



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y  
BIOTECNOLOGÍA**

**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

---

**Tema:** Análisis comparativo de métodos de extracción de metabolitos secundarios producidos por tres especies de plantas medicinales nativas del Ecuador

---

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

**Autor:** Apolo Cumbicos Luis Santiago

**Tutor:** Dr. Orestes Darío López Hernández

**Ambato - Ecuador**

**Septiembre - 2021**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

PhD. Orestes López Hernández

### **CERTIFICA**

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 20 de julio de 2021

---

Dr. Orestes Darío López Hernández

C.I. 175478486-4

TUTOR

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Apolo Cumbicos Luis Santiago, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



---

Apolo Cumbicos Luis Santiago

C.I. 171935339-1

**AUTOR**

## **APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para consistencia firman:

---

Presidente del Tribunal

---

Ing. Mario Daniel García Solís, PhD.

CI: 1103605471

---

Ing. Mayra Fernanda Chico Terán, MSc.

CI: 1003327044

Ambato, 30 de agosto de 2021

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



---

Apolo Cumbicos Luis Santiago

C.I. 171935339-1

**AUTOR**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo se lo dedico a mi madre Luz América Cumbicos y a mi Padre Juan Bernardo Apolo, pilares fundamentales en mi vida que han permitido que llegue lejos. El culmen de mi carrera universitaria se lo dedico a ellos porque siempre han luchado por darme lo mejor.

A mi madre Luz, una mujer extraordinaria que dio el 100% de su vida a sus hijos, me es grato dedicarle este logro por que junto a ella mi vida transcurría llena de ideas y sueños que hoy se ven reflejados. El amor por sus hermosas plantas me motivo a conducir esta investigación.

Aunque las adversidades de la vida influyeron en la relación con mi padre Juan y nos privaron de tantos años juntos por las necesidades, siempre fue un hombre que me llevo espiritualmente en todos los años de estudio y nunca me abandonó emocionalmente.

Por eso y por muchas otras cosas que nunca acabaría de mencionar, les dedico este mi trabajo que lleva en cada parte un pedazo de ustedes.

Además, dedico este trabajo a todas las personas que creyeron en mis capacidades y a todas las que no.

## AGRADECIMIENTOS

Me queda agradecer en primer lugar a quien siempre veló por mi vida, en mi soledad me acompañaba, en las horas de sueño estaba presente, en mi hambruna me alentaba, en mis confusiones me susurraba consejos, en los problemas me calmaba, gracias Dios omnipotente, gracias por ser ese ser invisible que solo está ahí para todos a todo momento.

Gracias, madre Luz, papá Juan, gracias por darme la vida, a ustedes les debo todo lo que soy, vuelvo y repito, las palabras no me alcanzan para agradecerles todo lo que me dieron.

Agradecerle a mis hermanos, Andrea, Andrés y Juan por que han sido mi inspiración para ser competitivo y creativo. Gracias a ellos porque nunca me abandonaron y cuando estuve lejos siempre se preocuparon por que esté bien. Les aseguro que esta no será mi última investigación.

A mis primos Verónica, Luis, Johana y Zuleika les agradezco por creer en mí, gracias por ser mi familia, gracias por existir. Ustedes fueron mi inspiración para continuar mi carrera universitaria en un lugar lejos de casa sin la presencia de madre y padre. Gracias Christopher y Daniela por mirarme como un modelo a seguir, eso me alienta a ser mejor.

A mis compañeros de clase Natasha, Ricardo y a mis mejores amigos Bryan y Victoria, gracias por ayudarme a comprender que una amistad es complicada y que siempre no todo será fácil en la vida.

Por último, quiero agradecer a mi Any, mi compañera de aventuras en Ambato. Eres la mujer que me motivó cada día para no morir en el intento de ser Ingeniero. Hoy lo logramos juntos y me enorgullece saber que pronto también serás profesional. Gracias por ser como eres y por acompañarme en todo mi proceso universitario. Vamos por más, vamos por más cosas y logros.

## INDICE DE CONTENIDOS

<b>APROBACIÓN DEL TUTOR .....</b>	<b>i</b>
<b>DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD .....</b>	<b>ii</b>
<b>APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO .....</b>	<b>iii</b>
<b>DERECHOS DE AUTOR.....</b>	<b>iv</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>x</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>xi</b>
<b>RESUMEN EJECUTIVO.....</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xiii</b>
<b>CAPITULO I.....</b>	<b>1</b>
<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Antecedentes investigativos.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Plantas medicinales.....	1
1.1.2 Estudios en farmacognosia .....	1
Fitoterapia .....	1
1.1.3 Características de las plantas en estudio.....	2
Borraja .....	2
Esencia de rosa .....	3
Paico .....	4
1.1.4 Compuestos fitoquímicos .....	4
Principios activos.....	4
a) Metabolitos secundarios y primarios.....	5
b) Metabolitos secundarios .....	5



c) Metabolitos secundarios aislados de las plantas en estudio .....	7
1.1.5 Métodos de obtención de metabolitos secundarios de plantas .....	8
1.1.6 Identificación de metabolitos.....	11
1.1.7 Efectos antioxidantes y antibacterianos de metabolitos secundarios .....	11
1.1.8 Estudio de caso .....	12
<b>1.2 OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
Objetivo General.....	17
Objetivos específicos .....	17
<b>CAPITULO II .....</b>	<b>18</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>18</b>
2.1 Definición del problema .....	18
2.2 Búsqueda de la información .....	18
2.3 Diseño de la investigación.....	18
2.4 Localización.....	19
2.5 Organización de la información.....	19
2.6 Análisis de la información.....	20
2.7 Materiales .....	20
2.8 Métodos .....	21
<b>CAPITULO III .....</b>	<b>23</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>23</b>
3.1. Resultados de búsqueda.....	23
3.2 Características y descripción de estudios .....	23
3.2.1 Plantas medicinales como materia prima .....	23
3.2.2 Factores a tener en cuenta al elegir solvente para extracción.....	25
3.2.3 Factores a tener en cuenta al elegir un método de extracción .....	26

3.2.4 Métodos de extracción para Borraja, Esencia de rosa y Paico .....	26
1) Estudios con Borraja.....	26
2) Estudios con Esencia de Rosa .....	28
3) Estudio con Paico .....	32
3.4 Técnicas de Fraccionamiento y purificación de moléculas bioactivas de plantas medicinales.....	34
3.5 Determinación de contenido total de Fenoles (CTF).....	36
3.5 Determinación de contenido total de Flavonoides (CTFA).....	36
3.5 Determinación de actividad antioxidante .....	36
3.6 Determinación de actividad antimicrobiana .....	38
3.7 Estudios de propiedades antioxidantes y antibacterianas .....	39
3.8 Comparación de resultados.....	41
<b>CAPITULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>45</b>
4.1 Conclusiones.....	45
4.1 Recomendaciones .....	46
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>47</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Principales metabolitos vegetales</i> .....	5
<i>Tabla 2. Metabolitos secundarios aislados de las plantas en estudio</i> .....	7
<i>Tabla 3. Tipos de solventes usados para la extracción convencional de componentes activos</i> .....	8
Tabla 4. Métodos de extracción no convencionales de metabolitos secundarios de plantas .....	9
<i>Tabla 5. Métodos de extracción convencionales de metabolitos secundarios de plantas</i> .....	10
<i>Tabla 6. Descripción de los métodos de cromatografía usados para la identificación de metabolitos.</i> .....	11
Tabla 7. Metabolitos secundarios de las plantas en estudio y sus efectos .....	12
<i>Tabla 8. Parámetros experimentales usados para extracción y análisis de cromatografía de gases de Lippia alba. Fracciones marrones volátiles.</i> .....	14
<i>Tabla 9. Actividades antioxidantes, antiinflamatorias, citotóxicas y antibacterianas de los AE de semillas de Iberis amara obtenidas con HDAU, HD y DV.</i> .....	15
<b>Tabla 10.</b> Comparación de la actividad antioxidante de TPC de <i>Citrus sinensis</i> (usando el ensayo de captación de radicales DPPH y valores ORAC).....	16
<i>Tabla 11. Factores que se toman en cuenta para la elección de un solvente para extracción</i> .....	25
<i>Tabla 12. Factores que se toman en cuenta para la elección del método de extracción</i> .....	26
<i>Tabla 13. Composición de ácidos grasos del aceite extraído de borraja usando hexano y dióxido de carbono supercrítico.</i> .....	28
<i>Tabla 14. Principales componentes del aceite esencial extraído por EAM y DV de dos hierbas</i> .....	33
<i>Tabla 15. Contenido total de Fenoles (CTF), Contenido total de flavonoides (CTFA) y actividad antioxidante (AA) de MCE e I de Chenopodium ambrosioides</i> .....	34
<i>Tabla 16. Principales compuestos identificados por GC-MS en aceite esencial de esencia de rosa.</i> .....	35

<b>Tabla 17.</b> <i>Métodos para evaluar a actividad antioxidante</i> .....	37
<b>Tabla 18.</b> <i>Recopilación de estudios que presentan propiedades farmacológicas de metabolitos presentes en Borraja, Esencia de Rosa y Paico</i> .....	40
<b>Tabla 19.</b> <i>Resumen de porcentajes de extracción para aceites esenciales y otros compuestos presentes en tres plantas medicinales aplicando distintos métodos de recuperación convencionales y no convencionales.</i> .....	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>La diversidad de productos naturales y sus propiedades biológicas</i> .....	6
<b>Figura 2.</b> <i>El proceso tradicional de descubrimiento de drogas naturales</i> .....	7
<b>Figura 3.</b> <i>Organización de la información en MENDELEY</i> .....	20
<b>Figura 4.</b> <i>Borraja común</i> .....	24
<b>Figura 5.</b> <i>Planta Esencia de Rosa</i> .....	24
<b>Figura 6.</b> <i>Planta de Paico</i> .....	25
<b>Figura 7.</b> <i>Influencia de la presión en la extracción de aceite de semilla de borraja por dióxido de carbono líquido y supercrítico.</i> .....	27
<b>Figura 8.</b> <i>Rendimientos de extracción de esencia de rosa, obtenidos por métodos diferentes</i> .....	29
<b>Figura 9.</b> <i>Parámetros de optimización para el rendimiento de extracción en función a CO<sub>2</sub> consumido</i> .....	30
<b>Figura 10.</b> <i>Rendimiento de aislados (<math>mg\ gplanta^{-1}</math>), y concentración de componentes volátiles (% w/w) obtenido por fluidos supercríticos (EFS 1–5), maceración con metanol (ME), etanol (ET), acetona (AC) and hexano (HE) and hidrodestilación (HD).</i> .....	31
<b>Figura 11.</b> <i>Comparación de rendimientos de aceite esencial de albahaca y paico obtenidos de EAM y DV</i> .....	33

## RESUMEN

La necesidad de realizar estudios científicos sustentados sobre las actividades biológicas de los componentes bioactivos que poseen las plantas medicinales permitirá sin duda el avance de la ciencia en Ecuador, ya que muchas de estas plantas son usadas como alternativa a los medicamentos, pero no existe aún una caracterización completa de su potencial fitoquímico en el país.

Con base a esta problemática, y tomando en cuenta las etapas iniciales de reconocimiento de compuestos bioactivos de plantas medicinales, este estudio se basó en el análisis comparativo de literatura correspondiente a los métodos de extracción de metabolitos secundarios de Borraja (*Borago officinalis*), Esencia de Rosa (*Pelargonium graveolens*) y Paico (*Dysphania ambrosioides*) plantas nativas del Ecuador, que a nivel mundial han sido caracterizadas y usadas en industrias para el desarrollo de perfumes, cosméticos y en general productos que contienen sus compuestos bioactivos.

Esta revisión bibliográfica presenta resultados e información importante de investigaciones que comparan ciertas técnicas de extracción como: Hidrodestilación, Soxhlet, Ultrasonido, microondas y fluidos supercríticos. Además, se presentan tablas resumen de los compuestos bioactivos responsables de acciones farmacológicas y ensayos *In vivo* e *In vitro* que se han realizado con los extractos de Borraja, Esencia de Rosa y Paico. Para focalizar este trabajo, se han escogido en particular estudios que demuestren la acción antioxidante y antimicrobiana presente en los constituyentes de las plantas en estudio.

El análisis presentado en esta revisión tiene como objetivo convertirse en una herramienta de información explicativa para investigadores que deseen realizar extracciones de metabolitos secundarios en general con plantas medicinales.

**Palabras clave:** Investigación bibliográfica, metabolitos secundarios, plantas medicinales, farmacognosia, *Borago officinalis*, *Pelargonium graveolens*, *Dysphania ambrosioides*

## ABSTRACT

The need to carry out sustained scientific studies on the biological activities of the bioactive components of medicinal plants will undoubtedly allow the advancement of science in Ecuador, since many of these plants are used as an alternative to medicines, but there is still no complete characterization of their phytochemical potential in the country.

Based on this problem, and taking into account the initial stages of recognition of bioactive compounds of medicinal plants, this study was based on the comparative analysis of literature corresponding to the methods of extraction of secondary metabolites of Borage (*Borago officinalis*), Essence of Rose (*Pelargonium graveolens*) and Paico (*Dysphania ambrosioides*) plants native to Ecuador, which worldwide have been characterized and used in industries for the development of perfumes, cosmetics and in general products containing their bioactive compounds.

This bibliographic review presents results and important information of investigations that compare certain extraction techniques such as: Hydrodistillation, Soxhlet, Ultrasound, microwaves and supercritical fluids. In addition, summary tables of the bioactive compounds responsible for pharmacological actions and In vivo and In vitro assays that have been carried out with Borage, Rose Essence and Paico extracts are presented. In order to focus this work, we have chosen in particular studies that demonstrate the antioxidant and antimicrobial action present in the constituents of the plants under study.

The analysis presented in this review aims to become an explanatory information tool for researchers wishing to perform secondary metabolite extractions in general with medicinal plants.

**Key words:** *Bibliographic research, secondary metabolites, medicinal plants, pharmacognosy, Borago officinalis, Pelargonium graveolens, Dysphania ambrosioides.*

## CAPITULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Antecedentes investigativos

##### 1.1.1 Plantas medicinales

Las plantas medicinales han sido un pilar fundamental para el desarrollo de sociedades humanas. La aplicación y el conocimiento sobre este tipo de plantas para la preparación de medicinas funcionó gracias al sistema prueba y error de antiguas generaciones, quienes se encargaron de proporcionar un recurso médico en sus culturas (**Jamshidi-Kia, Lorigooini, & Amini-Khoei, 2018**). Por lo tanto, el estudio de plantas medicinales tiene un futuro prometedor, teniendo en cuenta que en el mundo existe medio millón de plantas que aún no han sido investigadas por sus actividades terapéuticas las cuales probablemente sean decisivas en estudios presentes y futuros (Dar, Shahnawaz, Qazi, & Qazi, 2017).

Aunque las plantas medicinales continúan siendo una fuente importante de nuevos descubrimientos terapéuticos, su validación científica sigue siendo inadecuada debido a la falta de material vegetal óptimo, elección y ejecución de bioensayos, disponibilidad de compuestos bioactivos en grandes cantidades, y finalmente su aprobación regulatoria y ensayos clínicos (**Khan Ahmad, Ahmad, & Chattopadhyay, 2019**).

##### 1.1.2 Estudios en farmacognosia

###### Fitoterapia

La fitoterapia es categorizada como ciencia, la cual se basa en evidencias y comprende la práctica de la medicina herbal. Está basada en el uso de medicamentos botánicos debidamente estandarizados y bien caracterizados, seleccionados con base a su fitoquímica y farmacología clínica con el fin de ser aplicada según la evidencia, prevención y el tratamiento de condiciones médicas de salud específicas (**Cañigueral & Vila, 2005**).

Con el pasar del tiempo la Fitoterapia se ha estudiado y usado en varios tratamientos interesantes como: tratamiento y prevención de cáncer (**Saz-Peiró & Tejero-Lainez, 2016**), Tratamientos de cicatrización de heridas (**Barreto & Salgueiro, 2018**), tratamiento de la diabetes, entre otros (**Ríos Cañavate, Francini, & Schinella, 2016**).

