



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Caracterización morfológica, molecular y
químico-taxonomía de las plantas
Scutellaria incarnata Vent y *Justicia
pectoralis* Jacq utilizadas en la medicina
tradicional para el control de síntomas
asociados a trastornos emocionales**

Jesús Hélmer Álvarez Sandoval

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Escuela de Posgrados
Sede Palmira, Colombia

2017

**Caracterización morfológica, molecular y
químico-taxonomía de las plantas
Scutellaria incarnata Vent y *Justicia
pectoralis* Jacq utilizadas en la medicina
tradicional para el control de síntomas
asociados a trastornos emocionales**

Jesús Hólmer Álvarez Sandoval

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título

Doctor en Ciencias Agropecuarias

Director: Ph.D., Mario Augusto García Dávila

Jurados:

John Albeiro Ocampo Perez
Ing. Agr. M. Sc. Ph. D.

Ricardo Benitez Benitez
Químico, M. Sc. Ph. D

Enrique Javier Peña S.
Biólogo M. Sc. Ph. D

Línea de Investigación: Mejoramiento Genético Vegetal

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Sede Palmira
2017

Dedicatoria

A todas aquellas personas que por su condición de humanidad se ven expuestas a una incesante cadena de eventos que trastornan su divina condición de armonía y alegría otorgada por mi amado y glorioso ABBA.

A mis amados padres, hijos, nietos, hermanos, sobrinos y cuñado quienes motivan mi curiosidad y mi afán de ser proveedor de soluciones para su bienestar.

A mi querido estómago, garante energético de mi ambicioso cerebro, gestores de amor para la preservación y egoísmo para la evolución. Perfectos disociadores de la humanidad.

*Jesús Hólmer Álvarez Sandoval
Albert Einstein*

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira en donde me he formado profesionalmente y en sus instalaciones he podido desarrollar todas mis investigaciones.

A Mario Augusto García quien con su generosa dirección guio este trabajo de investigación y me alentó a terminarlo.

A Ricardo Benítez Benítez quien junto con Clara Inés Giraldo aportó sus valiosos conocimientos para permitirme consolidar y culminar esta investigación

A Juan Carlos Menjivar amigo que siempre me invita a realizar actividades que mejoran mi capacidad de comprensión y conciencian mi ignorancia.

A la Universidad del Cauca en donde realice la investigación de caracterización quimio-taxonomica

Al personal profesional de Agroinnova quienes apoyaron mi lucha diaria y muy especialmente a su Directora la M. Sc. en Administración de Empresas Olga Lucia Agudelo López.

A Yamileth Chagüeza quien me apoyó y acompañó en el proceso de generación de conocimiento.

Resumen

En los laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, los del departamento de productos naturales de la Universidad del Cauca y la planta de procesamiento de Agroindustrias Savia S.A.S. se realizó la caracterización morfológica, molecular y quimio-taxonómica de las plantas *Scutellaria incarnata* Vent y *Justicia pectoralis* Jacq. Investigación dirigida a la consolidación de información científica pertinente para la obtención del registro INVIMA para dos productos fitoterapéuticos extraídos en un proceso de industrialización de dichas plantas. Los extractos presentan características medicinales que pueden controlar los síntomas que producen la tristeza, la angustia, la ansiedad, la depresión, la irascibilidad, el llanto fácil y el estrés. Todas, enfermedades del estado de ánimo y que son la segunda causa de ausentismo laboral en el mundo. Las caracterizaciones se hicieron usando partes vegetales áreas de cada una de las plantas, se aplicaron los protocolos recomendados por el Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGR) y la Organización Mundial para la Salud (OMS). Una vez realizados todos los protocolos, se encontró que los dos materiales estudiados presentan características morfológicas de carácter cuantitativo que permiten establecer, entre las variables estudiadas, diferencias significativas que pueden ser usadas para posteriores trabajos de mejoramiento genético, situación que no se presentó en las variables cualitativas, los descriptores referenciados permitieron conocer el grado de afinidad entre y dentro de las especies estudiadas. La caracterización molecular pudo establecer que para *Scutellaria incarnata* Vent, se encontró mayor variabilidad intraespecífica que en *Justicia pectoralis* Jacq. En la caracterización quimio-taxonómica se pudo detectar la presencia de taninos, fenoles, flavonoides, saponinas, terpenoides y cumarinas; todos compuestos químicos que pueden ser causantes de actividad biológica. Son de especial interés

