Ataulfo:
interacciones moleculares, estudios preclínicos y clínicos.**

Dr. Gustavo Adolfo González-Aguilar

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

Grupo de trabajo

Institución	Colaboradores	Actividad
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.	Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala CVU:42754 Dr. Humberto Astiazarán CVU:21465 Dra. Belinda Vallejo Galland CVU:15447 Dr. Aarón Fernando González CVU:145125	Determinación de actividad antioxidante por DPPH, ORAC, TEAC, FRAP e interacciones de compuestos fenólicos y fibra por métodos espectrométricos y de fluorescencia. Además de la determinación del efecto aditivo, antagónico y sinérgico de los compuestos de estudio, pruebas de actividad enzimática y estudios <i>in vivo</i> .
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez	Dr. Emilio Álvarez Parrilla CVU:214679 Dr. Abraham Wall Medrano CVU:214679 Dr. José Alberto López Díaz CVU:121665	Apoyarán en los estudios de biodisponibilidad y farmacocinética de polifenoles de mango en modelos murinos (Bioensayos I y II) Adicionalmente, la expresión de genes del sistema antioxidante, pruebas de actividad enzimática y estudios <i>in vivo</i> .
Universidad Autónoma de Querétaro	Dr. Elhadi Yahia Kazuz CVU: 11131	Apoyo en la identificación de fenoles por HPLC-MS, así como determinar el efecto aditivo, antagónico y sinérgico de los compuestos fenólicos.
Universidad Hebrea de Jerusalén	Dra. Shela Gorinstein <a data-bbox="444 1297 959 1360" href="http://www.huji.ac.il/dataj/controller/ihoker/MOP-STAFF_LINK?sno=9659673&Save_t=">http://www.huji.ac.il/dataj/controller/ihoker/MOP-STAFF_LINK?sno=9659673&Save_t=	Apoyo en la determinación del efecto aditivo, antagónico y sinérgico de los principales fenoles para inhibir radicales libres por fluorescencia, voltametría cíclica y espectroquímica.
Universidad de Tufts	Dr. Jeffrey B. Blumberg <a data-bbox="444 1535 959 1598" href="http://hnrca.tufts.edu/jeffrey-b-blumberg-ph-d/">http://hnrca.tufts.edu/jeffrey-b-blumberg-ph-d/ Dr. Oliver Chen <a data-bbox="444 1692 959 1755" href="http://hnrca.tufts.edu/chung-yen-oliver-chen-ph-d/">http://hnrca.tufts.edu/chung-yen-oliver-chen-ph-d/	Apoyo en la identificación de los compuestos fenólicos por GC-MS. Además ayudarán en la realización de los estudios en humanos para conocer el efecto de la matriz en la farmacocinética de polifenoles.

Grupo de trabajo (continuación)

Institución	Colaboradores	Actividad
Universidad de Texas A&M	Dr. Luis Cisneros http://hortsciences.tamu.edu/people/faculty-2/luis-cisneros-zevallos/	Apoyo en la determinación de la capacidad antiproliferativa de los compuestos absorbidos.
Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey	Dr. Sergio Serna Saldivar CVU: 3598 Dra. Janet Alejandra Gutiérrez Uribe CVU:274602	Apoyará en la determinación de la absorción en células caco-2.
Instituto Tecnológico de Tepic	Dra. Sonia Guadalupe Sáyago Ayerdi CVU:41582	Apoyo en la determinación de la fibra dietaria y la interacción con los compuestos fenólicos.
Universidad de Sonora	Dra. Ofelia Rouzaud Sáñez CVU:120537 Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez CVU:174422 Dra. Lorena Machi Lara Dra. Ofelia Rouzaud Sáñez 120537 Dr. Enrique Fernando Velazquez CVU: Dra. Hisila del Carmen Santacruz Ortega CVU:	Apoyo en la determinación de las propiedades de óxido-reducción por calorimetría, interacciones moleculares mediante NMR, FTIR, fluorescencia e ITC, así como en la determinación de la capacidad antioxidante.
CIAL-España	Dra. Begonia de Ancos Dra. Concepción Sánchez (http://www.ictan.csic.es/investigacion/grupos-de-investigacion/calidad-y-funcionalidad-de-alimentos-vegetales-bioveg/) ,	Apoyarán en la determinación de biodisponibilidad y bioaccesibilidad y apoyo en técnicas cromatográficas.
CEPROBI-Instituto Politécnico Nacional	Dr. Luis Arturo Bello Pérez CVU:9958	Apoyo en la determinación de la fibra dietaria y en las técnicas de determinación de interacciones moleculares

Antecedentes

El mango cultivar Ataulfo es un fruto tropical de origen mexicano rico en fibra dietaria, vitaminas y diversos fitoquímicos [1] y ha sido un modelo de estudio de nuestro grupo de investigación principalmente por sus propiedades antioxidantes. La investigación ha tenido un avance satisfactorio gracias al trabajo en grupo y a la formación de redes de investigación (www.alfanutra.com, CYTED XI.22). Los polifenoles (PF) constituyen la mayoría de los metabolitos secundarios de las plantas y son probablemente las moléculas de interés nutracéutico más investigadas [2], pero falta abordar estudios más básicos sobre aspectos biológicos y físicos, una vez consumidos los alimentos ricos en PF. Entre sus principales propiedades destacan su capacidad antioxidante y la promoción de diversos efectos benéficos en la salud, como la prevención de enfermedades cardiovasculares y cáncer [3-6]. Se ha reportado que el mango Ataulfo posee una mayor capacidad antioxidante en comparación con otras variedades de mango, lo cual se atribuye principalmente a la alta concentración de vitamina C, carotenoides y polifenoles presentes en su pulpa [7, 8]. En base a esto, se sugiere que el consumo de éste fruto puede proporcionar diversos beneficios a la salud [5, 9]. La absorción y metabolismo de PF está determinada principalmente por sus características fisicoquímicas, como peso molecular, estructura química, grado de polimerización, solubilidad y la conjugación con otros PF es un factor crítico. Los ácidos fenólicos de bajo PM como ácido gálico, catequinas, glucósidos de quercetina e isoflavonas son fácilmente absorbidas en el intestino delgado, pero no así las procianidinas que necesitan ser degradadas a dímeros o monómeros (Martin and Apple 2010). Es por ello que es necesario realizar estudios farmacocinéticos que involucren la evaluación sistemática *in vitro* e *in vivo* del efecto biológico de los PF presentes en mango, identificando aquellos que pudieran estar otorgando un beneficio particular a la salud del consumidor.

La farmacocinética estudia los procesos a los que un compuesto es sometido a través de su paso por el organismo (LADME: liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción), tratando de elucidar qué sucede con él desde el momento en el que es administrado hasta su total eliminación del cuerpo [9]. Sin embargo, durante la trayectoria de un alimento por el tracto gastrointestinal (TGI), los procesos de LADME de PF pueden verse afectados por factores intrínsecos como la naturaleza química del compuesto bioactivo, la composición de la matriz alimentaria, así como las posibles interacciones moleculares entre los componentes de ésta [10, 11]. Por otro lado, los factores extrínsecos incluyen las características fisicoquímicas de los fluidos gastrointestinales y la presencia de enzimas digestivas [12]. Se ha reportado que la combinación de estos factores puede favorecer o limitar la liberación (bioaccesibilidad) y absorción (biodisponibilidad) de los PF y por ende afectar su posible efecto benéfico en la salud [13-15].

