

REVISTA QUÍMICA CENTRAL



Evaluación de la actividad nootrópica del ácido clorogénico presente en el café para el tratamiento preventivo de enfermedades neurodegenerativas

Evaluation of the nootropic activity of the chlorogenic acid present in coffee for the preventive treatment of neurodegenerative diseases

Elda Molina^a | Elithsine Espinel^b | Dayana Borja^c | Javier Santamaría^d | Carmita Reyes^e | Jorge Grijalva^f | Roy Vera^g

^a iD Universidad Central del Ecuador, Ecuador

^b iD Universidad Central del Ecuador, Ecuador

^c iD Universidad Central del Ecuador, Ecuador

^d iD Universidad Central del Ecuador, Ecuador

^e iD Universidad Central del Ecuador, Ecuador

^f iD Universidad Central del Ecuador, Ecuador

^g iD University of Saskatchewan, Canadá

HISTORIAL DEL ARTÍCULO

Recepción: 20/09/2021

Aceptación: 20/11/2021

PALABRAS CLAVE

Ácido clorogénico, actividad nootrópica, aprendizaje, memoria.

ARTICLE HISTORY

Received: 20/09/2021

Accepted: 20/11/2021

KEY WORDS

Chlorogenic acid, nootropic activity, learning, memory.

RESUMEN

El aumento de enfermedades neurodegenerativas ha conducido a la búsqueda de productos con actividad nootrópica para la prevención o tratamiento de esas patologías. En este estudio buscamos evaluar la actividad nootrópica del extracto de la pulpa del café arábica (*Coffea arabica*) en mamíferos menores. En la primera fase se cuantificaron los fenoles totales en la pulpa de café mediante el método Folin-Ciocalteu extraídos con maceración dinámica y asistida. Los datos se analizaron mediante ADEVA y la prueba post-hoc de Duncan. En la segunda fase se utilizaron 24 ratones (*Mus musculus*) de 32,5 g de peso promedio. Los ratones fueron divididos en cuatro grupos y asignados a los siguientes tratamientos: agua (control negativo), ginkgo biloba (control positivo) y dos dosis de extracto de pulpa de café. Los ratones se sometieron a pruebas de aprendizaje en el laberinto acuático de Morris y el laberinto radial de 8 brazos. Se registró el tiempo de latencia y el tiempo que demoraron los ratones en visitar los 8 brazos del laberinto. El extracto de la pulpa de café arábica refleja actividad nootrópica, cuya dosis 100 mg/kg de peso/día de ácido clorogénico (ACG) contribuye al mejoramiento de las propiedades cognitivas.

ABSTRACT

The increase in neurodegenerative diseases has led to the search for products with nootropic activity as adjuvants for the prevention or treatment of these pathologies. In this study, we aim to evaluate the nootropic activity of the arabica coffee pulp extract (*Coffea arabica*) in small mammals. In the first phase, total phenols were quantified from the coffee samples with the Folin-Ciocalteu method by using both dynamic and assisted maceration. Data were analyzed using ANOVA and Duncan's post-hoc test. In the second phase, twenty-four mice (*Mus musculus*) of 32.5 g on average were used. These animals were split up into four groups and assigned to one of the following treatments: water as negative control, Ginkgo Biloba as positive control, and two doses of coffee pulp extract. The mice were subjected to training and learning tests in the eight-arm-radial and Morris's aquatic labyrinth. The latency-time and time that each mouse takes to visit the eight arms of the labyrinth were recorded. The extract of arabica coffee pulp reflects nootropic activity, whose dose 100 mg/kg of weight/day of chlorogenic acid (ACG) contributes to the improvement of cognitive properties.

INTRODUCCIÓN

La actividad nootrópica tiene relación con las funciones cognitivas del cerebro, dado que sus atributos consisten en combatir la falta de concentración, la pérdida de memoria y la fatiga cerebral, cuyos síntomas se agravan con la edad.

Las enfermedades asociadas con el deterioro cognitivo (neurodegenerativas crónicas) se han incrementado progresivamente a nivel global provocando un panorama de detrimento de la calidad de vida de los pacientes. En general, las demencias primarias no son curables y producen un daño progresivo e irreversible del cerebro. El

Alzhéimer, Parkinson y la degeneración frontotemporal son enfermedades neurodegenerativas responsables del 50 al 60% del total de casos de demencia, como lo menciona la Organización Mundial de la Salud,⁽¹⁾ y los costos estimados de los tratamientos alcanzan 235 billones de dólares anuales. Sin embargo, solamente el 11% de estos costos corresponden a América Latina y el Caribe donde viven cerca del 44% de las personas con demencia,⁽²⁾ a pesar de existir muchos casos de demencia. De hecho, los presupuestos empleados en esta amplia región no son suficientes, en razón de la falta de accesibilidad a los servicios médicos integrales tal como el Seguro Social en el Ecuador, la falta de conocimiento de las enfermedades neurodegenerativas y también por los altos costos que representa este tratamiento.