### **1.1.3 Características de las plantas en estudio**

Se han escogido 3 especies de plantas medicinales (*Borago officinalis*, *Pelargonium graveolens* y *Dysphania ambrosioides*) que tienen en común compuestos de interés farmacéutico, ya que poseen efectos antioxidantes y antibacterianos.

#### **Borraja**

**Familia:** Boraginaceae

**Género:** Borago

**Especie:** *Borago officinalis*

**Nombre común:** Borraja.

**Características y componentes:** Son hierbas anuales de unos 30-60 cm de altura, cubiertas de pelo duro y punzante. Tallo carnoso. Hojas acuminadas, con márgenes ondulados e irregularmente dentados, que se estrechan repentinamente en un tallo alado, con hojas de 4,5 hasta 10 cm de longitud. La inflorescencia suele extenderse ampliamente en forma de umbela. La borraja es una planta medicinal que se usa para tratar muchas enfermedades ya que contiene muchos componentes químicos que incluyen ácido rosmarínico, mucílagos, taninos, alcaloides, saponinas, ácido málico y ácido láctico (**Fawaz, Al-Zurfi, Nasser Almulla, & Hasan Al-Shakry, 2021**).

**Partes de interés:** La hoja de borraja parece ser una fuente importante de ácidos grasos esenciales, fosfolípidos, glicolípidos y compuestos volátiles de notas verdes para aplicaciones alimentarias, cosméticas, farmacéuticas y biomédicas (**Aidi Wannas, Mhamdi, Saidani Tounsi, & Marzouk, 2017**). Las semillas oleaginosas de borraja son conocidas mundialmente por su alto contenido (30 – 40 %) de ácido gamma linoleico (AGL), el cual se presenta principalmente como suplemento alimenticio o dietético. El



AGL también es usado en el tratamiento de enfermedades cardiacas, tratamiento de esclerosis múltiple, la diabetes, el cáncer y el síndrome premenstrual. **Las flores** de borraja y en general todas las partes de la planta contienen un 30 % de mucilagos, siendo la inflorescencia el lugar donde se encuentra gran cantidad de potasio (**Asadi-Samani, Bahmani, & Rafieian-Kopaei, 2014**).

**Metabolito de interés:** El aceite esencial de semilla de borraja según **Thacheril, Shiburaj, & Sabu, (2020)** es usado para mejorar las propiedades de la barrera de la piel debido a su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados como lo son el ácido linoleico y linolénico.

### **Esencia de rosa**

**Familia:** Geraniaceae

**Género:** Pelargonium.

**Especie:** *Pelargonium graveolens*

**Nombre común:** Esencia de rosa.

**Características y componentes:** Son arbustos perennes de unos aproximadamente 60 a 90 cm de altura con tallos pubescentes ramificados, cilíndricos y leñosos en su base. Sus hojas pecioladas poseen un olor intenso de rosas y sus flores son violáceas de unos 2 a 4 cm (**Hyde, Wursten, Ballings, & Coates, 2018**). Algunos estudios han demostrado que la esencia de rosa presenta quercetina (efecto antioxidante), kaempfenol (efecto antibacteriano) y miricetina (efecto antioxidante) (**Hamidpour, Hamidpour, Hamidpour, Marshall, & Hamidpour, 2017**).

**Partes de interés:** Las hojas y flores.

**Metabolito de interés:** La planta es cultivada por el amplio interés de su aceite esencial, el cual ha sido usado en aromaterapia, perfumería y en la creación de productos cosméticos. Además, este aceite ha sido usado por años como antihistamínico, antialérgico, antioxidante, antidiarreico diurético, tónico y antidiabético (**Boukhris, Simmonds, Sayadi, & Bouaziz, 2013**). Puede que estos efectos se den gracias a la

presencia de geraniol, isomentona, citronelol, linalol, alcohol feniletílico (olor a rosa) y p-mentntona (**van Wyk & Wink, 2017**).

## **Paico**

**Familia:** Amaranthaceae

**Género:** *Chenopodium* L.

**Especie:** *Dysphania ambrosioides*

**Nombres comunes:** Paico

**Características y componentes:** Son plantas anuales de hasta 180 cm de altura con tallos ramificados y erectos. Sus hojas distales y lanceoladas de 3 – 14 cm de largo son aromáticas con márgenes enteros, dentados o lacinados. Sus flores son diminutas en racimos sésiles a lo largo de las últimas ramas (**Hyde, Wursten, Ballings, & Coates Palgrave, 2020**). *D. ambrosioides* es rico en terpenoides y flavonoides que muestran importantes acciones farmacológicas como antiinflamatorio, cicatrizante, antielmíntico, antioxidante y antitumoral

**Partes utilizadas:** En varios estudios, se han usado generalmente las partes aéreas (tallo, hojas y flores) de *D. ambrosioides*. Por ejemplo en la medicina Serbia, se ha usado en infusión las partes aéreas secas como diurético y antiespasmódico (**Kokanova-Nedialkova, Nedialkov, & Nikolov, 2009**).

**Metabolito de interés:** El aceite chenopodium es el más cotizado en la industria y se obtiene de las partes aéreas de la planta de Paico. Este aceite está compuesto principalmente de ascaridole y es usado como antielmíntico, purgante y en algunos casos en tratamientos de malaria, histeria y otras enfermedades nerviosas (**Seth & Shah, 2010**).

### **1.1.4 Compuestos fitoquímicos**

#### **Principios activos**

El principio activo es el carácter esencial, la base de la planta o el aceite esencial. Caracteriza la sustancia siendo la parte bioactiva principal de los fármacos. Se pueden

clasificar en dos grupos: metabolitos primarios y secundarios. En el primer grupo están incluidos los glúcidos, lípidos y grasas, aminoácidos, etc. En el segundo grupo se ven incluidos los aceites esenciales, alcaloides, glicósidos, saponinas, taninos, vitaminas y otros bioactivos (**Isman, 2016**).

Los principios activos de las plantas medicinales pueden afectar de forma positiva o negativa la salud, pero no son nutrientes esenciales ya que nuestra dieta no los requiere para sustentar la vida de la misma manera que las vitaminas y los minerales (**A. Singh, 2008**).

#### a) Metabolitos secundarios y primarios

Sobre los principales metabolitos vegetales, tanto primarios como secundarios, se adaptan de los trabajos de (**Alamgir, 2017**), (**Olivoto et al., 2017**) y (**Nabavi & Silva, 2019**) en una tabla los compuestos de cada grupo.

*Tabla 1. Principales metabolitos vegetales*

Metabolitos	Compuesto
<b>Primarios</b>	Glúcidos, Lípidos y grasas, aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, Compuestos nitrogenados
<b>Secundarios</b>	Alcaloides, terpenoides, flavonoides, aceites esenciales, ligninas, esteroides, cumarinas, Glicósidos, entre otros

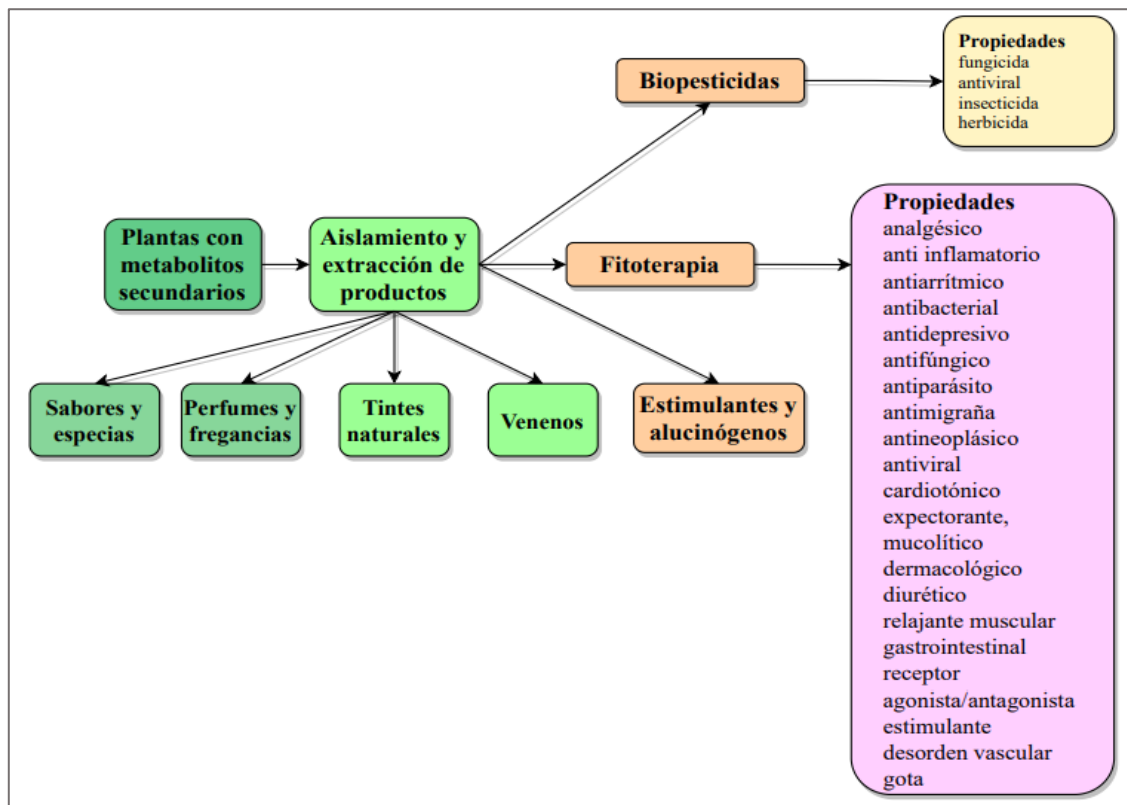
**Elaborado por:** Apolo Luis

#### b) Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios (MS) son conocidos como compuestos biactivos que pueden provocar un efecto farmacológico o toxicológico más allá de los efectos fisiológicos de los metabolitos primarios. Los MS pueden ser producidos por plantas y generalmente son usados como aditivo principal en fitomedicinas (**Nabavi & Silva, 2019**). En la Fig 1. Se puede visualizar y entender los distintos usos que se les atribuye una vez son extraídos y aislados de las plantas medicinales.

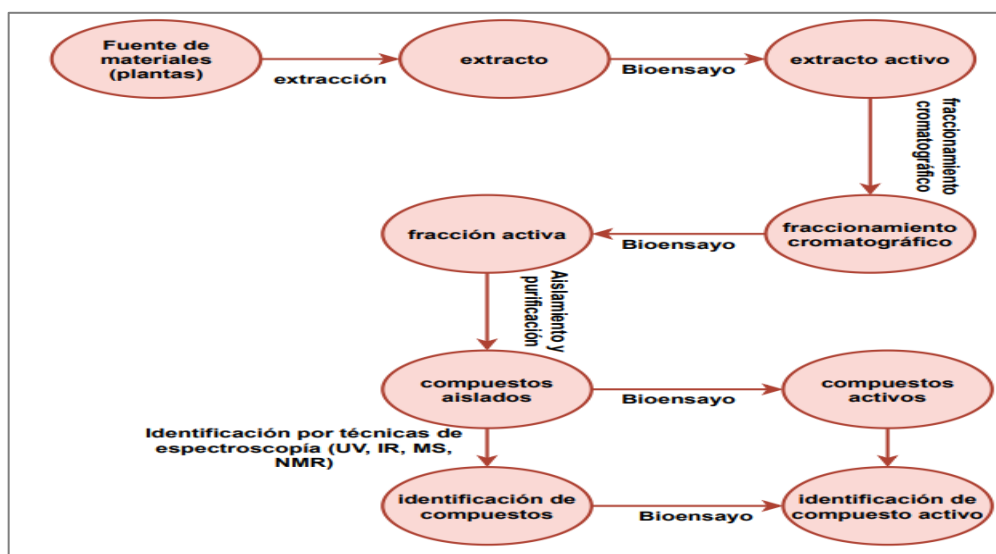
Para ser eficaz como agente terapéutico, un metabolito secundario debe interferir con un órgano, tejido, célula y, en última instancia, con un objetivo molecular en el cuerpo humano (van Wyk & Wink, 2017).

Con respecto a los metabolitos secundarios de las plantas, según Olivoto et al., (2017), se sabe que estos compuestos tienen funciones importantes, pero no vitales para los organismos vegetales. Los MS de plantas cumplen funciones como protectores contra parásitos (hongos, insectos, bacterias), características atractivas (color, olor, sabor) para polinizadores y dispersores de semillas, así como actuando como sujetos en la competencia planta-planta y simbiosis planta-microorganismo.



**Figura 1.** La diversidad de productos naturales y sus propiedades biológicas  
**Fuente:** (van Wyk & Wink, 2017)

Es entonces que el proceso de identificación de los MS como componentes activos tradicionalmente se ha realizado de la siguiente manera:



**Figura 2.** El proceso tradicional de descubrimiento de drogas naturales

**Fuente:** (Jamshidi-Kia et al., 2018)

### c) Metabolitos secundarios aislados de las plantas en estudio

**Tabla 2.** Metabolitos secundarios aislados de las plantas en estudio

Especies	Familia	Metabolitos secundarios aislados	Referencias
<i>Borago officinalis</i>	Boraginaceae	Alantoina, ácido rosmárico, ácido esteárico, $\gamma$ -linolenic acid, ácido palmítico, acetato de etilo, linalol.	(Karimi, Oskoueian, Karimi, Noura, & Ebrahimi, 2018); (Tewari, Bawari, Patni, & Sah, 2018); (Zribi, Bleton, Moussa, & Abderrabba, 2019)
<i>Pelargonium graveolens</i>	Geraniaceae	Geraniol, L-citronellol, linalol, mentona, isomentona, formiato de citronelilo, 6-octen-1-ol, 3,7-dimetil, formiato, selineno geranio, kaempferol-3-O-ramnosido-glucósido.	(Boukhris et al., 2013); (Kujur, Kumar, Yadav, & Prakash, 2020); (B. Singh & Sharma, 2020)
<i>Dysphania ambrosioides</i> ( <i>Chenopodium ambrosioides</i> )	Amaranthaceae	Ascaridole, p-cimeno, $\alpha$ -perpineno, estigmasterol, $\beta$ -sitosterol y ácido octadecanoico de acetato de etilo, escopoletina de diclorometano y 1-piperoilpiperidina, carvacol	(Seth & Shah, 2010); (Shah & Khan, 2017); (Reyes-Becerril, Angulo, Sanchez, Vázquez-Martínez, & López, 2019)

**Elaborado por:** Apolo Luis

### 1.1.5 Métodos de obtención de metabolitos secundarios de plantas

Aunque se dispone de varios métodos de extracción, la selección del método apropiado depende de la química de la molécula objetivo, la naturaleza y la consistencia del material vegetal procesado. Los parámetros como acidez, alcalinidad, tamaño molecular, peso, polaridad y afinidad se controlan durante la separación de fitoquímicos o cualquier otra molécula (**Thacheril et al., 2020**).

Las investigaciones en la actualidad continúan y los científicos según **Thacheril et al., (2020)** han informado que existen enfoques novedosos como el procesamiento a alta presión que ayudarían a reducir el uso a gran escala de disolventes orgánicos para la extracción convencional de componentes bioactivos de plantas.

*Tabla 3. Tipos de disolventes usados para la extracción convencional de componentes activos*

<b>Tipo de disolvente</b>	<b>Compuesto bioactivo</b>
Acetona	Flavonoides
Cloroformo	Terpenoides, flavonoides
Diclorometano	Terpenoides
Etanol	Taninos, polifenoles, flavonoides, terpenoides, alcaloides
Éter	Alcaloides, terpenoides
Metanol	Antocianinas, terpenoides, saponinas, taninos, flavonas, polifenoles
Agua	Antocianinas, taninos, saponinas, terpenoides

**Fuente:** (Goyal, Hafiz, & Joy, 2019)

Los métodos de extracción de metabolitos secundarios pueden dividirse en dos grupos, en convencionales y no convencionales.