Entre los principales factores que afectan la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de PF, se encuentra su interacción con otros constituyentes de la matriz alimentaria que los contiene, principalmente con polisacáridos que conforman a la fibra dietaria (FD) [11]. Dentro de los principales tipos de interacción entre PF y FD, se encuentran la formación de puentes de hidrógeno, enlaces covalentes (tipo éster) y/o interacciones electrostáticas [10]. Diversos estudios demuestran que estas interacciones moleculares limitan la absorción de PF en el intestino delgado, siendo arrastrados hasta el colon, en donde pueden metabolizarse y contribuir a la salud intestinal e incluso sistémica [9-11, 16]. Por otra parte, la bioaccesibilidad de los PF también puede afectarse debido a la interacción de éstos con

enzimas presentes en el TGI, quienes al hidrolizar los componentes de la matriz alimentaria, permiten su liberación. Sin embargo, se ha visto que estos PF pueden tener un efecto inhibitorio en algunas enzimas como amilasas y lipasas, pudiendo tener un efecto antidiabético y antiobesogénico [17, 18]. Por ejemplo, estudios sugieren que la inhibición de la enzima amilasa salival por la presencia de PF, como el ácido quínico, se debe a la interacción de los grupos –OH libres del polifenol con ciertos aminoácidos que conforman el sitio activo de la enzima [19]. La inhibición de otras enzimas como lipasas ha sido un tema que estamos desarrollando en nuestro grupo para explicar su posible efecto antiobesogénico. Por lo que este tipo de respuestas puede resultar de gran interés para el desarrollo de alimentos funcionales que favorezcan a sectores específicos de la población, como individuos que padecen disbiosis intestinal, diabetes o altos niveles de colesterol [20-22]. Sin embargo, el efecto benéfico del consumo de estos alimentos debe ser evaluado mediante otros estudios *in vitro* y estudios pre-clínicos y clínicos aleatorizados que lo comprueben. Este tipo de interacciones moleculares pueden modelarse mediante química computacional, pero deben ser soportadas con estudios básicos en el laboratorio utilizando técnicas espectrofotométricas (FT-IR, fluorescencia, RMN, calorimetría de titulación, voltametría cíclica y espectroelectroquímica), para observar cambios conformacionales en la estructura de los compuestos que forman las interacciones.

Sin embargo, es necesario conocer cómo estas interacciones afectan la biodisponibilidad de los PF en modelos *in vitro* e *in vivo*. Varios grupos de trabajo del proyecto pertenecen a la red alfanutra (CIAD, ITT, ITV, UACJ y CIATEJ) y con otros colaboradores internacionales (Holanda, USA, Brasil) (Twinshime, TIM-1 y TIM-2) utilizamos modelos dinámicos gastrointestinales *in vitro*, los cuales permiten evaluar la bioaccesibilidad, biodisponibilidad y el efecto biológico de PF, simulando condiciones químico-enzimáticas y evitando así la investigación directa con humanos. Las moléculas biológicas usadas comúnmente en los modelos de digestión *in vitro* son las enzimas digestivas (pancreatina, pepsina, tripsina, quimiotripsina, peptidasa, α -amilasa y lipasa), sales biliares, mucina y monocapas de células que simulan la mucosa intestinal. Por otro lado, la completa simulación de los procesos involucra un proceso de fermentación que utiliza los distintos microorganismos presentes a lo largo del tracto gastrointestinal, principalmente en intestino grueso [23]. En este sentido, los PF no liberados, es decir, aquellos unidos a la matriz del alimento, así como aquellos productos del metabolismo fase II que logran ser arrastrados a colon, pueden sufrir la acción enzimática de la microbiota intestinal previo a su excreción. Los metabolitos generados por acción microbiana en colon pueden ejercer una función específica en este sitio o bien ser absorbidos entrando al torrente sanguíneo para distribuirse en distintos tejidos del organismo. Sin embargo, a pesar de la exhaustiva caracterización de compuestos bioactivos que se ha realizado en mango cv. Ataulfo, hasta el momento se desconoce el efecto que tienen las diferentes transformaciones que sufren sus PF sobre los procesos de absorción y distribución en los diferentes tejidos del organismo, por lo que el uso de técnicas de simulación *in vitro* podría brindar valiosa información.

Se ha reportado que el proceso de absorción de polifenoles se da por medio de la membrana intestinal y puede ocurrir por medio de transporte pasivo transcelular, paracelular, mediado por acarreadores y transcitosis [24, 25]. Por ejemplo, las antocianinas son polifenoles cuya absorción se ha reportado en intestino delgado y colon, bajo mecanismos de absorción que varían entre un sitio u otro, encontrándose que a nivel

intestinal aparecen en el flujo de sangre portal y en colon en la circulación sistémica (**Figura1**).

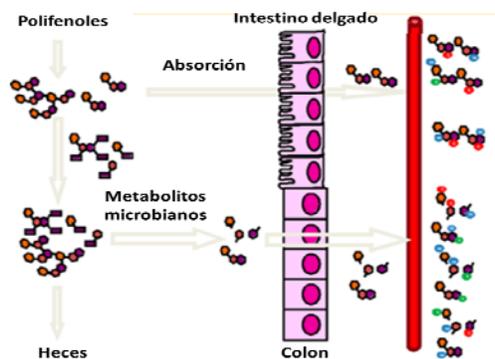


Figura 1. Metabolismo y absorción de polifenoles a lo largo del TGI (Adaptado de Van Duynhoven *et al.* 2014)

Dentro de las herramientas más novedosas que se utilizan para los estudios de absorción de compuesto bioactivos se encuentra el uso de líneas celulares. Entre estas destaca la línea celular Caco-2, aislada de adenocarcinoma de colon, la cual es una de las más empleadas para la simulación de absorción de polifenoles, dada su similitud en las propiedades de transporte pasivo y activo con el epitelio intestinal del humano [26]. Este tipo de células son capaces de formar conexión entre ellas, así como también expresar proteínas de transporte, proteínas de eflujo, y enzimas del metabolismo fase II [27]. Aunque la biodisponibilidad de polifenoles es relativamente baja, existen evidencias indican que estos pueden tener actividad biológica importante a bajas concentraciones, la cual puede mejorarse con modificaciones químicas o formulaciones farmacéuticas para favorecer su distribución en los distintos tejidos. Estudios de absorción *in vitro*, han demostrado que las agliconas de isoflavonas genisteína y daidzeína, fueron transportadas por los enterocitos más eficientemente que sus glucósidos, posiblemente por su afinidad hacia la membrana celular. Además, se encontró que los isoflavonoides por su estructura, fueron generalmente transportados hacia el flujo basolateral de forma intacta en contraste con flavonoides como quercetina y kaempferol. Dichos resultados indican que la afinidad por la membrana celular juega un papel importante en la eficiencia de absorción de los polifenoles [25]. Este sistema de absorción *in vitro* está siendo utilizado para estudiar la absorción de moléculas de interés biológico en el laboratorio de Nutrición de CIAD y en el del ITESM.

Sin embargo, más allá de saber los mecanismos involucrados en el proceso de absorción y bio-transformación de polifenoles desde el lumen intestinal hasta la circulación sistémica, resulta primordial la construcción de modelos matemáticos que definan su cinética de absorción y permanencia biológica (farmacocinética), todo esto antes de evaluar su impacto metabólico en una célula blanco. En este sentido, por muchos años los estudios nutrí cinéticos se encaminaron a valorar la absorción, permanencia plasmática y destino metabólico de proteínas, lípidos y vitaminas con marcaje isotópico [28], lo que en su momento ayudó a la definición de recomendaciones para su ingesta diaria (IDR). Actualmente, estos métodos combinados con análisis instrumentales sofisticados, son utilizados para definir su grado de incorporación e importancia metabólica a niveles subcelulares [29]. La cinética de absorción de PF, y de otros fitoquímicos, aunado a la

información sobre su papel funcional-nutracéutico en el organismo ha permitido, conocer dosis que puedan garantizar la cantidad biodisponible mínima para lograr una acción nutraceutica específica [30, 31].

Por otra parte, los estudios pre-clínicos en modelos animales, generalmente murinos y en ocasiones cerdos, permiten confirmar los efectos funcionales o nutraceuticos potenciales de los polifenoles derivados de los métodos *in vitro*, pero a su vez aportan datos sobre el o los mecanismos biológicos involucrados. En este sentido, el modelado de respuestas biológicas funcionales derivadas de la acción de un bioactivo alimentario [32], sobre una célula, tejido u organismo vivo, que involucre la evaluación a tres niveles funcionales [genes (genómica), proteínas (proteómica) y metabolitos (metabolómica)] se le conoce como “foodomica” [33]. La información que es generada en estos estudios, brinda una plataforma básica pero de frontera para estudiar los efectos de los alimentos funcionales y los nutraceuticos [34]. Los estudios en sistemas murinos, nos permitirá evaluar la distribución de los PF de mango cv. Ataulfo en los diferentes tejidos del organismo. El evaluar la distribución en tejidos además de su evaluación en plasma y excreciones en ratas nos dará indicios acerca de la cantidad de PF que el organismo es capaz de asimilar y aprovechar, así como de la cantidad que es desechada en excreciones ya sea heces u orina.