La prevalencia de enfermedades neurodegenerativas se incrementa conforme aumenta la edad de la población. En el país, la esperanza de vida alcanza los 75 años y va en aumento, según las cifras de la Encuesta Salud y Bienestar del Adulto Mayor realizada por el INEC en el 2010 (SABE I y II). Sin embargo, esta cifra variará, proyectándose un incremento a 80,5 años para el año 2050. Esta tendencia, conjuntamente con un aumento de la proporción de adultos mayores, se vería reflejado en un escalamiento del desarrollo de algún tipo de demencia en la población. Por ejemplo, en la década de los 70 en Ecuador, los adultos mayores representaban el 4,2% de la población total, y para el 2050, se espera un aumento al 16 por ciento (Freire *et al.*, 2010).

Considerando que dos de cada diez casos en el país presentan deterioro cognitivo en adultos mayores de 60 años, el tamaño absoluto de la población con deterioro cognitivo se incrementaría en similar magnitud, un comportamiento poblacional análogo a otros países de América Latina.⁽⁴⁾

Por lo tanto, el desarrollo y acceso a tratamientos efectivos es una prioridad, a sabiendas de que este tipo de enfermedades crece de manera exponencial a partir de los 65 años. Es por ello que este estudio, planteó evaluar una alternativa basada en la utilización de productos naturales que estimulen las propiedades cognitivas, para beneficio de personas encaminadas hacia la tercera edad que tienen antecedentes familiares de padecer enfermedades neurodegenerativas.

En respuesta a esa realidad, el desarrollo y uso de fármacos con actividad nootrópica o también denominadas drogas inteligentes,⁽⁵⁾ en su mayoría de origen sintético, se han incrementado. Sin embargo, el origen de las enfermedades neurodegenerativas también está relacionado con factores genéticos y ambientales, incluyendo la dieta y el riesgo de padecer algún tipo de demencia.⁽⁶⁾ Por ejemplo, la alta ingestión de carbohidratos y gluten están asociados con un deterioro cerebral acelerado. También, elevados niveles de glucosa (indicadores como hemoglobina A1C) se asocian con el estrés oxidativo y glicación

con efectos en el deterioro cognitivo y con enfermedades tales como alzhéimer, parkinson, esclerosis múltiple, autismo y depresión,⁽⁷⁾ Al existir una aparente relación entre la presencia del estrés oxidativo y el déficit cognitivo, se ha propuesto el uso de antioxidantes como terapia farmacológica con el fin de inhibir la formación de especies reactivas de oxígeno (EROS) o bien promover su captura e inactivación,⁽⁸⁾ al fomentar el consumo de productos con actividad antioxidante.

Con estos antecedentes, se ha intensificado la búsqueda de fuentes de origen natural con propiedades antioxidantes con la finalidad de prevenir o tratar dichas patologías. El café es una de las bebidas más consumidas y populares de todo el planeta, y en el país no es la excepción. Estudios recientes indican que algunos de sus constituyentes, entre ellos, los compuestos fenólicos, representados por el ácido clorogénico, poseen propiedades antioxidantes.⁽⁹⁾ Por lo tanto, esta investigación tiene el objetivo de evaluar la actividad nootrópica del ácido clorogénico presente en el extracto de café a través de un estudio preclínico utilizando ratones como mamíferos menores para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizó un estudio experimental en dos fases. La primera fase consistió en cuantificar los fenoles totales para cuyo propósito se procedió a identificar los parámetros de calidad del café. La obtención de muestras de pulpa se basó en la definición de parámetros de estabilidad, solubilidad y concentración del principio activo. Este procedimiento se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas y en el Laboratorio de OSP de alimentos de la Universidad Central del Ecuador. La segunda fase consistió en evaluar la actividad nootrópica del extracto del café, utilizando 24 ratones de la especie *Mus musculus BALB/c* como unidades experimentales, con un peso promedio de 32,5g (35 ± 5 g en machos y 30 ± 5 g en hembras). Estos ratones fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación y transportados de forma adecuada e higiénica hasta las instalaciones de Centro de Biología de la Institución.

En el Centro de Biología, se preparó un lugar específico para el alojamiento de los animales, con condiciones ambientales ideales de temperatura, humedad, ventilación, alumbrado e interacción con otros animales, para evitar problemas de estrés. Diariamente los animales recibieron cantidades óptimas de alimentación y agua, de acuerdo a sus requerimientos. De igual manera, recibieron atención veterinaria especializada, para lo cual se usó un programa de vigilancia sanitaria y prevención de enfermedades. De esta forma, se dio cumplimiento a los

protocolos internacionales de bienestar animal establecidos por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