Tabla 4. Métodos de extracción convencionales de metabolitos secundarios de plantas

<b>Método</b>	<b>Descripción</b>	<b>Referencias bibliográficas</b>
Maceración (MC)	<p>La maceración se lleva a cabo sumergiendo el material vegetal en un disolvente orgánico en un recipiente cerrado generalmente a temperatura ambiente durante un período de tiempo especificado (horas o días).</p> <p>La eficiencia de la maceración está vinculada a la materia prima natural, el líquido o mezclas de líquidos extractores y las condiciones del sistema en conjunto.</p>	(Oliveira, Schenkel, Mello, Mentz, & Petrovick, 2019); (Goyal et al., 2019)
Percolación (PR)	<p>La percolación en general es usada para separar esencias que se usan para tinturas y extractos fluidos. Consiste en separar extractos de la materia prima por un cierto tiempo en un percolador con ayuda de un disolvente.</p> <p>Si no se distribuye uniformemente la materia prima el solvente no podrá alcanzar todas las áreas, lo cual conducirá a una extracción incompleta. Es entonces que para estos procesos se usa una gran cantidad de solvente y se consumé mucho tiempo.</p>	(Seth & Shah, 2010); (Goyal et al., 2019)
Infusión (I)	<p>La extracción se da mediante el contacto directo entre el agua en ebullición y el material vegetal. El proceso es similar al de maceración con la diferencia de que en la infusión la temperatura es adaptable y elevada.</p> <p>Es un proceso simple que no necesariamente busca el uso de material especial o cristalería.</p> <p>Considerando estas características, este método extractivo no tiene la capacidad de agotar la materia prima en relación con los metabolitos de interés</p>	(Oliveira et al., 2019); (Goyal et al., 2019)
Extracción Soxhlet (ES)	<p>Como su nombre lo indica, en esta operación se usa un extractor Soxhlet, donde un disolvente se lleva a un estado gaseoso y posteriormente a un condensador donde se convierte en líquido y devuelve así el “fármaco” para su extracción continua.</p> <p>La extracción Soxhlet es uno de los procedimientos estándar para relacionar el éxito de las metodologías de extracción avanzadas.</p>	(Goyal et al., 2019); (Seth & Shah, 2010)

**Tabla 5. Métodos de extracción no convencionales de metabolitos secundarios de plantas**

Método	Descripción	Referencias bibliográficas
Hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida por microondas (HAM)	<p>El material vegetal se introduce en un matraz o dispositivo con agua, y se calienta. Los componentes volátiles son arrastrados con el vapor de agua hasta que alcanzan un condensador, donde la mezcla vuelve a su estado líquido. En este método, existe un contacto directo entre el agua hirviendo y la materia prima vegetal, lo que favorece los procesos hidrolíticos y otros eventos indeseables de los procesos de destilación.</p> <p>La hidrodestilación asistida por microondas reduce significativamente el tiempo de extracción. A escala de laboratorio, se utiliza el aparato Clevenger.</p>	(Oliveira et al., 2019)
Extracción con fluidos supercríticos (EFS)	<p>Se usa presión en combinación con dióxido de carbono con el fin de destruir microorganismos sin causar efectos en las propiedades de los compuestos bioactivos. El <math>CO_2</math> a presiones de <math>740 \times 10^2</math> kPa y una T de 37 °C se convierte en un fluido disolvente que, cuando se difunde en la matriz normalmente sólida, también puede ser líquido y así extrae los componentes de interés, como en el descafeinado o en la obtención de aceites volátiles.</p> <p>La principal ventaja de utilizar <math>CO_2</math> supercrítico para la extracción es su capacidad para evaporarse completamente para dar productos que están libres de residuos de disolventes.</p>	(Ahmad, Masoodi, A. Rather, Wani, & Gull, 2019), (Oliveira et al., 2019)
Extracción asistida por Ultrasonido (EAU)	<p>La extracción ultrasónica utiliza la alta potencia que produce la cavitación acústica que conduce a la degradación celular y tisular, lo que permite el contacto inmediato de los componentes con el disolvente.</p> <p>El proceso posee varias ventajas como son: alta efectividad de la extracción, reducción del consumo de energía y solvente, menor probabilidad de degradación de sustancias termoestables, y produce una pureza significativamente alta del producto final.</p>	(Goyal et al., 2019); (Oliveira et al., 2019)
Extracción asistida por microondas (EAM)	<p>Consiste en la extracción sólido-líquido con ayuda de microondas [300 MHz (100 cm) a 300 GHz (0,1 cm)], que calientan simultáneamente la matriz natural y el disolvente.</p> <p>Además de reducir la cantidad de uso de disolvente, el tiempo de extracción, los costes y el impacto ambiental. Los compuestos extraídos con microondas exhiben mejores propiedades funcionales y antioxidantes.</p>	(Goyal et al., 2019); (Oliveira et al., 2019)



### 1.1.6 Identificación de metabolitos

Dentro de un organismo, los metabolitos representan una amplia gama de polaridades y cantidades, y algunos son muy lábiles. Por lo tanto, el objetivo de analizar todos estos compuestos tanto cualitativa como cuantitativamente en una sola operación no es realista y no se puede lograr con ningún método analítico único, ya que cada método tiene limitaciones específicas (Kayser & Quax, 2007).

**Tabla 6.** Descripción de los métodos de cromatografía usados para la identificación de metabolitos.

Métodos	Metabolitos objetivos	Preparación de la muestra	Reproducibilidad	Resolución	Detector
TLC	General	Simple	Baja	baja	UV, MS, reactivos de color
GC	No polares (bajo peso molecular)	Elaboración de derivatización	Media	Alta	FID, TCD, NPD, MS
HPLC	Polar (cromóforo)	Elaborado	Media	Media	UV, RI, MS, ELSD, fluorescencia, NMR
CE	Iónico	-	Media	Alta	UV, MS

*TLC: cromatografía de capa fina; GC: Cromatografía de gases; HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución; CE: Electroforesis capilar; UV: luz ultravioleta; FID: Detector de ionización de llama; TDC: detector de conductividad térmica; NPD: detector nitrógeno/fósforo; MS: espectrómetro de gases; RI: índice de refracción; ELSD: detector de luz por evaporación; NMR: resonancia magnética nuclear.*

**Fuente:** (Kayser & Quax, 2007)

### 1.1.7 Efectos antioxidantes y antibacterianos de metabolitos secundarios

Los antioxidantes son compuestos que sirven a los humanos para combatir enfermedades degenerativas, ya que son los responsables de la eliminación de radicales libres (Maldonado-Garcia et al., 2019).

Por otra parte, los compuestos antibacterianos son aquellos que retardan o inhiben el crecimiento de microorganismos, haciendo perdurar los alimentos (**Ben ElHadj Ali et al., 2020**).

*Tabla 7. Metabolitos secundarios de las plantas en estudio y sus efectos*

<b>Especies</b>	<b>Familia</b>	<b>Metabolitos secundarios con efectos antioxidantes y antibacterianos</b>	<b>Referencias</b>
<i>Borago officinalis</i>	Boraginaceae	<b>CA:</b> Compuestos fenólicos, flavonoides, isoflavonoides y ácidos grasos <b>CB:</b> Compuestos fenólicos, flavonoides e isoflavonoides	(Karimi, Oskoueian, Karimi, Noura, & Ebrahimi, 2018)
<i>Pelargonium graveolens</i>	Geraniaceae	<b>CA:</b> Polifenoles, flavonoides, flavonoles o taninos condensados <b>CB:</b> Ácidos grasos	(Ben ElHadj Ali et al., 2020)
<i>Dysphania ambrosioides</i> ( <i>Chenopodium ambrosioides</i> )	Amaranthaceae	<b>CA:</b> Polifenoles y flavonoides Además, posee una capacidad antihelmíntica.	(Maldonado-Garcia et al., 2019)

*Nota:* CA. capacidad antioxidante, CB. Capacidad antibacteriana

### 1.1.8 Estudio de caso

Las plantas medicinales poseen una gran variedad de compuestos bioactivos que actúan en beneficio de la salud humana. Algunos fitoquímicos de las plantas poseen capacidades antioxidantes y antibacterianas que han aportado positivamente para contrarrestar simples y complejas alteraciones de salud humanas. Es así que las plantas han sido identificadas como fuentes importantes de fitofármacos (**Altemimi, Lakhssassi, Baharlouei, Watson, & Lightfoot, 2017**).

La etapa de extracción, es primordial en el procesamiento de fitoquímicos ya que es aquí donde se identifican los constituyentes bioactivos del material vegetal. Es así, que la adecuada elección del método de extracción también ayuda a la estandarización de productos herbales, ya sea removiendo compuestos con ayuda de solventes o atrapando

constituyentes solubles deseables. Además, la selección de la técnica adecuada de extracción ayudaría a la experimentación y optimización que permitiría ir escalando los procesos y salir del laboratorio a una escala piloto (**Dhanani, Shah, Gajbhiye, & Kumar, 2017**).

Los estudios sobre la extracción y aplicación de compuestos bioactivos de plantas medicinales se han realizado en varios países incluyendo Ecuador, pero en este último aún no se tiene una categorización sistemática de compuestos bioactivos de un gran número de plantas debido a que los estudios en Fito-medicina que pueden conducir a un desarrollo sustentable aún son escasos (**L Graf, 2016**).

Metabolitos secundarios como los aceites esenciales, son compuestos bioactivos formados por una mezcla de hidrocarburos, terpenos y compuestos oxigenados (**Dar et al., 2017**). Estos compuestos son de gran importancia industrial por su actividad **antimicrobiana, antioxidante**, antiinflamatoria y anticancerígena. Los aceites esenciales son producidos por tricomas glandulares y otras estructuras secretoras que se difunden en la superficie de las plantas (**Sharifi-Rad et al., 2017**).

Por ejemplo, (**Stashenko, Jaramillo, & Martínez, 2004**), emplearon técnicas de extracción como: Hidrodestilación (HD), Hidrodestilación asistida por microondas (HAM), extracción simultánea con disolventes de destilación (ESSD) y extracción con fluidos supercríticos (EFS) para poder compararlos y obtener de manera óptima el aceite esencial de *Lippia alba* que es un arbusto de unos 0,8 m de altura que pertenece a la familia Verbenaceae y que ha sido usado en medicina tradicional para controlar dolores estomacales, calambres y cólicos (**De la Torre, Navarrete, Muriel, Macía, & Balslev, 2008**).

Este estudio reveló que las técnicas de HD e HDAM mostraron aceites volátiles similares al ESSD, pero la EFS presentó extractos aislados con mayor cantidad de sesquiterpenoides e hidrocarburos más pesados. El rendimiento del número de componentes encontrados usando HD e HAM fue de un 0,70 y 0,69 % respectivamente, demostrando que la irradiación con microondas aceleró el proceso de extracción, pero no produjo cambios considerables en la composición de aceites esenciales volátiles.

**Tabla 8.** *Parámetros experimentales usados para extracción y análisis de cromatografía de gases de Lippia alba. Fracciones marrones volátiles.*

Técnicas de extracción	Parámetros	
	Material vegetal (g)	Tiempo de extracción (min)
HD	100	120
HAM	100	30
ESSD	10	120
EFS	10	120

**Fuente:** (Stashenko et al., 2004)

Analizando la tabla 8, se puede decir que de cierta manera las técnicas varían en tiempo de extracción, pero pueden o no afectar al porcentaje de rendimiento de obtención de algún compuesto (Stashenko et al., 2004).

En otro estudio con *Iberis amara*, una planta medicinal de Europa del sur que se ha usado tradicionalmente en el tratamiento de enfermedades intestinales (Groop, 2016; Liu, Ou, Xiang, & Gregersen, 2019), que ha sido investigada por sus efectos farmacológicos como son: anticancerígeno (Weidner et al., 2016), antiinflamatorio (Khayyal, Agha, Zaki, El-Sahar, & Abdel-Aziz, 2015) y antioxidante (Golkar & Moattar, 2019). Se realizó una comparación de técnicas extractivas de su aceite esencial (AE) aplicando un método nuevo propuesto por (Liu, Ou, Xiang, & Gregersen, 2019), como hidrodestilación asistida por ultrasonidos (HAU) con métodos como HD y destilación al vapor (DV).

La tabla 9 complementa esta revisión bibliográfica presentando en resumen un ejemplo posible de comparación de métodos y sus respectivos ensayos para actividad antioxidante, antiinflamatoria y antibacterial, aplicable para cualquier tipo de planta medicinal. Usando este modelo de comparaciones se puede dictaminar un protocolo para poder ir mejorando la calidad de los compuestos bioactivos deseados. En el caso estudiado para la tabla 10 se evidencia que la eficiencia de extracción se dio cuando se usó la hidrodestilación asistida por ultrasonido en comparación con los otros métodos, sin embargo, la actividad antibacterial fue la misma independientemente de la técnica de extracción usada.

**Tabla 9.** Actividades antioxidantes, antiinflamatorias, citotóxicas y antibacterianas de los AE de semillas de *Iberis amara* obtenidas con HDAU, HD y DV.

Bioactividad		Muestras de AE			Control positivo
		HAU	HD	DV	
Actividad antioxidante ( $SC_{50}$ mg/mL)	DPPH	4,97±0,06	5,88b±0,11	5,58b±0,05	0,06±0,01
Actividad antiinflamatoria ( $IC_{50}$ µg/mL)	Uso de macrófagos	32,12±0,29	26,58±0,33	28,37±0,21	11,71±0,35
Actividad antibacteriana (CMI/MBC, µg/mL)	<i>E. coli</i>	31,2/125	31,2/125	31,2/125	31,2/125
	<i>S. enteritidis</i>	62,5/125	62,5/125	62,5/125	62,5/125

**Nota:** Para los controles positivos se usó: Vitamina C para la actividad antioxidante; Aspirina para la actividad antiinflamatoria; ofloxacina para la actividad antibacteriana;  $SC_{50}$  concentración de eliminación del 50 %;  $IC_{50}$  valores de concentración inhibidora del 50 %; CMI concentración mínima inhibitoria; CMB concentración mínima bactericida.

**Fuente:** (Liu, Ou, Xiang, & Gregersen, 2019)

Por otra parte, los polifenoles, importantes compuestos bioactivos en Fito-medicina, presentan propiedades antioxidantes que han sido aplicadas en algunas investigaciones sobre, reducción de cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes y Alzheimer (Segovia, Lupo, Peiró, Gordon, & Almajano, 2014).

La extracción de polifenoles provenientes de plantas, durante años ha permitido comparar métodos que seguramente han dado a investigadores la alternativa de escoger la técnica más adecuada, eficiente y económica para trabajar en la extracción. Es así que, (Nayak et al., 2015) realizaron una comparación entre técnicas de extracción asistida por microondas (EAM), extracción asistida por ultrasonido (EAU), extracción acelerada con disolventes (EAS) y extracción convencional con disolventes (ECS), con el objetivo de extraer polifenoles existentes en la piel de *Citrus sinensis* y evaluar su capacidad antioxidante aplicando la técnica basada en la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) y el ensayo de la capacidad de absorbancia del radical de Oxígeno

(ORAC). Además, se presentó la recuperación del total de compuestos fenólicos (TPC) para hacer una comparación completa de los métodos.

Al realizar la comparación de los métodos, en la tabla 10 se pudo observar que la recuperación del total de compuesto fenólicos (TPC) fue más alta con la EAM. También la captación de radicales de DPPH con esta misma técnica fue significativamente mayor, donde se observa que el  $IC_{50}$ , fue más bajo que los otros métodos. Así mismo, el análisis ORAC mostro que EAM fue el más significativo La explicación a estos resultados puede deberse al tratamiento con microondas que conlleva el aumento brusco de presión interna y temperatura.

