



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

Evaluación antioxidante de flavonoides aislados a partir de *Hyptis suaveolens* L, *Ipomoea batatas* y *Cyclotrichium organifolium*.

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA
AGUILAR ALEMÁN JUAN JOSÉ



CDMX

2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: MATA ESSAYAG RACHEL

VOCAL: Profesora: FRAGOSO SERRANO MABEL CLARA

SECRETARIO: Profesora: FLORES AVILA CAROLINA

1er. SUPLENTE: Profesor: FIGUEROA SALDIVAR MARIO ALBERTO

2° SUPLENTE: Profesor: COLIN SEGUNDO ALBERTO

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Laboratorio 123, Departamento de Farmacia, Facultad de Química/UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dra. FRAGOSO SERRANO MABEL CLARA



Firma: _____

SUSTENTANTE (S):

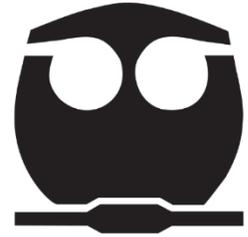
AGUILAR ALEMÁN JUAN JOSÉ



Firma: _____



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO



**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL
(Titulación o Graduación con trabajo escrito)**

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la Institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo con lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado “**Evaluación antioxidante de flavonoides aislados a partir de *Hyptis suaveolens* L, *Ipomoea batatas* y *Cyclotrichium organifolium*.**”, que presenté para obtener el título/grado de **QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**, es original, de mi autoría y lo realicé con el rigor metodológico exigido por la Facultad de Química, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referidas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de titulación/graduación.

Atentamente

Aguilar Alemán Juan José 313296778

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO GENERAL	4
3. OBJETIVOS PARTICULARES	4
4. METODOLOGÍA	5
5. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS FLAVONOIDES	6
6. MÉTODOS DE EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE	14
7. PLANTAS CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES	27
<i>Hyptis suaveolens</i>	27
<i>Ipomoea batatas</i>	35
<i>Cyclotrichium organifolium</i>	42
8. RESULTADOS	47
<i>Hyptis suaveolens</i> :	47
<i>Ipomoea batatas</i> :	52
<i>Cyclotrichium organifolium</i> :	62
9. DISCUSIÓN	68
10. CONCLUSIONES	73
11. REFERENCIAS	75

1. INTRODUCCIÓN

La relación entre el estrés oxidativo y la salud humana, concretamente en la patogenia de diversas enfermedades y trastornos, se ha convertido en un problema grave y, como tal, ha atraído mucha atención en la comunidad científica. Bajo estrés, el cuerpo humano producirá especies más dañinas, como especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) (p. ej. radicales aniónico superóxido, radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno) **antioxidantes** enzimáticos [p. ej. superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y catalasa] y **antioxidantes** no enzimáticos [ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), glutatión, carotenoides y flavonoides], que inducen daño celular (Krishnaiah et al., 2011). Este efecto aumenta cuando no hay suficientes **antioxidantes** para apagar estos radicales dañinos, por lo tanto, la dieta humana debe enriquecerse con este tipo de compuestos ya sea de origen artificial o natural.

Las ROS desempeñan un papel importante en el daño oxidativo del compartimento celular que conduce a la lesión celular y la apoptosis. Este fenómeno (ROS) también es responsable de diversas enfermedades crónicas como la cardiopatía coronaria, la carcinogénesis y otros problemas de salud relacionados con la edad avanzada. Las especies de ROS se forman como productos intermedios y subproductos en el ciclo de producción de energía en las mitocondrias en las reacciones en cadena de transferencia de electrones y en el retículo endoplásmico, también tiene lugar en neutrófilos y macrófagos durante la inflamación y en otros procesos de actividades metabólicas celulares normales. Las ROS se producen en respuesta a las condiciones ambientales, como la radiación ultravioleta, el tabaquismo, el alcohol y/o las drogas (Hepel y Andreescu, 2015; Marnett 2000).

El estrés oxidativo causa diferentes enfermedades a través de cuatro pasos críticos: peroxidación de lípidos de la membrana, oxidación de proteínas, daño del ADN y alteración en la reducción de equivalentes de la célula; lo que conduce a la destrucción celular y vías de señalización alteradas. El ADN es muy susceptible al

daño de los radicales libres como $\cdot\text{OH}$, estos pueden reaccionar con el ADN mediante la adición o pérdida de átomos de hidrógeno del resto de azúcar, de igual forma causa la activación de la enzima poli (ADP-ribosa) sintetasa que puede conducir a la fragmentación del ADN y la muerte celular programada. La peroxidación lipídica conduce a la generación de una gran cantidad de subproductos tóxicos que pueden tener efectos en un sitio alejado del área de generación, actúan como 'segundos mensajeros', siendo perjudicial para el funcionamiento de la célula. Las proteínas también son susceptibles directamente a los radicales libres, dañando muchos tipos de proteínas, interfiriendo con la actividad enzimática y la función de la proteína estructural (Sen y Chakraborty, 2011).

Los antioxidantes son sustancias que retrasan, controlan o previenen el inicio y propagación de enfermedades degenerativas en el organismo y reducen el proceso oxidativo (Shah et al., 2014). Los compuestos fenólicos inhiben la reacción en cadena de la oxidación actuando como donantes de hidrógeno o aceptores de radicales libres y generando radicales más estables. Se considera que la reacción de inhibición compite con el paso de propagación de la oxidación de lípidos y produce productos estables que no iniciarán nuevos radicales libres ni provocarán una oxidación rápida a través de una reacción en cadena (Shahidi y Zhong, 2015).

Los antioxidantes naturales se derivan generalmente de fuentes vegetales y su actividad varía según la especie vegetal, la diversidad, los métodos de extracción y/o procesamiento y las condiciones de crecimiento. Los metabolitos secundarios más abundantes son los compuestos fenólicos, que potencian la actividad antioxidante frente a los radicales libres y otras especies reactivas del oxígeno. Las plantas están expuestas a ambientes altamente oxidativos que inducen la producción de radicales, por ello han desarrollado un sistema antioxidante basado en la síntesis de compuestos fenólicos como flavonoides, taninos y otros metabolitos secundarios. Los flavonoides son un gran grupo de sustancias polifenólicas tipo $\text{C}_6\text{C}_3\text{C}_6$ de bajo peso molecular, donde en su gran mayoría

contienen núcleos de benzo- γ -pirrol, aunque también existen los flavanos, chalconas y auronas. Son una clase de metabolitos secundarios que cubren más de 10,000 estructuras reportadas hasta la fecha, siendo antioxidantes importantes, especialmente debido a su alto potencial redox; esto les permite actuar como agentes reductores, donantes de hidrógeno y extintores de oxígeno singlete. Los flavonoides cumplen muchas funciones en las plantas, incluida la atracción de polinizadores, la regulación del crecimiento, la homeostasis fotosintética y respiratoria, y la defensa química (Leopoldini et al. 2011; Agati et al. 2012; Singh et al 2014; Zehiroglu y Ozturk Sarikaya, 2019, Smith y Banks, 1986).

En consecuencia, el aumento de la ingesta de **antioxidantes** en los seres humanos a través de la dieta es una forma importante de minimizar dicho daño oxidativo. Se sabe que los **antioxidantes** sintéticos disponibles comercialmente exhiben una toxicidad grave. Por lo tanto, hay esfuerzos para buscar **antioxidantes** naturales, económicos y efectivos (Ghaffari et al 2014). Se cree que estos **antioxidantes** de origen vegetal tienen un mejor efecto biológico que los sintéticos, porque los fitoconstituyentes son parte de las funciones fisiológicas de la flora viva y, por lo tanto, tienen una mejor compatibilidad con el cuerpo humano.

Existen diferentes especies originarias de América que presentan esta cualidad, entre las que se pueden encontrar *Hyptis suaveolens* L. (Lamiaceae) e *Ipomoea batatas* L. (Convolvulácea) que presentan un gran contenido de metabolitos secundarios con actividad antioxidante. También se encuentra la planta *Cyclotrichium organifolium* (Lamiaceae) la cual no es originaria de América si no de Turquía, que se tomó en consideración por formar parte de la misma familia que la primera mencionada, ya que, al no obtenerse la mayor información de resultados por la limitación de artículos en diferentes bases de datos, esta se introdujo en el presente trabajo, para complementar el desarrollo del tema.

2. OBJETIVO GENERAL.

Describir y analizar los métodos sobre el poder antioxidante de los flavonoides aislados de las especies *Hyptis suaveolens* L. (Lamiaceae), *Ipomoea batatas* L. (Convolvulácea) y *Cyclotrichium organifolium* (Lamiaceae).

3. OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Realizar una revisión documental profunda en las fuentes electrónicas disponibles.
2. Seleccionar los artículos donde se demuestre la evidencia sobre el poder antioxidante de los flavonoides en las especies seleccionadas.
3. Analizar y ordenar la información de acuerdo con los métodos de evaluación antioxidante evaluado por los autores.
4. Lograr una mejor visión sobre el poder antioxidante que pueden llegar a presentar estos flavonoides gracias al análisis completo y profundo de los resultados.
5. Integrar el manuscrito con el análisis de todos los datos colectados.

4. METODOLOGÍA.

Para el cumplimiento de los objetivos planteados, la estrategia inicial consistió en la búsqueda de literatura que permitiera entender las bases teóricas sobre los mecanismos de acción de los flavonoides (sección 5) y los diferentes métodos de evaluación de actividad antioxidante (sección 6).

Se continuo con la búsqueda de artículos científicos cuyo fin fuera demostrar el poder antioxidante de los flavonoides encontrados en los géneros *Hyptis*, *Ipomea* y *Cyclotrichium*, utilizando algunas fuentes de datos como:

- Scopus
- SciFinder
- EBSCO
- PubMed
- JStor
- ThePlantList
- Trópicos

Después de la lectura de los documentos encontrados en las diferentes bases de datos, se seleccionaron aquellos que demostrarán las propiedades antioxidantes de las plantas seleccionadas (sección 7) en donde se organizan las tres especies estudiadas.

En la sección 8 se presentan los resultados sobre la actividad biológica reportada en las publicaciones seleccionadas para finalmente poder discutir y concluir (secciones 9 y 10).

5. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS FLAVONOIDES

Muchos tipos de antioxidantes con diferentes funciones desempeñan su papel en la red de defensa *in vivo*. Pueden actuar como captadores de radicales libres, extintores de oxígeno singulete, inactivadores de peróxidos y otros ROS, quelantes de iones metálicos, extintores de productos de oxidación secundaria e inhibidores de enzimas pro-oxidativas. Es muy importante conocer sus mecanismos funcionales. Se ha prestado mucha atención a los mecanismos de los antioxidantes fenólicos, por lo que se han logrado avances significativos en la comprensión de los mecanismos moleculares que sustentan los efectos quimiopreventivos de los polifenoles. Muchos compuestos fenólicos y aminas aromáticas actúan como antioxidantes captadores de radicales libres. El potencial de captación de radicales libres de los compuestos polifenólicos parece depender del patrón (tanto en número como en ubicación) de los grupos OH libres en el esqueleto flavonoide. Los polifenoles funcionan eliminando los radicales libres activos antes de que ataquen moléculas biológicamente esenciales mediante la donación de un átomo de hidrógeno (**Figura 1**) o un electrón (**Figura 2**) seguido de la transferencia de protones para dar un compuesto estable y un radical derivado de antioxidantes (He et al., 2012).

Los flavonoides se encuentran entre los antioxidantes dietéticos más poderosos, debido a la eliminación directa de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, la quelación de metales con actividad redox, la inhibición de enzimas generadoras de radicales y la inducción de la expresión de genes antioxidantes endógenos.

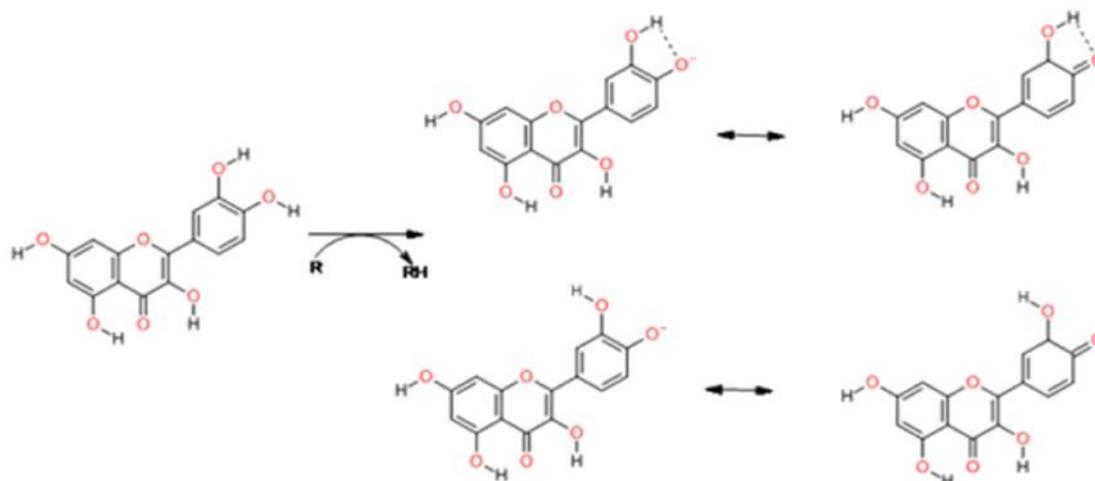


Figura 1 Mecanismo de transferencia directa de hidrógeno (Gark, 2020)

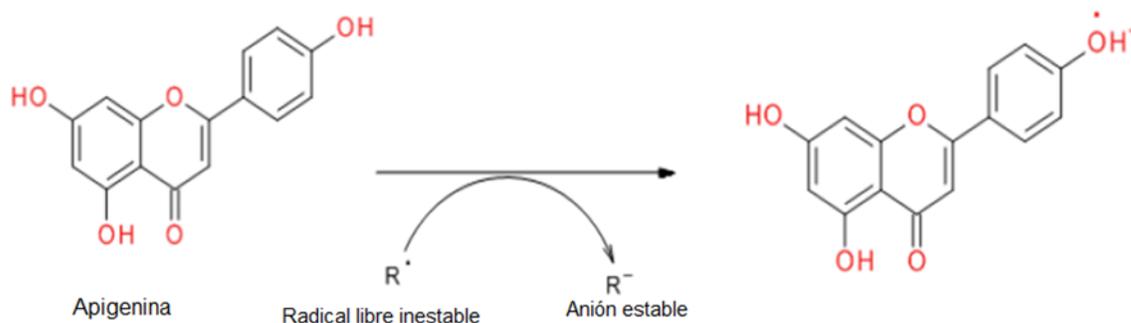


Figura 2 Mecanismo de transferencia directa de electrones (Gark, 2020)

Desde el punto de vista estructural, los flavonoides consisten en un anillo de benceno (A) condensado con un anillo heterocíclico (C) y un anillo de fenilo (B) unido al átomo de carbono C2 (**Figura 3**). Según las isomerizaciones y los grupos funcionales se clasifican en chalconas, flavonas, flavonol, flavano, flavanoles, antocianidinas, flavadioles, antocianidinas, auronas. Si el esqueleto sufre modificaciones se tiene los derivados isoflavonoide y neoflavonoide.

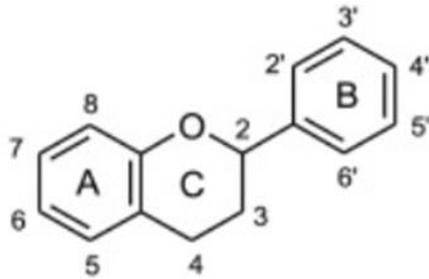


Figura 3 Esquema de numeración de los átomos de carbono del núcleo flavano (Biela et al., 2020)

La actividad de captación de radicales de los flavonoides está relacionada principalmente con el anillo B. Por lo tanto, el número y las posiciones de los grupos OH ubicados en este anillo juegan un papel crucial. Los compuestos con un grupo OH en el anillo B son antioxidantes menos potentes, especialmente si la molécula de flavonoide no muestra la conjugación con el anillo C o si la flavona carece de grupo OH en el átomo C3 (Pannala et al., 2001). El tercer grupo OH en el anillo B (estructura de pirogalol) también puede contribuir a muy buenas propiedades antioxidantes de los flavonoides (Husain et al., 1987; Lucarini et al., 2002; Pérez-González et al., 2012; Rice-Evans et al., 1996). El número total de grupos OH en una molécula de flavonoide también afecta la actividad antioxidante de los flavonoides, porque los grupos OH presentes en los anillos A (5-OH, 7-OH) y C (3-OH), también contribuyen a la actividad captadora de radicales observada experimentalmente (Rice-Evans et al., 1996). La actividad de los flavonoides individuales (o más generalmente, los antioxidantes fenólicos) no depende únicamente de su estructura, pero puede verse considerablemente afectada por el medio ambiente, el tipo de radical eliminado y la cinética de reacción de un proceso en particular (Amić et al., 2017; Caicedo et al., 2014; Craft et al., 2012; Di Meo et al., 2013; Galano et al., 2016; Pérez-González et al., 2012; Procházková et al., 2011; Rice-Evans et al., 1996).

Los diferentes anillos del flavonoide presentan propiedades funcionales variadas en relación con la antioxidación. La ubicación del hidroxilo del anillo B es el

determinante más significativo de la eliminación de ROS, mientras que la sustitución de los anillos A y C tiene poco impacto en las constantes de velocidad de eliminación de radicales aniónicos superóxido.

El anillo B del flavonoide es el más activo en la propiedad antioxidante en comparación con el anillo A y C. Sus grupos hidroxilo son atacados preferentemente para abstraer el hidrógeno o la transferencia de electrones (Wolfe y Liu 2008). El anillo B actúa como un donante de protones, lo que se atribuye significativamente a su actividad. También permite la formación de un radical relativamente estable mediante la deslocalización de electrones entre los grupos funcionales. Se ha descubierto que el grupo catecol (orto dihidroxi) del anillo B tiene una importante actividad antioxidante. Está involucrado en la abstracción de hidrógeno y la quelación de iones metálicos (Leopoldini et al. 2006).

Las principales características estructurales de los flavonoides necesarios para la eliminación eficaz de radicales se pueden resumir de la siguiente manera (Bors et al., 1990; Croft, 2006):

- a) Una estructura orto- dihidroxi (catecol) en el anillo B, para la deslocalización de electrones (**Figura 4**).

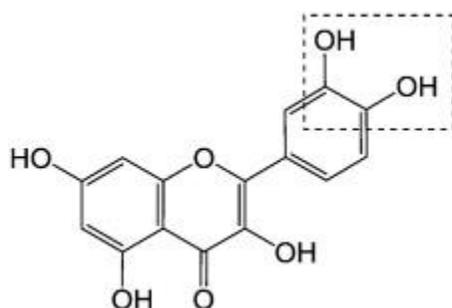


Figura 4 Estructura orto- dihidroxi (catecol) en el anillo B (Croft, 2006)

- b) El doble enlace 2,3 en conjugación con una función 4-oxo en el anillo C proporciona la deslocalización electrónica del anillo B (**Figura 5**).

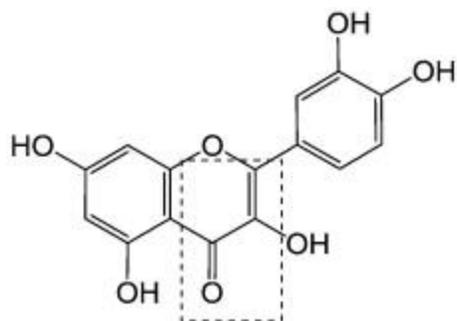


Figura 5 2,3-Doble enlace en conjugación con una función 4-oxo en el anillo C (Croft, 2006)

- c) Los grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 5 proporcionan enlaces de hidrógeno al grupo oxo (**Figura 6**).

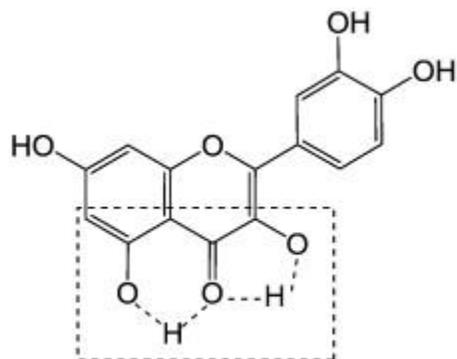


Figura 6 Grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 5 (Croft, 2006)

Los iones de metales de transición bivalentes, Fe^{2+} en particular, pueden catalizar procesos oxidativos, lo que lleva a la formación de radicales hidroxilo y pueden descomponer hidroperóxidos mediante reacciones de Fenton y los radicales lipídicos a través de la descomposición de hidroperóxidos lipídicos preformados. Junto con la captación de radicales libres, los polifenoles pueden atrapar metales y

evitar que participen en las reacciones que generan radicales libres; La quelación de estos metales puede reducir eficazmente la oxidación (**Figura 7**) (He et al., 2012).

En general, se asume que la capacidad de los flavonoides para quelar el Fe^{2+} es muy importante para su actividad antioxidante, ya que puede ocurrir una "eliminación específica del sitio" (Haenen, 1993). Esto significa que si el Fe^{2+} todavía es catalíticamente activo, los radicales se forman en las proximidades del flavonoide, que rodea al Fe^{2+} , y se pueden eliminar inmediatamente. En ese caso, el flavonoide tendría una doble acción sinérgica, lo que lo convertiría en un antioxidante extremadamente poderoso (van Acker, 1998).