Mediante estas y otras estrategias se ha podido conocer por ejemplo que Nrf2, una proteína inducible por polifenoles, es un factor de transcripción crítico que se une al elemento de respuesta antioxidante (5'-TGAC-3'; ARE, por sus siglas en inglés) en la región promotora de al menos 500 genes que codifican para enzimas antioxidantes y citoprotectoras en varios tipos de células y tejidos [35, 36]. De la acción concertada entre la regulación de Nrf2, otros factores de transcripción como FOXO3a y las diversas enzimas antioxidantes que estas regulan, depende no solo la defensa antioxidante sino también del metabolismo lipídico, muy en particular con la oxidación de LDL que origina dislipidemias y adiposidad, de ahí la importancia de estudiar estos genes en esta propuesta. Esta información resulta todavía más útil cuando se utiliza para la comparación sistemática de fuentes alimentarias con compuestos bioactivos que tienen un destino metabólico parecido. Por ejemplo, mediante estas estrategias es posible caracterizar la efectividad biológica de diversos cultivares de té verde sobre la ruta de fosforilación inducida por trombina de la cadena ligera de miosina relacionado con la disfunción de células endoteliales [37] o bien seguir la huella metabólica de bebidas funcionales a base de cáscara de uva [38].

Los estudios de biodisponibilidad *in vitro* son de gran utilidad para predecir la biodisponibilidad *in vivo*. No obstante, para poder confirmar desde el punto de vista científico los efectos saludables, es necesario recurrir a ensayos clínicos mediante estudios de intervención en humanos (estudios *in vivo*). Estos estudios contemplan la biodisponibilidad, el metabolismo y la distribución por los tejidos en el organismo humano tras el consumo del alimento rico en polifenoles. Las evidencias que surgen en ambos ensayos nos ayudan a elucidar el comportamiento de liberación y absorción de los polifenoles desde la raíz, considerando los factores extrínsecos e intrínsecos de la matriz alimentaria que los contiene. Este tipo de estudios básicos sobre polifenoles nos dirigen a un escenario donde podemos generar conocimiento de frontera, que sirva como base para estudios posteriores de otros alimentos funcionales y nutraceuticos.

Hipótesis

1. La farmacocinética y actividad biológica de polifenoles de mango Ataulfo se ven afectadas por sus interacciones con fibra dietaria.
2. Las interacciones moleculares entre polifenoles y fibra dietaria de mango ataulfo son determinantes para la velocidad de absorción y concentración en plasma de metabolitos generados por la microbiota intestinal.
3. La interacción entre polifenoles y fibra dietaria determinará las especies absorbidas a nivel intestinal y la expresión de genes que codifican para enzimas antioxidantes que promueven el efecto citoprotector del organismo.
4. El tipo de interacción y la fuerza de atracción entre los diferentes constituyentes de la fibra dietaria (soluble e insoluble) y los polifenoles presentes en mango cv Ataulfo regula el tipo y concentración de estos que es distribuido en los diferentes tejidos de un sistema murino, mientras que determina las especies detectadas en plasma y excreciones humanas.
5. La interacción de polifenoles con fibra dietaria disminuye su absorción a nivel intestinal y causa un mayor nivel antioxidante en colon, lo cual se verá reflejado en su distribución en los diferentes tejidos en un sistema murino.

Objetivos

Semestre I. Aislar los principales compuestos fenólicos y fibra dietaria de mango Ataulfo para determinar sus interacciones mediante análisis de voltametría cíclica, espectroelectroquímica, RMN, FTIR, RAMAN, fluorescencia y calorimetría de titulación. Adicionalmente, se medirá el efecto (aditivo, antagónico o sinérgico) de la presencia de fibra sobre la actividad de los principales fenoles identificados para inhibir radicales libres (ORAC y FRAP). Realizar estudios *in vitro* para evaluar el efecto de la presencia de fibra con los polifenoles identificados sobre la actividad de las enzimas alfa amilasa y lipasa, así como sus posibles sitios de acción por técnicas computacionales.

Semestre II. Llevar a cabo estudios de digestión *in vitro* bajo condiciones simuladas en un sistema diseñado en el Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), con el fin de conocer la bioaccesibilidad de los principales polifenoles en presencia de fibra dietaria. Determinar la biodisponibilidad de los polifenoles liberados, utilizando como sistema modelo células Caco-2, los compuestos absorbidos serán identificados por UPLC acoplado a un espectrómetro de masas triple-cuadrupolo y serán expuestos a distintas líneas celulares cancerígenas para ver su capacidad antiproliferativa.

Semestre III. Estudiar en ratas los efectos de la administración aguda y sub-crónica de dos formas de mango (pulpa y jugo) y la farmacocinética de ciertos polifenoles bioaccesibles previamente identificados, determinando en plasma y distintos órganos los compuestos absorbidos y sus metabolitos (metabolómica), utilizando las técnicas de HPLC-MS y CG-MS. De forma complementaria, estudiar la regulación transcripcional (nutrigenómica) y post-transcripcional (proteómica) de proteínas asociadas al estrés oxidativo y dos factores de transcripción asociados (Nrf2 y FOXO3a). Cabe señalar que, este mapeo “foodómico”

de la defensa antioxidante es esencial en la definición de las acciones funcionales y nutraceuticas de los polifenoles de mango Ataulfo, que incluyen, pero no se restringen, su acción antioxidante preventiva frente a enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, inflamación sistémica y su acción antiproliferativa (cáncer).

Semestre IV. Realizar un ensayo clínico en humanos, para conocer el efecto del contenido de fibra dietaria presente en la matriz alimentaria de mango ‘Ataulfo’ sobre la biodisponibilidad de los polifenoles presentes. Los sujetos de estudio serán personas sanas entre 20-50 años. Se les dará una dieta conteniendo jugo y pulpa de mango por periodos cortos. Se identificarán los compuestos polifenólicos en plasma y orina, mediante UPLC acoplado a un espectrómetro de masas triple-cuadrupolo y CG-MS; así como el perfil lipídico y potencial antioxidante. Los siguientes 2 años se continuará trabajando en estudios básicos de transformación de compuestos fenólicos después del consumo utilizando distintas matrices alimentarias.

Metas

Semestre I. Entender y elucidar algunas de las interacciones moleculares que se producen entre los polifenoles y fibra dietaria en sistemas *in vitro*.

Semestre II. Elucidar el impacto de la matriz alimentaria, así como de las condiciones fisicoquímicas involucradas en la liberación y absorción de polifenoles bajo condiciones *in vitro*.

Semestre III. Elucidar la farmacocinética de diversos polifenoles bioaccesibles de mango y su potencial “foodómico” frente al metabolismo REDOX celular en un sistema murino.

Semestre IV. Conocer si el tipo matriz alimentaria (jugo y pulpa) y la presencia de fibra dietaria en mango Ataulfo, es un factor limitante de la biodisponibilidad y efecto bioactivo de los polifenoles presentes en el fruto. Formación de 3 estudiantes de Maestría e inicio de la tesis de 4 estudiantes de doctorado. Publicación de al menos 4 artículos de investigación original y 2 de revisión en revistas JCR. Presentación de 4 trabajos en congresos internacionales. Difusión de resultados y organización de un Simposio nacional sobre antioxidantes y estrés oxidativo: Un enfoque multidisciplinario. Publicación de 4 capítulos. La experiencia aditiva de grupos multidisciplinarios en química, bioquímica, nutrición y biología molecular, nos asegura la generación de información básica y novedosa sobre las interacciones moleculares relacionadas con la farmacocinética de los polifenoles y la posible inducción de marcadores moleculares, así como la formación de doctores en ciencias y publicaciones indizadas de impacto.

Metodología

Semestre I. Para los estudios de interacciones moleculares se utilizarán estándares comerciales de polifenoles mayormente presentes en mango Ataulfo ácido clorogénico, gálico, protocateico y vanílico (Sigma-Aldrich, Toluca, México), y los radicales 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) y ABTS). Para determinar el efecto sinérgico, antagónico, aditivo o reductor) entre los fenoles presentes en mango Ataulfo, se prepararon todas las posibles combinaciones de acuerdo al IC50 calculado previamente. Se establecieron en grupos de 4, 3, 2 y 1 fenol. Cada combinación se preparará antes de cargarla a la microplaca con un volumen de la mezcla final para el ensayo de ABTS de 5 μL ABTS, y 20 μL para el de DPPH por triplicado. Se utilizará pectina para estudiar las posibles interacciones moleculares y su efecto antagónico, sinérgico o aditivo bajo distintas concentraciones de los 2 compuestos principales y sus combinaciones (fibra, fenol 1, fenol 2 y combinaciones).