**Tabla 10.** Comparación de la actividad antioxidante de TPC de *Citrus sinensis* (usando el ensayo de captación de radicales DPPH y valores ORAC).

Métodos de extracción	CFT (mg EAG $g^{-1}$ DW)	DPPH ( $IC_{50}$ , mL de extracto $L^{-1}$ )	ORAC of extract ( $\mu\text{mol/L TE } g^{-1}$ )
EAM	12,09 $\pm$ 0,06	337,162 $\pm$ 8,45	482,27 $\pm$ 57,43
EAU	10,35 $\pm$ 0,04	433,084 $\pm$ 7,62	456,94 $\pm$ 35,09
EAS	6,26 $\pm$ 0,23	450,443 $\pm$ 9,49	337,97 $\pm$ 23,15
ECS	10,21 $\pm$ 0,01	358,456 $\pm$ 5,15	523,04 $\pm$ 48,16

*CFT*: compuestos fenólicos totales; *EAG*: equivalente de ácido gálico; *DW*: Peso en seco; *TE*: Equivalente trolox (compuesto antioxidante de referencia);  $IC_{50}$  concentración efectiva requerida de la muestra para eliminar el radical DPPH en un 50 %.

**Fuente:** (Nayak et al., 2015)

Esta misma comparación puede realizarse con los métodos de extracción de compuestos que están presentes en las plantas de Borraja, Esencia de Rosa y el Paico. En la tabla 7, ya se realizó una búsqueda exhaustiva de algunos compuestos con actividad antioxidante y antimicrobiana, con esto se puede observar que las tres especies vegetales presentan polifenoles y flavonoides en sus estructuras. Es por eso que se realiza esta búsqueda bibliográfica de procedimientos que involucran los ejemplares estudiados.

## 1.2 OBJETIVOS

### Objetivo General

- Analizar y comparar los métodos para la extracción de metabolitos secundarios producidos por tres especies de plantas medicinales nativas del Ecuador.

### Objetivos específicos

- Recolectar datos cualitativos sobre los compuestos presentes en Borraja (*Borago officinalis*), Esencia de rosa (*Pelargonium graveolens*) y Paico (*Dysphania ambrosioides*) teniendo en cuenta tamizajes fitoquímicos.
- Detallar los metabolitos secundarios más representativos en farmacognosia que se encuentran en las especies de plantas en estudio.
- Identificar el método convencional o no convencional de mayor eficiencia en la obtención de metabolitos secundarios destinados a la producción de fitofármacos.
- Sugerir la posible aplicación fitoterapeuta de los metabolitos secundarios que posean una actividad antioxidante y antimicrobiana de las plantas en estudio.

## **CAPITULO II**

### **METODOLOGÍA**

#### **2.1 Definición del problema**

La investigación que se llevará a cabo trata de responder a las interrogantes: ¿Cuánto se sabe del tema en el país?, ¿Dónde se encuentra la mayor parte de información?, ¿De qué manera aporta la investigación? Estas preguntas forman la base y estructura de la presente revisión bibliográfica, la cual se define como descriptiva y exploratoria.

#### **2.2 Búsqueda de la información**

Para la elaboración de este trabajo de investigación se aplicará una revisión bibliográfica de literatura científica basada en artículos, libros y revistas debidamente organizadas y analizadas. Las bases de datos como: Elsevier, National library of medicine, Pub Med, Scopus, Google Scholar, entre otras, serán usadas para la búsqueda sistemática de información con palabras clave en varios idiomas en su mayoría inglés y en español como: plantas medicinales/medicinal plants Fitoterapia/Phytotherapy, metabolitos/metabolites, extracción/extraction antioxidante/antioxidant. Para esto se delimitó la búsqueda a las publicaciones de los últimos 5 años (2016 y 2021) en un 80 % y un 20 % a publicaciones de años anteriores.

#### **2.3 Diseño de la investigación**

La revisión bibliográfica que se pretende realizar, trata de explicar y resumir los temas de interés que se encuentran en libros, artículos científicos y revistas. Siendo un pilar fundamental la descripción de los conceptos y procedimientos con respecto a la obtención de metabolitos secundarios provenientes de plantas medicinales, por lo cual cada documento será analizado y clasificado según su importancia y estatus mundial actual.

Se han encontrado alrededor de 150 documentos, cada resumen de las investigaciones ha sido debidamente revisado, aprovechado o descartado, dando como



resultado una cantidad de 29 documentos que mantienen los lineamientos de una investigación con referencias bibliográficas fidedignas que seguramente a futuro servirán como guía a otros científicos para sus investigaciones relacionadas con metabolitos secundarios. Además, estos documentos debidamente seleccionados han servido para elaborar el estado del arte en cuestión y la presentación de resultados y discusión.

El planteamiento de los objetivos, definiciones, conclusiones, recomendaciones y el desarrollo del tema en cuestión, se logrará con el profundo análisis de los documentos científicos que ayudarán a evidenciar y orientar resultados.

## **2.4 Localización**

La información se ha recabado en distintos documentos de varias partes del mundo, debido a que las plantas en estudio han sido introducidas en nuestro país en la época de la colonia. Los estudios principales de la obtención de metabolitos secundarios en especies de plantas se han realizado en la India, China, Estados Unidos y Reino Unido. Siendo Ecuador una fuente secundaria de información para este fin, ya que no se encuentra con facilidad un compendio o base de datos nacional en donde se pueda localizar esta información.

## **2.5 Organización de la información**

Para la organización de información se usará el programa informático MENDELEY en donde automáticamente los documentos son organizados según el autor, el tema, el año de publicación y la fecha de adición a la base de datos local. En la figura 3 se observa un pantallazo de como el programa organiza la información.

En este programa los documentos son almacenados en la base de datos local o se pueden receptor directamente desde fuentes de internet. Además, posee una configuración automática de referencias bibliográficas en varias normas internacionales, lo cual hace más fácil y óptima la redacción. Por otra parte, la navegación en el programa es sencilla, ya que posee pocas opciones en su barra de herramientas que hacen acciones rápidas.

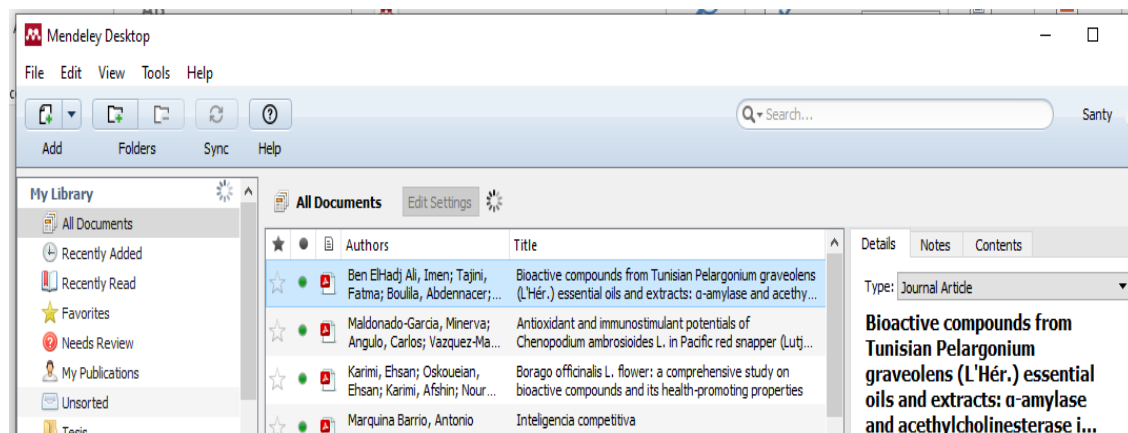


Figura 3. Organización de la información en MENDELEY

## 2.6 Análisis de la información

Se plantea un punto de partida que son las plantas medicinales y la situación de obtención de metabolitos secundarios en el Ecuador, permitiendo con esto una actualización y posibles aplicaciones de los temas referentes.

La objetividad de esta revisión bibliográfica se enfoca en recolectar los documentos principales que contengan palabras claves, aparición frecuente de palabras en el texto, similitudes en temáticas e importancia bibliográfica. Siendo esta última, razón para identificar la frecuencia en la que los documentos escogidos han sido citados por otros autores.

## 2.7 Materiales

Laptop

Internet

Bases de datos

Libros

## 2.8 Métodos

El uso de bases de datos en internet da por hecho que la información adquirida es un contenido universal por lo que se ha propuesto una metodología que consta de cuatro fases: selección, extracción, análisis y redacción.

**La selección** de la información en primer lugar se dará con la búsqueda de artículos, libros, revistas, etc., publicados en fuentes primarias que contengan palabras clave referentes al tema. Para esto se usan las distintas bases de datos disponibles en internet, las cuales usan un algoritmo de búsqueda que relaciona las palabras con las investigaciones que se han realizado sobre el tema de interés, lo cual es apropiado para obtener información en el campo científico (**Marquina Barrio, 2003**). La velocidad de búsqueda para el tema “Obtención de metabolitos secundarios presentes en plantas” está datada entre 0,06 segundos, presentando alrededor de 22 900 resultados.

En segunda instancia la búsqueda se efectuará en varios idiomas, con el fin de obtener mayor cantidad de información y así poder contrastar investigaciones. Esto dará paso a la elección de los documentos principales, tomando en cuenta algunos criterios como inclusión y exclusión.

**Criterios de inclusión y exclusión:** En la búsqueda de literatura sobre la obtención de metabolitos secundarios, se incluyó todo tipo de documentos aportados por asociaciones, sociedades y revistas que hacían recomendaciones sobre el tema. Respecto al criterio de inclusión se adaptaron algunos temas relacionados con la extracción e identificación de metabolitos secundarios en general de plantas medicinales. Para el criterio de exclusión se considerará que los artículos se rijan específicamente al ensayo con plantas medicinales.

Para la **extracción de datos** se procede a la localización de los documentos obtenidos y se realiza una breve lectura de los abstracts con el fin de decidir si la información será útil para alcanzar los objetivos.

**El análisis** se efectuará después de la localización de documento el análisis de 4 subapartados: uno dedicado al análisis de las características de las plantas en estudio, otro

a la extracción de metabolitos secundarios, otro a la identificación de metabolitos secundarios y el último en la aplicación de los componentes bioactivos en fitomedicina.

Puntos como la cronología y **la redacción** se toman en cuenta durante todo el proceso de la revisión, lo que dará como resultado un documento escrito cuidadosamente que mantendrá el interés científico y será realizado en un lapso de tiempo prudente para proporcionar confiabilidad. El punto de partida para la cronología se plantea dentro de los últimos cinco años, permitiendo así una exposición de términos y conceptos actualizados y debidamente ensayados.

La redacción se basa en la estructura que propone la 6ta Edición de la Asociación Psicológica Americana (APA), donde se toman en cuenta la estructura del documento, la escritura, la creación de tablas y la forma de insertar referencias bibliográficas. Estos puntos permitirán que la revisión sea comprensible para todos quienes la usen como material de investigación.

## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Resultados de búsqueda.

En total se identificaron 150 documentos entre libros, artículos y revisiones (Pub Med 30, Scopus 40, Google Scholar 50 y 30 documentos de otras bases de datos como NCBI y PubChem) de estos 121 fueron excluidos de la selección de los resúmenes, porque no reportaban específicamente métodos de extracción de metabolitos secundarios ni contenían información sobre compuestos antioxidantes o antibacterianos. De estos 29 artículos fueron elegidos para análisis de bibliografía y elaboración del capítulo de resultados y discusión, ya que cumplían con los criterios de inclusión. Además, se incluyeron 3 libros que proporcionaron definiciones y algunos procedimientos sobre extracción de metabolitos.

#### 3.2 Características y descripción de estudios

##### 3.2.1 Plantas medicinales como materia prima

Los efectos terapéuticos de las plantas medicinales dependen de los metabolitos secundarios que para usarlos en beneficio para humanos primero hay que obtenerlos, lo cual no es una tarea sencilla, ya que existen muchos factores que afectan su disponibilidad, por ejemplo las fluctuaciones estacionales (**Soni, Brar, & Gauttam, 2015**), desarrollo interno de circuitos genéticos (regulación de genes, enzimas) y otros factores externos (luz, temperatura, agua, salinidad, etc) (Y. Li, Kong, Fu, Sussman, & Wu, 2020).

Los constituyentes de la Borraja (*Borago officinalis*), específicamente de sus partes áreas (Hojas, flores, tallo) según (**Naghdi Badi et al., 2011**), no varían significativamente en las diferentes etapas de crecimiento de la planta y conservan su potencial farmacológico, aunque los rendimientos más altos de metabolitos secundarios se encontraron en la etapa de floración. Esto puede deberse a la vitalidad en la que se encuentra la planta.



**Figura 4.** *Borraja común*

**Fuente:** (Prilfish, 2012)

La esencia de rosa (*Pelargonium graveolens*), es cotizada por la importancia de su aceite esencial en perfumería, cosmética y actividad terapéutica. Por lo general es cosechada a los cuatro o seis meses de ser plantada. Esta especie es sensible a la exposición de frío, por lo que no crece bien en invierno y la producción de sus metabolitos secundarios se ve afectada si existe estrés hídrico. La mejor calidad de aceite esencial se presenta cuando sus hojas son jóvenes y presentan un olor fuerte a rosa (Khetsha & State, 2013).



**Figura 5.** *Planta Esencia de Rosa*

**Fuente:** (El Ouadi et al., 2017)

En el caso del Paico (*Chenopodium ambrosioides*), también depende de la época del año y la ubicación geográfica en la que es recolectada, ya que se ha evidenciado que la composición de sus metabolitos secundarios se ve alterada por estos factores (Sá, Alberto, Soares, & Randau, 2015). Para los investigadores la composición del aceite esencial

depende mucho del uso que se le vaya a dar, por eso es importante conocer en que etapas de desarrollo de la planta se presenta en mayor cantidad el compuesto de interés.



**Figura 6.** *Planta de Paico*

**Fuente:** (Sánchez, 2015)

### 3.2.2 Factores a tener en cuenta al elegir el disolvente para la extracción

(Abubakar & Haque, 2020), hicieron una recopilación de una lista de factores claves para elegir un disolvente de extracción. A continuación, se presenta una tabla que contiene el resumen.

**Tabla 11.** *Factores que se toman en cuenta para la elección de un disolvente para la extracción*

<b>Factor</b>	<b>Descripción</b>
Selectividad	Se analiza la capacidad que posee un solvente para extraer un compuesto activo.
Seguridad	Un disolvente ideal debería ser no tóxico y no inflamable
Costo	Debe adaptarse lo más económicamente posible al proceso. Debe ser barato
Reactividad	El disolvente usado no debería reaccionar con los componentes de la planta
Recuperación	El disolvente debe poder ser recuperado sin problemas y rápidamente del extracto
Viscosidad	La viscosidad debe ser adecuada para que haya una penetración factible.
Temperatura de ebullición	La temperatura de ebullición del disolvente debe ser significativamente baja para que no haya problemas de degradación por calor.

**Fuente:** (Amita Pandey & Tripathi, 2014); (Das, Tiwari, & Shrivastava, 2010)

### 3.2.3 Factores a tener en cuenta al elegir un método de extracción

*Tabla 12. Factores que se toman en cuenta para la elección del método de extracción*

<b>Factor</b>	<b>Descripción</b>
Estabilidad al calor	El material vegetal que es resistente al calor, se puede someter por ejemplo a métodos como Soxhlet o extracción asistida por microondas, mientras que el material vegetal que es sensible al calor se puede extraer por maceración o percolación.
Naturaleza del disolvente	El método a escoger también depende de las características que posee el disolvente. (Punto de ebullición, viscosidad, etc.)
Costo de la sustancia activa	Si la sustancia activa es barata, se pueden usar métodos como maceración o infusión, sin embargo, si el fármaco es costoso se usan técnicas más refinadas.
Duración de la extracción	Se toma en cuenta el tiempo de exposición que necesite el mensturo y el volumen final requerido.
Uso previsto	Depende mucho el fin con el que se lleve la extracción, ya sea destinado para humanos o para experimentaciones.