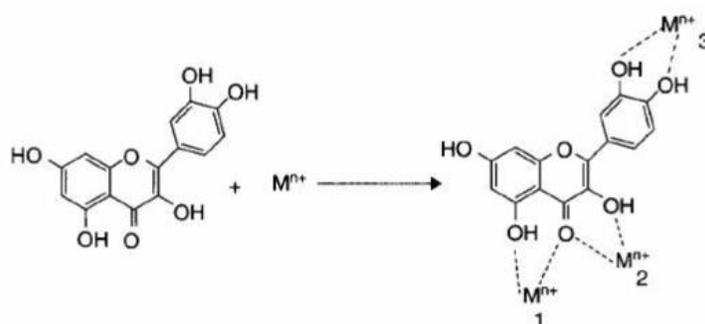


Figura 7 Mecanismo de quelación de metales de transición (He et al., 2012).

En la mayoría de los casos los flavonoides que presentan un grupo catecol en el anillo B, un OH en posición 3 (el cual puede actuar como un sitio de quelación o ser también oxidado) y un doble enlace entre los carbonos 2 y 3 se muestran más activos. Cuanto menor es el número de grupos OH, menor es la probabilidad de pérdida de hidrógeno y menor la probabilidad de oxidación del flavonoide y reducción del metal (Pérez y Martínez, 2001).

La oxidación inducida por Fenton es fuertemente inhibida por flavonoides con arreglos 3', 4'-catecol, 4-oxo y 5-OH. Pueden formarse complejos quelantes con cationes divalentes entre el grupo 5-OH y 4-oxo, o entre el 3'- y 4'-OH. En virtud

tanto de las propiedades quelantes de metales como de la capacidad de captación de radicales, los flavonoides polihidroxilados pueden ofrecer un beneficio considerable como inhibidores de la reacción de Fenton in vivo (Cheng y Breen, 2000; Heim et al., 2002)

La inhibición sobre determinadas oxidasas representa otro de los mecanismos a través de los cuales los flavonoides ejercen sus actividades antioxidantes. Los flavonoides inhiben las enzimas responsables de la producción de superóxido ($O_2^{\cdot-}$), como la xantina oxidasa y la proteína quinasa C. La NADPH oxidasa es un sistema asociado a la membrana que cataliza la producción de $O_2^{\cdot-}$ en neutrófilos activados. El mecanismo de su activación incluye la interacción de un agonista con un receptor específico en la membrana de los neutrófilos, activación de la fosfolipasa C con la posterior formación de segundos mensajeros, que activan la proteína quinasa C. Esta enzima fosforila la subunidad p47phox de la NADPH oxidasa, un componente clave de esta enzima, y por tanto provoca la activación del estallido respiratorio. Los inhibidores de flavonoides potentes de la proteína quinasa C poseen una estructura de flavona coplanar con sustituyentes hidroxilo libres en las posiciones 3', 4' y 7 (Procházková, 2021; Hanasaki et al., 1994; Umeki, 1994; Ago et al., 2003; Ferriola et al., 1989).

La xantina oxidoreductasa es un complejo enzimático que ayuda en la oxidación de la hipoxantina a xantina y puede oxidar aún más la xantina a ácido úrico. Este complejo enzimático, que existe como una fracción diferente que puede existir en formas interconvertibles xantina deshidrogenasa y xantina oxidasa, es responsable de generar especies reactivas de oxígeno (ROS) (van Acker, 1996). Se ha indicado que los polifenoles inhiben la XO de manera competitiva mediante la unión al sitio activo de la enzima, cuyas actividades inhibitoras son directamente proporcionales a sus concentraciones. Los flavonoides generalmente se unen espontáneamente al sitio activo e inducen el cambio conformacional de XO, bloqueando consecuentemente la entrada de xantina o la difusión de $O_2^{\cdot-}$ radical fuera de la bolsa catalítica.

Se ha concluido que los hidroxilos en las posiciones 5 y 7 del anillo A son favorables para la inhibición de la XO, mientras que la hidroxilación en el anillo B puede favorecer o no dicha actividad de inhibición, debido a que dependen mucho de los patrones de sustitución intrínsecos que puedan presentar los flavonoides (Lin et al., 2015; Yuan et al., 2019). La forma en que la presencia de grupos hidroxilo influye en los efectos inhibidores está estrechamente relacionada con si las sustituciones aumentan el impedimento estérico o alteran la interacción del flavonoide con el sitio catalítico de XO (Bijo et al., 2015; Van Hoorn et al., 2002).

Además de secuestrar radicales libres, quelar iones metálicos e inhibir oxidasas, los flavonoides son capaces de prevenir las lesiones causadas por los radicales libres mediante otras formas, como la interacción con diversas enzimas antioxidantes, induciendo la expresión de enzimas mediada por elementos sensibles a electrófilos (EpRE), como NAD (P) H-quinona oxidorreductasa (NQO1) y glutatión S-transferasas (GST), que son las principales enzimas de defensa contra los tóxicos electrofílicos y el estrés oxidativo (Zhu y Fahl, 2001; Nerland, 2007); reducción de radicales α -tocoferilo, donde los flavonoides pueden actuar como donantes de hidrógeno para el radical α -tocoferilo (Hirano et al., 2001); entre otras.

6. MÉTODOS DE EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE

Las capacidades antioxidantes de las muestras pueden verse influenciadas por varios factores, como el mecanismo de trabajo y el sistema de prueba, y no pueden describirse completamente con un solo método. Actualmente se utiliza una amplia gama de ensayos para evaluar la capacidad antioxidante de las plantas y los componentes antioxidantes.

- Ensayo de eliminación de radicales DPPH

El ensayo de eliminación de radicales DPPH se encuentra entre los métodos más utilizados y ofrece el primer enfoque para evaluar la actividad antioxidante. La molécula 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (α , α -difenil- β -picrilhidrazilo; DPPH) se caracteriza como un radical libre estable en virtud de la deslocalización del electrón libre sobre la molécula en su conjunto, la molécula no se dimeriza, como sería el caso con la mayoría de los demás radicales libres. La deslocalización del electrón también da lugar al color violeta intenso, caracterizado por una banda de absorción en la solución de etanol centrada a unos 517 nm (**Figura 8**). Cuando se mezcla una solución de DPPH con la de un sustrato (AH) que puede donar un átomo de hidrógeno, entonces esto da lugar a la forma reducida con la pérdida de este color violeta (la decoloración actúa como un indicador de la eficacia antioxidante) (Alam et al., 2013).

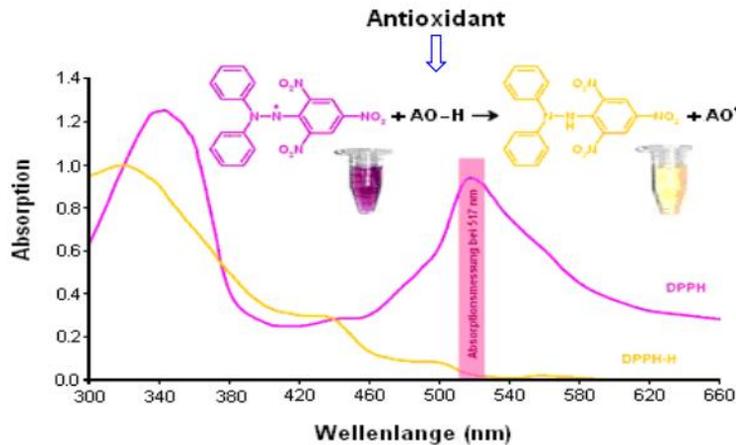


Figura 8 La estructura del radical DPPH • y su reducción por un antioxidante (AO-H) (Boligon et al., 2014)

La reacción comienza con una transferencia de electrones, mientras que la abstracción del átomo de hidrógeno es una reacción secundaria lenta que solo se produce en disolventes que aceptan enlaces de hidrógeno fuertes como el metanol y el etanol. Como en otros ensayos basados en la transferencia de electrones, la actividad de barrido está fuertemente influenciada por el pH y las propiedades del disolvente. Una buena opción para analizar antioxidantes tanto lipófilos como hidrófilos es la mezcla 50% (v / v) de agua / etanol.

Según Manzocco et al. (1998) la muestra objeto de ensayo (0.2 mL) se diluye con metanol y se añaden 2 mL de solución de DPPH (0.5 mM). Después de 30 min, se mide la absorbancia a 517 nm. El porcentaje de captación de radicales DPPH se calcula utilizando la ecuación que se indica a continuación:

$$\% \text{ de inhibición del radical DPPH} = \left(\frac{A_{br} - A_{ar}}{A_{br}} \right) \times 100$$

Donde A_{br} es la absorbancia antes de la reacción y A_{ar} es la absorbancia después de que ha tenido lugar la reacción.

La actividad antioxidante por el método de eliminación de DPPH a menudo se informa como CI_{50} que se define como la concentración efectiva del antioxidante necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH en un 50%. La CI_{50} se determina a partir del gráfico entre la absorbancia restante de radicales libres y la

concentración con cada análisis por triplicado. Cuanto menor sea la CI_{50} , mayor es la "eficacia antirradical". Sin embargo, esta expresión tiene una desventaja; mide la eficacia de un antioxidante para eliminar los radicales libres, pero no la rapidez con que los elimina.

Los estudios han demostrado que la actividad de DPPH y la concentración de antioxidantes no son lineales; entonces, cada muestra necesitaría su propia curva de calibración, algo que no es factible y no tiene un buen "ajuste" (Chen et al., 2013; Carmona-Jiménez et al., 2014). Por lo tanto, la presentación de los resultados de CI_{50} siempre requiere la comparación con un estándar para determinar la concentración de DPPH obtenida de la curva de calibración debido a incertidumbres en la determinación directa (Milardović et al. 2006). Además, los valores de CI_{50} calculados como "poder oxidante" no tienen en cuenta el tiempo de reacción para alcanzar el equilibrio.

Se ha argumentado que la eliminación de DPPH no imita el mecanismo de eliminación de radicales de los antioxidantes en alimentos reales o sistemas biológicos debido a la falta de radicales de oxígeno en el ensayo (Benzie y Strain, 1999). Por lo tanto, este método se basa en gran medida en la suposición de que la actividad antioxidante es igual a su capacidad de donación de electrones o el llamado poder reductor. Aunque el ensayo DPPH es simple y no requiere un tratamiento especial de la muestra, su sensibilidad puede verse afectada por una serie de factores, como el tipo y la cantidad de disolvente utilizado, la presencia y concentración de hidrógeno, iones metálicos y la frescura del reactivo DPPH (Dawidowicz et al, 2012, Kedare y Singh, 2011, Musa et al, 2013).

Una limitación importante del ensayo espectrofotométrico de DPPH son los espectros superpuestos de compuestos que absorben en el mismo rango de longitud de onda que el DPPH. Por tanto, puede emplearse la espectroscopia EPR que mide directamente la concentración de radical DPPH a niveles submicromoleculares. La detección de EPR tiene ventajas sobre la detección espectrofotométrica clásica, no solo para muestras muy coloreadas, sino también

para muestras que aparecen turbias en el solvente elegido (Gardner et al., 1998; Shahidi y Zhong, 2015).

El ensayo de eliminación de radicales DPPH también se ha utilizado en combinación con otras técnicas para fines particulares. El ensayo de DPPH se puede combinar con HPLC en línea para un análisis rápido de una gran cantidad de muestras de antioxidantes, lo que reduce la pérdida de antioxidantes durante los procesos de purificación. Los métodos de HPLC-DPPH en línea se basan en la reacción posterior a la columna de eluidos antioxidantes con radicales DPPH (Shahidi y Zhong, 2015). Las muestras de antioxidantes crudos se someten primero a una separación por HPLC (normalmente en fase inversa), y el eluido correspondiente a cada pico se hace reaccionar con el radical DPPH a una velocidad de flujo determinada durante un período de tiempo constante (por ejemplo, 60 segundos), lo que da como resultado la pérdida del radical DPPH. y el antioxidante en sí, que puede ser registrado por un detector UV (Kedare et al., 2011).

- Ensayo de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC)

El ensayo TEAC fue desarrollado por primera vez por Miller et al. (1993) como un método simple y conveniente para la determinación de la capacidad antioxidante total (TAC). El ensayo mide la capacidad de los antioxidantes para eliminar el catión radical estable ABTS^{•+} [ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)], un cromóforo azul verdoso con absorción máxima a 734 nm que disminuye en su intensidad en presencia de antioxidantes. Los antioxidantes pueden neutralizar el catión radical ABTS^{•+} ya sea por reducción directa a través de la donación de electrones o por extinción de radicales mediante la donación de átomos de hidrógeno, y el equilibrio de estos dos mecanismos generalmente está determinado por la estructura antioxidante y el pH del medio (Prior et al., 2005). Además, al igual que el ensayo de barrido de DPPH, el ensayo TEAC también ha sido cuestionado por su falta de relevancia biológica debido al uso del catión

radical ABTS artificial que no se encuentra en los alimentos ni en los sistemas biológicos.

El $ABTS^{+\bullet}$ se genera haciendo reaccionar un agente oxidante fuerte (por ejemplo, permanganato de potasio o persulfato de potasio) con la sal de ABTS (**Figura 9**). La reducción del $ABTS^{+\bullet}$ verde azulado por el antioxidante donante de hidrógeno se mide por la supresión de su espectro de absorción de onda larga característico, durante esta reacción, el catión del radical ABTS azul se convierte de nuevo a su forma neutra incolora. El método es rápido y se puede utilizar en una amplia gama de valores de pH, lo que es útil para estudiar el efecto del pH sobre los mecanismos antioxidantes. Además, el radical $ABTS^{+\bullet}$ es estable y soluble en agua y disolventes orgánicos, lo que permite la determinación de la capacidad antioxidante de compuestos/muestras tanto hidrófilos como lipófilos (Boligon et al., 2014).

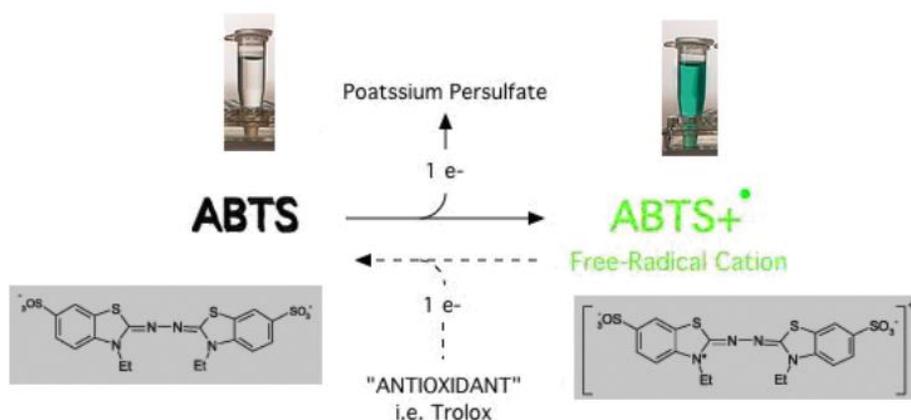


Figura 9. Reacción química ABTS (Pannala et al., 2001)

Sin embargo, TEAC también tiene algunas desventajas importantes. El alto coeficiente de extinción de ABTS^{•+} ($1.50 \times 10^4 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ a 734 nm (Re et al., 1999)) limita el rango útil de concentración de antioxidantes que puede analizarse con precisión a concentraciones finales de aproximadamente 1.5–70 μM . Las concentraciones de antioxidantes fuera de este rango requieren demasiado o muy poco ABTS^{•+} para obtener mediciones precisas (Apak et al., 2013). Termodinámicamente, un compuesto puede reducir ABTS^{•+} si tiene un potencial redox menor que el de ABTS (0.68 V) (Antolovich et al., 2002; Apak et al., 2013). Muchos compuestos fenólicos tienen potenciales redox bajos y, por tanto, reaccionan con ABTS^{•+}.

Aunque el ensayo TEAC se ha utilizado ampliamente en múltiples formas, se cuestiona su utilidad y precisión. Apak et al., 2013 recomienda que el TEAC se utilice con cuidado como ensayo de rutina para medir la actividad antioxidante relativa de las diferentes clases de fenoles y extractos con antioxidantes mixtos, así como para predecir efectos protectores *in vivo* por las siguientes razones:

- La reactividad con ABTS^{•+} parece estar controlada ante todo por la accesibilidad estérica de los grupos -OH fenólicos al sitio del radical ABTS^{•+} más que por las propiedades químicas de los antioxidantes de prueba.
- Tal como se realiza actualmente, el ensayo informa estequiometría pero no distingue las diferencias en las velocidades de reacción, que son el factor de control en las aplicaciones de la vida real.
- El ensayo no se puede utilizar para la construcción de SAR (relaciones estructura-actividad) o para la clasificación precisa de antioxidantes, incluso dentro de clases estructurales.
- Los compuestos que contribuyen en gran medida a la acción antioxidante *in vivo*, incluidas las proteínas y el glutatión (GSH), reaccionan mal o no reaccionan en absoluto con ABTS^{•+}.

Los cationes de radicales ABTS se preparan añadiendo dióxido de manganeso sólido (80 mg) a una solución madre acuosa 5 mM de ABTS (20 mL usando un tampón de Na/K 75 mM de pH 7). Se construye una curva de calibración estándar para Trolox (análogo de vitamina E soluble en agua) a concentraciones de 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 μM . Las muestras se diluyen adecuadamente de acuerdo con la actividad antioxidante en tampón Na/K pH 7. Las muestras diluidas se mezclan con 200 μL de solución de cationes de radicales ABTS^+ en placas de 96 pocillos y se lee la absorbancia (a 750 nm) después de 5 min en un lector de microplacas. Los valores de TEAC pueden calcularse a partir de la curva estándar de Trolox y expresarse como equivalentes de Trolox (en mM) (Alam et al., 2013).

Dependiendo de las reacciones químicas involucradas, estos ensayos se dividen en dos categorías de ensayos basados en la reacción de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y ensayos basados en la reacción de transferencia de un solo electrón (ET)

- Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

El ensayo FRAP es un método típico basado en ET que mide la reducción del complejo ligando de iones férricos (Fe^{3+}) al complejo ferroso (Fe^{2+}) de color azul intenso (en forma de 2,4,6-tripiridil-s-triazina férrica (TPTZ)) (**Figura 10**) mediante antioxidantes en medios ácidos. La actividad antioxidante se determina como un aumento de la absorbancia a 593 nm y los resultados se expresan como equivalentes micromolares de Fe^{2+} o en relación con un estándar antioxidante (Antolovich et al., 2002). A diferencia de otros métodos basados en ET, el ensayo FRAP se lleva a cabo en condiciones de pH ácido (pH 3.6) para mantener la solubilidad del hierro y, lo que es más importante, impulsar la transferencia de electrones. Esto aumentará el potencial redox, provocando un cambio en el mecanismo de reacción dominante (Hegerman et al., 1998).

Se ha argumentado que el ensayo FRAP, en general, como un método no radical basado en ET, tiene poca relación con el proceso de extinción de radicales (mecanismo HAT) que ocurre en los sistemas lipídicos, y tiene poca correlación con otras mediciones de la actividad antioxidante. Por lo tanto, se sugiere que este ensayo podría usarse en combinación con otros métodos para distinguir los mecanismos dominantes para diferentes antioxidantes (Prior et al., 2005; Shahidi y Zhong, 2015).

El método FRAP tiene limitaciones, especialmente para mediciones por debajo de valores de pH no fisiológicos, es decir, a pH 3.6. Además, este método es incapaz de detectar compuestos polifenólicos y tioles de reacción lenta (Benzie y Strain, 1999). Además, cualquier compuesto (incluso sin propiedades antioxidantes) con un potencial redox menor que el del par redox Fe (3+) / Fe (2+) puede teóricamente reducir Fe (3+) a Fe (2+) contribuyendo a un aumento en el valor de FRAP y, por lo tanto, induce resultados falsos positivos (Jerkovic y Marijanovic, 2010).

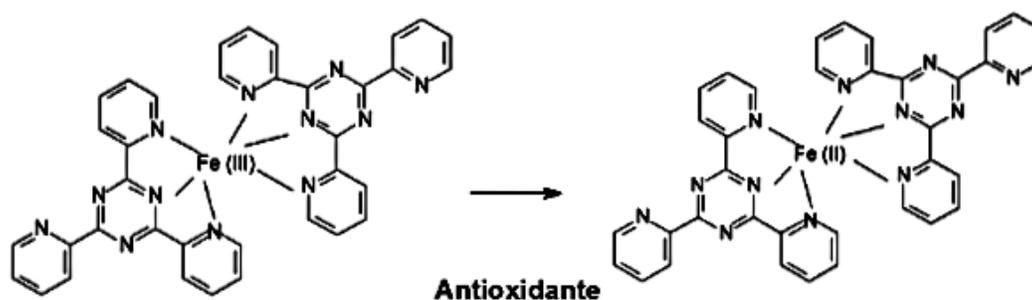


Figura 10. Mecanismo de reacción en el método FRAP (Benzie et al., 1996)

Este método también se ha adaptado al lector de microplacas de 96 pocillos, lo que proporciona una mejor reproducibilidad y un mayor rendimiento de la muestra. También se aplicó originalmente al plasma, pero se ha extendido a otros fluidos biológicos, alimentos, extractos de plantas y jugos.