Voltametría Cíclica. Se utilizará un sistema Metrohm PGSTAT 101 Autolab para obtener las mediciones voltamétricas. Se utilizará un electrodo de carbon glassy, y un conector de platino conectado al electrodo utilizando como referencia Ag/AgCl. Las soluciones estándares se prepararán disolviendo los fenoles a una concentración de 1 mM en buffer de fosfato (pH 7.0) con 0.1 M KNO_3 como electrolito de soporte y se purgará con N_2 . Los voltamogramas cíclicos se tomarán a una velocidad de 25 mVs^{-1} , 50 mVs^{-1} , 100 mVs^{-1} , 200 mVs^{-1} , 300 mVs^{-1} , 400 mVs^{-1} and 500 mVs^{-1} .

Espectroelectroquímica UV-Vis. Se utilizará un espectrofotómetro UV-Vis (Agilent 8453 diode-array) para realizar las pruebas espectroelectroquímicas con un electrode multiple (3 electrodos)(Basia Inc.) platino (Pt) minigrad working electrode, a platinum wire electrode as a counter electrode, an Ag/AgCl electrode as a reference electrode. Las soluciones estándares se prepararán de la misma forma que los análisis voltamamétricos. Se utilizará un equipo potentiostat (EG&G Princeton Applied Research Model 362 Scanning Potensioestat) para aplicar el potencial de oxidación encontrados en el estudio de voltametría cíclica durante el UV-Vis.

^1H NMR Análisis. Se utilizará la técnica de ^1H NMR para la obtención de los espectros individuales de los fenoles y las mezclas con y sin fibra dietaria, así como el efecto de la adición de radical DPPH y ABTS, con un equipo Bruker Avance 400 espectrometro (400 MHz). Las variaciones químicas se expresarán en valores δ ppm utilizando TMS como estándar interno y se utilizará DMSO-d_6 para la obtención de todos los espectros. Las soluciones se prepararán a concentraciones de 5mM en DMSO-d_6 de cada fenol y las mezclas a una relación de 1:1 y se colocarán 0.5 mL de la solución en tubos de cuarzo NMR para la recolección de los espectros. Una vez obtenidos los espectros ^1H NMR de cada muestra, se añadirá el radical DPPH 1:1 al tubo de RMN y se medirá la capacidad antioxidante. Las mezclas se dejarán en la oscuridad por 3 min previo al análisis de ^1H NMR y se analizarán en un software MESTREC (MesrReNova v9.0.1-13254, Mestrelab Research S.L., Spain).

Semestre II

Análisis de bioaccesibilidad de polifenoles. Para la simulación de las diferentes condiciones del TGI, se seguirá una metodología basada en la técnica descrita por Saura-Calixto, García-Alonso [14], con algunas modificaciones. De acuerdo a esta metodología, deberán simularse las diferentes condiciones químico-enzimáticas de acuerdo a los cambios de pH entre cada etapa y la adición de las enzimas representativas de cada etapa de digestión humana. Adicionalmente, se agregará a esta metodología una simulación de la etapa salival, la cual es omitida por diferentes metodologías actualmente utilizadas para la simulación digestiva de matrices alimentarias. Este sistema de digestión ha sido desarrollado en nuestro laboratorio y utilizado para diferentes estudios de biodisponibilidad y está en proceso de validación con otros sistemas ya en uso. El proceso de simulación comienza con la etapa de digestión oral, en la cual se utiliza saliva recolectada de individuos a los cuales se les pidió no ingerir o tomar alimento previo a la donación de saliva. Para simular el proceso de digestión oral, se adicionarán 2 mL de saliva a 300 mg de muestra, y se incubarán por 1 min a 37°C en un reactor con con agitación (100 rpm). Posteriormente, para simular el proceso de digestión gástrica, se agregarán 8 mL de solución HCl-KCl 0.2M, se ajustará el pH a 1.5 y se adicionarán 0.2 mL de pepsina (300mg/mL), seguidos de una incubación de la muestra a temperatura controlada de 40°C con un sistema de circulación con agua baño y agitación contante durante 1 h. Por último, para la simulación de la etapa de digestión intestinal, se añadirán 4.5 mL de buffer de fosfatos, se ajusta el pH a 7.5 y se adiciona 1 mL de solución de pancreatina (5mg/mL), con agitación constante por 6 h a 37°C.

Finalmente, a las muestras obtenidas en cada etapa de digestión *in vitro*, se les determinará el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP, ABTS, ORAC), mediante técnicas ya establecidas en el laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales del CIAD, AC. A los residuos obtenidos de cada etapa de digestión, se les realizará una extracción metanólica, con la finalidad de conocer la cantidad de compuestos fenólicos que quedan atrapados en la matriz de fibra del alimento, los cuales, pudieran pasar al intestino grueso y ser metabolizados por la microbiota, propiciando un ambiente antioxidante benéfico a la salud intestinal. De la misma forma, se determinará la cinética de liberación de los compuestos fenólicos y la cantidad y tipo de fenol que logra pasar por la membrana y ser absorbidos y tener su efecto biológico.

Fermentación colónica. Se recolectarán muestras frescas de voluntarios aparentemente sanos que sigan una dieta normal y hayan declarado no haber ingerido antibióticos por al menos 3 meses antes de la toma de muestra. Para cada voluntario, se tomarán 15g de heces frescas y serán homogenizadas por 30 segundos en un equipo stomacher con 300 mL de medio de cultivo con la finalidad de obtener materia fecal al 5%. El medio de fermentación consiste en una solución amortiguadora de carbonato-fosfato preparada mezclando (en g por litro): 9.24 NaHCO₃, 3.542 Na₂HPO₄•2H₂O, 0.470 NaCl, 0.450 KCl, 0.227 Na₂SO₄•10H₂O, 0.055CaCl (anhídrido), 0.100 MgCl₂•6H₂O, 0.400 de urea con 10 mL de una solución de elementos traza. La solución de elementos traza contiene (en mg por litro): 3680 FeSO₄•7H₂O, 1159 MnSO₄•H₂O, 440 ZnSO₄•7H₂O, 120 CoCl₂•6H₂O, 98 CuSO₄•5H₂O, 17.4 Mo7(NH₄)6O₂•4H₂O.

Una vez preparado, deberá ajustarse el pH del medio de cultivo a pH 7.0 utilizando ácido clorhídrico y almacenado en una cámara anaerobia por 48h para remover el oxígeno previo al experimento de fermentación. El ambiente anaerobio libre de oxígeno deberá ser monitoreado para garantizar el proceso de fermentación se lleve adecuadamente. Para cada lote de fermentación se preparará una dilución 0.5:10 (p/v) de solución fecal con buffer anaerobio homogenizándose en un equipo stomacher por 1min. La suspensión fecal resultante será distribuida en tubos descartables (10mL/tub/tiempo de incubación) y 1g del material residuo resultante de la simulación de la simulación digestiva intestinal *in vitro*. La mezcla es fermentada a 37°C en agitación constante a 60rpm bajo condiciones anaerobias.

Preparación de extractos metanólicos. Mango Ataulfo será comprado en el mercado local de Hermosillo, Sonora. El mango se pelará, y la pulpa se cortará en capas delgadas, para su posterior liofilización y molienda. La extracción de polifenoles consistirá en adicionar Metanol al 80% a la muestra (1g). Someter a un baño con sonicación (30 min), centrifugarla (14000 rpm, 15 min) y filtrarla. Los extractos metanólicos serán rotaevaporados para eliminar el solvente, y posteriormente ser utilizados en las pruebas de absorción *in vitro*, así como actividad antiproliferativa.

Cultivos celulares. Se utilizará modelos monocapa de líneas celulares Caco-2. Las células se mantendrán en una atmósfera humidificada de 5% CO₂ y 95% de aire y se cultivaran en medio MEM, de acuerdo a lo reportado por Vinholes *et al* [39].

Pruebas de citotoxicidad. Para asegurar que el extracto de mango no afecte la viabilidad de las células, se realizará un ensayo de tinción con rojo neutro, siguiendo el protocolo de Kosinska-Cagnazzo *et al*. [27]. Posterior al proceso de tinción, se medirá la absorbancia a 540 nm en un lector de microplacas, y se comparará con los valores de absorbancia de cultivos de células sin tratamiento (no adición de extracto de mango).