**Fuente:** (Abubakar & Haque, 2020)

### 3.2.4 Métodos de extracción para Borraja, Esencia de rosa y Paico

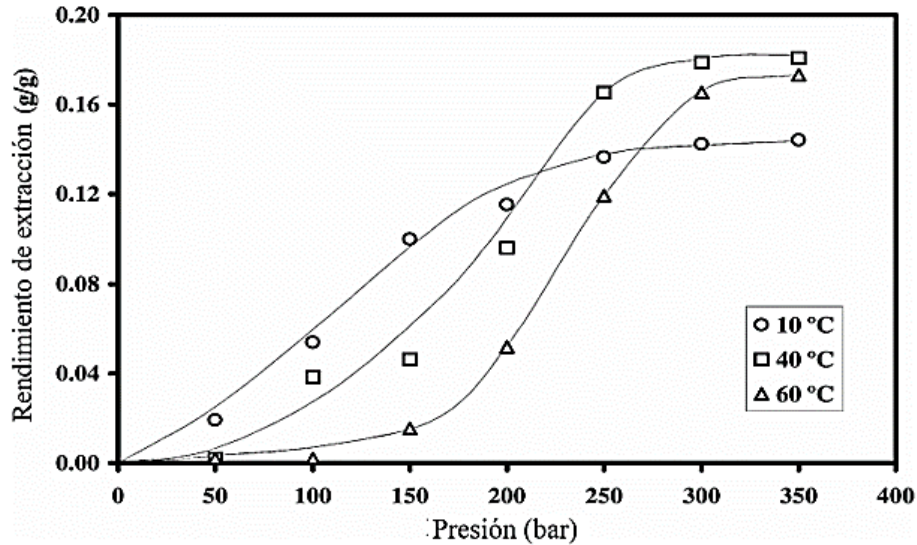
En el caso de la Borraja, Esencia de rosa y el Paico, se han llevado a cabo a lo largo de los años investigaciones que demuestran que la aplicación de métodos para la extracción de metabolitos secundarios cada vez se moderniza más, por lo tanto, se debe ir citando y mejorando las condiciones con las que se llevan a cabo.

#### 1) Estudios con Borraja

(Molero Gómez & Martínez de la Ossa, 2002) extrajeron el aceite de borraja con la técnica de EFS, usando dióxido de carbono. En este trabajo se tomaron en cuenta las condiciones operativas y el estado de la materia prima, puntos que son decisivos en la extracción. En la figura 6, se puede observar que el rendimiento de extracción 0,18 % (w/w) [peso/peso] que brindó resultados óptimos, se presentó al cabo de 3 h manteniendo



las siguientes condiciones: una presión de 300 – 350 bar, una temperatura de 40 °C, una tasa de flujo de 1,5 L/min de disolvente y una medida de semilla molida de 0,75 mm.



**Figura 7.** Influencia de la presión en la extracción de aceite de semilla de borraja con dióxido de carbono en condiciones supercríticas.

Condiciones de funcionamiento: tiempo de extracción, 3 h; caudal de disolvente 1,5 l/min (STP); humedad de la semilla de borraja 7,4 %; tamaño de grano 0,75 mm

**Fuente:** (Molero Gómez & Martínez de la Ossa, 2002)

Además, se realizó una comparación simultánea con el proceso de extracción Soxhlet que para obtener un rendimiento similar al de EFS se aplicó un tiempo de 16 h donde el compuesto hexano actuó completamente hasta agotar las semillas de borraja, todo esto con el objetivo de obtener el mayor rendimiento posible de extracción, el cual fue un punto crucial al momento de comparar.

En la Tabla 13 se observa un resumen de los porcentajes de composición de ácidos grasos del aceite de borraja y el tiempo en el que cada método logró la extracción de cada componente. Este estudio demuestra que la aplicación de EFS con  $CO_2$  en comparación con la técnica de extracción Soxhlet optimiza tiempos y es más selectiva, llegando así a ser posiblemente más económica, sin embargo, según los autores aún se deben realizar más comparaciones para comprobar esa afirmación.

**Tabla 13.** Composición de ácidos grasos del aceite extraído de borraja usando hexano y dióxido de carbono en condiciones supercríticas.

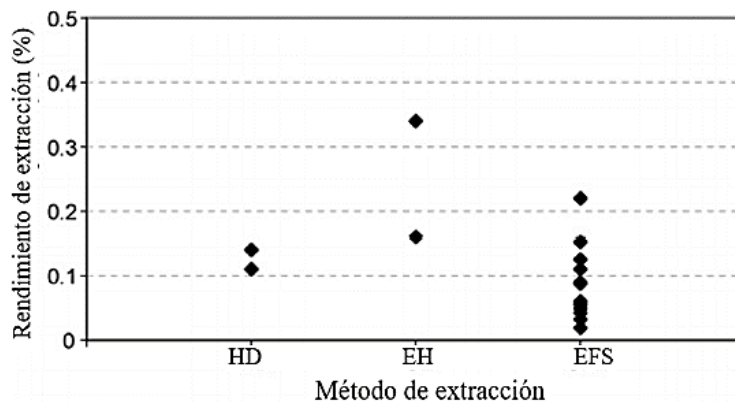
Composición de ácidos grasos (%)	Métodos de extracción	
	<i>CO</i> <sub>2</sub> (300 bar, 40 °C, 3 h)	Hexano (Soxhlet, 16 h)
Palmitico	13,32	13,28
Palmolítico	0,19	0,18
Stearico	4,58	5,06
Oleico	19,78	20,77
Linoleico	39,57	39,02
γ-Linoleico	22,29	21,04
α-Linoleico	0,27	0,65

Fuente: (Molero Gómez & Martínez de la Ossa, 2002)

## 2) Estudios con Esencia de Rosa

(Gomes, Mata, & Rodrigues, 2007), tomando en cuenta que el aceite de *Pelargonium graveolens* es un aditivo importante en perfumería, aplicaron en su investigación la técnica EFS también conocida como supercritical fluid extraction (SFE) como una tecnología limpia para la obtención de un aceite esencial natural de calidad y compararon simultáneamente resultados con métodos de HD y extracción con hexano (EH), basándose en los rendimientos de extracción.

En la figura 8, ya se puede observar que los tres métodos presentan diferencias considerables. Por un lado, la hidrodestilación se entiende que presenta un rendimiento significativamente bajo con respecto a los otros dos métodos, ya que al final es un procedimiento que extrae solo fracciones volátiles.



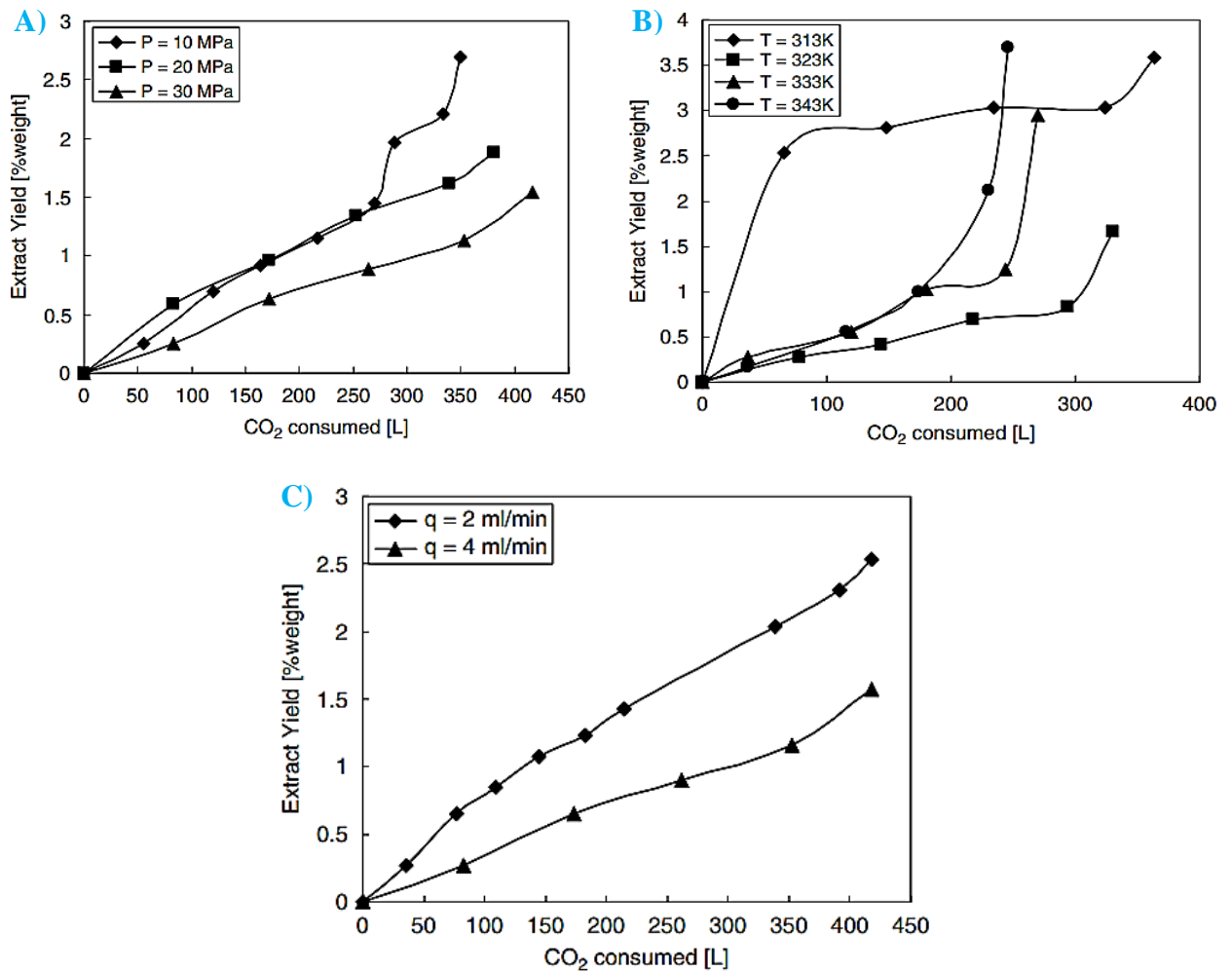
**Figura 8.** Rendimientos de extracción de esencia de rosa, obtenidos por métodos diferentes

**Fuente:** (Gomes et al., 2007)

La extracción por EFS en el estudio de (Gomes et al., 2007), fue más selectivo con respecto a los otros dos métodos. La extracción por fluidos supercríticos es una técnica no convencional, que tiene algunos parámetros a tomar en cuenta, por ejemplo, el caudal, la temperatura y la presión (Reverchon & De Marco, 2006; Azmir et al., 2013).

(Peterson et al., 2006), optimizaron la EFS tomando en cuenta que a altas temperaturas las ceras vegetales de las plantas son co-extraídas, al igual que usar presiones muy bajas. Es entonces que los resultados pueden presentar rendimientos aparentes de extracción de aceites. Lo mencionado anteriormente da explicación a la conclusión de la figura 9A y el uso de 30 MPa como presión óptima en lugar de 10 MPa, que a primera vista es relacionada con un rendimiento de extracción adecuado.

Así mismo, la figura 9B sigue el mismo principio de la co-extracción de ceras, y en el estudio se decidió que la temperatura de 313 K que es la más baja muestra resultados prometedores para una extracción pura de aceite esencial. Por último, el control y optimización de caudal usando 30 MPa y 313 K (Figura 9C) demostró que usando un caudal más bajo de disolvente en SFE junto con la presión y la temperatura adecuada, la extracción de aceite esencial de *Pelargonium graveolens* es de la más alta calidad con un bajo contenido de ceras.



**Figura 9.** Parámetros de optimización para el rendimiento de extracción en función a CO<sub>2</sub> consumido

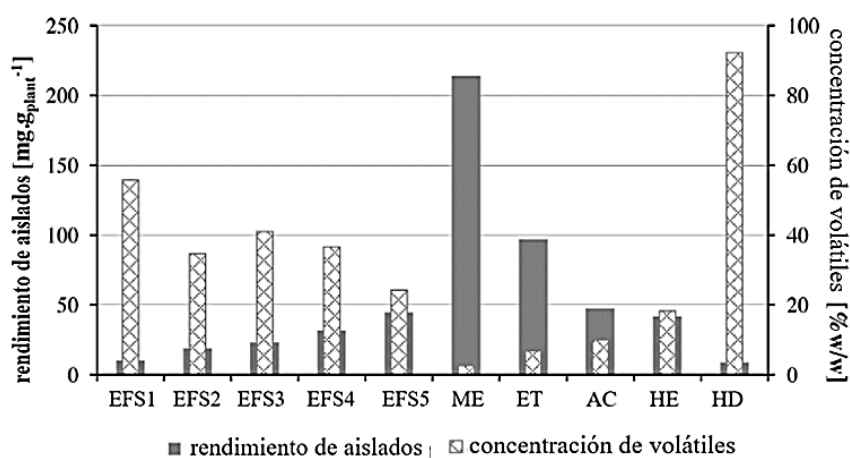
A) optimización de la presión a 313 K y 4,0 mL min<sup>-1</sup>; B) optimización de temperatura a 16 MPa y 4,0 mL min<sup>-1</sup>; C) optimización de caudal a 30 MPa y 313 K

**Fuente:** (Peterson et al., 2006)

En otro estudio se evaluó, la capacidad insecticida y antifúngica de los compuestos de *Pelargonium graveolens*, logrando comparar métodos como: MC, HD y EFS. Aquí se concluyó que todos los extractos obtenidos fueron efectivos plaguicidas considerando posteriormente diferencias únicamente en los niveles de toxicidad crónica causada sobre *Spodoptera littoralis* (Machalova, Sajfrtova, Pavela, & Topiar, 2015). Para demostrar la toxicidad aguda contra los insectos, los aislados fueron disueltos en acetona,

procediendo posteriormente a la aplicación de 1  $\mu\text{l}$  de la solución a cada larva. La mortalidad fue evaluada después de transcurridas 24 h.

En la figura 10 la hidrodestilación presentó el mejor porcentaje de volátiles con un 92 % (w/w) pero un rendimiento total de aislados (RA) de  $8,5 \text{ mg } g_{\text{planta}}^{-1}$ , seguido de la ESF con un 56 % (w/w) de volátiles y  $44,5 \text{ mg } g_{\text{planta}}^{-1}$  de RA. Por otra parte, la maceración en comparación con ESF y HD tuvo altos rendimientos con cada disolvente, excepto con hexano.



**Figura 10.** Rendimiento de aislados ( $\text{mg } g_{\text{planta}}^{-1}$ ), y concentración de componentes volátiles (% w/w) obtenido por fluidos supercríticos (EFS 1–5), maceración con metanol (ME), etanol (ET), acetona (AC), hexano (HE) y con hidrodestilación (HD)

**Fuente:** (Machalova et al., 2015)

A su vez, se comparó los rendimientos de extracción con distintas condiciones del fluido supercrítico y diferentes solventes en la maceración. Aunque la extracción a 30 MPa y 40 °C tuvo la máxima extracción y concentración de compuestos volátiles y era a su vez comparable con el rendimiento que presentaba la maceración con hexano (concentración de compuestos volátiles baja), aún se evidenciaba una co-extracción de no volátiles. Por otro lado, las condiciones de ESF que presentaron la mejor selección de no volátiles fueron: 9 MPa y 50 °C.

Además, la actividad de los macerados fue significativamente menor a la actividad que presentaron los extractos de  $\text{CO}_2$  y el aceite esencial. En el caso de toxicidad aguda y

actividad antifúngica, la eficacia de los aislamientos aumentó con el aumento de la concentración de volátiles. La toxicidad aguda de los aislados probablemente también dependió del contenido de citronelol, geraniol y formiato de citronelilo (**Machalova et al., 2015**).