Se mezclan tres mililitros de reactivo FRAP preparado (solución 10 mM de TPTZ en HCl 40 mM, FeCl₃ 20 mM y tampón acetato 0.3 M a pH 3.6) con 100 µL de muestra diluida; la absorbancia a 593 nm se registra después de una incubación de 30 minutos a 37 °C (Alam et al., 2013)

- Ensayo de capacidad antioxidante reductora cúprica (CUPRAC)

El ensayo CUPRAC es un ensayo de reducción de cobre desarrollado como una variante del ensayo FRAP. Utiliza cobre como oxidante en lugar de hierro en el ensayo FRAP. El método mide el poder reductor de los antioxidantes para convertir el ion cúprico (Cu²⁺) en ión cuproso (Cu⁺). De manera similar al ensayo FRAP, se emplea un ligando para formar un complejo de cobre-ligando para facilitar la medición de la absorbancia. La neocuproína (Nc; 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina) es el ligando comúnmente empleado en el ensayo CUPRAC. El complejo Cu²⁺ –neocuproína puede reducirse mediante antioxidantes a Cu⁺–neocuproína (**Figura 11**), que es un cromóforo con absorción máxima a 450 nm (Apak et al., 2004).

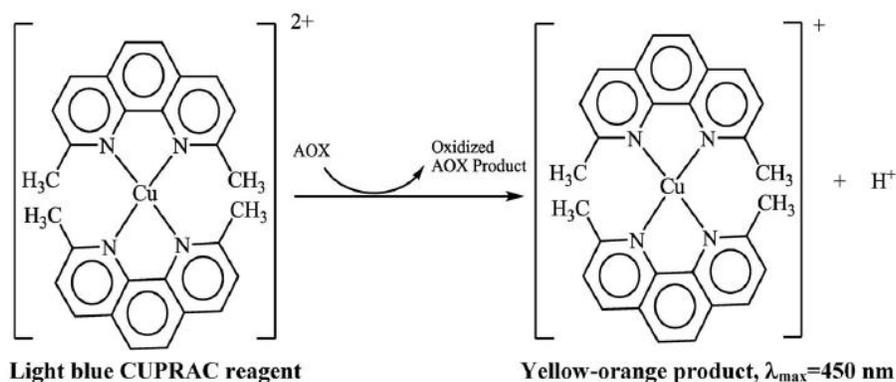


Figura 11. La reacción de CUPRAC y cromóforo: catión de quelato de Cu (I) -Nc (los protones liberados en la reacción son neutralizados por el tampón NH₄Ac) (Apak 2013).

Según Apak et al. (2008), se añaden 1 ml de $\text{CuCl}_2 \cdot 10^{-2}$ M, 1 ml de neocuproína 7.5×10^{-3} M y una solución de $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ 1 M en el tubo de ensayo de vidrio. Luego, se agregan 400 μL de solución estándar recién preparada y se diluyen hasta el volumen final de 4.1 mL con agua desionizada. Este procedimiento se repite para adiciones de 400 μL , 300 μL , 200 μL , 100 μL y 50 μL de soluciones recién preparadas de la muestra. Las soluciones preparadas se mezclan y se incuban a temperatura ambiente durante 30 min. La absorbancia a 450 nm se determina frente a un blanco de reactivo mediante espectrómetro (Alam et al., 2013).

La actividad antioxidante evaluada por diferentes métodos antioxidantes puede expresarse como equivalente milimol/micromol del estándar de referencia utilizado. Los compuestos antioxidantes utilizados como estándar de referencia incluyen vitamina E, ácido ascórbico, ácido gálico, BHA, BHT, Trolox, etc. TE (equivalente de Trolox [TE]) es un parámetro ampliamente utilizado para medir la actividad antioxidante cuando se utiliza Trolox como estándar de referencia para medir la capacidad antioxidante de las muestras (Dontha, 2016).

Los glucósidos flavonoides deben hidrolizarse a sus agliconas correspondientes para exhibir plenamente su capacidad antioxidante. Los antioxidantes de reacción lenta necesitaban una mayor temperatura de incubación para completar su oxidación con el reactivo CUPRAC (Apak et al., 2008).

Debido al menor potencial redox del reactivo CUPRAC, los azúcares reductores y el ácido cítrico, que no son verdaderos antioxidantes sino sustratos oxidables en otros ensayos similares, por ejemplo, FRAP, no se oxidan con el reactivo CUPRAC (Apak et al., 2008). Al mismo tiempo, el bajo potencial redox mejora el ciclo redox, por lo que la reducción del cobre puede ser un indicador aún más sensible de la actividad prooxidante potencial de los antioxidantes (Prior et al., 2005).

Apak et al., 2013 describe algunas ventajas del método CUPRAC sobre otros ensayos similares:

- El reactivo CUPRAC es lo suficientemente rápido para oxidar antioxidantes de tipo tiol, mientras que el método FRAP no mide ciertos antioxidantes de tipo tiol como el glutatión.
 - El reactivo es más estable y accesible que otros reactivos cromogénicos (por ejemplo, ABTS, DPPH).
 - Las curvas de absorbancia versus concentración son lineales en un amplio rango, a diferencia de las de otros métodos que producen curvas polinomiales.
 - El método puede medir simultáneamente antioxidantes hidrófilos y lipófilos.
 - El método CUPRAC es prominente para medir la capacidad antioxidante total de fluidos biológicos junto con otros métodos de uso común.
-
- Ensayo de capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC)

El ensayo ORAC mide la capacidad de rotura de la cadena de radicales de los antioxidantes mediante el seguimiento de la inhibición de la oxidación inducida por radicales peroxilo. En este ensayo, el radical peroxilo producido por un generador reacciona con una sonda fluorescente dando como resultado la pérdida de fluorescencia, que se registra con un fluorómetro. El resultado se expresa calculando el área bajo la curva de fluorescencia. El método ORAC mide la capacidad de los antioxidantes para donar átomos de hidrógeno y, por lo tanto, es un método basado en HAT (Shahidi y Zhong, 2015).

La B-ficoeritrina (B-PE), una proteína aislada de *Porphyridium cruentum*, fue la sonda fluorescente empleada inicialmente en los primeros estudios de ORAC hasta que se descubrió que adolecía de varias desventajas. Al ser un componente

natural derivado de algas rojas de varias especies, muestra una gran variabilidad de lote a lote en la reactividad con radicales peroxilo. Además, su unión inespecífica a los antioxidantes polifenólicos y el fotoblanqueo por luz de excitación pueden introducir interferencias en la reacción y, por tanto, una falsa interpretación de la actividad antioxidante (Huang et al, 2005, Prior et al, 2005). Se han identificado sondas alternativas sintéticas no proteicas como reemplazo de B-PE, entre las cuales la fluoresceína es la sonda fluorescente seleccionada con más frecuencia para el ensayo ORAC en décadas. Sin embargo, se ha demostrado que la fluoresceína experimenta reacciones secundarias y extinción de la fluorescencia no deseadas (Apak et al., 2013)

La fluoresceína y los derivados de la fluoresceína se excitan a 490 nm y la emisión se mide a 514 nm, según las características de la sonda fluorescente utilizada. En ausencia de antioxidantes, a medida que ocurre la reacción, la intensidad de la fluorescencia disminuye. En presencia de especies antioxidantes, se inhibe la degradación de la fluorescencia. El valor de ORAC se calcula a partir del equivalente de Trolox y se expresa como unidades o valor de ORAC. Cuanto mayor sea el valor ORAC, mayor será el "Poder antioxidante".

Los generadores de radicales peroxilo comúnmente utilizados en los ensayos ORAC incluyen un grupo de compuestos azo como el AIBN lipófilo (α , α -azobisisobutironitrilo), ABAP (clorhidrato de 2,2-azobis (2-amidinopropano) y AMVN (2,2'-azobis. (2,4-dimetilnaleronitrilo)), y el AAPH hidrófilo [dihidrocloruro de 2,2'-azobis (2-amidinopropano)] (Becker et al., 2004). La generación de radicales peroxilo es sensible a la temperatura y se ha informado que es uno de los principales factores contribuyentes que interfiere con los resultados y la inconsistencia del ensayo (Prior et al., 2005).

La generación de radicales peroxilo es sensible a la temperatura y se ha informado que es uno de los principales factores contribuyentes que interfiere con los resultados y la inconsistencia del ensayo (Prior et al., 2005). Por lo tanto, es muy importante controlar y monitorear la temperatura durante el ensayo. Sin embargo, este problema se ha mitigado bien con el desarrollo de lectores de

placas de fluorescencia altamente automatizados equipados con una incubadora (Shahidi y Zhong, 2015).

Como menciona Alam et al. (2016) los ensayos se realizan a pH 7.0 con Trolox (6.25, 12.5, 25 y 50 $\mu\text{mol/L}$ para ensayos lipofílicos; ensayos hidrofílicos de 12.5, 25, 50 y 100 $\mu\text{mol/L}$) como estándar y tampón fosfato 75 mM/L como blanco. Después de la adición de AAPH, la placa se coloca inmediatamente en un contador de etiquetas múltiples precalentado a 37° C. La placa se agita de forma orbital durante 10 s y la fluorescencia se lee a intervalos de 1 min durante 35 min a la longitud de onda de excitación de 485 nm. El cálculo final de los resultados se realiza tomando la diferencia de las curvas de áreas bajo el decaimiento entre el blanco y la muestra y/o estándar (Trolox) y expresando esto en μM de equivalentes de Trolox (TE) por g de peso seco de muestra ($\mu\text{M TE /gramo}$).

Las AUC (Área bajo la curva, por sus siglas en ingles) de las muestras de prueba se convierten en equivalentes de Trolox (un congénere soluble en agua del tocoferol) en comparación con una curva estándar preparada a partir de las AUC determinadas en un rango de concentraciones de Trolox; se calcula el área bajo la curva de disminución de la fluorescencia (AUC) y el aumento neto del AUC, es decir, (AUC en presencia de antioxidante) - (AUC en ausencia de antioxidante), se utiliza para evaluar la capacidad antioxidante. Alternativamente, los TE de la muestra se pueden calcular a partir de las AUC utilizando las siguientes relaciones (Ou et al., 2001):

$$\text{ORAC (U/mL)} = \frac{(\text{AUC}_{\text{muestra}} - \text{AUC}_{\text{blanco}})}{(\text{AUC}_{\text{Trolox}} - \text{AUC}_{\text{blanco}})} \times \frac{M_{\text{Trolox}}}{M_{\text{muestra}}}$$

$$\text{ORAC (U/mL)} = 50 (\text{dilución}) \frac{(\text{AUC}_{\text{muestra}} - \text{AUC}_{\text{blanco}})}{(\text{AUC}_{\text{Trolox}} - \text{AUC}_{\text{blanco}})}$$

El ensayo ORAC no está exento de debilidades, ya que solo mide la actividad antioxidante contra los radicales peroxilo (RCOO) y no tiene en cuenta las otras cinco especies reactivas principales de oxígeno.

7. PLANTAS CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Hyptis suaveolens

- clase: Equisetopsida C. Agardh
- subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- súper orden: Asteranae Takht.
- orden: Lamiales Bromhead
- familia: Lamiaceae Martinov
- género: *Hyptis* Jacq.

Hyptis es uno de los géneros más grandes con más de 300 especies de hierbas, arbustos y árboles pequeños, que pertenece a la subfamilia Nepetoideae de la familia Lamiaceae. La familia Lamiaceae o Labiatae, conocida popularmente como familia de la menta, contiene 236 géneros y 6900-7000 especies de plantas aromáticas, tienen distribución cosmopolita y se encuentran en casi todos los ecosistemas terrestres, aunque son más abundantes en bosques de clima templado, en zonas montañosas. Los miembros de esta familia son hierbas (perennes o anuales), arbustos y árboles. Los tallos son herbáceos, raramente leñosos, postrados y ramificados. Las hojas son simples y opuestas, raramente verticiladas, pecioladas o sésiles, pilosas con aroma característico debido a la presencia de aceites esenciales aromáticos (Heywood et al., 2008; Mishra et al., 2021;).

La familia Lamiaceae es una de las familias de plantas más importantes con una gran importancia económica. Muchos se cultivan como plantas ornamentales, pero otros se utilizan ampliamente como hierbas culinarias y especias. El espectro de sus aplicaciones en la medicina popular y moderna es amplio, debido a la producción de diversos metabolitos como aceites esenciales, taninos, saponinas y ácidos orgánicos (Richardson, 1992).

H. suaveolens es una hierba perenne y aromática de rápido crecimiento, de 0.4 a 2 m de altura con tallos y hojas peludas, con ramas y generalmente leñosas en la

base. Las hojas son débiles, de contorno ovalado, punta muy puntiaguda, generalmente miden 3–5 cm de largo y 2–4 cm de ancho con márgenes serrulados, opuestas, decusadas y pecioladas. El tallo es cuadrangular, aterciopelado, grueso y cubierto de pelos largos y pequeños puntos glandulares erectos. Los pecíolos son de 2 a 4 cm de largo y tienen láminas de hojas de 2 a 10 cm de largo y 4 a 6 cm de ancho con márgenes dentados irregulares, cubiertos de pelos glandulares. La inflorescencia está constituida por panículas o umbelas cortas con 2–5 flores zigomorfas de color azul violáceo que surgen en racimos en las posiciones axilares. El cáliz campanulado de 5 dientes varía de 4 a 6 mm de longitud con una superficie glandular y pubescente marcada por 10 costillas. La característica corola de dos labios es de color azul que excede la longitud del tubo del cáliz, de 8 a 10 mm de largo (Saha et al., 2017; Li et al., 2020).



Imagen 1. Imagen de *Hyptis suaveolens* (L.) POIT.

La planta comienza a florecer temprano a la edad de 2–3 meses y produce abundantes flores azules en pequeñas cimas a lo largo de las ramas que terminan con hojas reducidas. Las flores son polinizadas por numerosos polinizadores que conducen a una enorme producción de semillas (Sharma et al., 2013; Priya, 2015).

La planta es originaria de los trópicos de América y ahora se considera una maleza en todo el mundo. También hay muchas distribuciones en la costa sur de China.

H. suaveolens se encuentra en más de 50 países en los siete continentes, incluidas áreas de América del Sur como Brasil, Polinesia, Ecuador, Guayana Francesa, Perú, Colombia y Venezuela; Regiones centroamericanas como Belice, El Salvador, el Caribe, Guatemala, Costa Rica y Nicaragua; Países latinoamericanos como Honduras; Áreas de América del Norte como Puerto Rico, Jamaica, México, Panamá, Trinidad y Tobago, Curazao y Estados Unidos; Países africanos como Tanzania, Congo, Benín, Ghana, Sudáfrica, Mauricio, Senegal, Nigeria, Burkina Faso, Guinea Bissau y Kenia. Además, también se encuentra en países de Oceanía como Australia y Nueva Guinea; Países asiáticos como India, Bangladesh, Camboya, Tailandia, Indonesia, Líbano, Malasia, Vietnam y China; Países del Pacífico occidental, incluidos Micronesia y Filipinas; áreas alrededor del Océano Índico como Ceilán; Regiones del Pacífico como Melanesia y Fiji; y áreas europeas, incluida Holanda (Li et al., 2020).

Hyptis suaveolens (L.), es una planta aromática que fue muy cultivada en la época prehispánica de México debido a que sus semillas son comestibles, actualmente está catalogada como "pseudocereal". Esta especie se conoce tradicionalmente como hierba del burro y tiene una amplia distribución geográfica, en la mayoría de los lugares donde se encuentra es un componente de la vegetación natural (Vergara-Santana et al., 2005). Por lo general, crece de forma silvestre en tierras baldías y a lo largo de los bordes de las carreteras, los canales de agua y los márgenes de los bosques, pero normalmente está restringido a lugares donde los suelos han sido profundamente alterados (Sharma et al., 2017). La planta se caracteriza por un fuerte olor a menta cuando se tritura. Puede crecer exuberantemente en diversas condiciones ambientales debido a la presencia de una variedad de compuestos químicos que le brindan ventajas de adaptación y supervivencia (Gadidasu et al., 2011).

Esta planta posee una enorme variedad de usos médicos como antiséptico, insecticida, antiparasitario, antifúngico y entre otras aplicaciones (Azevedo et al., 2002; Grassi et al., 2006; Jesus et al., 2013; Malele et al., 2003) así como, las propiedades antioxidantes y antibacterianas del aceite esencial de *H. suaveolens* obtenido de sus partes aéreas.

H. suaveolens es una hierba medicinal aromática caracterizada por la presencia de diversidad de fitoquímicos como aceites esenciales, fenólicos, di y triterpenoides, esteroides, flavonoides, etc. que constituyen el perfil químico de las plantas (Edeoga et al., 2006).

H. suaveolens constituye un depósito de diversos compuestos polifenólicos y flavonoides que tienen una propiedad antioxidante eficaz debido a una fuerte capacidad de eliminación de radicales según lo determinado por varios métodos analíticos que incluyen ABTS (ácido 2,2'azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (Agarwal y Varma, 2013).

Composición Química:

Compuesto	Características	Solubilidad	Punto de fusión / °C	Tipo de flavonoide
Quercetina-3-O-β-D-glucopiranosido	Polvo amarillo	Metanol- soluble: Agua y acetato de etilo- insoluble	-	Glucósidos de flavonol
Apigenina	Polvo amarillo	Metanol- soluble: Agua- insoluble	347- 348	Flavona
Sorbifolina	Medio amarillo con blanco, cristales de aguja	Metanol- soluble: Agua- insoluble	N.A	Flavona
Quercetina	Polvo amarillo	Metanol- microsoluble: Cloroformo y acetato de etilo- insoluble	313- 314	Flavonol
Kaempferol	Polvo amarillo	Metanol- microsoluble: Cloroformo y acetato de etilo-	276- 278	Flavona

		insoluble		
Genkwanin	Polvo amarillo	Metanol y agua-insoluble	293- 296	Flavona
Ácido rosmarínico	Polvo blanco	Agua y metanol-soluble: Acetona-insoluble	171- 175	Polifenol
Rosmarinato de metilo	Jarabe amarillo	Metanol y acetato de etilo- soluble: Agua- insoluble	-	Polifenol
Podofilotoxina	Polvo blanco	Metanol-soluble: Agua- insoluble	183- 184	Lignano
Picropodofilotoxina	Polvo blanco	Acetona- Soluble: Agua- insoluble	225- 227	Lignano

Tabla 1. Componentes detectados en los extractos de *H. suaveolens* con datos de solubilidad y punto de fusión (Tang et al., 2019)

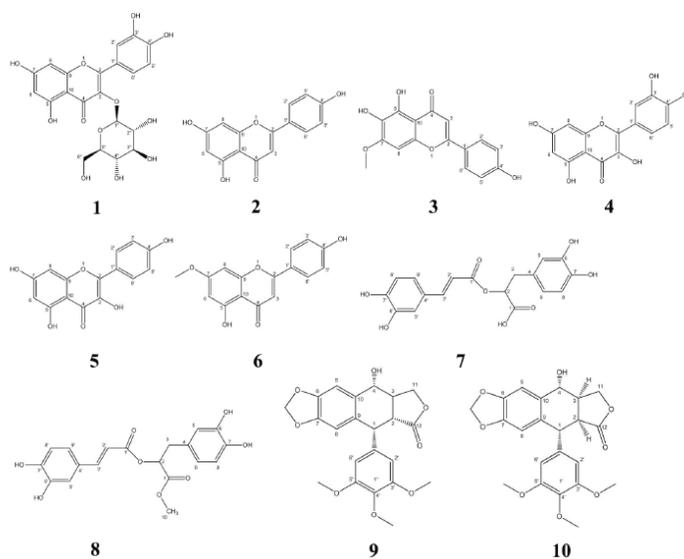


Figura 12. Estructuras químicas de 1 a 10. 1. Quercetina 3-O- β -D-glucopiranosido; 2. Apigenina; 3. Sorbifolina; 4. Quercetina; 5. Kaempferol; 6. Genkwanin; 7. Ácido rosmarínico; 8. Rosmarinato de metilo; 9. Podofilotoxina; 10. Picropodofilotoxina (Tang et al., 2019)

Métodos analíticos:

Prado en 2004 realizó un análisis químico de la semilla de *Hyptis suaveolens* (también conocida como Chan) (**Tabla 2**), partiendo de una clasificación de la semilla, donde desecho las semillas en mal estado o que no se encontraran completas; luego seleccionó una parte de la recolectada la cual fue morterizada hasta obtener partículas finas y se almaceno en un frasco de vidrio con tapa a temperatura ambiente, dejando así la otra parte entera para realizar los análisis.

Comenzando con la humedad, coloco 2 g de semilla entera de Chan en un crisol tarado, metió el crisol en un horno a 110 °C por 2 ½ hora, enfrió y pesó. En cenizas totales pesó 10 g de semilla en un crisol previamente tarado, seguido de una calcinación hasta su carbonización sobre una llama baja, para evitar en lo posible la formación excesiva de hollín, terminando en un horno de mufla a 500 °C durante 4 horas; transcurrido el tiempo requerido dejó enfriar a temperatura ambiente, coloco en un desecador y luego se pesó.

Para las Proteínas por el método de Kjeldahl, el describe los siguientes pasos que siguió para su realización:

1. Preparación de la semilla de Chan: Moler la semilla de Chan en partículas bien finas con un mortero
2. Proceso de digestión: Pesar 0.25 g de semilla molida de Chan, agregarlo a un balón de 50 ml y llevar hasta la marca de aforo con agua destilada; transferir a un tubo digestor y agregarle 2 mL de H₂SO₄ concentrado y 1.5 g de catalizador; después colocar los tubos digestores conteniendo la muestra en el digestor por 30 minutos hasta que quede un volumen aproximado de 100 ml; enfriar y diluir cuantitativamente a un volumen aproximado de 100 mL.
3. Proceso de destilación: transferir la muestra a un balón de destilación de 500 mL y agregar 20 mL de NaOH y destilar; recoger el destilado en un

Erlenmeyer de 125 mL conteniendo 20 mL de H₃BO₃ 4% y 5 gotas de indicador rojo de metilo, observando el cambio de color de rosa a verde.