Determinación de la actividad transportadora. La determinación de la actividad transportadora se realizará por medio de monocapas de células, de acuerdo a la metodología propuesta por Kosinska-Cagnazzo *et al*. [27]. Las células se sembraran a una densidad de 2.6×10^5 células/cm² en insertos (membrana de policarbonato, 12 mm, 1.2 cm² de area superficial, 0.4 µm de tamaño de poro) colocados en cajas de 12 pozos (Falcon), con 0.5 mL de medio en el lado apical y 1.5 mL en el lado basolateral. Las células de dejaran crecer y diferenciar hasta formar una monocapa durante 21 días post-siembra, mientras que el medio de crecimiento se remplazará tres veces a la semana. Para determinar la actividad de transporte, el medio será removido y la monocapa de células se lavara con una solución salina de Hanks (HBSS), la cual contendrá 25 mmol/L de ácido 4-(2-hidroxifenil)-1-piperazineetanesulfónico. Posteriormente, el extracto de mango, se aplicará en el lado apical de la monocapa de células diferenciadas de Caco-2. Dicho experimento se realizará por 2h, tomando alícuotas del lado apical y basolateral a los tiempos 0 y 120 min, y estabilizandolas con ácido ascórbico (ácido ascórbico al 1% y H₃PO₄ al 0.28%), para finalmente identificar los polifenoles absorbidos mediante UPLC acoplado a un espectrómetro de masas triple-cuadrupolo.

Por otro lado, la integridad de la monocapa de células se monitoreará con Lucifer yellow (LY). Para dicho ensayo, las monocapas celulares se lavaran con HBSS. El lado apical y basolateral se llenará con 0.4 mL de solución de LY (100 µmol/L). Después de 2h,

se tomarán 100 μL de ambos lados epical y basolateral, se medirá su absorbancia a 530 nm (emisión) y 485 nm (excitación) utilizando un lector de microplacas. La concentración de LY se calculará de acuerdo a una curva estándar con concentraciones de 1.5 a 100 $\mu\text{mol/L}$. El coeficiente de permeabilidad aparente se expresará como cm/s.

Identificación de polifenoles por UPLC. EL análisis de los polifenoles en las muestras se llevará a cabo con un sistema UPLC acoplado a un espectrómetro de masas triplecuadrupolo (Waters, USA). El sistema consistirá de automuestreador, sistema binario, una columna y un detector de diodos. Se utilizará una columna de 100 mm x 2.1 mm, 1.7 μm (Acquity UPLC BEH Phenyl, Water, USA). La velocidad de flujo será de 0.5 mL/min. El sistema de gradientes usará dos solventes, acetonitrilo (A) y ácido fórmico 0.1% (B), donde: 0-0.5 min, 0.1% A en B; 0.5-5 min, 0.1-30% A en B (gradiente lineal); 5-6 min, 30-35% A en B (gradiente lineal); 6-9.5 min, lavado de la columna y estabilización del sistema. Se utilizará un modo de ionización negativo para el análisis de masas. Las condiciones serán: voltaje de capilar de 2.4 kV; temperatura de desolvatación de 650 $^{\circ}\text{C}$; temperatura de la fuente de 150 $^{\circ}\text{C}$, flujo del gas de desolvatación y gas de cono (N_2) de 100 L/h, y argón como gas de colisión. Se utilizará catequina para monitorear la estabilidad de la eficiencia de ionización del espectrómetro de masas [40].

Actividad antiproliferativa. El estudio de actividad antiproliferativa de los polifenoles de mango Ataulfo, absorbidos e identificados en la actividad transportadora, se realizará sobre líneas celulares de adenocarcinoma de colon (HT-29) y adenocarcinoma de cérvix (HeLA) de acuerdo al protocolo de Hajiaghaalipour *et al.* [41] y Herrerias *et al.* [42], respectivamente.

Actividad anti proliferativa (AAP). El efecto de los extractos hidro-alcohólicos de cada F&V y los correspondientes productos de digestión *in vitro* completa (F&V-I2) sobre la viabilidad de las distintas líneas celulares se determinara primeramente por el ensayo colorimétrico del 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) [43]. Brevemente, se sembraron 1×10^4 células (50 μL) en cada uno de los pocillos de una micro placa de 96 pocillos (Costar) en condición estéril. Se incubaran por 24 h para su adaptación y adherencia a placas a 37 $^{\circ}\text{C}$ con 5 % de CO_2 , y por 72h en presencia 50 μL de diversas concentraciones de extractos (0, 12.5, 25, 50, 100 y 200 $\mu\text{g/mL}$ en DMSO) según el procedimiento de [44]. Después de la incubación, 10 μL de MTT (5mg/mL) se añadirán a cada pocillo y se incubara 37 $^{\circ}\text{C}/4\text{h}$. A continuación, se añadirán 100 μL de alcohol isopropílico ácido (337 μL de ácido hidrociorhídrico) a cada pocillo para disolver los cristales de formazán. Se tomaran las lecturas inmediatamente en forma dual a 570 nm y 630 nm en un lector de microplacas (Multiskan, Ex, ThermoLabSystem). La AAP de los extractos se reportara como valores de IC_{50} (concentración de extracto requerida para inhibir la proliferación celular en un 50% a través de un análisis de regresión).

Apoptosis/ actividad citotóxica (ACT). Annexina V de placenta humana (A9460 Sigma) y JC-1 (CS0390 Sigma) será utilizados para analizar los eventos apoptóticos en aquellas líneas celulares afectadas por extractos de F&V cuya AAP resulte muy significativa ($\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), siguiendo la metodología descrita por [45] en un clitómetro de flujo ((FACS Canto II; BD Systems®). Por último, para evaluar la apoptosis dependiente de caspasas, se utilizaran las tinciones para citometría de flujo (Abcam staining kit, fluorescein active

caspace) para caspasas 3, 8 y 9, en pares (F&V/F&V-I2, línea celular) con apoptosis relevante. La ACT se evaluara mediante un ensayo cometa tradicional [46].

Semestre III

Bioensayo I (protocolo agudo). El propósito de este bioensayo es definir los tiempos de muestreo y cantidad de pulpa y jugo de mango a administrar para lograr la absorción y nivel de enriquecimiento en plasma suficiente para el seguimiento farmacocinético agudo (0-6h) de polifenoles biodisponibles de mango, principalmente ácido gálico (AG) y sus metabolitos metilados & sulfatados y pirogalol [47, 48]. Previendo que la concentración excesiva ($\geq 1\text{g/kg}$ o 200 mg/rata de 200g de compuestos puros) de AG y sus metabolitos podría ocasionar cambios fisiológicos importantes en ciertos órganos [49], las dietas experimentales serán diseñadas a tres concentraciones de tal forma que se administre 50, 100, 150 y 200 mg equivalente de ácido gálico (mgEAG) por rata. De esta forma este bioensayo servirá de base para definir el protocolo de consumo sub-crónico (bioensayo II). Las condiciones de bioensayo, protocolo de muestreo y metodología farmacocinética a seguir se realizaran con apego a lo sugerido por [50].

Las dietas de adaptación (sin fuente de compuestos fenólicos) y las experimentales (pulpa y jugo a la misma concentración de polifenoles totales) serán administradas *ad libitum*, la recolección de muestras de sangre ($n=10/\text{tratamiento dietario}$) se realizaran de la vena safena (cola) y se dividirá en dos alícuotas: La primera de ellas será procesadas para medir el contenido total de fenoles (Folin-Ciocalteu), potencial antioxidante (FRAP) [7, 51] y especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBAR) mientras que la segunda se usara para la identificación de AG y sus metabolitos utilizando un equipo UPLC acoplado a un espectrómetro de masas triple-cuadrupolo. El procesamiento de la muestra previo a la inyección e identificación de compuestos se realizará de acuerdo con lo sugerido por [52]. Al término de este bioensayo y siguiendo las recomendaciones éticas y metodologías descritas por [50], las ratas serán anestesiadas (40 mg/kg peso de Zelazol®), se les extraerán órganos y se sacrificaran. Con la extracción y cuantificación del contenido de AG y metabolitos en estos órganos, aunado a lo obtenido en plasma, se establecerán los modelos matemáticos respectivos de biodisponibilidad, determinándose los correspondientes valores de C_{max} (pico máximo plasmático), t_{max} (tiempo para C_{max}) y AUC (tiempo-concentración, método trapezoide; [53] para todos los tejidos incluyendo el plasma.

Bioensayo II (protocolo sub-crónico).