DESCRIPCIÓN DE LA FASE 1

Control de calidad de la pulpa de café arábica

Se cosecharon alrededor de 2 kg de frutos de café arábica en estado maduro, es decir, 32 semanas después de la floración.^(10, 11) La pulpa de cada fruto se obtuvo por extrusión y posterior secamiento a 50°C durante 12 horas hasta obtener entre 6 y 10% de humedad para facilitar la molienda. Se determinaron las cenizas totales de todas las muestras,⁽¹²⁾ para estimar el valor nutricional del café del cual provino la pulpa de café. Para conocer la carga microbiana se realizó un control microbiológico antes y después de la desinfección de la muestra con el fin de corroborar que dicha carga cumple con los límites establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Finalmente, se determinó la fibra cruda y grasa cruda, cuyos valores se compararon con estudios previos.⁽¹³⁾

Obtención de extracto etanólico y metanólico

Los extractos del café se obtuvieron a través de dos métodos de extracción: maceración dinámica y maceración asistida por ultrasonido, utilizando solventes metanol y etanol: agua. Una vez concentradas las muestras, se cuantificaron los fenoles totales de cada extracto, en tres repeticiones por cada tratamiento que se describe más adelante.

Maceración dinámica.- Consistió en someter la muestra a una extracción sucesiva con agua: etanol al 96,6% (50:50) y metanol al 99,9% en relación (1:10 w/v materia seca/solvente) y con la ayuda de un agitador gravitatorio a 200 rpm durante 20 horas a temperatura ambiente, se centrifugó y se procedió a concentrar el extracto en un rotavapor, a una temperatura de 40°C, hasta la mitad del volumen inicial, luego de lo cual se almacenó a 0°C en frascos ámbar hasta su posterior evaluación.⁽¹⁴⁾

Maceración asistida por ultrasonido.- El procedimiento fue similar al método anterior, pero en lugar de ocupar el agitador gravitatorio, se utilizó el equipo de ultrasonido por 45 minutos y a 45 Khz.⁽¹⁴⁾

Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales se determinó según el método de Folin-Ciocalteu,⁽¹⁵⁾ utilizando el ácido gálico como estándar. Se prepararon soluciones patrones de 500, 250, 150, 100, 50 ppm y por regresión lineal se construyó una curva de calibración hasta obtener un coeficiente de regresión de 0,9975.

DESCRIPCIÓN DE LA FASE 2

Administración de tratamientos

La administración de los tratamientos se realizó por vía oral/día durante 7 semanas a un grupo de 24 ratones *Mus musculus* (50% machos y 50% hembras), constituyendo cada ratón una unidad experimental. En este estudio se compararon cuatro tratamientos: como control negativo se empleó el agua (0 mg/kg peso corporal); control positivo el ginkgo biloba (240 mg/kg peso corporal) y el extracto de la pulpa de café en dos dosis: dosis 1 (10 mg/kg peso corporal/ ACG), dosis 2 (100 mg/kg peso corporal/ ACG), con la proyección de encontrar la dosis segura para futuros estudios clínicos. Cabe mencionar que se tomó en consideración las dosis (tratamientos) del extracto de café arábica, dado que el ácido clorogénico (ACG) es el bioactivo que le confiere la capacidad antioxidante a dicha muestra.⁽¹⁶⁾ La primera dosis fue adaptada del estudio del Consejo Superior de Investigación Científica de España y la Universidad de Granada que administran a los animales de experimentación 10 mg (ACG) / kg corporal / día (equivalentes a la ingesta de ácidos clorogénicos por consumo moderado de café), con el objeto de comparar el efecto antiglicante entre varios extractos de café.⁽¹⁷⁾ La segunda dosis de 100 mg (ACG) / kg corporal / día se obtuvo sobre la base de productos comercializados a nivel mundial con dicha concentración.

Los ratones se pesaron cada 8 días, durante el transcurso de dos semanas se realizaron las dos pruebas de aprendizaje utilizando los métodos de laberinto acuático de Morris y el laberinto radial de 8 brazos,⁽¹⁸⁾ tal como se explica a continuación.

Pruebas de aprendizaje

Los ratones fueron entrenados por cinco días consecutivos en ambos laberintos, luego de lo cual se sometieron a un período de evaluación de 7 días consecutivos, siguiendo el protocolo estipulado por Wenk.⁽¹⁸⁾

En el laberinto acuático de Morris se empleó un tanque circular lleno de agua a una temperatura de 25°C y un diámetro aproximado de 100 cm y de profundidad 30 cm. El tanque se dividió en cuatro cuadrantes iguales, donde se colocó una plataforma de escape cuadrada de 10 cm de longitud. Durante el entrenamiento, el primer día se sumergió la plataforma hasta los 8 centímetros de longitud para que los ratones puedan observar la ubicación de la misma; y, a medida que trascurrieron los días de entrenamiento, se procedió a sumergir en su totalidad la plataforma hasta 1 cm por debajo de la superficie del agua, posición que se mantuvo durante los siguientes días de evaluación.⁽¹⁸⁾

En el laberinto radial de 8 brazos se empleó un aparato compuesto de 8 brazos / ramificaciones idénticas de 35 cm de longitud x 5 cm de ancho. Estas ramificaciones fueron distribuidas radialmente y unidas a una plataforma

central con un diámetro de 20 cm para acomodar a los animales y permitir que se movilizan fácilmente entre los brazos. El primer día, se ambientó a los ratones por 20 minutos con acceso libre a todos los brazos. Se colocaron dos ratones para facilitar la adaptación y aclimatación, a partir de segundo día hasta finalizar los días de evaluación, se realizó este proceso individualmente.