4. Proceso de valoración: Al final de la destilación, valorar con HCl 0.048N; hasta el viraje de verde a rosa.

Por ultimo para la realización de la extracción de grasa por método de Soxhlet, pesó 15 g de semilla molida de Chan, la cual transfirió a un balón de 250 mL y agrego 150 mL del disolvente hexano, procedió a colocar el balón en el equipo de extracción Soxhlet por 6 horas; enfrió la mezcla de solvente (hexano) y grasa, filtro y enjuago con hexano el balón; transfirió la mezcla de hexano y grasa a un balón previamente tarado y coloco sobre un rotaevaporador para la evaporación del hexano presente en la grasa.

Composición química	Valores promedio
Humedad	5.26 %
Cenizas totales	9.8 %
Proteína (factor 6.25)	3.75 %
Grasa	11.26 %

Tabla 2. Resultados de humedad, cenizas totales, proteína y grasas de la semilla de *H. suaveolens* (Prado, 2004).

Ipomoea batatas

- clase: Equisetopsida C. Agardh
- subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- superorden: Asteranae Takht.
- orden: Solanales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- familia: Convolvulaceae Juss.
- género: *Ipomoea* L.

La familia de la gloria de la mañana (Convolvulaceae) es una familia impresionante que se cultiva ampliamente por sus valores ornamentales. En las regiones tropicales y templadas, casi 55 géneros y 1930 especies de Convolvulaceae están ampliamente dispersas y son abundantes en América y Asia tropicales (Sunar et al., 2012).

Miden hasta 1 m o más de largo; tallo simple, delgado, flexible, sin pelos, rastrero o crece en forma espiralaza, escasamente ramificado; hojas con peciolos de 3 mm a 3 cm de largo, limbos de forma variable, oblongo-elípticos a angostamente oblongos, de 1 a 7 cm de largo por 6 a 40 mm de ancho, enteros o levemente ondulados, base cordada o sagitada, sin pelos o con pelos largos muy entrecruzados; flores axilares, solitarias o en grupos de 2 ó 3, a veces hasta 5; brácteas de 1.5 a 3 mm de largo, pedúnculos de 0.4 a 3.5 cm de largo, pedicelos más cortos que los pedúnculos; sépalos exteriores elípticos, los interiores orbiculares, sin pelos o si los hay son largos y muy entrecruzados en el dorso, coriáceos, de 3 a 5 mm de largo, corola en forma de embudo, blanca o rosada, de 1 a 2.5 cm de largo y de 2 a 3.5 cm de diámetro; filamentos de 4.1 a 5.5 mm de largo por 0.8 a 1 mm de ancho, estigma de dos ramas alargadas; el fruto es una cápsula ovoide-globosa, de 5 a 7 mm de diámetro, 4 valvas; semillas ovoides, tuberculadas, de 3 a 5 mm de largo, oscuras (Rzedowski, 2001).

El género *Ipomoea*, con aproximadamente 500-600 especies, comprende el mayor número de especies dentro de las Convolvulaceae, ocurre en los trópicos del mundo, aunque algunas especies también llegan a zonas templadas. Las especies de este género se distribuyen principalmente por los países de América del Sur y

Central (**Imagen 2**), y territorios de África Tropical (Austin, 1996; Cao et al., 2005). Desde tiempos inmemoriales ha estado en continuo uso para diferentes fines, tales como, nutricionales, medicinales (El uso más común es para tratar el estreñimiento), rituales y agrícolas.

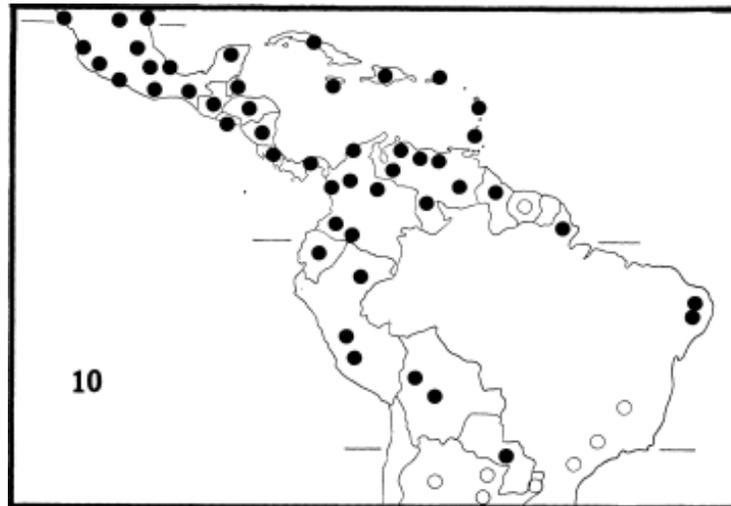


Imagen 2. Distribución de *Ipomoea batatas* en América tropical. (Puntos sólidos = muestras vistas; círculos abiertos = ubicaciones informadas en la literatura). (Austin, 1996).

Ipomoea batatas L., comúnmente conocida como batata, es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia Convolvulaceae, que consta de cuatro partes principales que incluyen la raíz, el tallo, el pecíolo (brote) y la hoja, cuya parte comestible es la raíz tuberosa. Originaria de las regiones tropicales de las Américas, se distingue por su carne particularmente blanda y su contenido de nutrientes (Zengin et al., 2017; Islam, 2014). La evidencia disponible muestra que la batata se originó en los neotrópicos, ya sea en las tierras bajas de América Central o del Sur, con posterior dispersión a América del Norte, Europa, África, Asia y las islas del Pacífico (Zhang et al. 2000; Gichuki et al. 2003). Los resultados de los estudios moleculares de la AFLP apoyaron la hipótesis de que América Central era el centro primario de diversidad y muy probablemente el centro de origen de la batata y Perú-Ecuador debería ser considerado como un centro secundario de diversidad de la batata (Zhang et al., 2000).

La batata se adapta a una amplia gama de condiciones climáticas, desde los trópicos cálidos y húmedos hasta las zonas templadas desde cerca del nivel del mar hasta los 2000 m de altitud. Tiene tolerancia a las bajas temperaturas en las altitudes más altas, pero es sensible a las heladas. Crece mejor en margas arenosas que están bien drenados y son fértiles y no tolera el anegamiento y generalmente se cultiva en montículos o crestas. Se puede cultivar en suelos arcillosos, pero el rendimiento tuberoso puede verse afectado. Se puede cultivar en condiciones semiáridas (Lim, 2016).

I. batatas es reconocido como un alimento necesario para combatir la desnutrición por su alto valor nutricional y facilidad de cultivo y productividad. Utilizada en todo el mundo como guarnición con pescado o carne, la batata también es un clásico alimento callejero de invierno en el Medio Oriente, China y Filipinas, donde es un alimento básico en guisos y sopas (Islam, 2006). Además de ser rica en vitaminas, su raíz contiene carbohidratos complejos, fibra dietética y otros micronutrientes, incluidos minerales esenciales, como potasio, manganeso, hierro y calcio (Truong, 2007).

El fruto es una cápsula globosa que suele constar de un ovario bicelular en cada lóculo del que se producen dos óvulos. Los septos falsos pueden dividir cada lóculo de modo que la fruta parezca una cápsula de cuatro células y cuatro válvulas con una semilla en cada lóculo. Los óvulos anatóposos son más o menos basales y se desarrollan en posición erecta a partir de placentas axiales en el ángulo interno de cada lóculo. La semilla mide aproximadamente 3 mm en su mayor dimensión, negra, algo achatada, con una superficie angular y la otra toscamente convexa. La cubierta de la semilla es dura y córnea, y muy impermeable al agua (Hayward, 1932).

Hiervas con tallos postrados, ascendentes o entrelazados, de 1–5 m de largo, a menudo muy ramificados, más o menos angulares en las formas cultivadas. Hojas de contorno ampliamente ovado a orbicular, enteras a angulares o profundamente lobuladas, los lóbulos ampliamente ovados a lineal-oblongos, 4–14 cm de largo, 4–11 cm de ancho, basalmente cordiforme a truncado, el ápice agudo, obtuso o

acuminado, ambas superficies glabras a densamente pubescentes. Inflorescencias axilares, el pedúnculo robusto y anguloso a delgado y terete, más cortó a más largo que el pecíolo, de 1 a pocas flores o de varias flores (Austin, 1996).

Flores campanuladas en forma de embudo, atenuadas gradualmente hacia la base, contraídas bruscamente justo por encima del cáliz, de 3–5 cm de largo, rosadas, lavanda o violáceas, el centro más oscuro, raramente blanco en algunas plantas cultivadas, la extremidad con lóbulos obtusos y micronizados o con senos nasales, muy variable; sépalos subcoriáceos, sublinguales o más, comúnmente los dos exteriores más cortos, el exterior oblongo a elíptico-oblongo, 4–9 mm de largo, el interior elíptico-oblongo a ovado-oblongo, 5–12 mm de largo, todos agudos a obtusos, micronulados caudados, glabras o densamente pubescentes, ciliados; estambres con anteras blancas o rosadas, los filamentos glabros excepto en la base, blancos; ovario generalmente pubescente, raramente glabro; amarillo nectarario a amarillo anaranjado (Austin, 1996).

Las hojas de la batata son ricas en polifenoles, con contenidos entre 21.4 y 2.70%, según una encuesta de 40 cultivares (Sun et al., 2014). Además, los polifenoles de la hoja de la batata mostraron muchas actividades biológicas que promueven la salud, que incluyen antioxidantes, hipoglucemiantes, antiinflamatorios y antitumorales (Islam, 2006; Wang et al., 2016). Las actividades biológicas promotoras de la salud presentes en las hojas de la batata están asociadas principalmente con ácidos fenólicos y flavonoides (Dzah et al., 2020; Wang et al., 2016).



Imagen 3. *Ipomea batatas*.

Composición química:

Numero	Compuestos
1	Ácido gálico
2	Catequina
3	Ácido clorogénico
4	Acido <i>p</i> - OH benzoico
5	Ácido vanílico
6	Epicatequina
7	Ácido siríngico
8	Acido benzoico 3- OH
9	3- OH- 4- MeO benzaldehído
10	Ácido <i>p</i> - cumarico
11	Rutina
12	Ácido sinápico
13	Ácido <i>t</i> - ferúlico
14	Naringina
15	Ácido 2,3- di MeO benzoico
16	Ácido benzoico
17	Ácido <i>o</i> - cumarico
18	Quercetina
19	Ácido <i>t</i> - cinámico
20	Naringenina

Tabla 3. Compuestos fenólicos de extractos de hojas de *I. batatas* ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de extracto) (Zengin et al., 2017) (modificado).

Métodos analíticos:

En el trabajo hecho por Sun et al., (2014) sobre la evaluación de la composición nutricional de la hoja del camote (*Ipomea batatas*), determinaron el contenido de proteína cruda, grasa cruda, cenizas totales y humedad (**Tabla 4**). Utilizaron hojas de 40 cultivares de batata, obtenidos del Instituto de Investigación de la Batata de la Academia China de Ciencias Agrícolas (Xuzhou, China), de las cuales sus temperaturas promedio durante el período de crecimiento de 2012 fueron las siguientes: 8 °C en marzo, 16 °C en abril, 22 °C en mayo, 27 °C en junio, 26 °C en julio y 26 °C en agosto. Todas las muestras se trituraron en un triturador comercial y se almacenaron a 20 °C en bolsas de aluminio selladas.

El contenido de humedad lo midieron siguiendo los estándares ASAE (ASAE, 1983); Brevemente, secaron al horno triplicados de muestras de hojas de camote a 103 °C durante 72 h, transfirieron a un desecador y dejaron enfriar a temperatura ambiente; los pesos de las muestras los registraron en una balanza digital. El contenido de cenizas se determinó pesando muestras de hojas antes y después del tratamiento térmico (550 ° C durante 12 h). Métodos AOAC (Association of Analytical Chemists), 2000.

Tanto el contenido de grasa bruta como el de la proteína cruda se determinaron de acuerdo con los métodos de la AOAC, 960.39 y 976.05 respectivamente, agregando a este último un factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6.25

Composición química (g/100g)	Valores promedio
Humedad	86.5 FW
Cenizas totales	11.03 DW (1.88 FW)
Proteína (factor 6.25)	23.89 DW (2.99 FW)
Grasa	3.69 DW (0.46 FW)

Tabla 4. Resultados de humedad, cenizas totales, proteína y grasas de la semilla de *I. batatas* (Sun, 2014).

FW= Fresh weight (peso registrado inmediatamente cuando se cosecha un producto).

DW= Dry weight (peso registrado después de secar el tejido vegetal a temperaturas superiores a la temperatura ambiente).

Cyclotrichium organifolium

- clase: Equisetopsida C. Agardh
- subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- superorden: Asteranae Takht.
- orden: Lamiales Bromhead
- familia: Lamiaceae Martinov
- género: *Cyclotrichium mandenova* & Schengelia

El género *Cyclotrichium* perteneciente a la familia Lamiaceae está representado en la flora turca por nueve especies, dos de las cuales son endémicas. Algunas de estas especies son *C. niveum*, *C. organifolium*, *C. glabrescens*, *C. leucotrichum*, *C. stamineum*, *C. depauperatum*, *C. longiflorum* y *C. straussii* de las cuales *C. niveum* y *C. organifolium* son endémicas (Davis, 1998). Las especies de *Cyclotrichium* se han utilizado como agente aromatizante en alimentos, así como en té de hierbas. *Cyclotrichium* se ha utilizado tradicionalmente como sedante, relajante, carminativo y para el tratamiento de trastornos respiratorios (Cetinus et al., 2007).

El género *Cyclotrichium* se conocen localmente como "dag̃ nanesi", "kiz otu", "kõpek nanesi", "karabas, otu" y "nane ruhu", se distribuyen en Turquía, Líbano, Irak e Irán (**Imagen 4**) (Dirmenci et al. 2010). Los estudios ecológicos han demostrado que *C. organifolium* es la única especie endémica del Mediterráneo y se distribuye desde Turquía hasta el Líbano, mientras que otras especies se distribuyen cerca en la intersección de las fronteras turca, iraní e iraquí (Beyrouthy et al. 2013).

Los estudios han revelado que los aceites esenciales de *Cyclotrichium* son ricos en compuestos fenólicos y alcohólicos y monoterpenos. El α -pineno y el β -pineno (monoterpenos bicíclicos), son compuestos químicos importantes en las plantas *Cyclotrichium* (Kilic et al. 2007). Los monoterpenos cíclicos como el limoneno y el pulegona y los monoterpenos no cíclicos como el terpineno se han purificado a partir de especies de *Cyclotrichium*. Ha sido informado por Guzel et al. que *C.*

origanifolium es rico en compuestos flavonoides como isosakuranetina, eriodictyol, luteolina, apigenina y naringenina (Guzel et al., 2017).

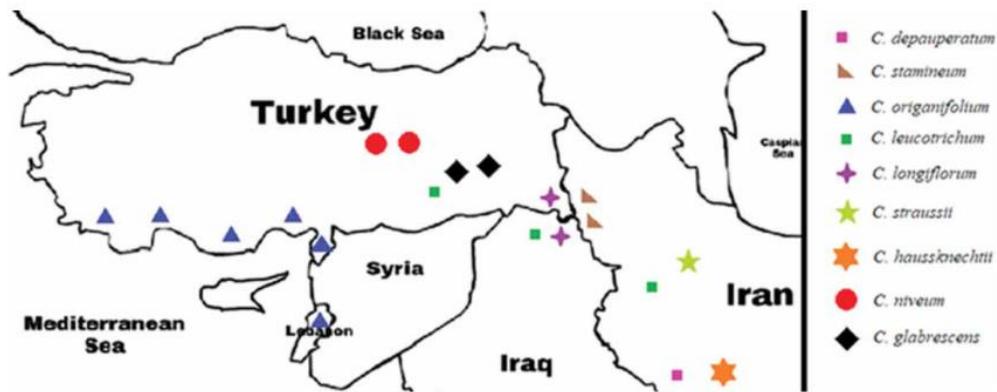


Imagen 4. Mapa de distribución de especies de *Cyclotrichium* en Turquía, Líbano, Irán e Irak (Yazdanshenas y Tafrihi, 2021).

Según la última descripción genérica de Harley et al. (2004), todas las especies de *Cyclotrichium* son subarborescentes perennes, pelos simples o dendroides; hojas enteras o dentadas; inflorescencia de cimas auxiliares, a veces pedunculadas muy breves, formando tiros terminales de 6 a muchas flores verticillas, generalmente remotas; brácteas, al menos las más bajas en forma de hoja, superiores pequeñas, discretas, bractéolas +/- discretas, más pequeñas que el cáliz equivalente; cáliz débilmente con 2 labios, 5 lóbulos (3/2), lóbulos triangulares subulados, lóbulos posteriores generalmente más cortos que el anterior, cáliz-tubo cilíndrico, recto o ligeramente curvado, 13 nervios, garganta pilosa; corola resupinada, 2 labios, 4 lóbulos (3/1), blanca o lila, labio posterior (inferior) entero o emerginado, labio anterior (superior) 3 lóbulos, ligeramente deflexionado, lóbulo mediano más grande, corola tubo retorcido, anulado, cerca del medio; estambres 4, +/- iguales, extendidos largos, anteras elipsoides, tecas 2, paralelas, distintas con conectivo corto; estigma-lóbulos desiguales, +/- subulados, lóbulo posterior más largo; disco débilmente lobulado; nueces ovoides, lisas, glabras.

C. origanifolium mide hasta 25 cm, hirsutas o glabras, con glándulas sésiles o subsésiles; hojas ovadas a ovado-orbiculares, 6–15 × (4-) 5–13 mm, hirsutas, con glándulas sésiles o glándulas subsésiles; bractéolas tan largas como el tubo del cáliz, 4–5 mm, lanceoladas-acuminadas a subuladas; cáliz claramente bilabiado, 4.5–7.5 mm, levemente curvado, glabro a densamente hirsuto, dientes superiores 0.8–1.5 mm, dientes inferiores, 1.2–2.5 mm; Corola de 8 a 12 mm (Dirmenci et al., 2010).

El tamaño de la nuez es de 1.7 a 2 x 0.8 a 1 mm y tiene una forma ovoide estrecha. Son de color amarillo, marrón pálido y tienen líneas marrones longitudinales en la superficie dorsal. La superficie esculpida es reticulada. La capa de nuez está compuesta por células poligonales más o menos redondeadas, normalmente cóncavas y rodeadas de engrosamientos continuos de la pared anticlinal (Kaya et al., 2015).

Composición química:

Compuestos	RT	%
α - Pineno	8.940	0.81
3- Pineno	12.592	6.70
Sabinena	13.105	1.15
Limoneno	17.269	1.16
Eucalipto	17.820	5.96
<i>p</i> -mentano-3,8-diol	21.242	0.20
<i>p</i> - cimol (<i>p</i> - cimeno)	21.603	0.13
3- octanol, acetato	25.168	0.22
3- octanol	28.633	0.31
Tirpenol	33.673	0.08
Isomentona	36.229	2.08
Isocitronela	38.029	1.77
Linalool	38.785	0.21
Biciclo [3.1.1] hepta- 3- ona, 2, 6, 6- trimetil-, (1. α , 2 β , 5. α)	39.968	21.28
Acetato de metilo	40.281	0.84
3- undycene	41.560	0.97
Neoisomentol	42.359	2.15
2- ciclohexano- 1- ol, 1- metil-4- (1- metiletilo), - <i>cis</i>	43.031	15.42
Neiso (iso) pelogol	44.555	1.99
Pulegona	42.221	16.15
D- Neoisomentol	46.788	7.73
α - Terpeneol	47.141	0.28
Propionato de Mirtenilo	48.434	1.84
Acetato de linalilo	48.660	0.49
Borneol	49.110	0.94
2- Isopropil 4- metil- hexano- 2 enol	50.403	1.50
Acetato de <i>trans</i> - pinocarullo	52.581	1.34
Mirtenol	54.511	0.73
Piperitona	62.635	0.14
Óxido de caripinileno	66.318	0.60
Timol	75.450	0.99
Carvacrol	76.948	3.73

Tabla 5. Composición química del aceite esencial de *C. organifolium* (Suleyman et al., 2013).



Imagen 5. *Cyclotrichium organifolium*.

8. RESULTADOS

Hyptis suaveolens:

Ghaffari y colaboradores en 2014, realizaron la evaluación antioxidante utilizando los métodos DPPH, ABTS y FRAP, además obtener el contenido de flavonoides presentes en dicha planta. Como primera parte recolectaron las partes aéreas frescas de *H. suaveolens* en el mes de febrero de 2012 en Mysore, India y fueron autenticadas por un taxónomo de plantas. Tamizaron las plantas sanas y lavaron minuciosamente para eliminar el polvo adherido y se secaron a la sombra. Las plantas secas se pulverizaron en un triturador mecánico y se extrajeron en serie 50 g de polvo grueso con hexano, acetato de etilo y metanol utilizando un aparato Soxhlet. El disolvente extraído se filtró y se evaporó hasta sequedad en un evaporador ultrarrápido y los extractos secos se recogieron y almacenaron en el frigorífico para estudios adicionales

El contenido de flavonoides lo determinaron mediante el método de cloruro de aluminio (AlCl_3) (Chang et al., 2002), obteniendo un valor de 28.58 ± 1.74 (μg equivalentes de quercetina / mg extracto). La mezcla de reacción consistió en 1.0 ml de extracto, 0.5 ml AlCl_3 (1.2%), y 0.5 mL de acetato de potasio (120 mM). Se dejó reposar la mezcla durante 30 min a temperatura ambiente y se midió la absorbancia de la mezcla de reacción a 415 nm.