Animales y muestras. Se utilizaran 30 ratas macho Sprague Dawley adultas ($\sim 200\text{g}$) las cuales serán asignadas aleatoriamente a una de tres dietas experimentales (control, pulpa y jugo de mango), un grupo por tratamiento. Los animales serán alojados en jaulas metabólicas en condiciones termoreguladas a 25°C , ciclos luz-obscuridad de 12 h, agua y dieta de adaptación *ad libitum*. Se asignaran 6 ratas por cada dieta experimental. Se llevaran los registros cada tres días de ingestión dietaria, peso corporal y diaria de excreción de orina y heces de las 42 ratas. Al término serán anestesiadas con 40 mg/kg peso de Zelazol® (50% clorhidrato de zolazepan y clorhidrato de tiletamina 50%). Previo al sacrificio, se les realizara extracción sanguínea por punción cardiaca (vacutainer). Los tejidos (intestino distal y proximal, hígado y tejido adiposo) serán conservados en formalina al 10%. Por

último, porciones similares de estos 4 tejidos serán pasados en agua salina/DEPC e inmediatamente congelados a -80°C dentro de bolsas libres de RNAsas.

Dietas. Con los datos obtenidos del bioensayo I se definirá la concentración específica (g/100g o 100mL) de polifenoles de las fuentes de mango y dieta control (sin polifenoles) a administrar por un espacio de mes y medio (protocolo sub-crónico). Se procurará que las dietas sean isoenergéticas considerando los requerimientos de ratas de esta edad y peso con una composición de grasa, proteína, y carbohidratos será de 10, 20 y ~60 % respectivamente. Tal y como se indicó en el Bioensayo I, las dietas experimentales proporcionarán la misma cantidad de compuestos fenólicos al día y serán suministradas *ad limitum*.

Análisis histológicos e inmuno histoquímica. Los tejidos guardados en formalina serán embebidos en parafina (H&O, PAS) y Tissue Teck (rojo oleoso) se realizarán cortes histológicos de 5 micras. Cortes adicionales embebidos en tissue teck se utilizarán para observar por inmunofluorescencia la presencia de la Proteína 2 asociada a multidrogoresistencia (MRP2, por sus siglas en inglés) utilizando anti-MRP2 de rata generado en conejos (M 8316, Sigma Aldrich) y nrf2.

Aislamiento y cuantificación de RNAm. Se aislara RNA total de las muestras libres de RNAsas con Trizol. 50 ng de ADN complementario (cDNA por sus siglas en inglés) serán obtenidos del RNA total usando el sistema Superscript™ (Invitrogen, Carlsbad, CA), siguiendo las instrucciones del fabricante en un volumen total de 50 µL. En este trabajo se pretende cuantificar el nivel del mensaje de los siguientes genes candidato en intestino proximal y distal, hígado y tejido adiposo: (A) MRP2, (B) Nrf2, (C) SOD, (C) GPx, (D) FOXO3a, y (E) CAT. Los productos de esta reacción se analizarán por la técnica de RT-PCR usando el gen constitutivo ribosomal (18s), usando 2 µL de mezcla de iniciadores específicos para cada gen seleccionado (20 µM sentido y antisentido respectivamente) y 2.5 Unidades de Taq polimerasa (Sigma, St. Luis MI).

Semestre IV.

Diseño del estudio. Consistirá en un ensayo clínico piloto cruzado controlado, en donde los mismos individuos recibirán dos tratamientos en diferentes períodos, de forma que cada uno de ellos servirá como su propio control. Se reclutarán 14 sujetos aparentemente sanos de sexo masculino de entre 20-50 años. Se reclutarán solo sujetos de sexo masculino para minimizar interferencias hormonales dadas por los ciclos menstruales de la mujer. Todos los sujetos incluidos en el estudio serán evaluados por un cuestionario de historia médica para asegurar su estado de salud. Los criterios de exclusión en la selección de sujetos serán abuso de alcohol (>2 porciones al día) o drogas, medicación o suplementación con antioxidantes y/o vitaminas y minerales, y prevalencia de enfermedades gastrointestinales (inflamación, úlcera gástrica, cáncer de estómago ó intestino, diarrea). Los hábitos alimenticios de los sujetos serán evaluados mediante un cuestionario de frecuencia de alimentos haciendo énfasis en el consumo de frutas y verduras; además de un recordatorio de 24 h un día antes de iniciar el estudio. No obstante, los sujetos deberán dar su consentimiento por escrito para la participación en el estudio.

Las muestras de sangre (6 mL) y orina se recolectarán después de una noche de ayuno antes del inicio del estudio (control). Posteriormente, los sujetos se someterán a una dieta de abstinencia (wash-out) de alimentos ricos en polifenoles, para la cual se les otorgará una

lista de aquellos alimentos no permitidos. Para evaluar el cumplimiento del protocolo, los sujetos serán sometidos a una entrevista de registro de consumo de alimentos todos los días durante el período de wash-out. Al término del período de wash-out; después de una noche de ayuno, se recolectarán muestras de orina y sangre (6 mL) en tubos con EDTA previo al consumo del tratamiento. Los sujetos se mantendrán con catéter de toma múltiple para facilitar la toma de muestra. Posteriormente, los sujetos consumirán de manera aleatoria el tratamiento, ya sea pulpa de mango ó jugo de mango. Seguido a eso, se recolectarán muestras de sangre (6 mL) a la 1, 2, 3, 4 y 6 h posterior a la ingesta del tratamiento. Al mismo tiempo, se recolectarán muestras de orina en cuatro contenedores individuales (1 L) durante las 24 horas posteriores, en el siguiente orden: 0-4 h, 4-8h, 8-12 h y 12-24 h. Los contenedores serán almacenados a 4 °C durante el tiempo de recolección, al momento en el que el sujeto comience con el siguiente contenedor se medirá el volumen y se almacenará a -80 °C. Los sujetos podrán ingerir la cantidad de agua que deseen, después de transcurrir 2 h del consumo del tratamiento. Debido a que el estudio consiste en un estudio cruzado se realizarán dos intervenciones con el objetivo de que el mismo sujeto reciba los dos tratamientos. Entre intervenciones se dará un período de lavado (wash-out) de mínimo tres días antes de comenzar nuevamente todo el estudio.

Recolección de la muestra. Las muestras de sangre se recolectarán en tubos de vacío de 6 mL que contienen EDTA. Los tubos serán inmediatamente centrifugados a 2500 g durante 10 min a 4 °C para obtener el plasma. Se separarán alícuotas de 0.55 mL, las cuales serán acidificadas con 20 µL de HCL (4 M) a pH 3.0. A partir de los contenedores individuales de orina, se tomarán alícuotas de 1 mL. Las muestras se almacenarán en tubos de criopreservación a -80 °C para su posterior análisis.

Análisis de la muestra. Las muestras serán analizadas en cuanto a contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y potencial antioxidante por los métodos de DPPH, TEAC, FRAP y ORAC.[7, 51] El perfil lipídico se evaluará determinando colesterol total, triglicéridos y lipoproteína de alta densidad mediante métodos enzimáticos utilizando kits comerciales [5]. Además se identificarán y cuantificarán polifenoles en plasma humano utilizando un equipo UPLC acoplado a un espectrómetro de masas triple-cuadrupolo. Este equipo es lo más novedoso en el área de la cromatografía ya que permite obtener mayor calidad de los resultados con menor volumen de muestra y tiempo de análisis. En muestras de orina se cuantificará excreción de creatinina para corregir datos del contenido de compuestos fenólicos.

Análisis estadístico. Los datos serán analizados con el programa estadístico NCSS (2007). Los datos no paramétricos serán transformados logarítmicamente. Se realizará una regresión lineal y un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para estimar diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) y se aplicará la prueba de comparación de medias por el método de Tukey-Kramer (datos paramétricos) y Kruskal-Wallis (datos no paramétricos).

Condiciones bioéticas y de seguridad. *Bioéticas*- El estudio será sometido a la aprobación por el comité de ética del CIAD. Además, el sujeto será informado previamente sobre el procedimiento al cual se someterá y donde se garantizará su seguridad. No obstante, el sujeto deberá firmar un consentimiento informado de su participación. El estudio manejará

confidencialidad de sus participantes. *De seguridad*- La toma de muestra será realizada por un Q.B.C., utilizando equipo nuevo, estéril y sin reutilizarse. Los desechos generados serán tratados basándose en la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Programación de actividades

Semestre I.

Semestre II.

Estudio de digestibilidad y absorción *in vitro* de pulpa y jugo de mango cv. Ataulfo bajo condiciones simuladas.