Registro y análisis de datos

Cuantificación de fenoles totales.- Las muestras fueron analizadas por triplicado en un barrido en el espectrofotómetro UV-VIS a 760 nm y los fenoles totales se expresaron en miliequivalentes de ácido gálico por mililitro de muestra (meq GA/ml muestra). Estos datos a la vez, se convirtieron en miliequivalentes de ácido clorogénico por mililitro de muestra (meq ACG / ml muestra) al reemplazar el peso equivalente de dicho bioactivos.

Pruebas de aprendizaje.- En el método de laberinto acuático de Morris se registró el tiempo de latencia, que consiste en el tiempo que cada ratón tardó en trasladarse desde el punto de partida de este laberinto hasta llegar a la plataforma y permanecer en ella durante 10 segundos. Este procedimiento se repitió cuatro veces al día; para ello, al ratón se le dejó descansar brevemente antes de iniciar el siguiente ensayo durante 5 minutos por siete días consecutivos.

En el método de laberinto radial de 8 brazos se registró el tiempo que transcurrió para que los ratones visiten los 8 brazos del laberinto. En este ensayo se consideró el número de desaciertos que tuvo cada ratón, es decir, cuando el roedor ingresó más de una vez a un brazo ya visitado. Este procedimiento fue repetido por siete días consecutivos.

Análisis estadístico

Para los fenoles totales, se hizo un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar diferencias entre extractos de pulpa de café. Seguidamente se aplicó la prueba post-hoc de Duncan⁽¹⁹⁾ cuando los factores en el ANOVA resultaron significativos. Estos procedimientos se realizaron en el software SEDEX V1.0.

Los datos obtenidos en las evaluaciones de aprendizaje fueron analizados utilizando un modelo lineal mixto para considerar la estructura anidada de los datos en el tiempo, evitando el problema de pseudo-replicación temporal. En este modelo estadístico, los cuatro tratamientos (dosis), el sexo de los ratones y los 7 días de experimentación, además de las interacciones entre éstos, fueron analizados como factores fijos; en tanto, las cuatro repeticiones diarias del experimento se analizaron como efecto aleatorio. Es decir, se consideró que la respuesta en tiempo de latencia de los ratones no varía durante las repeticiones diarias, sino que esta variación del efecto de las dosis es observada en el transcurso de la

semana. Adicionalmente, la variable respuesta (tiempo de latencia) fue transformada utilizando logaritmo natural. Esta transformación permitió ajustar adecuadamente el modelo a los datos y cumplir con las asunciones de normalidad, homogeneidad de varianzas y linealidad. Finalmente, se aplicó un análisis post-hoc utilizando la prueba de diferencias mínimas significativas de Fisher en casos donde los parámetros del modelo resultaron significativos.

Al igual que con el laberinto acuático de Morris, los datos obtenidos en laberinto radial de 8 brazos fueron analizados utilizando un modelo lineal mixto para considerar la estructura anidada de los datos en el tiempo. En este modelo estadístico, los cuatro tratamientos, el sexo de los ratones y los 7 días de experimentación, además de las interacciones entre éstos, fueron analizados como factores fijos. Adicionalmente, el número de desaciertos fue colocado como covariable y los seis ratones o sujetos experimentales se analizaron como efecto aleatorio. Por tanto, se asumió que la respuesta en el tiempo de latencia no varía dentro del grupo de ratones tratados con similar dosis. En este procedimiento, la variable respuesta (tiempo) fue transformada usando logaritmo natural para cumplir con las asunciones de normalidad, homogeneidad de varianzas y linealidad, y se aplicó la prueba de diferencias mínimas significativas de Fisher como análisis post-hoc en casos donde los parámetros del modelo resultaron significativos. Los procedimientos estadísticos fueron ejecutados en el software R.⁽²⁰⁾

RESULTADOS Y DISCUSIONES

La identificación taxonómica de la planta de café proveniente del cantón El Carmen de la provincia de Manabí, confirmó la especie *Coffea arabica*. Los resultados de los parámetros de control de calidad de la pulpa de café fueron: 6,20% de humedad, 23% de fibra cruda, 1,28% de grasa cruda y 0,85% de cenizas totales (base seca). De igual forma, los criterios de control microbiológico cumplen con lo establecido por la OMS,⁽²¹⁾ para microorganismos aerobios, enterobacterias, mohos y levaduras.