En el método DPPH, prepararon diferentes concentraciones de HSME (*Hyptis suaveolens* extracto de metanol), mientras que la concentración de DPPH fue de 300 μM en la mezcla de reacción. La mezcla de reacción contenía 5 μL de muestras de prueba y 95 μL de DPPH en metanol. Estas mezclas de reacción se depositaron en placas de microvaloración de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C durante 30 min. La absorbancia se midió a 517 nm. Se utilizó ácido ascórbico como control positivo, mientras que el porcentaje de actividad de eliminación de radicales tras el tratamiento de la muestra se determinó por comparación con un control tratado con metanol, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Eliminación de radicales (\%)} = [(A_c - A_s)/A_c] \times 100$$

Donde A_c es la absorbancia del control (tratado con metanol) y A_s es la absorbancia de los antioxidantes en el extracto crudo y estándar (**Figura 13**).

En el segundo método, disolvieron ABTS en agua hasta una concentración de 7 mM, para proceder como primer punto, en la producción del catión radical ABTS ($ABTS^{•+}$) lográndose al hacer reaccionar la solución madre de ABTS con persulfato de potasio 2.45 mM (concentración final) y dejando que la mezcla reposara en la oscuridad a temperatura ambiente durante 12–16 h antes de su uso. La solución de $ABTS^{•+}$ se diluyó con etanol/metanol hasta una absorbancia de 0.70 (± 0.02) a 734 nm y se equilibró a 30 °C. Se utilizó metanol como control negativo. Después de la adición de 1.0 ml de $ABTS^{•+}$ solución ($A_{734 \text{ nm}} = 0.700 \pm 0.020$) a 10 μL de HSME y estándar de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) en metanol, la absorbancia se tomó a 734 nm, exactamente un minuto después mezcla inicial y hasta seis min utilizando el espectrofotómetro. Se calculó el porcentaje de inhibición, al igual que en el ensayo DPPH (**Figura 13**).

Por último, el reactivo FRAP recién preparado se mantuvo a 37 °C en un baño de agua. Este reactivo se preparó mezclando 10 mM de TPTZ en HCl 40 mM, 20 mM FeCl_3 y tampón acetato 0.3 M (pH 3.6) en una proporción de 1: 1: 10. Se añadió una alícuota de 25 μL de HSME a 475 μl de reactivo FRAP. La mezcla se incubó a 37 °C durante 30 min. La absorbancia se leyó a 593 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis. La capacidad reductora se calculó con referencia a la reacción dada por $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

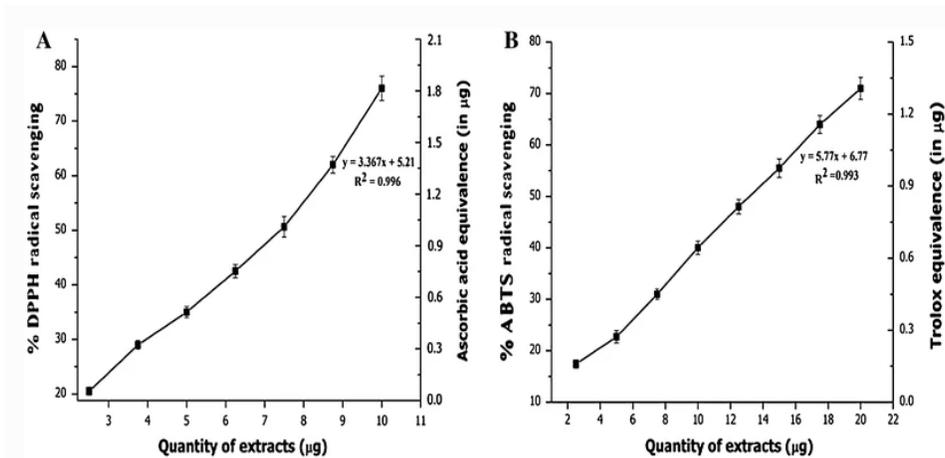


Figura 13. DPPH (a) y ABTS (b) actividad de eliminación de radicales del extracto de metanol de *H. suaveolens* (HSME) con ácido ascórbico y equivalencia de ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) (en µg). HSME exhibió actividad antioxidante con una CI_{50} de 7.49 y 12.43 µg, respectivamente. Datos expresados como media \pm DE junto con regresión y correlación ($n = 3$) (Ghaffari et al., 2014).

Otro estudio realizado por Sánchez-Aguirre y colaboradores en 2020, con material recolectado en la región central de Veracruz, México (selva tropical de tierras bajas, latitud 18 ° 45'38 " N, longitud 96 ° 27'38 " O, altitud 27 m) en octubre de 2018, obtuvieron la evaluación antioxidante de la hoja de *Hyptis suaveolens* por el método DPPH, con la particularidad de la variación en la concentración de los disolventes utilizados.

Después de la recolección, el espécimen fue depositado en el herbario de la Facultad de Biología (Universidad Veracruzana) en Córdoba, México. Se secaron 500 g de hojas a 32 °C en una habitación cerrada durante dos semanas y se trituraron en un polvo fino. El polvo se vertió en un matraz de fondo redondo de 4 L para su maceración a temperatura ambiente durante tres días con 2 L del correspondiente disolvente (etanol, acetato de etilo, triclorometano, hexano y agua) (**Tabla 6**).

Se trató 1 ml de muestra de extracto (5 mg/mL) con 2 mL de solución de DPPH de 24 ppm. La mezcla se agitó y se incubó en un lugar oscuro durante 20 min a

temperatura ambiente. La absorbancia de la muestra se midió a 515 nm frente a un blanco. La curva de calibración se preparó siguiendo el mismo procedimiento sin agregar extracto. Los resultados se expresan en % de DPPH reducido. El IC₅₀ de la actividad antioxidante se calculó a partir de regresión logarítmica de los resultados (**Tabla 7**).

Metabolitos secundarios	Hexano	Triclorometano	Acetato de etilo	Etanol	Agua
Alcaloides	-	-	+	-	-
Cumarinas	-	-	+	+	-
Flavonoides	-	-	-	-	+
Fenilpropanoides	-	-	-	+	-
Saponinas	-	-	-	-	+
Taninos	-	-	-	+	+
Terpenoides	+	+	-	-	-

(+) = Positivo, (-) = Negativo

Tabla 6. Cribado fitoquímico de los extractos (Sánchez-Aguirre et al., 2020).

Extracto	mg GAE/ g	% de DPPH reducido	Cl ₅₀ (µg/ mL)
Etanol	336.496 ± 0.005	27.56 ± 5.76	3.57 ± 0.04
Etanol acidificado	335.664 ± 0.005	36.85 ± 3.17	3.38 ± 0.01
Etanol- agua 50:50	330.33 ± 0.01	32.25 ± 4.68	3.47 ± 0.02
Etanol- agua 70:30	334.33 ± 0.004	80.76 ± 1.20	2.73 ± 0.005
Agua	253.68 ± 0.03	44.44 ± 3.02	3.22 ± 0.01

Equivalente de ácido gálico (mg de GAE / g de extracto seco).

Tabla 7. Evaluación de la actividad antioxidante en extractos de *Hyptis suaveolens* (Sánchez-Aguirre et al., 2020).

Mozhiyarasi y Anuradha en 2018, de igual manera presentan en su trabajo el método DPPH para los extractos de la planta, aunque esta vez utilizando otro tipo de disolventes y ver como este afecta en los resultados. Recolectaron hojas frescas de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit de Kannukudi, Thanjavur (DT), Tamilnadu, India. Las hojas de las plantas se secaron a la sombra. Los materiales secos se tamizaron mecánicamente en polvo utilizando malla 80 y se almacenaron en un

recipiente hermético. Se prepararon extractos acuosos, metanol, éter dietílico, cloroformo y etanol de acuerdo con la metodología de la farmacopea india.

Para la actividad de eliminación de radicales de DPPH, se prepararon soluciones madre de extractos a la concentración de 1 mg/mL. Se añadió 1 mL de cada extracto en un volumen igual a una solución metanólica de DPPH (0,1 mM). Toda la mezcla de reacción se incubó durante 30 min a temperatura ambiente. La absorbancia se registró a 517 nm (**Tabla 8**). Se utilizó ácido ascórbico como estándar (Blois, 1958).

Método	Extractos de la planta					
	Agua	Etanol	Metanol	Éter dietílico	Cloroformo	Vitamina C
DPPH (%)	30.3±0.5	60.4±0.4	50.5±0.5	55.2±0.56	31.5±0.5	65.5±0.5

Tabla 8. Actividad antioxidante de varios extractos de hoja de *Hyptis suaveolens* Linn (poit) (Mozhiyarasi y Anuradha., 2018) (modificada).

Ipomoea batatas:

Huang y colaboradores en 2013 analizaron la actividad antioxidante simplemente del extracto flavonoide de las hojas en su totalidad, sin un aislamiento e identificación de estos por si solos, utilizando como método el DPPH. Las hojas de la batata las recolectaron de las tierras de cultivo de los suburbios de Nanchang, las cuales lavaron suavemente y secaron, luego se molieron con un ultramicro pulverizador (Zhejiang Wenling, China) y se tamizaron a través de una pantalla de malla 200, luego se almacenaron en bolsas de polietileno selladas y se guardaron en un secador para su uso. El polvo de hojas de boniato se pretrató mediante extracción Soxhlet con éter dietílico para eliminar la grasa, los pigmentos y las impurezas solubles en grasa. Luego se secó en un horno a 50 °C durante 2 h, y se almacenó en una secadora para su uso.

La extracción flavonoide se realizó sumergiendo 10,0 g de polvo pretratado en 400 mL de etanol al 70% (v/v) durante 12 h en un refrigerador a 4 °C, luego se homogeneizaron a 30 MPa mediante un homogeneizador de válvula. La emulsión se trató con un homogeneizador DHPM a 100 Mpa dos veces. Luego se extrajo mediante reflujo a 75 °C durante 2 h dos veces, seguido de enfriamiento y centrifugación a 4000 rpm durante 10 min. El sobrenadante fue el extracto crudo pretratado por DHPM (MC). El extracto crudo de etanol (EC) se preparó usando los mismos métodos que antes, sin embargo, sin pretratamiento usando DHPM. El extracto crudo de etanol con postratamiento de DHPM (ECM) se obtuvo aplicando 100 Mpa DHPM en EC dos veces.

El extracto crudo de muestras de flavonoides se purificó con resina de absorción macroporosa LK001 en una columna cromatográfica (ϕ 16 mm x 400 mm). Las muestras se eluyeron utilizando etanol al 70% (v/v) como eluyente a una velocidad de flujo de 1.5 mL/min, y el eluyente se recogió a una velocidad de flujo de 2 mL/min. Las muestras purificadas correspondientes de MC, EC y ECM fueron MCP, ECP y ECMP, respectivamente (**Tabla 9**).

Para la evaluación antioxidante, se agregaron 2 mL de 200 μ g / mL de DPPH a 2 mL de diversas concentraciones (10-80 μ g/mL) de muestras de flavonoides en

etanol al 70% (v/v). La mezcla de reacción se incubó durante 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. La actividad de eliminación de radicales de DPPH se determinó midiendo la absorbancia a 517 nm usando un espectrofotómetro y utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad de barrido} = [A_0 - (A_s - A_c)] / A_0$$

Donde A_s es la absorbancia con presencia de DPPH y muestras; A_0 es la absorbancia con presencia de DPPH y etanol al 70% (v/v) y A_c es la absorbancia con presencia de muestras y etanol al 70% (v/v) (**Figura 14 y 15**).

Muestras	CE	ECM	MC	ECP	ECMP	MCP
Concentración (mg/ 100 mL)	44.3±0.1	42.8±0.1	58.4±0.1	316.2±0.2	314.4±0.2	346±0.3

Tabla 9 El contenido de flavonoide total en diferentes extractos. (Huang et al., 2013)

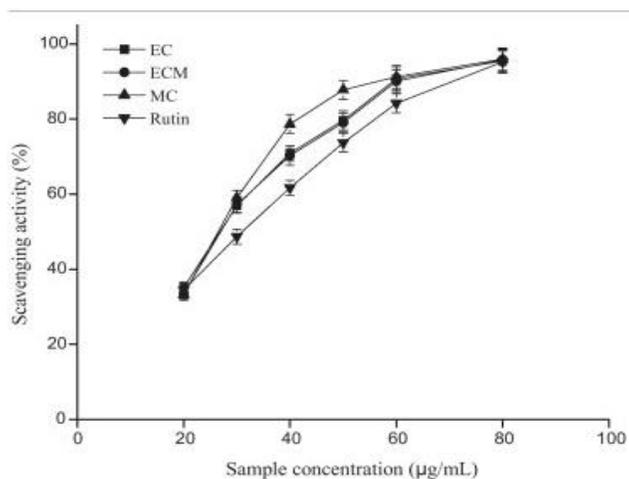


Figura 14. Actividades de barrido en DPPH de muestras crudas y rutina (Huang et al., 2013).

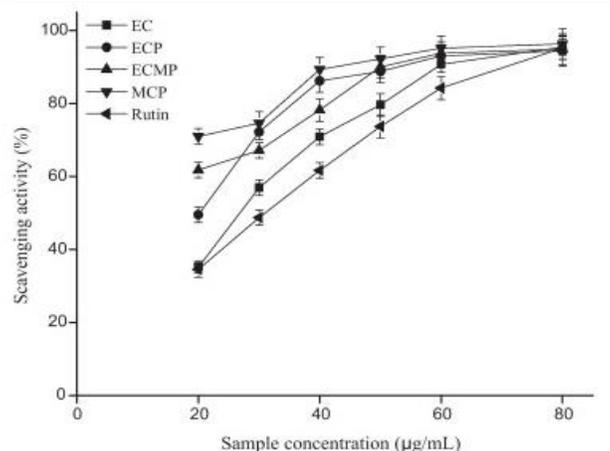


Figura 15. Actividades de barrido en DPPH de flavonoides y rutina (Huang et al., 2013).

Luo y colaboradores en 2021 por su parte, demostraron la actividad antioxidante de diez flavonoides aislados en esta planta, los cuales identificaron y procedieron a realizar la evaluación por los métodos ABTS, DPPH y FRAP. El material utilizado fue proporcionado por Haileda Food Co., Ltd. (Beijing, China) a mediados de agosto de 2018. Las hojas de camote se sembraron con la práctica de producción estándar en la granja experimental de la compañía en Beijing. Las temperaturas medias durante el período de crecimiento de 2018 fueron: 8 °C de marzo, 16 °C de abril, 22 °C de mayo, 27 °C de junio, 26 °C de julio y 26 °C de agosto. Las hojas frescas se lavaron, se liofilizaron, se pulverizaron superfinos en polvo, luego se tamizó a través de una pantalla de malla 100. El polvo se envasó en bolsas de papel de aluminio y se almacenó a 4 °C para evitar la luz hasta que se necesitara, un máximo de 3 años.

La extracción de polifenoles crudos de las hojas de la batata se realizó mediante extracción con solvente de etanol asistida por microondas ultrasónica. Brevemente, el polvo de hoja de batata (20 g) se extrajo con una solución de etanol al 70% (v/v) (400 mL) durante 76 s a 57 °C usando un extractor ultrasónico asistido por microondas CW-2000. Después de centrifugar la mezcla a 1500 × g durante 15 min a 4 °C usando una centrífuga refrigerada de alta velocidad GL-

21M. El residuo se volvió a extraer dos veces más como se describió anteriormente. La extracción de polifenoles en bruto se obtuvo después de que los sobrenadantes se combinaron y concentraron en un evaporador rotatorio RE-5000E.

El SPLF (flavonoides foliares de la batata) se purificó mediante extracción líquido-líquido (Liu et al., 2019). Brevemente, se mezclaron 150 mL de solución de polifenol crudo con 300 mL de éter de petróleo en un embudo de decantación y se agitó bien. Después de 30 min, la fase acuosa se separó y se extrajo usando 300 ml de acetato de etilo durante otros 30 min. La fase de acetato de etilo se concentró al vacío usando el evaporador rotatorio y se liofilizó para obtener SPLF (**Figura 16, 17 y 18**).

La solución madre de ABTS se preparó mezclando ABTS 7 mM y persulfato potásico 2.45 mM en volúmenes iguales. Después de 12 a 16 h a temperatura ambiente (25 ± 2 °C), la solución madre se diluyó con etanol al 70% hasta una absorbancia de 0.7 (± 0.2) a 734 nm utilizando un espectrofotómetro. Luego, las diferentes soluciones de muestra (0.15 mL, 0.005–2 mg/mL) se mezclaron con 2 mL de solución ABTS diluida y se hicieron reaccionar durante 6 min a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a 734 nm y se utilizaron ácido ascórbico y EGCG como controles positivos. Los resultados (**Tabla 10**) se obtuvieron con la siguiente ecuación:

$$\text{Capacidad de barrido (\%)} = (1 - A_1 / A_2) / A_2 \times 100$$

Donde A_1 es la absorbancia de la solución de reacción de muestra y A_2 es la absorbancia de etanol al 70%. La concentración que da los resultados como IC_{50} para ABTS eliminación de radicales se calculó utilizando un ajuste de curva no lineal (ajuste sigmoidal).

Para DPPH, la muestra se disolvió en etanol al 70% y se diluyó a diferentes concentraciones (0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2 mg/mL). Las soluciones de muestra (0.15 mL) se mezclaron con una solución de DPPH (3 mL, 0.2 mM, etanol al 70%) y se mantuvieron en la oscuridad a temperatura ambiente

durante 30 min. La absorbancia se midió a 517 nm, se utilizaron ácido ascórbico y EGCG como controles positivos. Los resultados (**Tabla 10**) se trataron con la ecuación:

$$\text{Capacidad de barrido (\%)} = (A_1 - A_2) / A_2 \times 100$$

Donde A_1 es la absorbancia de etanol al 70% y A_2 es la absorbancia de la solución de reacción de muestra. La concentración que da los resultados como IC_{50} para DPPH de eliminación de radicales se calculó utilizando el ajuste de curva sigmoïdal no lineal.

El reactivo FRAP se preparó mezclando una solución de TPTZ 10 mM (disuelta en HCl 40 mM), una solución de $FeCl_3$ 20 mM (disuelta en tampón acetato 0.3 M a pH 3.6) y tampón acetato 0.3 M en una proporción de 1: 1: 10 (v: v: v), y luego la mezcla se incubó durante 30 min en un baño de agua a 37 ° C utilizando el oscilador de inmersión. Las soluciones de muestra (0.15 ml) se mezclaron con 2.85 ml de reactivo FRAP. Después de 30 min, se midió la absorbancia de la mezcla a 593 nm con etanol al 70% como blanco. La cuantificación se realizó mediante una curva de calibración de estándares Trolox (T), y la ecuación de regresión lineal fue $y = 0.0029x + 0.017$, $R_2 = 0.9918$. La actividad de FRAP se expresó como g T equivalentes (E) / g de muestra en peso seco (**Tabla 10**).

Compuestos	Capacidad FRAP (g TE/ dw)	CI_{50} ($\mu\text{g/ mL}$)	
		ABTS	DPPH
Rutina	2.8±0.1	103±1	93.6±0.4
Hiperósido	5.2±0.2	50±3	76±4
Isoquercitrina	5.0±0.2	60±1	58.5±0.2
Astragalina	0.01±0.00	124±1	7.26±0.04 ($\times 10^3$)
Quercetina	13.1±0.0	8.86±0.2	36±1
Kampferol	4.6±0.2	34±1	79±1
Diosmetina	0.23±0.00	59±1	870±10
Jaceosidina	0.36±0.02	36±1	1.28±0.00 ($\times 10^3$)
Crisina	0.01 ±0.00	132±1	1.62±0.00 ($\times 10^3$)
Pectolarigenina	0.01±0.00	17.4±0.4	1.67 ±0.00 ($\times 10^3$)

g de equivalente de Trolox/ g de muestra en peso seco (g TE/ dw)

Tabla 10. Las capacidades antioxidantes de los ácidos fenólicos de la hoja de la batata y los compuestos flavonoides de la hoja de la batata (Modificada) (Luo et al., 2021).

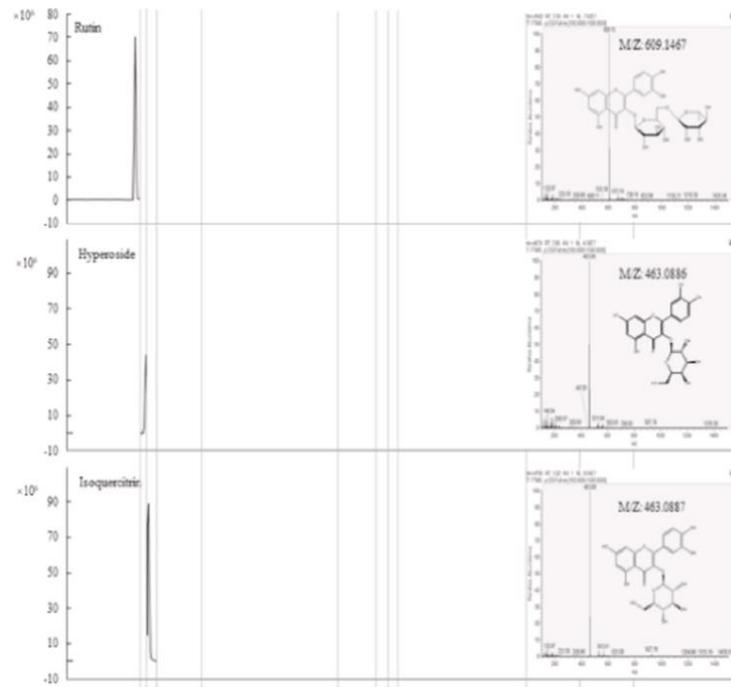


Figura 16. Cromatogramas de rutina, hiperósido e isoquercitrina (Luo et al., 2021).