Estudio de fermentación colónica de los productos de digestión simulada de pulpa y jugo de mango para el análisis de metabolitos microbianos.

Estudio de absorción de polifenoles de mango en líneas celulares utilizando la línea Caco-2 y su identificación por UPLC.

Estudio de actividad antiproliferativa en líneas celulares HT29 y HeLa.

Semestre III

Bioensayo I

- Análisis perfil antioxidante básico
- Análisis HPLC-MS
- Modelos cinéticos

Bioensayo II

- Análisis muestras sericas
- Análisis tejidos
- Técnicas inmunohistoquímicas

Expresión genética

Semestre IV.

Estudio clínico

Análisis de muestras

- Fenoles totales, potencial antioxidante y perfil lipídico
- Identificación y cuantificación de polifenoles por UPLC acoplado a un espectrómetro de masas triple-cuadrupolo

Análisis estadístico de los resultados

Resultados esperados

Semestre I. Se espera tener información de relevancia científica y de frontera en la química de antioxidantes, utilizando como herramientas técnicas como NMR, FT-IR, Fluorescencia, Voltametría cíclica, electroquímica e ITC. Se espera tener información sobre el comportamiento químico que tienen estos fenoles en forma individual o combinados, en presencia de radicales DPPH y ABTS, y fibra dietaria. De la misma forma, conocer los posibles efectos sinérgicos, antagónicos y aditivos, y su carácter oxidoreducción.

Semestre II. Como resultado del conjunto de ensayos pre-clínicos que comprende esta etapa, se obtendrá información acerca del comportamiento de la matriz alimentaria de mango Ataulfo bajo condiciones de digestión simuladas. El comportamiento de los constituyentes de la matriz alimentaria de este fruto podría corroborar los resultados obtenidos en el semestre I acerca de las interacciones moleculares entre estos y los polifenoles, las cuales podrían estar ocurriendo en las distintas etapas de digestión simuladas. En este sentido, la simulación de los distintos procesos del tracto gastrointestinal nos brindará información acerca de la cantidad y tipo de polifenoles liberados y su estabilidad, identificando la pérdida de alguno de estos dentro del perfil previamente reportado en nuestro grupo de trabajo. Asimismo, esto nos permitirá comprender los distintos cambios en su contribución individual y en conjunto, de las distintas propiedades bioactivas de los polifenoles de mango Ataulfo, principalmente su actividad antioxidante y antiproliferativa.

De manera complementaria, se obtendrá en esta etapa del proyecto, información acerca de aquellos procesos que suceden después de la liberación de los polifenoles a lo largo del tracto gastrointestinal, específicamente su mecanismo de absorción. Además, los ensayos con líneas celulares Caco-2 nos permitirán complementar el panorama del estado del arte de la absorción de polifenoles presentes en este fruto. Por lo tanto, terminada esta etapa podremos identificar a los principales polifenoles de mango Ataulfo que son liberados y absorbidos a nivel celular a lo largo del tracto gastrointestinal. De la misma manera, los resultados obtenidos en esta etapa nos ayudarán a observar los distintos cambios estructurales que puedan sufrir los polifenoles en el exterior o interior de la célula, ya sea producto de su inestabilidad ó metabolismo celular. En resumen, todos aquellos resultados obtenidos en esta etapa serán pieza fundamental en las siguientes etapas, proporcionando una guía sobre el comportamiento *in vitro* de los polifenoles presentes en mango Ataulfo que deberá ser contrastada con los estudios *in vivo* posteriores.

Semestre III. Esta etapa tiene dos propósitos fundamentales a evaluar en dos bioensayos murinos: A) Evaluar el comportamiento farmacocinético de los polifenoles bioaccesibles previamente identificados en etapas anteriores y B) los efectos “foodomícos” (genes-proteínas-metabolitos) de los mismos polifenoles en órganos blanco donde se depositan y metabolizan.

Semestre IV. Se espera conocer en un estudio *in vivo*, el efecto directo de la fibra dietaria presente en la matriz alimentaria de mango ‘Ataulfo’ sobre la biodisponibilidad y efecto bioactivo de los polifenoles presentes en él. Estos resultados contribuirán a ampliar el conocimiento científico del metabolismo de los polifenoles presentes en el mango

‘Ataulfo’, y permitirá generar información base para el desarrollo de alimentos funcionales con objetivos de liberación específica de los polifenoles.

Entregables

Semestre I. Presentación en un 2 congresos internacionales (Antioxidants), publicación de 1 artículo JCR (intermolecular interactions of phenols and dietary fiber. Molecules) y un capítulo de libro (Phenols and their biological actions. Book Phytochemicals). **Organización de un simposio nacional de antioxidantes y estrés oxidativo. Un enfoque multidisciplinario. (UNISON-CIAD).** Titulación final o parcial de 2 estudiantes de maestría

Semestre II. Presentación de resultados en un congreso internacional Food Digestion y publicación de al menos un artículos científico (The bioaccessibility of phenols is affected by the presence of dietary fiber. Food and Function) revista JCR, así como la participación de un estudiante de posgrado en la realización de los objetivos de esta etapa del proyecto. *Organización del 2do Congreso Internacional en alimentos funcionales y nutraceuticos (UAQ-CIATEJ). Red Alfanutra (www.alfanutra.com)*

Semestre III. Presentación de resultados parciales y totales en al menos dos foros de investigación adecuados (e.g. EB2017 y 2018) derivados de los resultados de los bioensayos. Así mismo se contemplan la escritura de al menos dos artículos de investigación original y uno de revisión sobre los aspectos farmacodinámicos del consumo de mango. Por ultimo, se pretende la formación parcial o total de al menos un estudiante de licenciatura y otro de maestría.

Semestre IV. Se espera realizar una presentación en un congreso internacional, así como una publicación de un artículo científico en revista indizada, titulado “The effect of Ataulfo mango food matrix on polyphenols bioavailability: A case-crossover clinical trial” Revista Nutrition o Food and Function

Referencias

1. Wall-Medrano, A., et al., *El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud*. Nutricion hospitalaria, 2014. **31**(n01): p. 67-75.
2. Yahia, E.M., *The contribution of fruit and vegetable consumption to human health*, in *Fruit and vegetable phytochemicals* L. De la Rosa, E. Alvarez-Parilla, and G.A. González-Aguilar, Editors. 2010, Wiley-Blackwell. p. 3-51.
3. De la Rosa, L.A., et al., *Content of major classes of polyphenolic compounds, antioxidant, antiproliferative, and cell protective activity of pecan crude extracts and their fractions*. Journal of Functional Foods, 2014. **7**: p. 219-228.
4. Olivas-Aguirre, F.J., et al., *Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud*. Nutricion hospitalaria, 2014. **31**(n01): p. 55-66.
5. Robles-Sánchez, M., et al., *Influence of whole and fresh-cut mango intake on plasma lipids and antioxidant capacity of healthy adults*. Food Research International, 2011. **44**(5): p. 1386-1391.
6. Alvarez-Parrilla, E., et al., *Daily consumption of apple, pear and orange juice differently affects plasma lipids and antioxidant capacity of smoking and non-smoking adults*. International journal of food sciences and nutrition, 2010. **61**(4): p. 369-380.
7. Palafox-Carlos, H., et al., *Effect of ripeness stage of mango fruit (< i> Mangifera indica</i> L., cv. Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity*. Scientia Horticulturae, 2012. **135**: p. 7-13.
8. Palafox-Carlos, H., E. Yahia, and G. González-Aguilar, *Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (< i> Mangifera indica</i>, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS–ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening*. Food Chemistry, 2012. **135**(1): p. 105-111.
9. Velderrain-Rodríguez, G., et al., *Phenolic compounds: their journey after intake*. Food & function, 2014. **5**(2): p. 189-197.
10. Palafox-Carlos, H., J.F. Ayala-Zavala, and G.A. González-Aguilar, *The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants*. Journal of food science, 2011. **76**(1): p. R6-R15.
11. Quirós-Sauceda, A., et al., *Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion*. Food & Function, 2014. **5**(6): p. 1063-1072.
12. Helal, A., et al., *Bioaccessibility of polyphenols and cinnamaldehyde in cinnamon beverages subjected to in vitro gastro-pancreatic digestion*. Journal of Functional Foods, 2014. **7**: p. 506-516.
13. Blancas-Benitez, F.J., et al., *Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and in vitro kinetics release of polyphenols in Mexican 'Ataulfo' mango (Mangifera indica L.) by-products*. Food & function, 2015. **6**(3): p. 859-868.
14. Mercado-Mercado, G., et al., *Bioaccessibility of polyphenols released and associated to dietary fibre in calyces and decoction residues of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.)*. Journal of Functional Foods, 2015. **18**: p. 171-181.
15. Quiros-Sauceda, A., et al., *Bioaccessibility, Bioavailability and Antioxidant Stability of Phenolic Compounds Present in Mango (cv.'Ataulfo') Following an in Vitro Digestion and Microbial Fermentation*. The FASEB Journal, 2015. **29**(1 Supplement): p. 606.4.
16. Maki, K.C., et al., *Digestive and physiologic effects of a wheat bran extract, arabino-xylan-oligosaccharide, in breakfast cereal*. Nutrition, 2012. **28**(11): p. 1115-1121.
17. Rahim, A.T.M., Y. Takahashi, and K. Yamaki, *Mode of pancreatic lipase inhibition activity in vitro by some flavonoids and non-flavonoid polyphenols*. Food Research International, 2015.
18. Xiao, J., et al., *A review on structure–activity relationship of dietary polyphenols inhibiting α -amylase*. Critical reviews in food science and nutrition, 2013. **53**(5): p. 497-506.