En la tabla 1, se puede observar los promedios de tres muestras de los fenoles totales por los dos métodos de maceración y los dos métodos de extracción. La mayor cantidad de fenoles totales obtenidos del extracto de la pulpa de café arábica se registró por el método de maceración dinámica utilizando solvente etanol: agua 50:50 ($P < 0,05$). Contrariamente, la menor extracción se alcanzó con el método de maceración asistida por ultrasonido utilizando metanol como solvente (ver Tabla 1).

De acuerdo con la tabla 1, la maceración dinámica acusó la mejor respuesta en la recuperación de fenoles totales, debido probablemente a que la muestra permaneció mayor tiempo en contacto con el solvente en comparación con la

maceración asistida por ultrasonido. De otra parte, el solvente etanol: agua arrojó mejores resultados, lo cual se explica por la presencia de agua que incrementa el volumen del material vegetal, y por efecto, la superficie de contacto con el solvente y la matriz vegetal. Se conoce que el agua incrementa la constante dieléctrica de la mezcla etanol: agua y con ello la polaridad del solvente, lo que mejora la capacidad extractiva por parte del solvente y probablemente de la muestra que contenga compuestos afines a la polaridad, tal como afirman otros estudios realizados por varios autores,⁽²²⁾ quienes concluyen que, a mayor constante dieléctrica, mayor es la concentración de polifenoles.

Las propiedades cognitivas aparentemente se ven influenciadas por estímulos que influyen en el aprendizaje, tal como se puede observar en la figura 1 (ver Figura 1). Al respecto, se destaca la existencia de roedores evaluados en este trabajo, cuyo tiempo de latencia se incrementó, debido aparentemente al miedo a ser introducidos a la piscina, cuya emoción habría provocado que esos ejemplares únicamente deambulen alrededor del lugar y no lleguen a la plataforma, por causa de una condición de estrés.⁽²³⁾

De hecho, los procesos cognitivos como la memoria, el aprendizaje y atención, están ligados a un condicionamiento del miedo, es decir, a la memoria emocional,^(24, 25) incluso se ha demostrado que el estrés deteriora las tareas de memoria hipocampo-aprendizaje, como se puede observar en la figura indicada. De igual forma, en dos pruebas de aprendizaje, se evidenciaron diferencias entre hembras y machos, debido aparentemente a variables fisiológicas y comportamentales del individuo. Al respecto, Marrocco y McEwen⁽²⁶⁾ sugieren la existencia de una relación entre hipocampo con las hormonas sexuales.

En la tabla 2, se registran los promedios del tiempo de latencia en el laberinto acuático de Morris. No se registraron diferencias significativas entre los tratamientos Control y Ginkgo Biloba ($P > 0,05$), aunque esta variable fue afectada por el sexo de los ratones y los días de evaluación, tal como se evidencia en las figuras 1 y 2, respectivamente. La comparación entre dosis de extractos de pulpa administrados, no reflejaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$) en esta variable. La comparación entre los tratamientos Control y Ginkgo Biloba demuestra diferencias ($P < 0,05$) respecto de los tratamientos a diferentes dosis de extracto de pulpa de café (ver Tabla 2).

De acuerdo con los resultados expresados en la tabla 2 y figura 2, se evidencia, a partir del segundo día de evaluación, una disminución del tiempo de latencia. Sin embargo, parece incrementar a partir del cuarto día, hecho que probablemente se explique por cuanto al ser introducidos repetidamente los ratones, terminaron por habituarse al espacio, y consecuentemente, se tomaron más tiempo de lo que normalmente realizaron en los primeros días de evaluación (ver Figura 2).

En la tabla 3, se expresan los promedios de desaciertos obtenidos en el método de laberinto radial de 8 brazos

(ver Tabla 3). No se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos control, ginkgo biloba y el tratamiento con la dosis más baja de extracto de pulpa de café ($P > 0,05$). Sin embargo, estos tres tratamientos reflejan diferencias respecto de la mayor dosis de extracto de café administrado ($P < 0,05$). El sexo y día de evaluación afectaron la respuesta animal, tal como se puede observar en la figura 3, lo cual significa que conforme aumentó los días de evaluación, disminuyó el número de desaciertos, siendo más notorio en las hembras respecto de los machos (ver Figura 3).

De otra parte, se pudo observar que tanto los machos como las hembras que fueron administrados el extracto de la pulpa de café de concentración (10 mg/kilogramo del peso corporal/día) requirieron mayor tiempo para alcanzar el objetivo. Sin embargo, en el caso de los animales que recibieron el extracto de la pulpa de café a concentración (100 mg/kilogramo de peso/día) acusaron el mismo tiempo de latencia promedio independientemente del sexo.