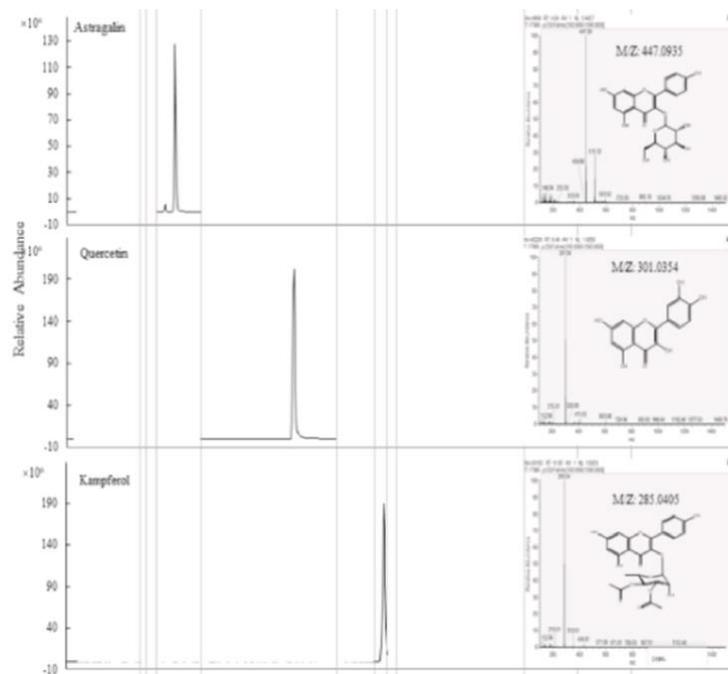


Figura 17. Cromatogramas de astragalina, quercetina y kampherol (Luo et al., 2021).

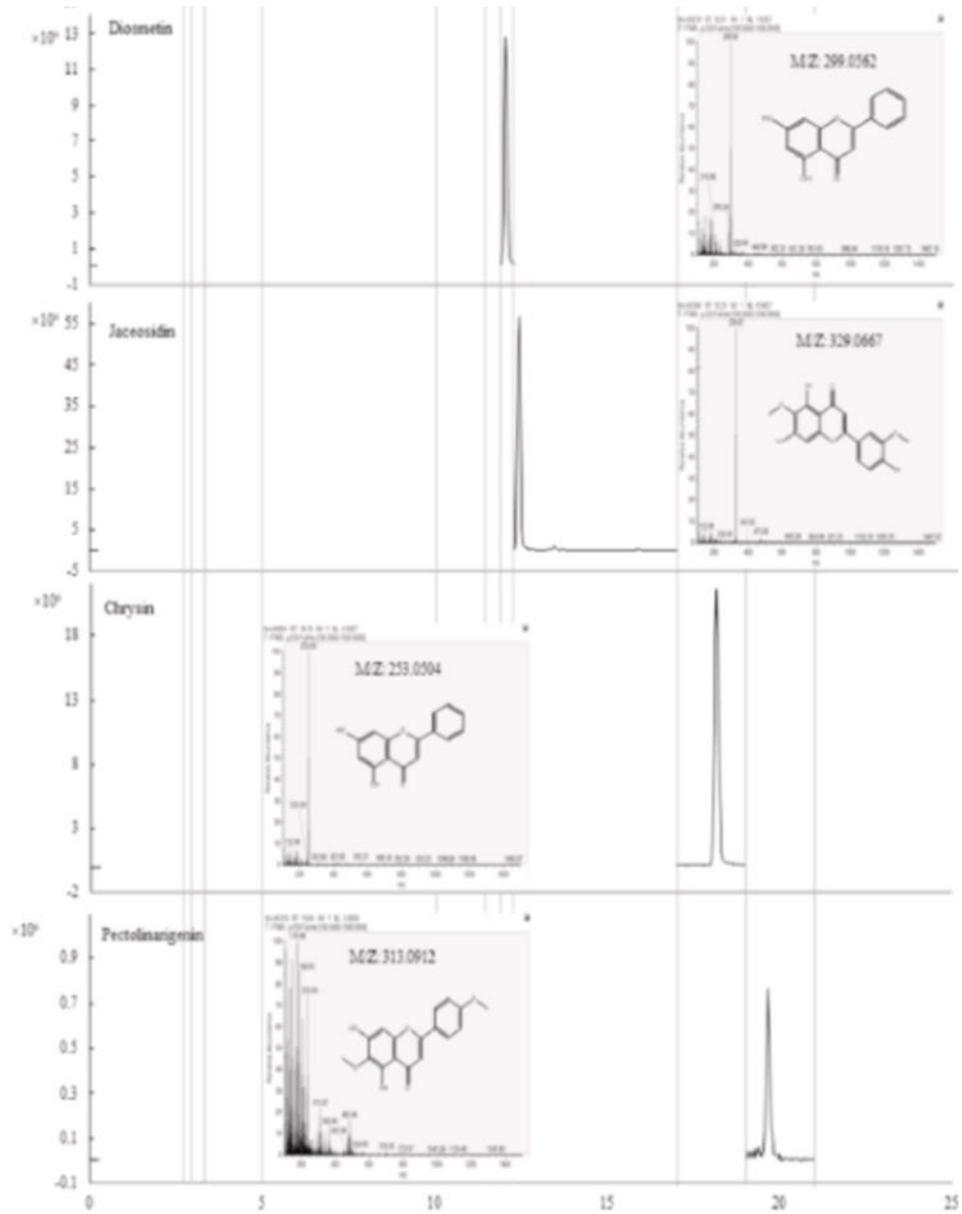


Figura 18. Cromatogramas de diosmetina, jaceosidina, crisina y pectolinarigenina (Luo et al., 2021).

En un trabajo realizado por Fu y colaboradores en 2016, demostraron el contenido fenólico total que esta planta posee, y el porcentaje que representan los flavonoides en este, variando el porcentaje y el solvente de la extracción utilizados, haciendo de igual manera la evaluación antioxidante con el método DPPH. Recolectaron 50 kg de hojas de camote fresco (*Ipomoea batatas*) de las tierras agrícolas de los suburbios de Nanchang (China) en noviembre de 2013. Las hojas frescas se lavaron suavemente, se secaron y se molieron en polvo mediante un ultramicro pulverizador. Todos los polvos se pasaron a través de un tamiz de malla 60, se almacenaron en bolsas de polietileno selladas y se mantuvieron en un refrigerador a -20 °C.

En este estudio, agua, metanol/agua (50%, 70% y 90% v/v), etanol/agua (50%, 70% y 90% v/v) y acetona/agua (50%, 70% y 90% v/v) se utilizaron como disolventes. Para cada disolvente, se mezclaron 5.0 g de polvo seco con 100 mL de disolvente y se colocaron en una incubadora agitadora a 150 rpm durante 12 h a temperatura ambiente (25 ± 1 °C). La mezcla se centrifugó a 621.6 g durante 10 min, el residuo se volvió a extraer en las mismas condiciones. Los sobrenadantes se combinaron y completaron hasta 250 mL, luego se retiraron 10 mL de solución de muestra y se guardaron para los siguientes ensayos químicos.

El contenido total de flavonoides (TFC) se determinó mediante el método colorimétrico de $AlCl_3$ (Do et al., 2014) (**Tabla 11**). Brevemente, 2.0 mL de solución de extracto adecuadamente diluida se mezcló con 2.0 mL de 2% (m/v) $AlCl_3 \cdot 6H_2O$. 10 m más tarde, se midió la absorbancia a 430 nm frente a un blanco. Se usó quercetina (2.0-12.0 μ g/mL) como estándar, los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quercetina por gramo de material seco (dried material, DM) de hoja de camote (mg QE / g DM).

Brevemente, se mezclaron 2.0 mL de solución de muestra diluida con 2.0 ml de solución de DPPH (0.1 mM en etanol al 95%). La absorbancia (A_1) se midió a 517 nm con disolvente de extracción individual como blanco después de 30 min de incubación a temperatura ambiente en la oscuridad. Los datos (**Figura 19**) se trataron con la siguiente ecuación:

$$I_{\text{DPPH}} \% = ([A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0) \times 100$$

Donde A_0 es la absorbancia del grupo de control (la solución de muestra se reemplazó por disolvente de extracción), A_2 es la absorbancia del blanco de muestra (la solución de DPPH se reemplazó por etanol al 95%). Se utilizó ácido ascórbico como control positivo. Todos los resultados se realizaron por triplicado y se expresaron como mg de equivalentes de ácido ascórbico (VcE) por gramo de material de hoja de camote seco (mg VcE / g DM).

Solvente	Rendimiento del extracto (%)	Contenido fenólico total (mg CAE/g DM)	Flavonoles (mg QE/ g DM)	Antocianinas (mg c-3-gE/100 g DM)
50 % Metanol	32.4 ± 0.1	33.6 ± 1.2	1.0 ± 0.1	13.8 ± 1.0
70% Metanol	27.6 ± 0.2	37.5 ± 0.3	1.6 ± 0.0	20.9 ± 2.0
90% Metanol	25.7 ± 0.4	31.5 ± 0.6	2.8 ± 0.1	20.2 ± 1.7
50% Etanol	27.7 ± 0.2	39.6 ± 1.7	1.3 ± 0.0	23.8 ± 1.0
70% Etanol	27.2 ± 0.1	35.4 ± 1.2	3.4 ± 0.0	36.5 ± 1.0
90% Etanol	20.3 ± 0.5	25.0 ± 0.8	3.0 ± 0.0	12.7 ± 1.7
50% Acetona	33.4 ± 0.4	43.8 ± 0.7	1.4 ± 0.1	13.7 ± 3.5
70% Acetona	28.9 ± 0.5	42.0 ± 0.6	3.0 ± 0.3	16.9 ± 1.4
90% Acetona	20.7 ± 0.1	30.9 ± 1.2	3.3 ± 0.1	10.7 ± 3.0
Agua	22.0 ± 0.3	23.3 ± 0.9	0.6 ± 0.0	21.6 ± 1.8

Tabla 11. Contenido de extractos de hojas secas de camote empleando diferentes disolventes. Abreviaciones: CAE: Equivalentes de ácido clorogénico. QE: Equivalentes de quercetina. C-3-gE: Equivalentes de cianidina-3-glucósido. DM: material seco (Fu et al., 2016).

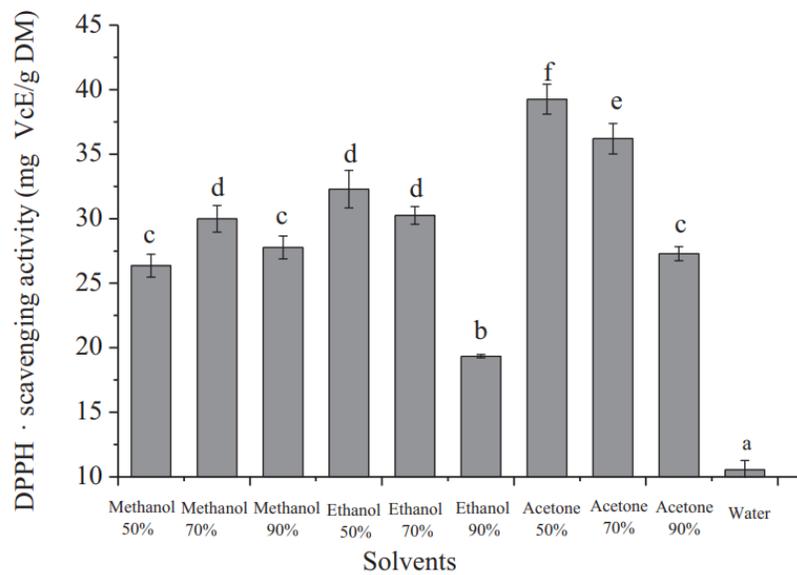


Figura 19. Actividad DPPH de diferentes extractos solventes de hojas de camote (Fu et al., 2016).

***Cyclotrichium origanifolium*:**

Tepe y colaboradores en 2005 realizaron un trabajo de demostración de la actividad antioxidante de las hojas de esta planta mediante el método DPPH, donde su principal objetivo fue observar cómo esta actividad se vería afectada por el cambio de disolventes de polaridad variable. Las plantas de *C. origanifolium* se recolectaron de la meseta de Söğütlügöl (1000 m), Düziçi-Osmaniye, Turquía, cuando florecieron (finales de julio de 2001). El espécimen del voucher fue identificado por el Dr. Erol Donmez en el Departamento de Biología, Universidad Cumhuriyet, Sivas-Turquía y ha sido depositado en el Herbario del Departamento de Biología, Universidad Cumhuriyet, Sivas-Turquía (CUFH-Voucher No: ED 6365).

Las partes aéreas de *C. origanifolium* secadas al aire y finamente molidas se sometieron durante 3 h a destilación en agua utilizando un aparato tipo Clevenger (rendimiento 2.17%). El aceite se secó sobre sulfato de sodio anhidro y, después de la filtración, se almacenó a + 4 °C hasta que se ensayó y analizó. Seguidamente se continuó con la preparación de los extractos de materiales vegetales desodorizadamente (eliminación de compuestos que provocan malos olores), triturados y secados al aire, utilizando diferentes disolventes como se muestran a continuación:

- Preparación del extracto de agua caliente desodorizada (DeHW)

Una vez completada la hidrodestilación, el líquido retenido se recogió y se liofilizó. Este procedimiento proporcionó extracto de agua caliente desodorizado (DeHW) con un rendimiento del 30.96% (p/p) (Dapkevicius et al., 1998).

- Preparación del extracto de metanol desodorizado (DeMeOH)

El sólido retenido de la hidrodestilación se secó y se volvió a extraer con metanol. El extracto resultante (DeMeOH) (15.96%, p/p) se fraccionó con agua y cloroformo (CHCl₃) para obtener subfrecciones desodorizadas solubles en agua (DeMW)

(6.86%, p/p) e insolubles en agua (clorofórmico desodorizado) (DeMC) (7.71%, p/p) (Dapkevicius et al., 1998).

- Preparación de los extractos de hexano (HE), diclorometano (DCM) y metanol (MeOH)

Se extrajo una porción (100 g) de material vegetal seco con hexano (HE) (4.19%, p/p), seguido de diclorometano (DCM) (1.46%, p/p) y metanol (MeOH) (12.08%, p/p) en un aparato Soxhlet (6 h para cada disolvente) (Sokmen et al., 1999).

Todos los extractos obtenidos se liofilizaron y se mantuvieron en oscuridad a + 4 °C hasta su uso.

Para la realización del método DPPH se añadieron 50 µL de diversas concentraciones de los extractos en metanol a 5 mL de una solución de metanol al 0.004% de DPPH. Después de un período de incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se leyó la absorbancia frente a un blanco a 517 nm. La inhibición de radicales libres DPPH en porcentaje (I %) se calculó de la siguiente manera:

$$I\% = (A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}} / A_{\text{blanco}}) \times 100$$

Donde A_{blanco} es la absorbancia de la reacción de control (que contiene todos los reactivos excepto el compuesto de prueba), y A_{muestra} es la absorbancia del compuesto de prueba. Concentración del extracto que proporciona una inhibición del 50% (IC_{50}) se calculó el porcentaje de inhibición forma gráfica representada frente a la concentración del extracto. Las pruebas se realizaron por triplicado (**Figura 20**).

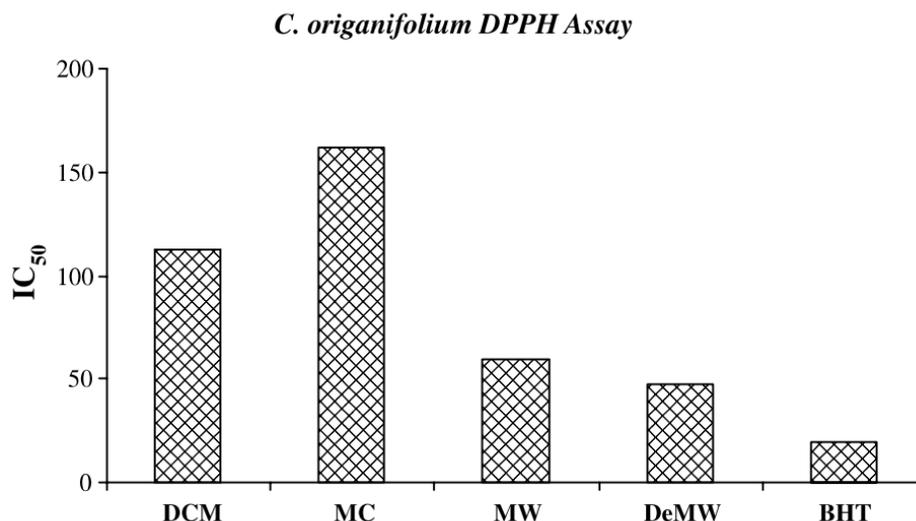


Figura 20. Las concentraciones de los extractos de *C. origanifolium* (HE, DeMC y DeHW no tienen actividad; $17.100 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$ de aceite esencial proporcionaron una inhibición del 50%) y el control positivo que proporcionó una inhibición del 50% en el ensayo DPPH (la desviación estándar de cada parámetro fue demasiado pequeña) (Tepe et al., 2005).

Años más tarde Guzel y colaboradores, en 2017, lograron aislar algunos de los flavonoides que contienen estas hojas, realizando a cada uno su evaluación antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP, demostrando cuál es su potencial individualmente en este aspecto. El material vegetal se recogió de Hatay, Samandag, Turquía. Después de que el Prof. Dr. Ahmet Ilcim, del Departamento de Biología de la Universidad Mustafa Kemal, identificara la planta, se depositó una muestra de comprobante en el Departamento del Herbario de Biología (MKUH 1208).

La parte aérea de los materiales vegetales se pulverizó con nitrógeno líquido y luego se hirvió en agua, luego se extrajo con hexano, acetato de etilo y n-butanol sucesivamente. Se liofilizó una porción de la solución de agua para producir el extracto de agua, además del extracto de hexano, el extracto de acetato de etilo y el extracto de n-butanol. Se realizaron pruebas de actividad antioxidante para estos extractos (**Tabla 12**), de los cuales el extracto de AcOEt exhibió la mayor

cantidad de actividades antioxidantes. Por lo tanto, se aplicaron técnicas cromatográficas para el extracto de AcOEt para aislar los compuestos bioactivos. El cromatograma de HPLC del extracto de acetato de etilo mostró que constaba de cinco productos principales (**Tabla 13**).

A una solución de DPPH (0.135 mM) en etanol (1.0 mL) se le añadió la solución de muestras a diferentes concentraciones (40, 80 y 160 µg/mL). Se añadió etanol para que la solución final fuera de 4.0 mL. Después de mezclar fuertemente, la mezcla de reacción se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 min. La medición de la absorbancia se realizó a 517 nm en un espectrofotómetro. Una menor absorbancia de la mezcla reveló una mayor actividad de eliminación de radicales libres. La siguiente ecuación se utilizó para evaluar la capacidad de eliminación de DPPH:

$$\text{Efecto de eliminación de DPPH (\%)} = [(Ac-As) / Ac] \times 100$$

En el que Ac es la absorbancia de control y As es la absorbancia de las muestras.

El tratamiento de ABTS (2.0 mmol/L) en agua con persulfato de potasio (2.45 mmol/L) a temperatura ambiente en la oscuridad durante 4 h produjo el radical catiónico ABTS. Se diluyó ABTS^{•+} con tampón de fosfato de sodio (0.1 mol/L, pH 7.4) para medir la absorbancia a 734 nm. Se ejecutaron las reacciones de la solución ABTS^{•+} (1.0 mL) con la solución de muestras en etanol (3.0 mL) a diferentes concentraciones (5-40 µg/mL). La inhibición se calculó a 734 nm para cada concentración. La actividad de barrido de ABTS^{•+} se calculó mediante la ecuación dada:

$$\text{ABTS}^{\bullet+} \text{ efecto de barrido (\%)} = [(Ac-As) / Ac] \times 100$$

En el que Ac es la concentración inicial de ABTS^{•+} y As es la concentración restante en la muestra.

Finalmente, para el método FRAP, se inició con la mezcla de extractos y compuestos a diferentes concentraciones (5-40 µg/mL) con agua destilada (1.0 mL), tampón de fosfato de sodio (2.5 mL, 0.2 M, pH 6.7) y ferrocianuro de potasio [K₃Fe (CN)₆] (2.5 mL, 1%). La mezcla de reacción se incubó a 50°C durante 20 min. Se añadió ácido tricloroacético (2.5 mL, 10%) a la mezcla. A continuación, se añadieron agua destilada (2.5 ml) y FeCl₃ (0.5 mL, 0,1%) a los 2.5 ml de esta solución. La absorbancia se midió a 700 nm en un espectrofotómetro (Oyaizu, 1986). El aumento de la absorbancia de la mezcla reveló un aumento de la capacidad de reducción.