19. Kandra, L., et al., *Inhibitory effects of tannin on human salivary α -amylase*. Biochemical and biophysical research communications, 2004. **319**(4): p. 1265-1271.
20. Bahadoran, Z., P. Mirmiran, and F. Azizi, *Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review*. J Diabetes Metab Disord, 2013. **12**(1): p. 43.
21. Farràs, M., et al., *Olive oil polyphenols enhance the expression of cholesterol efflux related genes in vivo in humans. A randomized controlled trial*. The Journal of nutritional biochemistry, 2013. **24**(7): p. 1334-1339.
22. Anhê, F.F., et al., *A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased Akkermansia spp. population in the gut microbiota of mice*. Gut, 2015. **64**(6): p. 872-883.
23. Motilva, M.-J., A. Serra, and L. Rubió, *Nutrikinetic studies of food bioactive compounds: from in vitro to in vivo approaches*. International journal of food sciences and nutrition, 2015. **66**(sup1): p. S41-S52.
24. Smetanová, L., et al., *Caco-2 cells, biopharmaceutics classification system (BCS) and biowaiver*. Acta medica (Hradec Králové)/Universitas Carolina, Facultas Medica Hradec Králové, 2011(54): p. 3-8.
25. Murota, K., et al., *Unique uptake and transport of isoflavone aglycones by human intestinal Caco-2 cells: comparison of isoflavonoids and flavonoids*. The Journal of nutrition, 2002. **132**(7): p. 1956-1961.
26. Willenberg, I., et al., *Investigation of the absorption of resveratrol oligomers in the Caco-2 cellular model of intestinal absorption*. Food chemistry, 2015. **167**: p. 245-250.
27. Kosińska-Cagnazzo, A., et al., *Identification of bioaccessible and uptaken phenolic compounds from strawberry fruits in in vitro digestion/Caco-2 absorption model*. Food chemistry, 2015. **170**: p. 288-294.
28. Novotny, J.A., et al., *This kinetic, bioavailability, and metabolism study of RRR- α -tocopherol in healthy adults suggests lower intake requirements than previous estimates*. The Journal of nutrition, 2012. **142**(12): p. 2105-2111.
29. Seifert, J., et al., *Protein-based stable isotope probing (protein-SIP) in functional metaproteomics*. Mass spectrometry reviews, 2012. **31**(6): p. 683-697.
30. Braithwaite, M.C., et al., *Nutraceutical-based therapeutics and formulation strategies augmenting their efficiency to complement modern medicine: An overview*. Journal of Functional Foods, 2014. **6**: p. 82-99.
31. Kawakami, K., *Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturatable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs*. Advanced drug delivery reviews, 2012. **64**(6): p. 480-495.
32. A Farag, M., *Comparative mass spectrometry & nuclear magnetic resonance metabolomic approaches for nutraceuticals quality control analysis: a brief review*. Recent patents on biotechnology, 2014. **8**(1): p. 17-24.
33. Hancock, J.M., M. Dobbie, and J. Hancock, *Phenomix of the laboratory mouse*. Phenomics, 2014: p. 24-64.
34. Saxena, A. and C.S. Cramer, *Metabolomics: A Potential Tool for Breeding Nutraceutical Vegetables*. Adv Crop Sci Tech, 2013. **1**(106): p. 2.
35. Pall, M.L. and S. Levine, *Nrf2, a master regulator of detoxification and also antioxidant, anti-inflammatory and other cytoprotective mechanisms, is raised by health promoting factors*. Sheng li xue bao:[Acta physiologica Sinica], 2015. **67**(1): p. 1-18.
36. Yeh, C.-T., L.-C. Ching, and G.-C. Yen, *Inducing gene expression of cardiac antioxidant enzymes by dietary phenolic acids in rats*. The Journal of nutritional biochemistry, 2009. **20**(3): p. 163-171.
37. Fujimura, Y., et al., *Metabolomics-driven nutraceutical evaluation of diverse green tea cultivars*. PloS one, 2011. **6**(8): p. e23426.

38. Khymenets, O., et al., *Metabolic fingerprint after acute and under sustained consumption of a functional beverage based on grape skin extract in healthy human subjects*. Food & function, 2015. **6**(4): p. 1288-1298.
39. Vinholes, J., et al., *Assessment of the antioxidant and antiproliferative effects of sesquiterpenic compounds in in vitro Caco-2 cell models*. Food chemistry, 2014. **156**: p. 204-211.
40. Engström, M.T., et al., *Rapid qualitative and quantitative analyses of proanthocyanidin oligomers and polymers by UPLC-MS/MS*. Journal of agricultural and food chemistry, 2014. **62**(15): p. 3390-3399.
41. Hajiaghaalipour, F., et al., *White tea (Camellia sinensis) inhibits proliferation of the colon cancer cell line, HT-29, activates caspases and protects DNA of normal cells against oxidative damage*. Food chemistry, 2015. **169**: p. 401-410.
42. Herrerias, T., et al., *Effects of natural flavones on membrane properties and cytotoxicity of HeLa cells*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2010. **20**(3): p. 403-408.
43. Boncler, M., et al., *Comparison of PrestoBlue and MTT assays of cellular viability in the assessment of anti-proliferative effects of plant extracts on human endothelial cells*. Journal of pharmacological and toxicological methods, 2014. **69**(1): p. 9-16.
44. Valencia, D., et al., *Seasonal effect on chemical composition and biological activities of Sonoran propolis*. Food Chemistry, 2012. **131**(2): p. 645-651.
45. Rascón Valenzuela, L.A., et al., *Antiproliferative and apoptotic activities of extracts of Asclepias subulata*. Pharmaceutical biology, 2015(ahead-of-print): p. 1-11.
46. Wada, K., et al., *Effects of seven chemicals on DNA damage in the rat urinary bladder: A comet assay study*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2014. **769**: p. 1-6.
47. Barnes, R., et al., *Profile of Gallic Acid Metabolites in Urine After the Intake of Mango (Mangifera indica, L.) cv. Keitt in Humans*. The FASEB Journal, 2015. **29**(1 Supplement): p. 606.13.
48. Hodgson, J.M., et al., *Gallic acid metabolites are markers of black tea intake in humans*. Journal of agricultural and food chemistry, 2000. **48**(6): p. 2276-2280.
49. He, C.-Y., et al., *Biotransformation and in vitro metabolic profile of bioactive extracts from a traditional Miao-nationality herbal medicine, Polygonum capitatum*. Molecules, 2014. **19**(7): p. 10291-10308.
50. Kamil, A., et al., *Bioavailability and biodistribution of nanodelivered lutein*. Food chemistry, 2016. **192**: p. 915-923.
51. Singleton, V. and J.A. Rossi, *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. American journal of Enology and Viticulture, 1965. **16**(3): p. 144-158.
52. Liang, J., et al., *The profiling and identification of the absorbed constituents and metabolites of Paeoniae Radix Rubra decoction in rat plasma and urine by the HPLC–DAD–ESI-IT-TOF-MS n technique: A novel strategy for the systematic screening and identification of absorbed constituents and metabolites from traditional Chinese medicines*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2013. **83**: p. 108-121.
53. Nielsen, I.L.F., et al., *Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in humans: a randomized, double-blind, crossover trial*. The Journal of nutrition, 2006. **136**(2): p. 404-408.