- X Caracterización morfológica, molecular y quimio-taxonómica de las plantas *Scutellaria incarnata* Vent y *Justicia pectoralis* Jacq utilizadas en la medicina tradicional para el control de síntomas asociados a trastornos emocionales
-

las cumarinas presentes en plantas de estos géneros y causantes en asocio con los otros metabolitos presentes, de actividades que van desde antioxidantes hasta anticancerígenos. Como resultado final de esta investigación se pudo obtener del INVIMA el certificado de no obligatoriedad, lo que permite la comercialización de los productos elaborados por la empresa agroindustrial Agroindustrias Savia S.A.S.

Palabras clave: *Scutellaria incarnata* Vent, *Justicia pectoralis* Jacq, caracterización molecular, morfológica y quimio-taxonómica.

Abstract

In the Universidad Nacional de Colombia's laboratories, Palmira's headquarters, the people from the natural product department of the Universidad del Cauca and the processing factory of Agroindustrias Savia S.A.S. the morphological, molecular and chemo-taxonomic characterization of the plants named *Scutellaria incarnata* Vent and *Justicia Pectoralis* Jacq were made. Research directed to consolidate the corresponding scientific information to obtain the INVIMA registers for two phytotherapeutic products extracted in an industrialized process from the plants mentioned. The extracts present medicinal characteristics that can control the symptoms that cause, sadness, anxiety, anguish, depression, irascibility, the easy crying and stress. All, diseases of the state of mind and that are the second cause of job absence in the world. The characterizations were done using aerial vegetable parts of every plant; recommended protocols by the Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGR) and the Organización mundial para la Salud (OMS) were applied. Once all the protocols were done, it was found that the studied materials present morphological characteristics that allow classifying them as significantly different at a genetic level, there exist a significant relationship between the studied variables and its descriptors allow knowing the grade of affinity between and inside the studied species. The molecular characterization could stablish that for *Scutellaria incarnata* Vent, the environment influences significantly its genetic variability levels, the same happens in a lower level for *Justicia pectoralis* Jacq. In the chemo-taxonomic characterization it was detectable the presence of tannin, phenols, flavonoids, saponins, terpenoids and coumarins; All chemical compounds that can be the possible source of

biological activity. Coumarins are of special interest and they are present in plants of these genders and are the source in the association of other present metabolites from activities that go from antioxidants to anticarcinogenics. As a result of this research the no obligatory nature INVIMA certification was obtained, which allows the commercialization of the products elaborated by the agro industrial company Agroindustrias Savia S.A.S.

Keywords: *Scutellaria incarnata* Vent, *Justicia pectoralis* Jacq, molecular, morphological and chemo-taxonomic characterization

Contenido

	Pág.
1. Introducción General.....	21
1.1 Localización.....	22
2. Marco Teórico	23
2.1 Descripción taxonómica y botánica.....	26
2.1.1 <i>Justicia pectoralis</i> Jacq.....	26
2.1.1.1. Taxonomía.....	27
▪ 2.1.1.2. Descripción botánica	28
2.1.2 <i>Scutellaria incarnata</i> Vent.....	28
▪ 2.1.2.1. Taxonomía	29
▪ 2.1.2.2. Descripción botánica	29
3. Capítulo I. Caracterización morfológica de las especies <i>Scutellaria incarnata</i> Vent y <i>Justicia pectoralis</i> Jacq.....	31
3.1 Introducción.....	33
3.2 Materiales y métodos.....	34
3.3 Recolección del material vegetal.....	34
3.4 Caracterización morfológica.....	38
3.4.1 Manejo del material vegetal.....	39
3.4.2 Obtención de los datos objeto de análisis.....	40
3.5 Resultados y discusion.....	45
3.6 Conclusiones.....	51
3.7 Bibliografía.....	51
4. Capítulo II. Caracterización molecular de los genotipos de <i>Scutellaria incarnata</i> Vent y <i>Justicia pectoralis</i> Jacq utilizando marcadores microsatelites	RAM's 55
4.1 Introducción.....	57
4.2 Materiales y métodos.....	59
4.2.1 Colecta de germoplasma.....	59
4.2.2 Caracterización molecular mediante RAM's.....	62
4.2.2.1. Extracción de DNA	62
4.2.2.2. Evaluación de cantidad y calidad de DNA.....	63
4.2.2.3. Metodología para la amplificación con marcadores RAM's.....	65
4.2.3 Análisis de datos.....	67
4.3 Resultados y discusión.....	68
4.3.1 Extracción de ADN.....	68
4.3.2 Caracterización por marcadores moleculares RAM's.....	68
4.3.3 Coeficiente de diferenciación genética (Fst).....	70