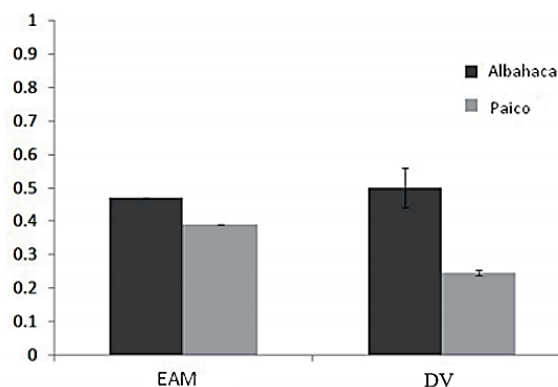
### **3) Estudio con Paico**

La comparación entre dos métodos como son: EAM y DV que también es conocida como steam distillation (SD) realizada por (**Cardoso-Ugarte, Juárez-Becerra, Sosa-Morales, & López-Malo, 2013**), comenzó por el interés y la necesidad de buscar una alternativa más ecológica y económica de extraer aceite esencial de hierbas como: Paico (*Chenopodium ambrosioides*) y albahaca (*Ocimum Bacilicum*).

Con la aplicación de microondas, la reducción de tiempo y volumen de disolvente requerido es notable, además que se minimiza el impacto de  $CO_2$  al medio ambiente (**Lucchesi, Chemat, & Smadja, 2004; Cardoso-Ugarte, Juárez-Becerra, Sosa-Morales, & López-Malo, 2013**), haciendo uso solamente de una fracción de energía que se suele aplicar a métodos convencionales como DV (**Farhat, Ginies, Romdhane, & Chemat, 2009**).

El mejor rendimiento de obtención de aceite esencial para paico y albahaca (0,47 % y 0,39 % respectivamente) se encontraron cuando la potencia del micoorndas alcanzó 70 W, transcurrió un tiempo de 30 min y cuando se usó una cantidad de agua de 400 ml. Sin embargo al usar la misma potencia y tiempo, pero variando la cantidad de agua a 500 ml se presentó el valor más bajo para ambos rendimientos (0,36 % y 0,33 % respectivamente).

Por otro lado, en la figura 11 se observa una comparación definida de los métodos de extracción. Donde los rendimientos de obtención de aceite esencial de albahaca para EAM y DV no fueron significativamente diferentes. Sin embargo, los rendimientos obtenidos para paico, muestran una diferencia significativa que se puede entender por la cantidad y la clase de compuestos que conforman el aceite esencial extraído en cada método.



**Figura 11.** Comparación de rendimientos de aceite esencial de albahaca y paico obtenidos de EAM y DV

**Fuente:** (Cardoso-Ugarte et al., 2013)

Analizando la tabla 14, se observa que la composición del aceite esencial de albahaca no difiere en componentes para ambos métodos de extracción, mientras que en el aceite esencial de paico compuesto como (+) - 4 - Careno y óxido de limoneno, cis son únicamente los que coinciden

**Tabla 14.** Principales componentes del aceite esencial extraído por EAM y DV de dos hierbas

Hierba	Compuesto	
	EAM	DV
Albahaca	cinamato de metilo linalol eucaliptol $\beta$ -cubebeno cadinol	cinamato de metilo cadinol linalol $\beta$ -cubebeno eucaliptol
Paico	$\alpha$ , 4 - trimetil -, acetato (+) - 4 - Careno óxido de limoneno, cis azabicyclo [2. 2. 2] octano - 3 - uno 1 - ciclohexano - 1 - carboxaldehído, 4 -(1 metiletil)	(+) - 4 - Careno óxido de limoneno, cis androst - 1 - en - 3 - uno, 4, 4 - dimetil $\alpha$ -terpineno ciclohexano, 1 -metil -3 - (1 - metiletileno)

**Fuente:** (Cardoso-Ugarte et al., 2013)

La diferencia de componentes obtenidos con EAM y DV según (Cardoso-Ugarte et al., 2013), debe sustentarse con más estudios. Aunque (Stratakos & Koidis, 2016) en

su estudio de “Aceites esenciales en la conservación de alimentos”, aclaraban que el perfil de composición química de los aceites esenciales se verá afectado no solo en la cantidad de constituyentes, sino también en la estructura de las sustancias extraídas. Todo esto dependiendo de la influencia en las características de los aceites al aplicar los distintos métodos.

Por último, el artículo de (Villalobos-Delgado, González-Mondragón, Salazar Govea, Andrade, & Santiago-Castro, 2017), compara dos métodos convencionales: Maceración con extracto etanólico (MCE) e Infusión de Paico (IP).

**Tabla 15.** Contenido total de Fenoles (CTF), Contenido total de flavonoides (CTFA) y actividad antioxidante (AA) de MCE e I de *Chenopodium ambrosioides*

Método	pH	CTF *	CTFA **	AA***
IP	7,34 ± 0,03 <sup>a</sup>	193,50 ± 6,68 <sup>a</sup>	380,87 ± 18,22 <sup>a</sup>	13,63 ± 1,20 <sup>a</sup>
MCE	6,90 ± 0,02 <sup>b</sup>	126,3 ± 4,91 <sup>b</sup>	147,26 ± 19,68 <sup>b</sup>	16,65 ± 4,44 <sup>a</sup>

\* Miligramos de equivalente de ácido gálico (mg EAG/100 g peso seco)

\*\* Miligramos de equivalente de quercetina (mg EQ/100 g peso seco)

\*\*\* Porcentaje de inhibición (% inhibición)

Los índices <sup>a,b</sup> representan las respectivas diferencias significativas ( $P < 0.05$ ; prueba de Duncan)

**Fuente:** (Villalobos-Delgado et al., 2017)

La tabla 15 muestra que el contenido de pH para MCE con respecto a IP es significativamente más ácido, lo que lleva a pensar en la existencia de compuestos orgánicos ácidos en los extractos. El contenido total de Fenoles y Flavonoides en IP también son significativamente mayores con respecto a MCE y la actividad antioxidante para ambos métodos no presenta mayores significancias.

### 3.4 Técnicas de Fraccionamiento y purificación de moléculas bioactivas de plantas medicinales

La idea principal al buscar un método de purificación y fraccionamiento es elegir uno que pueda seleccionar de los extractos compuestos bioactivos de interés, es decir, compuestos que posean acciones terapéuticas como: antioxidantes o antibacterianos, a



esto se le añade la necesidad de simplicidad, especificidad y rapidez con la que llevará a cabo. Para lograr un fraccionamiento o purificación exitosa, se debe tomar en cuenta que las plantas tienen propiedades fitoquímicas y compuestos distintos en cada una de sus partes (Altemimi et al., 2017).

Un extracto que se obtiene de las plantas medicinales es una mezcla de varios compuestos naturales que poseen distintas polaridades. Por lo tanto, a menudo es necesario fraccionar inicialmente el extracto crudo en varias fracciones discretas que contienen un grupo de compuestos de polaridades o tamaños moleculares similares (Sarker, 2012). Y para lograrlo a menudo se aplican técnicas como: Cromatografía de capa fina (TLC), Cromatografía de gases (GC), Cromatografía Líquida de alta resolución (HPLC), Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC-MS) y Electroforesis Capilar (CE) (Rasul, 2018).

**Tabla 16.** Principales compuestos identificados por GC-MS en aceite esencial de esencia de rosa.

Retention Time (min)	Component Common name	IUPAC name	Chemical Formula
10.719	Linalool	3,7-Dimethyl-octa-1,6-dien-3-ol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
12.813	Isomenthone	(2S,5S)-5-Methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-one	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
13.257	α-Terpineol	2-(4-methylcyclohex-3-en-1-yl)propan-2-ol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
16.097	β-Citral	3,7-Dimethylocta-2,6-dienal	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
17.144	Geraniol	3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
17.953	α-Citral	3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-al	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
22.413	β-Bourbonene	(1S,2R,6S,7R,8S)-1-methyl-5-methylidene-8-propan-2-yltricyclo[5.3.0.0]decane	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
23.812	Caryophyllene	(1R,4E,9S)-4,11,11-Trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
27.989	δ-Cadinene	(1S,8aR)-4,7-dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
31.661	10-epi-γ-Eudesmol	2-[(2R,4aS)-4a,8-Dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro-2-naphthalenyl]-2-propanol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
34.689	Geranyl tiglate	[(2E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl] (E)-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>

**Fuente:** (Lo, Han, & Wong, 2020)

La tabla 16 fue tomada del estudio de (Lo et al., 2020), para ejemplificar un caso de fraccionamiento con el aceite esencial de *Pelargonium graveolens* aplicando la técnica de Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa.

### **3.5 Determinación de contenido total de Fenoles (CTF)**

El ensayo con reactivo de Folin Ciocalteu es el más usado para la determinación de CTF, ya que usa la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el Mo (VI) a Mo (V), produciéndose una reacción entre el molibdeno y Tungsteno de cambio de color amarillo a color azul (Leos, Rivas, & García, 2016).

(Zemmouri et al., 2019) en su estudio de “Composición química y actividad antioxidante del extracto de hoja de *Borago officinalis* L. que crece en Argelia” realizaron la determinación de compuestos fenólicos totales mediante la técnica con reactivo Folin Ciocalteu. Donde el contenido fenólico total fue expresado como miligramos de ácido gálico (GA) equivalente por gramo de extracto (mg GAE /g DE). Unidades que son comunes para expresar el CTF.

### **3.5 Determinación de contenido total de Flavonoides (CTFA)**

Para la determinación de contenido total de Flavonoides (CTFA) se ha usado ampliamente el método espectrofotométrico basado en la formación del complejo de aluminio. Este es uno de los procedimientos más utilizados, ya que el contenido de estos compuestos se considera un parámetro importante para evaluar muestras de alimentos o plantas medicinales. Este método, fue propuesto por Christ y Müller (1960) para el análisis de materiales herbales y ha sido modificado varias veces (Pełkal & Pyrzynska, 2014).

### **3.5 Determinación de actividad antioxidante**

Los radicales libres también conocidos como especies reactivas de oxígeno o especies reactivas de Nitrógenos (ROS y RNS respectivamente por sus siglas en inglés), son responsables de algunas alteraciones de salud humanas. La afección que causan a macromoléculas como el ADN, lípidos, proteínas y carbohidratos (S. Li et al., 2015), deriva en enfermedades complejas como: cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, afecciones broncopulmonares o procesos neurodegenerativos (Leos et al., 2016).

La capacidad antioxidante es determinada por la versatilidad de algunos compuestos para prevenir la formación y ataque de ROS. Los antioxidantes naturales que provienen de las plantas, por lo general flavonoides y otros derivados fenólicos, secuestran y neutralizan a las especies reactivas de oxígeno (Oliveira et al., 2019).

Para la determinación de la capacidad antioxidante de fitoquímicos se recomienda el uso de radicales estables coloreados estables como 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Acido2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), o reactivos como el complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) (Leos et al., 2016).

Al aplicar los métodos para evaluar la actividad antioxidante de fitofármacos, se toma en cuenta el mecanismo subyacente a la reacción antioxidante-oxidante. Esto lleva a dividir a los métodos según su mecanismo de acción.

**Tabla 17. Métodos para evaluar a actividad antioxidante**

<b>Método</b>	<b>Mecanismo</b>	<b>Principio del método</b>	<b>Determinación del producto final</b>
DPPH	HTA, SET	Reacción antioxidante con un radical orgánico	Colorimetría
TEAC	SET	Reacción antioxidante con un catión orgánico (ABTS)	Colorimetría
TRAP	HAT	Capacidad antioxidante para eliminar los radicales derivados del luminol, generados a partir de la descomposición de AAPH	Colorimetría
FRAP	SET	Reacción antioxidante con un complejo de Fe (III)	Apagado por quimioluminiscencia
CUPRAC	SET	Cu (II) reducción a Cu (I) por antioxidante	Colorimetría
ORAC	HAT	Reacción antioxidante con radicales per oxilo, inducida por AAPH (2,2'-azobis-2-amidino-propano)	Pérdida de fluorescencia de fluoresceína

*TRAP: Parámetro antioxidante de atrapamiento total de radicales*

*ORAC: Capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno*

*FRAP: Poder de reducción Férrico*

*CUPRAC: Capacidad antioxidante reductora cúprica*

**Nota:** Esta tabla fue adaptada de datos recopilados en los trabajos de (Youssef, 2014); (Leos et al., 2016); (Pisoschi, Pop, Cimpeanu, & Predoi, 2016) y (Xu et al., 2017)

Las técnicas que conllevan el mecanismo de transferencia de átomo de hidrógeno (HAT) miden la capacidad antioxidante para atrapar radicales libres cuando donan hidrógeno. Y por otra parte, los métodos que se basan en el mecanismo de transferencia de un solo electrón (SET) se basan en la capacidad que poseen para reducir la transferencia de un compuesto oxidante frente a una especie radical (Pisoschi et al., 2016). En la tabla 16 se recaba información sobre algunos de los métodos de evaluación de capacidad antioxidante que se han presentado en los estudios de esta revisión bibliográfica, en adición otras técnicas para tener una amplia comparación e información sobre el caso.

### **3.6 Determinación de actividad antimicrobiana**

La importancia de la determinación de actividad antimicrobiana en el surgimiento de nuevos fármacos se liga a la necesidad que tiene la comunidad sanitaria de contrarrestar la resistencia que presentan nuevas cepas de microorganismos causantes de enfermedades. De aquí que surge el interés por el uso de plantas medicinales que según varios estudios poseen actividad antibacteriana que está controlada por sus diversos compuestos fenólicos como flavonoides, cumarinas y taninos (**Bouyahya et al., 2017**).

Para hacer un ensayo antimicrobiano de un extracto de planta, en primer lugar, se debe identificar con que microorganismos se va a ensayar, es decir, se debe buscar un proveedor del microorganismo o realizar aislamientos de las cepas de interés. En este último caso se recomienda realizar una serie de pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas convencionales para identificar los microorganismos seleccionados (**Manandhar, Luitel, & Dahal, 2019**).

En el estudio de (**Karimi et al., 2018**), comprobaron la acción antimicrobiana de los extractos de la flor de *Borago officinalis* contra *Escherichia coli* E256, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* PI96, *Staphylococcus aureus* S1431, *Klinsiella pneumonia* K36, *Bacillus cereus* B43, *Bacillus subtilis* B145 usando el método de difusión en disco, que se basa en aplicar un papel filtro en forma de disco sobre el agar donde previamente las bacterias han sido inoculadas. *E. coli* fue la bacteria Gram-negativa más sensible y *P. aeruginosa* fue la más resistente. Con respecto a las Gram-positivas *B. cereus* fue la más sensible y *M. luteus* la más resistente a los extractos, todo

esto tomando en cuenta que las bacterias Gram-negativas tuvieron una resistencia considerable con respecto a las Gram-positivas, que según **(Ceylan & Fung, 2004)** las bacterias Gram-negativas poseen una membrana externa con un espacio periplásmático.

La actividad antimicrobiana de las flores de Borraja, se la puede atribuir a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, isoflavonoides y ácidos grasos **(Karimi et al., 2018)**.

Por otro lado, la actividad antimicrobiana de extractos de *Pelargonium graveolens*, se testeó en cepas Gram-negativas y Gram-positivas, mostrando efectos significativos. Entre los ejemplares de bacterias escogidos específicamente, el aceite de Esencia de Rosa fue eficaz contra las bacterias Gram negativas *E. coli*, *P. vulgaris* y *E. aerogenes*, pero no tuvo ningún efecto sobre *P. aeruginosa* y *K. pneumonia* **(Hamidpour et al., 2017)**. En otro estudio, también se comprobó que este aceite esencial posee actividad antimicrobiana, pero su acción depende mucho del solvente con el que se haya extraído **(El Aanachi et al., 2020)**.

En el caso de *Dysphania ambrosioides* **(Jesus et al., 2018)**, demostró la actividad antimicrobiana de sus extractos contra microorganismos de interés clínico usando la técnica de micro dilución que consiste en identificar las concentraciones inhibitorias mínimas. En este estudio se experimentó con bacterias y hongos, llegando a la conclusión de que las hojas de paico poseen componentes bioactivos (rutina, quercetina y crisina) que pueden ser usados contra la aparición de microorganismos oportunistas que causan enfermedades cutáneas. Además, se mostró una actividad considerable contra *Mycobacterium tuberculosis* causante de la enfermedad tuberculosis.