Extracto	Contenido total fenólico	DPPH	ABTS	Poder reductor
Hexano	28.1±2.0	120.5±4.4	31.5±2.9	0.7±0.0
EtOAc	125.4±6	11.8±0.7	7.5±0.0	3.4±0.1
Butanol	76.9±4.0	19.4±0.1	19.4±0.9	2.4±0.0
Agua	13.1±2.4	85.5±3.4	34.9±1.3	0.3±0.0
Trolox	-	3.5±0.2	9.5±0.8	-
BHA	-	3.3±0.2	12.5±0.3	-
BHT	-	8.5±1.0	9.0±0.5	-

Ensayos antioxidantes de extractos de *C. origanifolium*

Tabla 12. g de compuestos fenólicos equivalentes de ácido gálico/kg de extracto Cl₅₀; valores de extractos y estándares (µg/mL) Mm de actividad equivalente de Trolox/kg de extracto (Guzel et al., 2017).

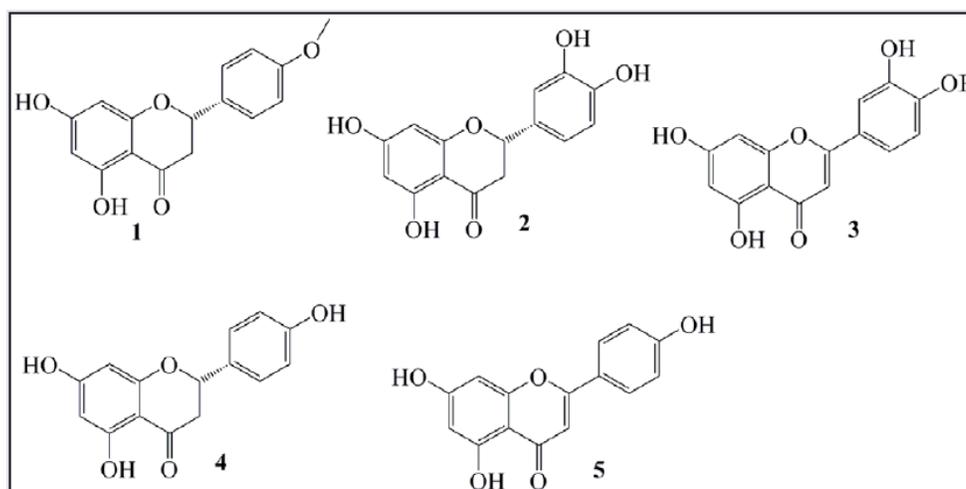


Figura 21. Compuestos aislados de *C. origanifolium* (Guzel et al., 2017).

Compuestos	DPPH	ABTS	Poder reductor
Isosakuranetina	12.3±0.3	13.3±0.1	0.14±0.01
Eriodictiol	9.9±0.1	9.2±0.1	0.59±0.01
Luteolina	5.7±0.2	4.4±0.1	0.62±0.01
Naringenina	14.4±0.3	8.8±0.2	0.10±0.01
Apigenina	6.6±0.2	5.3±0.2	0.47±0.02
Trolox	4.4±0.2	15.3±0.2	0.68±0.02
BHA	6.2±0.1	11.6±0.1	1.11±0.03
BHT	8.2±0.1	12.1±0.1	0.72±0.03

Efectos antioxidantes de compuestos aislados de *C. origanifolium*

Tabla 13. Valores de CI_{50} de compuestos y estándares ($\mu\text{g/mL}$) (Guzel et al., 2017).

9. DISCUSIÓN

Se obtuvieron datos de diferentes fuentes bibliográficas que exponen la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de las plantas de interés, siendo evaluados con los métodos DPPH, ABTS y FRAP que fueron explicados con anterioridad en este informe para conocer el fundamento de cada uno, que aunque no llegan a ser tan precisos, son los más utilizados debido a no ser tan costosos y no requieren de tanto tiempo para llevarse a cabo comparándose con otros, como por ejemplo el método CAA (Cellular antioxidant activity) o algunos métodos in vivo; además dan una idea de que mecanismo de acción utilizan los flavonoides para controlar el proceso oxidativo.

Los resultados obtenidos en los trabajos realizados por Sánchez-Aguirre et al., 2020; Fu et al., 2016 y Tepe et al., 2005 sobre *Hyptis suaveolens L.*, *Ipomoea batatas L.* e *Cyclotrichium origanifolium* respectivamente, muestran que en efecto todas presentan una buena actividad antioxidante, reflejándose en los porcentajes altos de eliminación de radicales y las CI_{50} bajos (entre menor sea, mayor capacidad antioxidante) para los tres casos comparados contra un control. Algunos de estos datos no solamente se basan en los flavonoides, que es el principal objetivo de este escrito, sino que también se toman en cuenta otros polifenoles, principalmente ácidos fenólicos, que como se sabe estos también participan como antioxidantes naturales, haciendo que el poder antioxidante de los extractos obtenidos refleje una ayuda o una potencialización de la actividad de los flavonoides, teniendo como consecuencia el desconocer el verdadero poder que presentan los flavonoides sobre la ROS. Principalmente es el caso de *Hyptis suaveolens L.* que durante la investigación solo se encontraron artículos donde el principal objetivo era demostrar que los compuestos que poseía en general tuvieran alguna acción antioxidante, sin aislar ni evaluando el efecto flavonoide por si solos, siendo difícil concluir si estos aportan o no. Sin embargo, se toman en cuenta al demostrar que contiene estos compuestos y pueden ser aislados para su

futura evaluación, complementado si su aporte dentro de la acción antioxidante es importante o nulo.

Por parte de *Ipomoea batatas L.* y *Cyclotrichium organifolium*, si se lograron encontrar artículos donde se evaluaba el poder antioxidante de los flavonoides aislados de dichas plantas de forma individual. Los trabajos hechos por Luo et al. en 2021 y Guzel et al. en 2017 muestran una actividad antioxidante evaluada por los métodos DPPH, ABTS y FRAP a los diferentes flavonoides que se aislaron e identificaron previamente. En ambos artículos se destaca principalmente que los resultados obtenidos para cada compuesto suelen variar entre ellos y entre métodos teniendo valores altos y bajos, demostrando que, aunque los flavonoides son los mejores antioxidantes por excelencia no todos suelen tener una buena potencia antioxidante y por ende es importante evaluarlos. Este problema se atribuye a que sus estructuras químicas presentan diferencias, como pueden ser tanto el número como ubicación de los grupos OH libres en su esqueleto (principalmente en el anillo B), presencia o ausencia de dobles enlaces y/o también grupos presentes como oxo o catecol. Debido a esto, los compuestos pueden actuar o potencializar su actividad antioxidante como captadores de radicales libres (donación de un átomo o un electrón) y/o quelación de iones metálicos.

Lo mencionado anteriormente, no afirma que un compuesto flavonoide no sea capaz de realizar varios mecanismos de eliminación de ROS a la vez por sí solo, si llegan a presentar todas estas cualidades de potencialización en su estructura, se convierte en un antioxidante muy potente, esto se demuestra con el artículo Luo et al. en 2021 para *Ipomoea batatas L.* que reportó el aislamiento de diez flavonoides para esta planta, los cuales identificó, aisló y procedió a evaluarlos para obtener la capacidad antioxidante de dichos compuestos. Dentro de estos se encuentran la rutina, hiperósido, isoquercitrina, astragalina, quercetina, kampferol, diosmetina, jaceosidina, crisina y la pectolinarigenina, siendo la quercetina la que mostró la mejor capacidad antioxidante en los tres métodos de evaluación empleados frente al ácido ascórbico (principal antioxidante no enzimático, soluble

en agua, en el plasma y los tejidos), debido a que la estructura de la quercetina tiene una conformación plana, caracterizada por tres enlaces de hidrógeno intramoleculares, que pueden reaccionar fácilmente con los radicales libres, además por la fuerte complejación de Fe (II) con la presencia de todos los posibles sitios quelantes existentes en los flavonoides, especialmente el grupo catecol, según lo informado por Leopoldini et al., 2004 y Cornard et al., 2005.

En cuanto a los demás flavonoides se puede mencionar que su acción antioxidante difiere entre cada método de evaluación utilizado, presentando valores bajos y altos, siendo el caso para la pectolinarigenina, que esto como se ha estado mencionado, puede ser que en su estructura química contenga grupos hidroxilos, pero carezca de grupos oxo o catecol impidiéndole actuar como agente quelante o como donador de átomos de hidrogeno, lo que hace que actué de forma diferente en cada método, debido que cada uno de estos expone simplemente uno de los tantos mecanismos de acción que pueden llegar a presentar estos compuestos y no dos o más a la vez, ya que los antioxidantes inactivan los radicales ABTS mediante una sola transferencia de electrones, mientras que inactivan los radicales DPPH transfiriendo un átomo de hidrógeno, a partir de la ruptura homolítica de un enlace O – H y en FRAP en una quelación (Luo et al., 2021)

Esto también suele suceder en el trabajo presentado por Guzel et al. en 2017 para *Cyclotrichium organifolium*, donde se plasma el aislamiento de cinco flavonoides; isosakuranetina, eriodictiol, luteolina, naringenina y apigenina, evaluados por los mismos métodos (DPPH, ABTS y FRAP), aunque en esta ocasión estos compuestos llegan a presentar estructuras similares, pero no idénticas, donde se observa que algunas presentan un doble enlace entre los carbonos C-2 y C-3 de anillo C, ausencia de un OH en el carbono C- 3 del anillo B y la disposición espacial del anillo B, esto demuestra que aunque sea mínima la diferencia estructural entre estos, su actividad antioxidante puede cambiar, potenciándola o disminuyéndolo, ya que son características importantes a la hora de actuar; el caso de la luteolina es un claro ejemplo, sus IC₅₀ obtenidos son bajos

comparándolos con los demás en DPPH y ABTS pero en FRAP la naringenina resulta ser mejor, algo que resulta confuso, debido a que la luteolina presenta más características a favor para actuar como un mejor quelante, lo que la naringenina carece, pero la disposición espacial del anillo B es diferente, indicando que también el impedimento estérico entra como una ventaja sobre la potencialización antioxidante.

Por otra parte, aunque los demás datos recopilados en este escrito carezcan hasta cierto punto de un aporte para el principal objetivo de este trabajo, la evaluación antioxidante de diferentes flavonoides aislados de plantas medicinales, ayudan a comprender cuales llegan a ser algunas de las desventajas o puntos a considerar a la hora de comparar resultados de diversas fuentes. Los resultados de algunos trabajos como los de Mozhiyarasi y Anuradha, 2018; Fu et al., 2016 y Tepe et al., 2005 para las tres especies de plantas, demuestran que los datos también parecen depender del método que se utiliza y el disolvente utilizado para las extracciones de los polifenoles o el aislamiento total de los flavonoides, ya que dependiendo de esto se obtendrá una mayor cantidad de estos compuestos y por ende una mejor evaluación y una mayor certeza en la determinación del contenido total en las plantas, Franco et al., 2008 menciona que la diferencia en el rendimiento del extracto está relacionado con las distintas polaridades de los solventes de extracción y la solubilidad de los compuestos en el solvente de extracción. Esto se ve reflejado en la variación de las actividades antioxidantes obtenidas, donde la cantidad y la concentración del disolvente juegan un papel crucial, y hasta en algunos puede mejorar con la adición de agua, “se ha evidenciado que el solvente orgánico acuoso generalmente tiene una mayor eficiencia de extracción en polifenoles que el solvente orgánico absoluto (Spigno et al., 2007)”.

También se observa que el tratamiento previo a su evaluación, como es el método de purificación, tiene de igual manera su importancia dentro de la diferencia en los resultados recopilados, y dependiendo de cómo se lleve a cabo, la obtención de polifenoles o flavonoides aumentará. Como ya se comento puede realizarse con

una simple extracción líquido- líquido con disolventes de diferentes polaridades o con tratamiento un poco más sofisticado, como la micro fluidización dinámica de alta presión (DHPM) realizada en el trabajo de Huang et al. en 2013, que puede alterar las paredes celulares, dando lugar a una transferencia de masa acelerada y una mayor penetración del disolvente en las células; que comparando ambos métodos, este último parece arrojar datos más altos en la obtención de contenido de flavonoides, obteniéndose hasta 346.8 mg/ 100 mL a diferencia de los resultados en las planta de *Hyptis suaveolens L.* y *Cyclotrichium organifolium*, que como bien se mencionó este primero no es un extracto 100% puro de flavonoides, sino una combinación de polifenoles y sus métodos no van completamente dirigidos a la purificación de estos compuestos.

10. CONCLUSIONES

Hyptis suaveolens L., *Ipomoea batatas L.* y *Cyclotrichium organifolium* son plantas utilizadas comúnmente en la medicina tradicional para combatir y prevenir una gran variedad de enfermedades o síntomas, atributo que se le son otorgadas por su contenido metabólico y que suelen cambiar entre cada especie o familia.

El poder antioxidante es una de estas actividades gracias a la presencia de flavonoides, que son sintetizados por las mismas plantas para su supervivencia y protección, donde numerosos estudios refutan esta propiedad mediante el aislamiento de estos compuestos.

Estos estudios muestran experimentalmente de manera *in vitro* el potencial que tienen los flavonoides y como es que actúan contra las especies reactivas de oxígeno, utilizando diferentes métodos de evaluación, que, aunque suelen ser simples o no tan exactos, son útiles para una buena aproximación de su poder antioxidante. Los resultados indican por sus valores bajos de CI_{50} y valores altos de porcentaje de inhibición de radicales libres los flavonoides son por excelencia los mejores antioxidantes en estas plantas.

Además, la recopilación de esta información mostró que el autor al utilizar o realizar de manera distinta la forma de extracción de los flavonoides en las plantas, los resultados pueden variar y que al ser compararlos muchas veces sus datos con los de otros estos suelen diferir, esto parece depender principalmente por el disolvente utilizado, el tiempo y hasta los aparatos elegidos en el proceso para el estudio.

Pese a la gran cantidad de información obtenida para validar el principio de esta cualidad antioxidante, solo se encontraron pocos estudios en los cuales se realizó de una forma completa, es decir, evaluar de forma aislada el poder antioxidante que presenta cada flavonoide, detallando si aportan o no y si su estructura química va acorde a las investigaciones previas establecidas, caso que se cumplió para *Cyclotrichium organifolium* e *Ipomoea batatas L.*

Para terminar, aunque la información recopilada en este trabajo carezca de contenido debido a la falta de referencias bibliográficas amplias o convincentes, no significa que sea de menos importancia, ya que entre ellas se complementa y aterriza en el principal objetivo, describir y analizar los métodos sobre el poder antioxidante de los flavonoides encontrados en estas plantas, llegando este trabajo a ser una pauta para la realización de próximas investigaciones, afirmándose con seguridad que se cuenta con los elementos necesarios en este escrito para apoyarse en información y respuestas acerca de las plantas presentadas.

11. REFERENCIAS

- Agarwal K y Varma R (2013) Antioxidant activity and Phytochemical analysis of *Hyptis suaveolens* (L) Poit. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research** 3 (4): 541–549.
- Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant Science** 196: 67–76
- Ago T, Kuribayashi F, Hiroaki H, Takeya R, Ito T, Kohda D, Sumimoto H (2003) Phosphorylation of p47^{phox} directs phox homology domain from SH3 domain toward phosphoinositides, leading to phagocyte NADPH oxidase activation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**. 100, 8: 4474–4479.
- Alam NM, Bristi NJ, Rafiquzzaman M (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**. 21 (2): 143–152.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016412000357>
- Amić A, Lučić B, Stepanić V, Marković Z, Marković Z, Dimitrić MJ, Marković D, Amić D (2017) Free radical scavenging potency of quercetin catecholic colonic metabolites: Thermodynamics of 2H⁺/2e⁻ proses. **Food Chemistry**. 218: 144–151.
- Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K (2002). Methods for testing antioxidant activity. **Analyst** 127: 183–198.
- AOAC (Asociación de Químicos Analíticos) (2000). Métodos oficiales de análisis. (17a ed.), AOAC International, Gaithersburg, MD, EE. UU.
- Apak R, Gorinstein S, Böhm V, Schaich KM, Özyürek M y Güçlü K (2013) Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity. (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**. 85 (5): 957–998. <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1351/PAC-REP-12-07-15/html>
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) assay. **Microchimica Acta**. 160: 413–419.

- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **52**: 7970–7981.
- ASAE Estándar (1983). ASAE S352.1. Medición de humedad: granos y semillas. ASAE, St. Joseph, Michigan
- Austin DF (1996). The Ipomoea batatas complex-I. Taxonomy. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**. **105** (2): 114–129. https://www-jstor-org.pbidi.unam.mx:2443/stable/pdf/2484429.pdf?ab_segments=0%252FSY_C-5882%252Fcontrol&refreqid=excelsior%3Aead5e8e9a572bfb9260a76dcb3369933
- Azevedo NR, Campos IFP, Ferreira HD, Portes TA, Seraphin JC, Realino De Paula J, Santos SC, Ferri PH (2002). Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. **Biochemical Systematics and Ecology**. **30**: 205–216.
- Becker EM, Nissen LR, Skibsted L (2004) Antioxidant evaluation protocols. Food quality or health effects. **European Food Research and Technology**. **219** (6): 561–571.
- Benzie IFF, Strain JJ (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology** **299**: 15–27.
- Benzie IFF, Strain JJ (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**. **239**: 70–76.
- Beyrouthy ME, Dhifi W, Arnold-Apostolides N (2013). Ethnopharmacological Survey of the Indigenous Lamiaceae from Lebanon. **Acta Horticulturae**. **997**(33):257–275.

- Biela M, Rimarčík J, Senajová E, Kleinová A, Kleina A (2020). Antioxidant action of deprotonated flavonoids: Thermodynamics of sequential proton-loss electron-transfer. **Phytochemistry**. **180**: 112528. <https://www.sciencedirect.com/pii/S0031942220311432>
- Bijo M, Jerad S, Githa EM, GE, Sherin AR, Jobin KV y Jayaraj P (2015). Flavonoids: An Outstanding Structural Core for the Inhibition of Xanthine Oxidase Enzyme. **Current Enzyme Inhibition** **11** (2): 108–115.
- Blois MS (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**. **29**: 1199–1200.
- Boligon AA, Machado MM y Athayde ML (2014). Technical Evaluation of Antioxidant Activity. **Medicinal chemistry**. **4**: 517–522.
- Bors W, Heller W, Michel C, Saran M. (1990) Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. **Methods in Enzymology**. **186**: 343–355.
- Caicedo C, Luga C, Castañeda-Arriaga R, Alvarez-Idaboy JR (2014) Antioxidant activity of selected natural polyphenolic compounds from soybean via peroxy radical scavenging. **Royal Society of Chemistry Advances**. **4**: 38918–38930.
- Cao S, Guzza RC, Wisse JH, Miller JS, Evans R, Kingston DGI (2005). Ipomoeasins A-E, Cytotoxic Macrocyclic Glycosides from the Leaves of *Ipomoea squamosa* from the Suriname Rainforest. **Journal of Natural Products** **68**: 487–492.
- Carmona-Jiménez Y, García-Moreno MV, Igartuburu JM, García BC (2014) Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. **Food Chemistry**. **165**: 198–204.
- Cetinus SA, Göze I, Sarac B, Vural N (2007). Scavenging effect and antispasmodic activity of the essential oil of *Cyclotrichium niveum*. **Fitoterapia** **78** (2): 129–133.

- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis** **10** (3):178–182.
- Chen Z, Bertin R, Frolidi G (2013). EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. **Food Chemistry**. **138** (1): 414–420.
- Cheng IF, Breen K (2000). On the ability of four flavonoids, baicalein, luteolin, naringenin, and quercetin, to suppress the Fenton reaction of the iron-ATP complex. **Biometals**. **13** (1): 77–83.
- Cornard JP, Dangleterre L, Lapouge C (2005). Computational and spectroscopic characterization of the molecular and electronic structure of the Pb (II)-quercetin complex. **Journal of Physical Chemistry**. **109** (44): 10044–10051.
- Craft DB, Kerrihard LA, Amarowicz R, Pegg RB (2012). Phenol-Based Antioxidants and the In Vitro Methods Used for Their Assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. **11** (2): 148–173.
- Croft DK (2006). The Chemistry and Biological Effects of Flavonoids and Phenolic Acids. **Annals of the New York Academy of Sciences**. **854** (1): 435–442.
- Dapkevicius A, Venskutonis R, van Beek TA, Linssen PH (1998) Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. **77**: 140–146.
- Davis PH (1998). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Dawidowicz AL, Wianowska D, Olszowy M (2012). On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH methods (Problems in estimation of antioxidant activity). **Food Chemistry** **131**: 1037–1043.