En el laberinto radial de 8 brazos, se observó que la dosis de 10 mg/kilogramo del peso/día del extracto de la pulpa café, incrementa únicamente la memoria de trabajo y no la memoria espacial. Por el contrario, la dosis de 100 mg/kilogramo de peso/día del extracto, parece tener mayor efectividad en ambos tipos de memoria, este asociado al concepto de unión y las relaciones cuantitativas, es decir, la relación dosis / concentración-respuesta, el cual sugiere que la magnitud de los efectos farmacológicos distales inducidos por los ligandos es proporcional a la fracción de ocupación de los receptores como lo mencionan Waldman y Terzic,⁽²⁷⁾ por lo que se concluye que los 100 mg de ácido clorogénico administrados a los ratones ocuparon en su totalidad los receptores del sitio de acción.

CONCLUSIÓN

Se evaluó la actividad nootrópica del extracto de la pulpa de café arábica (*Coffea arabica*) en animales menores y se comprobó que el ácido clorogénico presente en el extracto de la pulpa de café tiene actividad nootrópica, y que la dosis 100 mg / kilogramo del peso corporal / día de ácido clorogénico, demuestra mayor efectividad en el mejoramiento de las propiedades cognitivas de aprendizaje y memoria, hecho que podría beneficiar a una población humana con problemas neurocognitivos o que es propensa a padecerlos por sus antecedentes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro de Biología, en especial a la Dra. Vet. Daniela Balseca. De igual manera, al Laboratorio de osp de Alimentos de la Universidad Central

Tabla 1. Promedio y desviación estándar de fenoles totales obtenidos de la pulpa de café en dos tipos de maceración y dos métodos de extracción (etanol: agua y metanol)

| Tipo de maceración | Etanol: agua (meq ACG ml ⁻¹) | Metanol (meq ACG ml ⁻¹) |
|-------------------------------------|--|-------------------------------------|
| Maceración dinámica | 0,364 ± 0,00091 a | 0,231 ± 0,00057 b |
| Maceración asistida por ultrasonido | 0,258 ± 0,00065 bc | 0,166 ± 0,00042 b |

Letras distintas reflejan diferencias estadísticas significativas entre los cuatro valores (P < 0,05).

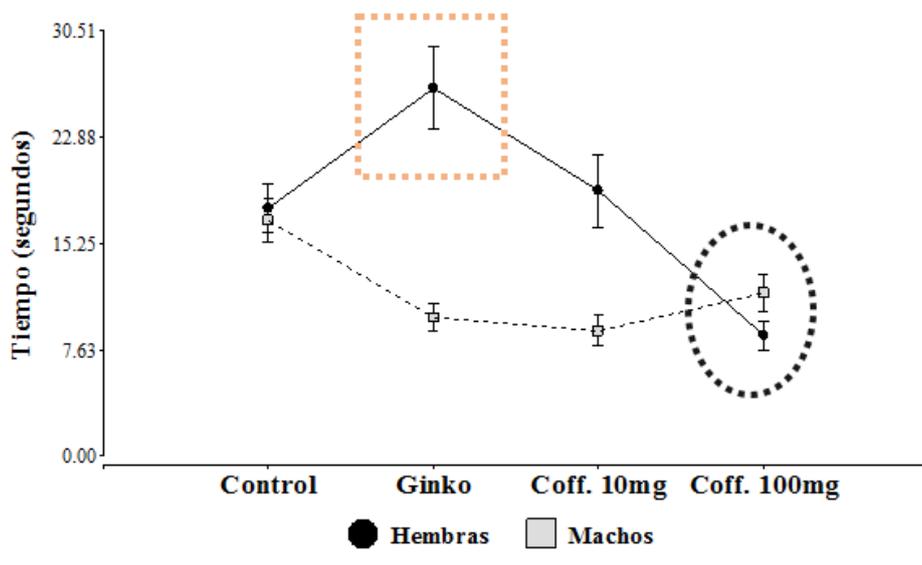


Figura 1. Memoria emocional. Variación en el tiempo de latencia de ratones machos y hembras, sometidos a dos dosis de extracto de café en el laberinto acuático de Morris

Tabla 2. Resultados del análisis estadístico de la variable tiempo de respuesta (s) en el laberinto acuático de Morris

| Tratamientos | Tiempo (s) |
|---|----------------|
| Control | 17,32 ±15,20 a |
| Ginkgo Biloba | 18,15 ±22,14 a |
| Extracto de la pulpa de café (10 mg ACG) | 13,98 ±19,10 b |
| Extracto de la pulpa de café (100 mg ACG) | 10,16 ±11,18 b |

Letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas (P < 0,05).