### **3.7 Estudios de propiedades antioxidantes y antibacterianas**

Una vez analizados los estudios sobre las acciones antioxidantes y antibacterianas que poseen los biocomponentes de las plantas en estudio, se presenta en la tabla 18 un resumen de algunas investigaciones que se han realizado *In vivo* e *In vitro*.

**Tabla 18.** Recopilación de estudios que presentan propiedades farmacológicas de metabolitos presentes en Borraja, Esencia de Rosa y Paico

Planta	Partes usadas	Metabolito de interés	Propiedades farmacológicas	Nivel del estudio		Referencia
				In vivo	In vitro	
Borraja	Hojas	Flavonoides Polifenoles Terpenoides	Antioxidante Hepatoprotector Nefroprotector Antiinflamatorio quimioprotectora	x		(Ogunleye, Fagbohun, & Babalola, 2020)
Borraja	Hojas	AE; $\gamma$ -ácido linoleico	Antioxidante Tratamiento de Alzheimer	x		(Mehdizadeh et al., 2017)
	Hojas	AE	Antioxidante Antibacteriana		x	(Ait Sidi Brahim et al., 2015)
	Planta	Ácido rosmárico; $\gamma$ -ácido linoleico	Antioxindante Anti fotoenvejecimiento	x		(Seo, Park, Hwang, Park, & Yi, 2018)
	Flores	Fenoles Flavonoides isoflavonoides	Antimicrobiano Antiinflamatorio Anticáncer Antioxidante		x	(Karimi et al., 2018)
Esencia de Rosa	Partes aéreas	AE	Antifungica Antiinflamatorio Insecticida Inmunomodulador Antibacteriano	NI	NI	(Narnoliya, Jadaun, & Singh, 2019)
	Hojas	Alcaloides, glucósidos, flavonoides, fenoles y taninos.	Antimicrobiano		x	(Jaggali et al., 2016)

**Tabla 18. Continuación**

	Partes aéreas	AE	Antibacteriano	x		(Mahboubi et al., 2016)
	Planta	AE	Antioxidante Antibacteriano Antifúngico	NI	NI	(Hamidpour et al., 2017)
	Partes aéreas	Fenoles Flavonoides Favonoles	Antioxidante Atimicronbiano Fotoprotector		x	(El Aanachi et al., 2020)
Paico	Partes aéreas	Flavonoides Ácido cítrico	antioxidante		x	(Villalobos-Delgado et al., 2017)
	Partes aéreas	Flavonoides	Antioxidante		x	(Villalobos, Gonzáles, Salazar, Santiago, & Andrade Ramírez, 2016)
	Hojas	Fenol carvacrol Ascaridole Vitamina E Escualeno	Antioxidante Antiinflamatorio Antimicrobiano	x	x	(Reyes-Becerril, Angulo, Sanchez, Vázquez-Martínez, & López, 2019)
	Hojas	ácido trans p-cumárico; dirhamnosido de quercetina; kaempferol-O-rhamnosil-glucurónido; rutina	Antimicrobiano Antioxidante		x	(Jesus et al., 2018)

*NI: No identificado*

*AE: aceite esencial*

### 3.8 Comparación de resultados

A continuación, se presenta una tabla resumen comparando algunas de las técnicas de extracción aplicadas en varias investigaciones, usando como material vegetal las plantas medicinales de este estudio.

**Tabla 19.** Resumen de porcentajes de extracción para aceites esenciales y otros compuestos presentes en tres plantas medicinales aplicando distintos métodos de recuperación convencionales y no convencionales.

<b>Planta medicinal</b>	<b>Método</b>	<b>Parte usada</b>	<b>Características del estudio</b>	<b>Referencias</b>
Borraja <i>Borago officinalis</i> )	EAU	Flor	<b>Condiciones:</b> t = 30 min; 48 °C; frecuencia 40 kHz <b>prde AE:</b> con parámetros ajustados de la técnica fue identificado en el rango de 0,012 % a 1,04 % (w/w)	(Ramandi, Ghassempour, Najafi, & Ghasemi, 2017)
	EFS	Semilla	<b>Condiciones:</b> t = 3 h; 300 bar; T = 40 °C; tamaño de partícula = 0,75 mm <b>prde AE:</b> 0,18 % (w/w)	(Molero Gómez & Martínez de la Ossa, 2002)
	EFS	Flor	<b>Condiciones:</b> t = 10 min; T = 65 °C; 300 atm <b>prde AE:</b> rango de 0,02 a 1,96 % (w/w)	(Ramandi, Najafi, Raofie, & Ghasemi, 2011)
	HD	Flor	<b>Condiciones:</b> t = 5 h <b>prde AE:</b> 0,05 % (w/w)	
	HD	Partes aéreas de la planta	<b>Condiciones:</b> t = 90 min + 3 min de centrifugación adicional; T = 35 °C; <b>prde AE:</b> rango de 0,14 a 0,18% (w/w)	(Zribi, Bleton, Moussa, & Abderrabba, 2019)
	DV	Flor y hojas	<b>Condiciones:</b> Datos en Farmacopea Polaca VI (2002). <b>prde AE:</b> en Flor 0,195 % (w/w) <b>prde AE:</b> en hojas 0,163 % (w/w)	(Borowy, Chwil, & Kaplan, 2017)



**Tabla 19. Continuación**

Esencia de Rosa ( <i>Pelargonium graveolens</i> )	EFS	Hojas	<b>Condiciones:</b> t=15 a 30 min; T=40 °C; presión de 80-200 bar <b>prde AE:</b> 0,2 % (w/w)	(Ponomareva & Molohova, 2017)
	EFS	Hojas verdes	<b>Condiciones:</b> t=15 a 30min; T=40 °C; presión de 90 a 100 bar <b>prde AE:</b> rango de 0,019 a 0,22 % (w/w)	(Gomes et al., 2007)
	HD	Hojas verdes	<b>Condiciones:</b> t = 2 h <b>prde AE:</b> identificado en el rango de 0,1 % a 0,2 % (w/w)	(Gomes, Mata, & Rodrigues, 2004)
	DV	Hojas pálidas	<b>Condiciones:</b> t = 6 h + 30 min de centrifugación (130 rpm) adicional; T = 200 °C; <b>prde AE:</b> 0,15 % (w/w)	(Lo et al., 2020)
Paico ( <i>Chenopodium ambrosioides</i> )	EAU	Partes aéreas de la planta	Tecnología rápida y verde; consumo de poco solvente; eficiente en la extracción de flavonoides. <b>Condiciones:</b> t = 60 min; 57 °C <b>eR:</b> 1,012 %	(Ferreira et al., 2019)
	EFS	Hojas	<b>Condiciones:</b> t = 15 a 30 min; T = 40 °C; presión de 90-100 bar <b>pecv:</b> 44,5 mg g <sub>planta</sub> <sup>-1</sup>	(Machalova et al., 2015)
	HD	Hojas	<b>Condiciones:</b> t = 3 h; 600 ml de agua. <b>Pecv:</b> 8,5 mg g <sub>planta</sub> <sup>-1</sup>	

**Tabla 19.** Continuación

---

HD	Hojas	<b>Condiciones:</b> t = 48h; disolvente etanol; <b>Pecv:</b> 214 mg $g_{planta}^{-1}$	(Machalova et al., 2015)
----	-------	---	--------------------------

---

**Prde:** porcentaje de rendimiento de extracción

**eR:** equivalentes de rutina para determinación de flavonoides

**pecv:** porcentaje de extracción de compuestos volátiles

## CAPITULO VI.

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 Conclusiones

Al analizar y comparar las técnicas de extracción de metabolitos secundarios presentes en Borraja (*Borago officinalis*), Esencia de Rosa (*Pelargonium graveolens*) y Paico (*Dysphania ambrosioides*), se determinó que la experimentación relacionada a la obtención de compuestos bioactivos de estas especies necesita ser actualizada y aprovechada, ya que las técnicas pueden ser modificadas y adaptadas para obtener extractos con índices de calidad más altos.

La recolección de datos cualitativos relacionados a compuestos aislados de Borraja, Esencia de Rosa y Paico no presentó mayores contratiempos, ya que son plantas que han sido ampliamente estudiadas para distintos fines en varias partes del mundo, sin embargo, la información bibliográfica sobre cribados fitoquímicos de estas especies en Ecuador aún es escasa.

Los compuestos como: Flavonoides, Polifenoles, Terpenoides,  $\gamma$ -ácido linoleico en Borraja; Fenoles, Flavonoides, Flavonoles en Esencia de Rosa; Flavonoides, Ácido cítrico, carvacrol, Ascaridole, Vitamina E y Escualeno en Paico fueron en la mayoría de casos los metabolitos secundarios más representativos, siendo los principales compuestos bioactivos de interés en las investigaciones presentadas y en farmacognosia.

El análisis profundo de información bibliográfica sobre investigaciones que aplicaron métodos convencionales y no convencionales demostró que el uso de métodos de extracción de compuestos bioactivos no convencionales aparentemente es más eficiente con respecto a los convencionales. Esta conclusión se basa en que la extracción con fluidos supercríticos, extracción asistida por microondas y extracción asistida por ultrasonidos (técnicas no convencionales) fueron presentadas en varios estudios como técnicas Eco-amigables, característica que si se ha podido comprobar en las investigaciones. Sin embargo, una vez analizados todos los casos comparativos de métodos de extracción, se

concluye que la eficiencia de la técnica depende ampliamente del fin al que se le dirija, el uso que se le dé a los extractos y del enfoque que el investigador pueda darle a su estudio.

Con ayuda de la investigación bibliográfica, se han podido identificar estudios actuales *in vivo e in vitro* sobre las aplicaciones fitoterapéuticas de metabolitos secundarios con acción antioxidante y antibacteriana provenientes de Borraja, Esencia de Rosa y Paico. Por lo tanto, se puede concluir que los experimentos para futuras aplicaciones fitoterapéuticas usando extractos de estas plantas medicinales es factible.

#### **4.1 Recomendaciones**

Es necesario realizar análisis económicos comparativos entre técnicas que involucren la obtención de compuestos bioactivos de Borraja, Esencia de Rosa y Paico, con el fin de apoyar y sustentar criterios de comparación de las investigaciones aquí presentadas, que en su totalidad se enfocaron en análisis experimentales cuantitativos.

Se deberían realizar más investigaciones bibliográficas y experimentales referentes al tema de extracción de metabolitos secundarios de plantas medicinales nativas y endémicas del Ecuador, ya que el país es megadiverso en especies de este tipo.

Se podrían crear bases de datos ecuatorianas con información científica y comprobada sobre características morfológicas y etnobotánicas, tamizaje fitoquímico, modo de extracción de metabolitos secundarios, compuestos bioactivos de plantas medicinales, sus efectos terapéuticos y aplicaciones fitofarmacéuticas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 1(12), 1–10. <https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS>
- Ahmad, T., Masoodi, F. A., A. Rather, S., Wani, S. M., & Gull, A. (2019). Supercritical Fluid Extraction: A Review. *Journal of Biological and Chemical Chronicles*, 5(1), 114–122. <https://doi.org/10.33980/jbcc.2019.v05i01.019>
- Aidi Wannas, W., Mhamdi, B., Saidani Tounsi, M., & Marzouk, B. (2017). Lipid and volatile composition of borage (*Borago officinalis* L.) leaf. *Trends in Phytochemical Research*, 1(3), 143–148.
- Ait Sidi Brahim, M., Fadli, M., Hassani, L., Boulay, B., Markouk, M., Bekkouche, K., ... Larhsini, M. (2015). *Chenopodium ambrosioides* var. *ambrosioides* used in Moroccan traditional medicine can enhance the antimicrobial activity of conventional antibiotics. *Industrial Crops and Products*, 71, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.067>
- Alamgir, A. N. M. (2017). Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts. In *Progress in Drug Research* (Vol. 73). Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-63862-1>
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4). <https://doi.org/10.3390/plants6040042>
- Amita Pandey, & Tripathi, S. (2014). Extraction of Pharmaceutical Drugs. 2014. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115–119.
- Asadi-Samani, M., Bahmani, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). The chemical composition, botanical characteristic and biological activities of *Borago officinalis*: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(S1), S22–S28. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60199-1](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60199-1)
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Barreto, C., & Salgueiro, L. (2018). O contributo da fitoterapia na cicatrização de feridas TT - La contribución de la fitoterapia en la cicatrización de heridas TT - The

- contribution of phytotherapy in wound healing. *Rev. Fitoter*, 18(1), 53–69. Retrieved from <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-181225>
- Ben ElHadj Ali, I., Tajini, F., Boulila, A., Jebri, M. A., Boussaid, M., Messaoud, C., & Sebaï, H. (2020). Bioactive compounds from Tunisian Pelargonium graveolens (L'Hér.) essential oils and extracts:  $\alpha$ -amylase and acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant, antibacterial and phytotoxic activities. *Industrial Crops and Products*, 158(September), 112951. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112951>
- Borowy, A., Chwil, M., & Kapłan, M. (2017). Biologically active compounds and antioxidant activity of borage (*Borago officinalis* L.) flowers and leaves. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 16(5), 169–180. <https://doi.org/10.24326/asphc.2017.5.17>
- Boukhris, M., Simmonds, M. S. J., Sayadi, S., & Bouaziz, M. (2013). Chemical composition and biological activities of polar extracts and essential oil of rose-scented geranium, pelargonium graveolens. *Phytotherapy Research*, 27(8), 1206–1213. <https://doi.org/10.1002/ptr.4853>
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Khay, E. O., Edaoudi, F., Talbaoui, A., Et-Touys, A., ... Dakka, N. (2017). Antibacterial, antioxidant and antitumor properties of Moroccan medicinal plants: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 7(1), 57–64. <https://doi.org/10.12980/apjtd.7.2017D6-294>
- Cañigueral, S., & Vila, R. (2005). La fitoterapia como herramienta terapéutica. *Ginecología y Obstetricia Clínica*, 6(1), 43–51.
- Cardoso-Ugarte, G. A., Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., & López-Malo, A. (2013). Microwave-assisted extraction of essential oils from herbs. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 47(1), 63–72. <https://doi.org/10.1080/08327823.2013.11689846>
- Ceylan, E., & Fung, D. Y. C. (2004). Antimicrobial activity of spices. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 12(1), 1–55. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2004.tb00046.x>
- Dar, R. A., Shahnawaz, M., Qazi, P. H., & Qazi, H. (2017). General overview of medicinal plants: A review. In *The Journal of Phytopharmacology* (Vol. 6). Retrieved from [www.phytopharmajournal.com](http://www.phytopharmajournal.com)
- Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 104–111. <https://doi.org/10.5897/JMPR09.030>
- De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, P., Macía, M. J., & Balslev, H. (2008). Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador (con extracto de datos). In *Herbario QCA & Herbario AAU*. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/310828407\\_Enciclopedia\\_de\\_las\\_Plantas\\_Utiles\\_del\\_Ecuador](https://www.researchgate.net/publication/310828407_Enciclopedia_de_las_Plantas_Utiles_del_Ecuador)

- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, *10*, S1193–S1199. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>
- El Aanachi, S., Gali, L., Nacer, S. N., Bensouici, C., Dari, K., & Aassila, H. (2020). Phenolic contents and in vitro investigation of the antioxidant, enzyme inhibitory, photoprotective, and antimicrobial effects of the organic extracts of *Pelargonium graveolens* growing in Morocco. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *29*, 101819. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101819>
- El Ouadi, Y., Bendaif, H., Mrabti, H. N., Elmsellem, H., Kadmi, Y., Shariati, M. A., ... Bouyanzer, A. (2017). Antioxidant activity of phenols and flavonoids contents of aqueous extract of *Pelargonium graveolens* origin in the North-East Morocco. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, *6*(5), 1218–1220. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.5.1218-1220>
- Farhat, A., Ginies, C., Romdhane, M., & Chemat, F. (2009). Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy. Experimental and theoretical study. *Journal of Chromatography A*, *1216*(26), 5077–5085. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.04.084>
- Fawaz, S. F., Al-Zurfi, S. M., Nasser Almulla, A. M., & Hasan Al-Shakry, E. F. (2021). Effect of borage (*Borage officinalis*) leaves extract against aphids *myzus persicae* in protected cultivation. *Indian Journal of Ecology*, *47*(January 2020), 275–280.
- Ferreira, T. M. S., Santos, J. A. do., Modesto, L. A., Souza, L. S., Santos, M. P. V. do., Bezerra, D. G., & de Paula, J. A. M. (2019). An eco-friendly method for extraction and quantification of flavonoids in *Dysphania ambrosioides*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *29*(2), 266–270. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.01.004>
- Golkar, P., & Moattar, F. (2019). Essential Oil Composition, Bioactive Compounds, and Antioxidant Activities in *Iberis amara* L. *Natural Product Communications*, *14*(5), 1–8. <https://doi.org/10.1177/1934578X19846355>
- Gomes, P. B., Mata, V. G., & Rodrigues, A. E. (2004). Characterization of portuguese-grown geranium oil (*pelargonium* sp.). *Journal of Essential Oil Research*, *16*(5), 490–495. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698779>
- Gomes, P. B., Mata, V. G., & Rodrigues, A. E. (2007). Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, *41*(1), 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.08.018>
- Goyal, M., Hafiz, S., & Joy, P. (2019). PLANT SECONDARY METABOLITES FOR HUMAN HEALTH: Extraction of Bioactive Compounds. In *Africa's potential for the ecological intensification of agriculture* (1st ed.). Boca Raton. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9780429425325>
- Hamidpour, R., Hamidpour, S., Hamidpour, M., Marshall, V., & Hamidpour, R. (2017). *Pelargonium graveolens* (Rose Geranium) - A Novel Therapeutic Agent for

- Antibacterial, Antioxidant, Antifungal and Diabetics. *Archives in Cancer Research*, 05(01), 1–5. <https://doi.org/10.21767/2254-6081.1000134>
- Hyde, M., Wursten, B., Ballings, P., & Coates, P. M. (2018, March 26). Flora de Zimbabwe: Información sobre la especie: Pelargonium graveolens. Retrieved March 1, 2021, from [https://www.zimbabweflora.co.zw/speciesdata/species.php?species\\_id=132760](https://www.zimbabweflora.co.zw/speciesdata/species.php?species_id=132760)
- Hyde, M., Wursten, B., Ballings, P., & Coates Palgrave, M. (2020, October 12). Flora de Zimbabwe: Página de género: Chenopodium. Retrieved March 9, 2021, from [https://www.zimbabweflora.co.zw/speciesdata/genus.php?genus\\_id=519](https://www.zimbabweflora.co.zw/speciesdata/genus.php?genus_id=519)
- Isman, M. (2016). Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization. In *Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization* (Vol. 1218). Retrieved from <http://pubs.acs.org/doi/book/10.1021/bk-2016-1218>
- Jaggali, S., Kumar, P., Venkatesh, K., Chakrapani, P., Arun Jyothi, B., Amarashwari, P., ... Anupalli, R. R. (2016). Evaluation of qualitative analysis and antibacterial activity of pelargonium graveolens L. *International Journal of Phytomedicine*, 8(1), 58–61.
- Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01>
- Jesus, R. S., Piana, M., Freitas, R. B., Brum, T. F., Alves, C. F. S., Belke, B. V., ... Bauermann, L. de F. (2018). In vitro antimicrobial and antimycobacterial activity and HPLC–DAD screening of phenolics from *Chenopodium ambrosioides* L. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.012>
- Karimi, E., Oskoueian, E., Karimi, A., Noura, R., & Ebrahimi, M. (2018). Borago officinalis L. flower: a comprehensive study on bioactive compounds and its health-promoting properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 826–838. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9697-9>
- Kayser, O., & Quax, W. J. (Eds.). (2007). *Medicinal Plant Biotechnology. From Basic Research to Industrial Applications* (Volume 1). Darmstadt: Wiley-VCH Verlag GmbH & KGaA.
- Khan Ahmad, M. S., Ahmad, I., & Chattopadhyay, D. (Eds.). (2019). *New Look to Phytomedicine* (1th ed.). London: Mica, Haley. Retrieved from <https://www.elsevier.com/books-and-journals>
- Khayyal, M. T., Agha, A. M., Zaki, H. F., El-Sahar, A., & Abdel-Aziz, H. (2015). Mechanisms Involved in the Anti-inflammatory and Vascular Effects of Iberis amara Extract. *Planta Medica*, 81(12–13), 1097–1102. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1546244>
- Khetsa, Z. P., & State, F. (2013). *THE EFFECT OF POTASSIUM AND WATER*



*QUALITY ON THE YIELD AND OIL QUALITY OF ROSE GERANIUM ( Pelargonium graveolens L.)* by.

- Kokanova-Nedialkova, Z., Nedialkov, P. T., & Nikolov, S. D. (2009). The genus *Chenopodium*: Phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology. *Pharmacognosy Reviews*, 3(6), 280–306.
- L Graf, B. (2016). Discovering the Pharmacological Potential of Ecuadorian Market Plants using a Screens-to-nature Participatory Approach. *Journal of Biodiversity, Bioprospecting and Development*, 03(01). <https://doi.org/10.4172/2376-0214.1000156>
- Leos, C., Rivas, C., & García, D. G. (2016). *CAPÍTULO Palabras clave*. 41–76. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3926/oms.333>
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
- Liu, X. Y., Ou, H., Xiang, Z. B., & Gregersen, H. (2019). Optimization, chemical constituents and bioactivity of essential oil from *Iberis amara* seeds extracted by ultrasound-assisted hydro-distillation compared to conventional techniques. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 13, 100204. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2019.100204>
- Lo, C. M., Han, J., & Wong, E. S. W. (2020). Chemistry in Aromatherapy – Extraction and Analysis of Essential Oils from Plants of *Chamomilla recutita*, *Cymbopogon nardus*, *Jasminum officinale* and *Pelargonium graveolens*. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 13(3), 1339–1350. <https://doi.org/10.13005/bpj/2003>
- Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323–327. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.05.083>
- Machalova, Z., Sajfrtova, M., Pavela, R., & Topiar, M. (2015). Extraction of botanical pesticides from *Pelargonium graveolens* using supercritical carbon dioxide. *Industrial Crops and Products*, 67, 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.070>
- Mahboubi, M., Feizabadi, M. M., Khamechian, T., Kazempour, N., Razavi Zadeh, M., Sasani, F., & Bekhradi, M. (2016). The Effect of *Oliveria Decumbens* and *Pelargonium Graveolens* on Healing of Infected Skin Wounds in Mice. *World Journal of Plastic Surgery*, 5(3), 259–264.

- Maldonado-Garcia, M., Angulo, C., Vazquez-Martinez, J., Sanchez, V., Lopez, M. G., & Reyes-Becerril, M. (2019). Antioxidant and immunostimulant potentials of *Chenopodium ambrosioides* L. in Pacific red snapper (*Lutjanus peru*). *Aquaculture*, 513(May), 734414. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734414>
- Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). In Vitro Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. *Journal of Tropical Medicine*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/1895340>
- Marquina Barrio, A. (2003). Inteligencia competitiva. In *UNISCI Discussion Papers*. [https://doi.org/10.5209/rev\\_UNIS.2003.n1.29484](https://doi.org/10.5209/rev_UNIS.2003.n1.29484)
- Mehdizadeh, M., Dabaghian, F. H., Shojaee, A., Molavi, N., Taslimi, Z., Shabani, R., & Asl, S. S. (2017). Protective effects of *Cyperus Rotundus* extract on amyloid  $\beta$ -peptide (1-40)-induced memory impairment in male rats: A behavioral study. *Basic and Clinical Neuroscience*, 8(3), 249–254. <https://doi.org/10.18869/nirp.bcn.8.3.249>
- Molero Gómez, A., & Martínez de la Ossa, E. (2002). Quality of borage seed oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide. *Chemical Engineering Journal*, 88(1–3), 103–109. [https://doi.org/10.1016/S1385-8947\(01\)00260-1](https://doi.org/10.1016/S1385-8947(01)00260-1)
- Nabavi, S. M., & Silva, A. (2019). *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Charlotte Cockle. Retrieved from <http://marefateadyan.nashriyat.ir/node/150>
- Naghdi Badi, H., Soroshzadeh, A., Rezazadeh, S., Sharifi, M., Ghalavand A, & Rezaei, A. (2011). *Evaluation of Phytochemical and Production Potential of Borage (Borago officinalis L.) During the Growth Cycle*. 5(2), 1–21.
- Narnoliya, L. K., Jadaun, J. S., & Singh, S. P. (2019). Essential Oil Research. *Essential Oil Research*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8>
- Nayak, B., Dahmoune, F., Moussi, K., Remini, H., Dairi, S., Aoun, O., & Khodir, M. (2015). Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels. In *Food Chemistry* (Vol. 187). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.081>
- Ogunleye, G. S., Fagbohun, O. F., & Babalola, O. O. (2020). *Chenopodium ambrosioides* var. *ambrosioides* leaf extracts possess regenerative and ameliorative effects against mercury-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Industrial Crops and Products*, 154(May), 112723. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112723>
- Oliveira, C., Schenkel, E., Mello, J., Mentz, L., & Petrovick, P. (2019). *Farmacognosia do producto natural ao medicamento*. Sao Paulo.
- Olivoto, T., Nardino, M., Carvalho, I. R., Follmann, N., Szareski, J., Ferrari, M., ... de Souza, Q. (2017). Plant secondary metabolites and its dynamical systems of induction in response to environmental factors: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 12(2), 71–84. <https://doi.org/10.5897/ajar2016.11677>
- Pękal, A., & Pyrzyńska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776–1782.

<https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>

- Peterson, A., Machmudah, S., Roy, B. C., Goto, M., Sasaki, M., & Hirose, T. (2006). Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *81*(2), 167–172. <https://doi.org/10.1002/jctb.1375>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016). Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9130976>
- Ponomareva, E. I., & Molohova, E. I. (2017). Evaluation of the Efficiency of Supercritical Carbon Dioxide Extraction for *Pelargonium graveolens* L'Her Essential Oil Production. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, *11*(8), 1270–1275. <https://doi.org/10.1134/S1990793117080097>
- Prilfish. (2012, June). Borretsch - *Borago officinalis* | prilfish | Flickr.
- Ramandi, N. F., Ghassempour, A., Najafi, N. M., & Ghasemi, E. (2017). Optimization of ultrasonic assisted extraction of fatty acids from *Borago Officinalis* L. flower by central composite design. *Arabian Journal of Chemistry*, *10*, S23–S27. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.06.009>
- Ramandi, N. F., Najafi, N. M., Raofie, F., & Ghasemi, E. (2011). Central Composite Design for the Optimization of Supercritical Carbon Dioxide Fluid Extraction of Fatty Acids from *Borago Officinalis* L. Flower. *Journal of Food Science*, *76*(9), 1262–1266. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02394.x>
- Rasul, M. G. (2018). Extraction, Isolation and Characterization of Natural Products from Medicinal Plants. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing (IJBSAC)*, (6), 2394–367.
- Reverchon, E., & De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical Fluids*, *38*(2), 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.03.020>
- Reyes-Becerril, M., Angulo, C., Sanchez, V., Vázquez-Martínez, J., & López, M. G. (2019). Antioxidant, intestinal immune status and anti-inflammatory potential of *Chenopodium ambrosioides* L. in fish: In vitro and in vivo studies. *Fish and Shellfish Immunology*, *86*(November 2018), 420–428. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.059>
- Ríos Cañavate, J. L., Francini, F., & Schinella, G. R. (2016). Produtos naturais para o tratamento da diabetes (I): Mecanismos de ação. *Revista de Fitoterapia*, *16*(1), 17–31.
- Sá, R. D., Alberto, L., Soares, L., & Randau, K. P. (2015). Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, *36*(2), 267–276.
- Sarker, S. D. (2012). Natural Products Isolation 3 edition. In *Sách chuyên khảo* (Vol. 531).

Retrieved from <http://books.google.com/books?id=Ku2wPAAACAAJ>

- Saz-Peiró, P., & Tejero-Lainez, C. (2016). Fitoterapia en la prevención y tratamiento del cáncer Phytotherapy in the prevention and treatment of cancer. *MEDICINA NATURISTA*, 10(2), 88–99.
- Seo, S. A., Park, B., Hwang, E., Park, S. Y., & Yi, T. H. (2018). Borago officinalis L. attenuates UVB-induced skin photodamage via regulation of AP-1 and Nrf2/ARE pathway in normal human dermal fibroblasts and promotion of collagen synthesis in hairless mice. *Experimental Gerontology*, 107(2017), 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.02.017>
- Seth, A. K., & Shah, B. (2010). Farmacognosia y Fitoquímica. In S. Chauhan (Ed.), *Journal of Chemical Information and Modeling* (1st ed., Vol. 53).
- Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., ... Iriti, M. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemocology to traditional healing systems. In *Molecules* (Vol. 22). <https://doi.org/10.3390/molecules22010070>
- Singh, A. (2008). *A Note on Variation of Active Principles in Indian Medicinal Plants and TIM Formulations*. 6–9.
- Singh, B., & Sharma, R. (2020). Secondary metabolites of medicinal plants: Ethnobotanical Properties, biological activity and production strategies. In *Africa's potential for the ecological intensification of agriculture*.
- Soni, U., Brar, S., & Gauttam, V. K. (2015). Effect of Seasonal Variation on Secondary Metabolites of Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(9), 3654–3662. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6\(9\).3654-62](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6(9).3654-62)
- Stashenko, E. E., Jaramillo, B. E., & Martínez, J. R. (2004). Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of Lippia alba (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 1025(1), 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.058>
- Stratakos, A. C., & Koidis, A. (2016). Methods for extracting essential oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3>
- Thacheril, S., Shiburaj, S., & Sabu, S. (2020). Plant Metabolites: Methods, Applications and Prospects. In *Plant Metabolites: Methods, Applications and Prospects*. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-5136-9>
- van Wyk, B., & Wink, M. (2017). Medicinal plants of the world. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (2nd ed., Vol. 53).
- Villalobos-Delgado, L. H., González-Mondragón, E. G., Salazar Govea, A. Y., Andrade, J. R., & Santiago-Castro, J. T. (2017). Potential application of epazote (Chenopodium

- ambrosioides L.) as natural antioxidant in raw ground pork. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.076>
- Villalobos, L. H., Gonzáles, E. G., Salazar, A. Y., Santiago, J. T., & Andrade Ramírez, J. (2016). Efecto antioxidante de epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) en carne molida cruda de bovino. *Nacameh, ISSN-e 2007-0373, Vol. 10, N° 2, 2016, Págs. 35-48, 10(2)*, 35–48.
- Weidner, C., Rousseau, M., Plauth, A., Wowro, S. J., Fischer, C., Abdel-Aziz, H., & Sauer, S. (2016). Iberis amara extract induces intracellular formation of reactive oxygen species and inhibits colon cancer. *PLoS ONE*, 11(4), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152398>
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., ... Li, H. Bin. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 20–31. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>
- Youssef, M. M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1), 31–42. <https://doi.org/10.12816/0025348>
- Zemmouri, H., Ammar, S., Boumendjel, A., Messarah, M., El Feki, A., & Bouaziz, M. (2019). Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis* L. leaf extract growing in Algeria. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 1954–1963. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.059>
- Zribi, I., Bleton, J., Moussa, F., & Abderrabba, M. (2019). GC-MS analysis of the volatile profile and the essential oil compositions of Tunisian *Borago Officinalis* L.: Regional locality and organ dependency. *Industrial Crops and Products*, 129(November 2018), 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.021>