- Di Meo F, Lemaur V, Cornil J, Lazzaroni R, Duroux JL, Olivier Y, Trouillas P (2013). Free Radicals Scavenging by Natural Polyphenols: Atoms versus Electron Transfer. **Journal of Physical Chemistry**. **117** (10): 2082–2092.
- Dirmenci T, Dündar E, Deniz G, Arabaci T, Martin E, Jamzad Z (2010). Morphological, karyological and phylogenetic evaluation of *Cyclotrichium*: a piece in the tribe *Mentheae* puzzle. **Turkish Journal of Botany**. **34**: 159-170.
- Do QD, Angkawijaya AE, Tran-Nguyen PL, Huynh LH, Soetaredjo FE, Ismadji S y Ju YH (2014) Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila* aromatic. **Journal of Food and Drug Analysis**. **22** (3): 296–302.
- Dontha S (2016). A review on antioxidant methods. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**. **9** (2): 14–32. <https://foodanalysis.com.ng/wp-content/uploads/2021/01/antioxidant-activity-...procedure-all.pdf>
- Dzah C, Duan Y, Zhang H, Wen C, Zhang J, Chen G, Ma H (2020) The effects of ultrasound-assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: a review. **Food Bioscience**. **35**: 100547.
- Edeoga HO, Omosun G, Uche LC (2006). Chemical composition of *Hyptis suaveolens* and *Ocimum gratissimum* hybrids from Nigeria. **African Journal of Biotechnology** **5** (10): 892–895.
- Ferriola CP, Cody V, Middleton E (1989) Protein kinase C inhibition by plant flavonoids: Kinetic mechanisms and structure-activity relationships. **Biochemical Pharmacology**. **38**: 1617–1624.
- Franco D, Sineiro J, Rubilar M, Sánchez M, Jerez M, Pinelo M, Núñez MJ (2008). Polyphenols from plant materials: extraction and antioxidant power. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**. **7** (8): 3210–3216.

- Fu Z-F, Tu Z-C, Zhang L, Wang H, Wen Q-H, Huang T (2016). Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves extracted with solvents of various polarities. **Food Bioscience**. **15**: 11–18. <https://www.sciencedirect.com/pbidi.unam.mx:2443/science/article/pii/S2212429216300207>
- Gadidasu KK, Murthy EN, Nataraj P, Srinivas K, Pa B, Teixeira da Siba JA, Raju VS, Sadanandan (2011) ISSR marker variants of *Hyptis suaveolens*. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology** **5** (2): 166–168. <https://www.gbif.org/species>
- Galano A, Mazzone G, Álvarez-Diduk R, Marino T, Alvarez-Idaboy JR, Russo N (2016) Food Antioxidants: Chemical Insights at the Molecular Level. **Annual Review of Food Science and Technology**. **7**: 335–352.
- Gardner PT, McPhail DB, Duthie GG (1998). Electron Spin Resonance Spectroscopic Assessment of the Antioxidant Potential of Teas in Aqueous and Organic Media. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. **76**: 257–262.
- Gark S (2020). Flavonoids: Biosynthesis, Metabolism, Mechanism of Antioxidation and Clinical Implications: A Review. **Agricultural Reviews**. **41**. (3): 227–237. <http://eds.b.ebscohost.com/pbidi.unam.mx:8080/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=6&sid=ca1cdfc1-2513-4d52-bfa6-359002dbc199%40sessionmgr103>
- Ghaffari H, Jalali Ghassam BJ, Chandra Nayaka S, Ramachandra Kini, Prakash HS (2014). Antioxidant and Neuroprotective Activities of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Against Oxidative Stress-Induced Neurotoxicity. **Cellular and Molecular Neurobiology**. **34**: 323–331. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10571-013-0016-7.pdf>
- Gichuki ST, Berenyi M, Zhang D, Hermann M, Schmidt J, Glossl J, Burg K (2003) Genetic diversity in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] In relation to geographic sources as assessed with RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution** **50** (4): 429–437.

- Grassi P, Urías Reyes TS, Sosa S, Tubaro A, Hofer O, Zitterl-Eglseer K (2006). Anti-inflammatory activity of two diterpenes from *Hyptis suaveolens* from El Salvador. **Zeitschrift für Naturforschung C - A Journal of Biosciences**, **61** (3-4): 165–170.
- Guzel A, Aksit H, Elmastas M, Erenler R (2017). Bioassay-guided isolation and identification of antioxidant flavonoids from *Cyclotrichium organifolium* (Labill.) Manden and Scheng. **Pharmacognosy Magazine** **13** (50): 316–320.
- Haenen GRMM, Jansen FP y Bast A (1993). The antioxidant properties of five O-(β -Hydroxyethyl)-rutosides of the flavonoid mixture Venoruton. **Phebiology. Suppl. 1**: 10–17.
- Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**. **16**, 6: 845–850.
- Harley RM, Atkins S, Budantsev AL, Canlino PD, Conn BJ, Grayer R, Harley MM, De Kok R, KresLovskaja T, Morales R, Palon AJ, Ryding O & Upson T (2004). Labiatae. pp. 167-229. En: *The Families and Genera of Vascular Plants, VII, Flowering Plants-Dicotyledons, Lamiales, except Acanthaceae including Avicenniaceae*. JW Kadereit (Editor). Springer-Verlag. Berlin.
- Hayward HE (1932). The Seedling Anatomy of *Ipomoea batatas*. **Botanical Gazette**. **93** (4): 400-420. https://www-jstor-org.pbidi.unam.mx:2443/stable/2471448?Search=yes&resultItemClick=true&searchText=ipomoea+batatas&searchUri=%2Faction%2FdoBasicSearch%3FQuery%3Dipomoea%2Bbatatas%26acc%3Don%26wc%3Don%26fc%3Doff%26group%3Dnone%26refreqid%3Dsearch%253A7786cc5f602aa250899406f5dd73f300&ab_segments=0%2FSYC-5882%2Fcontrol&refreqid=fastly-default%3Abf58531264c78126cb9acb9abbca9a3c&seq=1#metadata_info_t_ab_contents

- He C, Pan Y, Ji X, Wang H (2012) Antioxidants. Introduction. En: Antioxidant Polymers: Synthesis, Properties, and Applications: Synthesis, Properties, and Applications. Giuseppe Cirillo, Francesca Lemma Eds. New Jersey. p 1-16.
- Hegerman AE, Riedl KM, Jones G, Sovik KN, Rechard NT, Hartzfeld PW, Reichel TL (1998) High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **46** (5): 1887–1892.
- Heim EK, Tagliaferro RA, Bobilya JD. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry** **13**: 572–584. <https://www.sciencedirect.com/pii/S0955286302002085>
- Hepel, M. y Andreescu, S. (2015). Oxidative Stress and Human Health, Capitulo 1, pag. 1–33, en: Diagnostics, Prevention, and Therapy Volumen 2, Silvana Andreescu y Maria Hepel eds, Volumen 1200, Washington, DC: American Chemical Society. Sitio web: <https://pubs-acsc.org/pii/S0955286302002085>
- Heywood VH, Bummilt RK, Ole S, Astan G (2008) Flowering Plant Families of the World. Libro de luciérnagas, Ontario ISBN-1-55407-206-4.
- Hirano R, Sasamoto W, Matsumoto A. Itakura H, Igarashi O, Kondo K (2001). Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**. **47**: 357–362.
- Huang D, Ou B, Prior RL (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **53**, 1841–1856.
- Huang X, Tu Z, Xiao H, Li Z, Zhang Q, Wang H, Hu Y, Zhang L (2013). Dynamic high pressure microfluidization-assisted extraction and antioxidant activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves flavonoid. **Food and Bioproducts Processing**. **91**: 1–6. <https://www.sciencedirect.com/pii/S0960308512000600>

- Husain SR, Cillard J, Cillard P (1987) Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry. 26** (9): 2489–2491.
- Islam S (2014). Nutritional and medicinal qualities of sweet potato tops and leaves; Cooperative Extension Service, Chicago, IL.
- Islam S (2006). Sweet potato leaf (*Ipomoea batatas* L.): its potential effect on human health and nutrition. **Journal of Food Science. 71** (2): R13–R121.
- Jerkovic I, Marijanovic Z (2010). Oak (*Quercus frainetto* Ten.) honeydew honey--approach to screening of volatile organic composition and antioxidant capacity (DPPH and FRAP assay). **Molecules.15** (5): 3744–3756.
- Jesus NZT, Falcão HS, Lima GRM, Caldas Filho MRD, Sales IRP, Gomes IF, Santos SG, Tavares JF, Barbosa-Filho JM, Batista LM (2013). *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae), a medicinal plant protects the stomach against several gastric ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology. 150** (3): 982–988.
- Kaya A, Dimerci T, y Satil F (2015). Morphological studies on the nutlet of Turkish *Cyclotrichium* Manden. & Scheng. (Lamiaceae). **Plant Biosystems. 149** (6): 984.989. <http://dx.doi.org/10.1080/11263504.2014.983576>
- Kedare SB y Singh RP (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food and Science Technology. 48** (4): 412–422.
- Kilic T, Karahan A, Dirmenci T, Arabaci T, Kocabas E, Goren AC (2007). Essential oil compositions of some species of *Cyclotrichium* and antimicrobial activities. **Chemistry of Natural Compounds. 43** (6): 733–735.
- Krishnaiah D, Sarbatly R, Nithyanandam R (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts Processing. 89**, 3: 217-233.

- Leopoldini M, Russo N, Toscano M (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, **125**, 2: 288–306.
- Leopoldini M, Russo N, Chiodo S, Toscano M (2006). Iron chelation by the powerful antioxidant flavonoid quercetin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **54** (17): 6343-6351.
- Leopoldini M, Marino T, Russo N, Toscano M (2004). Antioxidant Properties of Phenolic Compounds: H-Atom versus Electron Transfer Mechanism. **Journal of Physical Chemistry**. **108** (22): 4916–4922.
- Li R, Tang G, Liu X, Li J, Wang D, Ji S (2020). An ethnopharmacological review of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. **19** (7): 1541–1550.
<https://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/201662>
- Lim TK (2016). Convolvulaceae. *Ipomoea batatas*. p 92-171. En: Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. Volume 10. Modified Stems, Roots, Bulbs. Springer. London. [https://link.springer-com.pbidi.unam.mx:2443/chapter/10.1007/978-94-017-7276-1_5](https://link.springer.com.pbidi.unam.mx:2443/chapter/10.1007/978-94-017-7276-1_5)
- Lin S, Zhang G, Liao Y, Pan J y Gong D (2015). Dietary Flavonoids as Xanthine Oxidase Inhibitors: Structure-Affinity and Structure-Activity Relationships. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **63** (35): 7784–7794.
- Liu J, Mu T, Sun H, Fauconnier ML (2019). Optimization of ultrasonic-microwave synergistic extraction of flavonoids from sweet potato leaves by response Surface methodology, **Journal of Food Processing and Preservation**. **43** (5): 1–10.
- Lucarini M, Mugnaini V, Pedulli FG (2002) Bond Dissociation Enthalpies of Polyphenols: The Importance of Cooperative Effects. **Journal of Organic Chemistry** **67** (3): 928–931.

- Luo D, Mu T, Sun H (2021). Profiling of phenolic acids and flavonoids in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves and evaluation of their antioxidant and hypoglycemic activities. **Food Bioscience**. **39**: 100801. [https://www.sciencedirect-com.pbidi.unam.mx:2443/science/article/pii/S2212429220311391](https://www.sciencedirect.com/pbidi.unam.mx:2443/science/article/pii/S2212429220311391)
- Malele RS, Mutayabarwa CK, Mwangi JW, Thoithi GN, Mutayabarwa CK, Lucini EI, Zygadlo JA (2003). Essential Oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. from Tanzania: Composition and Antifungal Activity. **Journal of Essential Oil Research**. **15** (6): 438–440.
- Manzocco L, Anese M, Nicoli MC. (1998). Antioxidant Properties of Tea Extracts as Affected by Processign. *Lebens-mittel-Wissenschaft und Technologie- Food Science and Technology*. **31** (7-8): 694–698.
- Marnett LJ (2000) Oxyradicals and DNA damage. **Carcinogenesis** **21**: 361–370.
- Milardović S, Iveković D, Grabarić BS (2006). A nivel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. **Bioelectrochemistry**. **68** (2): 175–180.
- Miller NJ, Diplock AT, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A (1993). A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. **Clinical Science**. **84** (4): 407–412.
- Mishra P, Sohrab S y Mishra SK (2021). A review on the phytochemical and pharmacological properties of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**. **7**. 65: 1-11. <https://fjps.springeropen.com/articles/10.1186/s43094-021-00219-1>
- Mozhiyarasi P y Anuradha R (2018). A Study on Antioxidant Activity of *Hyptis suaveolens* (L) poit. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. **7** (6): 376–382. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.706.042>

- Musa KH, Abdullah A, Kuswandi B, Hidayat MA (2013) A novel high throughput method base on the DPPH dry reagent array for the determination fo antioxidant activity. **Analytical Methods**. **141**: 4102–4106.
- Nerland DE (2007). The antioxidant/electrophile response element motif. **Drug Metabolism Reviews**. **39**: 235–248.
- Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Florescent Probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **49** (10): 4619–4626.
- Oyaizu M (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **Japan Journal of Nutrition**. **44**: 307–315.
- Pannala SA, Chan, ST, O'Brien JP, Rice-Evans AC (2001). Flavonoids B-Ring Chemistry and Antioxidant Activity: Fast Reactions Kinetics. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. **282**: 1161–1168.
- Pérez-González A, Rebollar-Zepeda AM, León-Carmona JR, Galano A (2012) Reactivity Indexes and O-H Bond Dissociation Energies of a Large Series of Polyphenols: Implications for their Free Radicals Scavenign Acivity. **Journal of the Mexican Chemical Society** **56** (3): 241–249.
- Pérez TG y Martínez SG (2001). Los Flavonoides como Antioxidantes Naturales. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. **20** (4): 297–306. http://www.latamipharm.org/trabajos/20/4/LAJOP_20_4_3_1_P9HXUFPEV7.pdf
- Prado ARB (2004). Análisis Químico de Nutrientes en la Semilla de Hyptis suaveolens (Chan). Tesis para el Título de Licenciado en Química. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-León. 13 de mayo del 2021 Sitio web: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/retrieve/3723>

- Prior RL, Wu X, Schaich K (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **53**, 4290–4302.
- Priya MD (2015). A review on the pharmacology and phytochemistry of folklore medicinal plant *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. **International Journal of Basic, Applied and Innovative Research**. **4** (4): 108–117.
- Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia** **82**: 513–523.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X11000396>
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decoloration assay. **Free Radical Biology & Medicine** **26** (9-10): 1231–1237.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga C (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radicals Biology & Medicine** **20** (7): 933–956.
- Richardson P, Harley RM, Reynolds T (1992). The chemistry of labial lips: introduction and overview. *Advances in Labiatae Science*. Royal Botanic Gardens, Kew, p 291–297.
- Rzedowski GC y Rzedowski J (2001). Phanerogamic flora of the Valley of Mexico. 2nd ed. Institute of Ecology and National Commission for the Knowledge and Use of Biodiversity. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Saha PR, Sinha S, Sinha RK (2017) Diversidad morfológica de estructuras reproductivas en *Hyptis suaveolens* (L) Poit; una maleza etnomédica de Lamiaceae. **Current Botany** **8**: 74–77.
- Sánchez-Aguirre O, Cruz-Navarro A, Guevara-Valencia M, Rengifo-Salgado E, Vargas-Arana G (2020). Phytochemical screening, antioxidant activity and in vitro biological evaluation of leaf extracts of *Hyptis suaveolens* (L.) from south of Mexico. **South African Journal of Botany**. **128**: 62–66.
<https://www.sciencedirect->

com.pbidi.unam.mx:2443/science/article/pii/S0254629919306763?via%3Dihub

- Sen S y Chakraborty R (2011). The Role of Antioxidant in Human Health Chapter 1, pp 1-37. DOI:10.1021/bk-2011-1083.ch001 in Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy. Vol. 1083. Washington DC, Silvana Andreescu y Maria Hepel eds, American Chemical Society. <https://pubs-acsc-org.pbidi.unam.mx:2443/doi/full/10.1021/bk-2011-1083.ch001>.
- Shah M, Bosco SJD, Mir SA. (2014) Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**. **98** (1): 21–33.
- Shahidi F y Zhong Y (2015) Measurement of antioxidant activity. **Journal of Funtional Foods**. **18**: 757–781. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615000511>
- Sharma PP, Roy RK, Anurag, Dinesh G, Sharma VK (2013). *Hyptis suaveolens* (L.) poit: A phyto-pharmacologicalr review. **International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**. **4**: 1–11.
- Sharma A, Batish DR, Singh HP, Jaryan V, Kohli RK (2017). The impact of invasive *Hyptis suaveolens* on the floristic composition of the periurban ecosystems of Chandigarh, northwestern India. **Flora**. **233**: 156–162.
- Singh M, Kaur M, Silakari O (2014). Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry** **84**: 206–239.
- Smith DA, Banks SW, "Formation and biological properties of isoflavonoid phytoalexins," in V. Cody, E. Middleton and J. Harborne, eds., Plant flavonoids in biology and medicine: Biochemical, pharmacological and structure activity relationships, John Wiley and Sons, pp. 113-124,1986.
- Sokmen A, Jones BM, Erturk M (1999). The *in vitro* antibacterial activity of Turkish plants. **Journal of Ethnopharmacology**. **67**: 79–86.
- Spigno G, Tramelli L, Faveri DM (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**. **81** (1): 200–208.

- Suleyman Gokturk R, Sagdic O, Ozkan G, Unal O, Aksoy A, Albayrak S, Arici M y Durak MZ (2013). Essential Oil Compositions and Bioactivities of *Thymus revolutus* and *Cyclotrichium origanifolium*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, **16** (6): 795-805. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.813208>
- Sun H, Mu T, Xi L, Zhang M, Chen J (2014). Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves as nutritional and functional foods. **Food Chemistry**. **156**: 380–389. <https://www.sciencedirect.com.pbidi.unam.mx:2443/science/article/pii/S0308814614001113>
- Sunar S, Yildirim N, Aksakal O, Agar G (2012). Determination of the genotoxic effects of *Convolvulus arvensis* extracts on corn (*Zea mays* L.) seeds. **Toxicology and Industrial Health**. **29** (5): 449–459.
- Tang G, Liu X, Gong X, Lin X, Lai X, Wand D y Ji S (2019). Studies on the chemical compositions of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. **Journal of the Serbian Chemical Society**. **84** (3): 245–252.
- Tepe B, Sokmen M, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M (2005). Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. **Journal of Food Engineering**. **69** (3): 335–342. <https://www.sciencedirect.com.pbidi.unam.mx:2443/science/article/pii/S0260877404003814?via%3Dihub>.
- Truong VD, McFeeters R, Thompson R, Dean L, Shofran B (2007). Phenolic acid content and composition in leaves and roots of common commercial sweetpotato (*Ipomea batatas* L.) cultivars in the United States. **Journal of Food Science**. **72** (6): C343–C349.
- Umeki S (1994). Mechanism for the activation/electron transfer of neutrophil NADPH-oxidase complex and molecular pathology of chronic granulomatous disease. **Annals of Hematology**, **68**: 267–277.
- van Acker SABE, de Groot MJ, van den Berg D.-J., Tromp MNJL., den Kelder GDO, van der Vijgh WJF, Bast A (1996). A quantum chemical

explanation of the antioxidant activity of flavonoids. **Chemical Research in Toxicology.** **9** (8): 1305–1312.

- van Acker SABE, van Balen PG, van den Berg DJ, Bast A, van der Vijgh JFW (1998). Influence of Iron Chelation on the Antioxidant Activity of Flavonoids. **Biochemical Pharmacology.** **56**, 935–943. <https://www-sciencedirect-com.pbidi.unam.mx:2443/science/article/pii/S0006295298001026>
- Van Hoorn ECD, Nijveldt JR, Van Leeuwen, AMP, Hofman Z, M'Rabet L, De Bont BAD y Van Norren K (2002). Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids. **European Journal of Pharmacology.** **451** (2): 111–118.
- Vergara-Santana M, Lemus-Juárez S, Bayardo-Parra R (2005). Efecto de la selección artificial en el “chan” (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Labiatae) sobre su morfología floral y la floración efectos de la selección artificial sobre la morfología floral y la floración. En: Agropecuaria Centro de Investigación, 9 p 19–31.
- Wang S, Nie S, Zhu F (2016). Chemical components and health effects of sweet potato. **Food Research International.** **89**: 90–116.
- Wolfe KL, Liu RH (2008). Structure-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** **56** (18): 8404-8411.
- Yazdanshenas H. and Tafrihi M. (2021). The biological and therapeutic potentials of *Cyclotrichium* genus: a systematic review. **International Journal of Environmental Health Research.** 2021 Sep 16: 1–11. <https://www-tandfonline-com.pbidi.unam.mx:2443/doi/full/10.1080/09603123.2021.1977784>
- Yuan M, Liu Y, Xiao A, Leng, J, Liao L, Ma L y Liu L (2019). The interaction of dietary flavonoids with xanthine oxidase in vitro: molecular property-binding affinity relationship aspects. **RSC Advances.** **9** (19): 10781–10788.

- Zehiroglu C y Ozturk Sarikaya SB (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. **Journal of Food Science and Technology**. **56**, 4757-4774. <https://link-springer-com.pbidi.unam.mx:2443/article/10.1007/s13197-019-03952-x>.
- Zengin G, Locatelli M, Stefanucci A, Macedonio G, Novellino E, Mirzaie S, Dvoráckó S, Carradori S, Brunetti L, Orlando G, Menghini L, Ferrante C, Recinella L, Chiavaroli A, Leporini L, and Mollica A (2017). Chemical characterization, antioxidant properties, anti-inflammatory activity, and enzyme inhibition of Ipomoea batatas L. leaf extracts. **International Journal of Food Properties**. **20** (2): 1907–1919. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2017.1357127>
- Zhang D, Cervantes J, Huamán Z, Carey E, Ghislain M (2000). Assessing genetic diversity of sweet potato (Ipomoea batatas (L.) Lam.) Cultivars from tropical America using AFLP. **Genetic Resources and Crop Evolution**. **47** (6): 659–665.
- Zhu M, Fahl WE (2001). Functional characterization of transcription regulators that interact with the electrophile response element. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. **23**: 212–219.