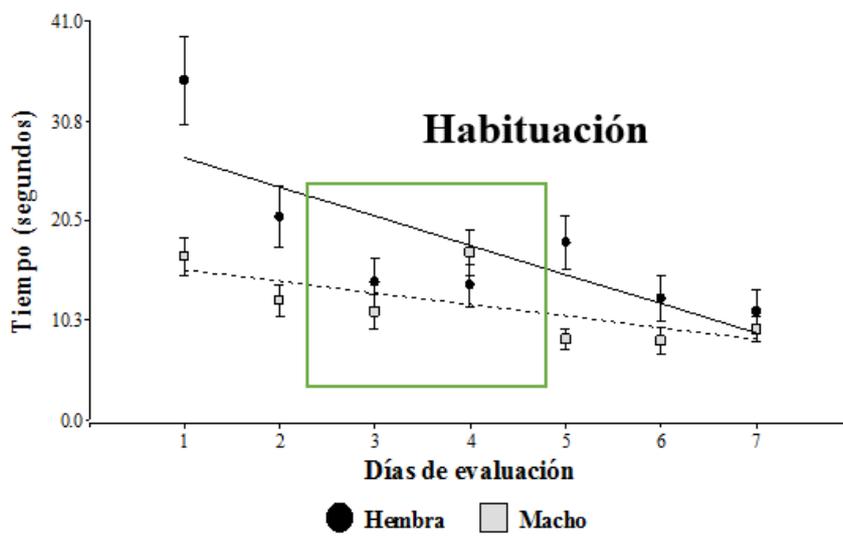


Figura 2. Variación en el tiempo de latencia de ratones machos y hembras, sometidos a dos dosis de extracto de café, en función de los días de evaluación en el laberinto acuático de Morris

Tabla 3. Resultados del análisis estadístico de la variable número de desaciertos en el laberinto radial de 8 brazos.

| Tratamientos | Número de desaciertos |
|---|-----------------------|
| Control | 3,13 ± 1,81 a |
| Ginkgo Biloba | 3,33 ± 2,39 a |
| Extracto de la pulpa de café (10 mg ACG) | 2,17 ± 1,51 a |
| Extracto de la pulpa de café (100 mg ACG) | 2,07 ± 1,47 b |

Letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$).

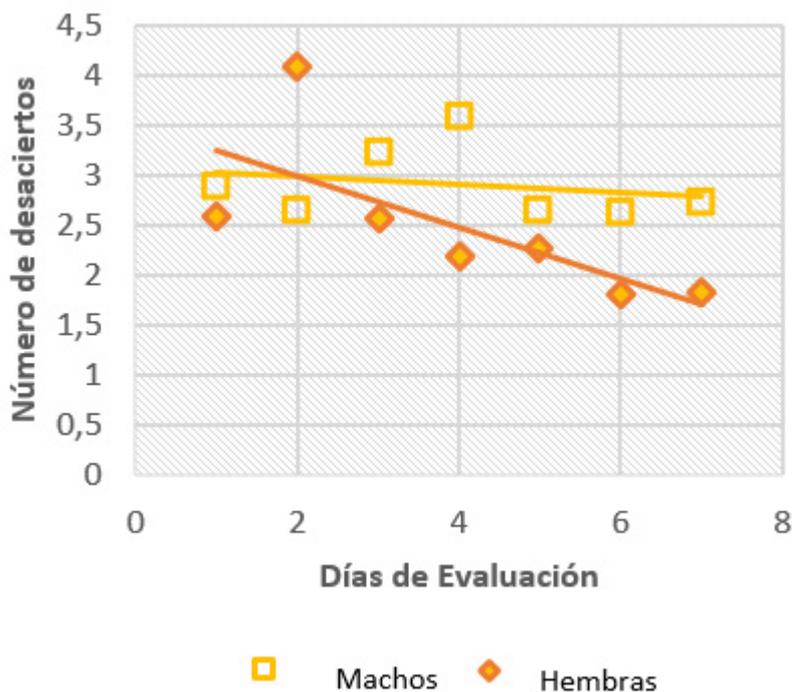


Figura 3. Número de desaciertos de ratones machos y hembras, sometidos a dos dosis de extracto de café, en función de los días de evaluación en el laberinto radial de 8 brazos

del Ecuador, y a la Dra. Isabel Fierro, exdecano de la Facultad de Ciencias Químicas.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

FINANCIAMIENTO

Fondos de investigación del proyecto semilla «Determinación de la actividad nootrópica en plantas de uso común en la dieta ecuatoriana», Universidad Central del Ecuador, 2017.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Demencia: una prioridad de salud pública [Internet]. 2012. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/75263> (visitado 12 de jul. de 2018).
2. Llibre Rodríguez J, Gutiérrez Herrera RF. Demencias y enfermedad de Alzheimer en América Latina y el Caribe. *Rev Cuba Salud Pública*. 2014; 40(3): 378-87.
3. Freire, WB, Rojas E, Pazmiño L, Fornasini M, Tito S, Buendía P, Waters WF, Salinas J, Álvarez P. Encuesta Nacional de Salud, Bienestar y Envejecimiento SABE I; Resumen Ejecutivo: Ministerio de Salud Pública/ Instituto Nacional de Estadística y Censos, Ecu, 2009-2010.
4. Sánchez J, Vásquez D, Zúñiga J. Prevalencia de deterioro cognitivo y factores asociados en adultos mayores