4.3.4	Análisis descriptivo	71
4.3.5	Distancia genética.....	74
4.3.6	Análisis de varianza molecular	76
4.4	Conclusiones.....	78
4.5	Bibliografía.....	79
5.	Capítulo III. Caracterización fitoquímica de las especies <i>Scutellaria incarnata</i> Vent y <i>Justicia pectoralis</i> Jacq.....	81
5.1	Introducción	83
5.2	Materiales y métodos	85
5.2.1	Localización	85
5.2.2	Recolección del material vegetal.....	85
5.2.3	Caracterización fitoquímica.....	86
▪	5.2.3.1. Manejo del material vegetal	86
▪	5.2.3.2. Obtención de metabolitos primarios y secundarios	88
5.2.4	Tamizaje fitoquímico.....	93
5.2.5	Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de <i>Scutellaria incarnata</i> y <i>Justicia pectoralis</i>	98
5.2.6	Determinación del contenido de fenoles totales por el ensayo de Folin-Ciocalteu.....	100
5.3	Método de evaluación citotóxica	101
5.3.1	Tratamiento de linfocitos con extracto de <i>S. incarnata</i> y <i>J. pectoralis</i>	101
5.3.2	Efecto del extracto de <i>S. incarnata</i> y de <i>J. pectoralis</i> sobre linfocitos.....	103
5.3.3	Espectrometría de masas.....	103
5.4	Resultados y discusión.....	105
5.4.1	Extracción y fraccionamiento de los extractos etanólicos de <i>J. pectoralis</i> y <i>S. incarnata</i>	105
▪	Tamizaje fitoquímico	105
5.5	Evaluación de la actividad antioxidante.....	110
5.5.1	Método del DPPH.....	110
5.5.2	Método ABTS.....	113
5.5.3	Método de decoloración del β -caroteno.....	115
5.5.4	Elucidación de las estructuras encontradas en algunas muestras de los extractos etanólicos de las plantas <i>S. incarnata</i> y <i>J. pectoralis</i> por espectrometría de masas (método MALDI/TOF).....	116
5.6	Conclusiones.....	134
5.7	Bibliografía.....	134