- jubilados de los servicios sociales del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social. Tesis, Universidad de Cuenca, enero 2013.
5. Ruiz J. Drogas inteligentes: plantas, nutrientes y fármacos para potenciar el intelecto. Paidotribo. 2005.
 6. Hernando V. Nutrición y deterioro cognitivo. Nutrición hospitalaria. [Internet]. 2016; 33(4): 49-52. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.346> (visitado 04 de mayo de 2018).
 7. Caamaño A. La alimentación en las enfermedades neurodegenerativas: el rol de carbohidratos, gluten y grasas. Tesis, Universidad San Francisco de Quito, diciembre 2015.
 8. Martínez J, Boll C, Hernández M, Rubio M, Sánchez M, Ríos C. Radicales libres y estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas. Mensaje bioquímico. 2010, xxxiv: 43-59.
 9. Pérez L, Chávez K, Medina L, Gámez N. Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. Biotecnia. [Internet]. 2013; 15(1): 51-56. <https://doi.org/10.18633/bt.v15i1.136> (visitado 13 de jul. de 2018).
 10. Ramos P, Sanz J, Oliveros, C. Identificación y clasificación de frutos de café en tiempo real, a través de la medición de color. Cenicafé. 2010; 61(4): 315-26.
 11. Marín S, Arcila J, Montoya E, Oliveros C. Relación entre el estado de madurez del fruto del café y las características de beneficio rendimiento y calidad de la bebida. Cenicafé. 2004; 54(4): 297-315.
 12. Farmacopea herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de la salud. 2.ª ed. México. 2013.
 13. Norma venezolana de café. Venezuela. Café elaborado. Determinación de fibra cruda. COVENIN 430-82. [Internet]. 2014. <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/430-82.pdf> (visitado 10 de ene. de 2018).
 14. Tobón N. Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la pulpa de café (*Coffea arabica* L.) variedad Castillo. Tesis, Corporación universitaria Lassallista. 2015.
 15. Arroyo J, Bonilla P, Tomás G, Huamán J. Estudio fitoquímico del extracto etanólico y de las fracciones de las hojas de *Piper Aduncum* «matico». Rev Per Quím Ing Quím. 2011; 14(1 y 2): 62-7.
 16. Martínez S, Hernández F, Aguilar C, Rodríguez R. Extractos de pulpa de café: una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana. Investigación y Ciencia. [Internet]. 2019; 27(77): 73-79. <https://doi.org/10.33064/iycuaa2019772124> (visitado 5 de dic. de 2020).
 17. Fernández B, Nicolai M, Picariello G, Ferranti P, Mesa M, Del Castillo M. Estudio in vivo del efecto antiglicante de los compuestos del café. XVII Reunión de la Sociedad Española de Nutrición. [Internet], Santiago de Compostela, nov 3-5, 2016. Sitio Web DIGITAL.CSIC <https://digital.csic.es/handle/10261/151691> (visitado 7 de ago. de 2018)
 18. Wenk GL. Assessment of spatial memory using the radial arm maze and Morris water maze. Curr Protoc Neurosci. [Internet]. 2004 May; Chapter 8: Unit 8.5A. DOI: 10.1002/0471142301.ns0805as26. PMID: 18428607.
 19. Fallas J. Análisis de variancia: comparando tres o más medias. [Internet]. 2012. http://www.ucipfg.com/Repositorio/MGAP/MGAP-05/BLOQUE-ACADEMICO/Unidad-2/complementarias/analisis_de_varianza_2012.pdf
 20. The R Foundation. R: The R Project for Statistical Computing. RCore team. [Internet]. 2018. <https://www.r-project.org/>
 21. Organización Mundial de la Salud. Quality control methods for medicinal plant materials [Internet]. 1998. Gen,71-81.
 22. Rivas B, Leal I, Loaiza L, Morillo Y, Colina, J. Phenolic compounds and antioxidant activity in extracts of four oregano species. Rev Téc Ing Univ Zulia. 2017; 40(3): 134-42.
 23. Moreno R, Pedraza C, Gallo, M. Neurogénesis hipocampal adulta y envejecimiento cognitivo. Escritos Psicol / Psychol Writings. 2013; 6(3): 14-24.
 24. Aguado, L. Aprendizaje y memoria. Rev. Neurol. 2001; 32(4): 373-81.
 25. Vicens P, Redolat R, Carrasco M. Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. Psicothema. [Internet]. 2003; 15(4): 539-544. <http://www.psicothema.com/psicothema.asp?id=1104> (visitado 12 mar. de 2020).
 26. Marrocco J, McEwen BS. Sex in the brain: hormones and sex differences. Dialogues Clin Neurosci. 2016; 18(4): 373-83.
 27. Waldman S, Terzic A. Farmacología y terapéutica: principios para la práctica. Manual Moderno: México D. F. 2010.