Lista de figuras

	Pág.
<i>Figura 3-1. Forma de la hoja</i> _____	43
<i>Figura 3-2. Margen de la hoja</i> _____	44
<i>Figura 3-3. Ápice de la hoja</i> _____	44
<i>Figura 4-1. Dendrograma para Scutellaria incarnata obtenido con el coeficiente de Dice Nei Li (1978)</i> __	72
<i>Figura 4-2. Dendrograma para Justicia pectoralis obtenido con el coeficiente de Dice Nei Li (1978)</i> ____	73
<i>Figura 4-3. Dendrograma de las cinco agrupaciones de los sitios de muestreo de Scutellaria incarnata.</i> _	75
<i>Figura 4-4. Dendrograma de las tres agrupaciones de los sitios de muestreo de Justicia pectoralis.</i> _____	76
<i>Figura 4-5. Porcentaje de varianza molecular para cinco grupos de colecta de Scutellaria incarnata.</i> __	77
<i>Figura 4-6. Porcentaje de varianza molecular para tres grupos de colecta de Justicia pectoralis</i> _____	78
<i>Figura 5- 1. Equipo Soxhlet utilizado en la investigación</i>	89
<i>Figura 5- 2. Extractos de las plantas con la relación 1:1, metanol/agua.</i>	89
<i>Figura 5- 3. Muestra liofilizadas Scutellaria incarnata.</i>	90
<i>Figura 5- 4. Muestra liofilizadas Justicia pectoralis.</i>	90
<i>Figura 5- 5. Montaje de la separación por columna utilizada en la investigación</i>	91
<i>Figura 5- 6. Fracciones (51) con base en la relación (1/3) diclorometano/metanol.</i>	92
<i>Figura 5- 7. Fracciones colectadas (19) en metanol.</i>	92
<i>Figura 5- 8. Fracciones colectadas (22) acuosas</i>	93
<i>Figura 5- 9. Curva de calibración del método trolox-ABTS.</i>	114
<i>Figura 5- 10. Resultados del método trolox-ABTS con las muestras S. incarnata y J. pectoralis</i>	115
<i>Figura 5- 11. Resultados de la decoloración del β-caroteno.</i>	115
<i>Figura 5- 12 Nomenclatura y principales fragmentaciones de los flavonoides.</i>	117
<i>Figura 5- 13. Espectro de masas del kaempferol obtenido de las fracciones obtenidas de las plantas S. incarnata y J. pectoralis.</i>	119
<i>Figura 5- 14. Espectro de masas del kaempferol y sus posibles fragmentaciones.</i>	119
<i>Figura 5- 15. Mecanismo propuesto para la formación del m/z 258 del kaempferol.</i>	120
<i>Figura 5- 16. Fragmentación m/z 229 para el kaempferol.</i>	120
<i>Figura 5- 17. Fragmentación m/z 213 del kaempferol.</i>	121
<i>Figura 5- 18. Fragmentación m/z 121 del kaempferol.</i>	121
<i>Figura 5- 19. Fragmentos primarios y secundarios de kaempferol. (March, 2004)</i>	122
<i>Figura 5- 20. Espectro de masas del umbeliferona obtenido de las fracciones de las plantas S. incarnata y J. pectoralis.</i>	123
<i>Figura 5- 21. Espectro de masas de la umbeliferona y sus principales fragmentaciones.</i>	124

Figura 5- 22. Fragmentaciones primarias para umbeliferona.....	124
Figura 5- 23. Espectro de masas del Quercetina obtenido de las fracciones de las plantas <i>S. incarnata</i> y <i>J. pectoralis</i>	125
Figura 5- 24. Espectro de masas de la Quercetina y sus principales fragmentaciones.....	126
Figura 5- 25. Fragmentación m/z 245 de la quercetina.....	126
Figura 5- 26. Fragmentación m/z 153 de la quercetina.....	127
Figura 5- 27. Fragmentaciones de m/z 165, m/z 137 y m/z 109 para el quercetina.....	127
Figura 5- 28. Fragmentaciones primarias y secundarias para la quercetina.....	127
Figura 5- 29. Espectro de masas de 5, 7,3',4'-tetrahidroxiflavona obtenido de las fracciones de las plantas <i>S. incarnata</i> y <i>J. pectoralis</i>	129
Figura 5- 30. Espectro de masas del 5, 7,3',4'-tetrahidroxiflavona y sus principales fragmentaciones.....	129
Figura 5- 31. Fragmentación de m/z 286 y de m/z 134 para 5, 7,3',4'-tetrahidroxiflavona. (Kethen, 2014)	130
Figura 5- 32. Fragmentaciones primarias para la 5, 7,3',4'-tetrahidroxiflavona. (Kethen 2014).....	130
Figura 5- 33. Espectro de masas de la flavanona obtenido de las fracciones de las plantas <i>S. incarnata</i> y <i>J. pectoralis</i>	131
Figura 5- 34. Espectro de masas de la FLAVANONA y sus principales fragmentaciones.....	132
Figura 5- 35. Fragmentación m/z 241de la flavanona.....	132
Figura 5- 36. Fragmentaciones primarias y secundarias para la flavanona.....	133

Lista de fotos

<i>Foto 1. Ubicación geográfica de los sitios de Muestreo</i>	22
<i>Foto 3- 1. Plantas de Scutellaria incarnata en el bosque y zonas aledañas</i>	35
<i>Foto 3- 2. Eras de Justicia pectoralis</i>	35
<i>Foto 3- 3. Medición de la altura de planta</i>	40
<i>Foto 3- 4. Medición de lámina foliar</i>	41
<i>Foto 3- 5. Medición ancho lámina foliar</i>	42
<i>Foto 3- 6. Medición longitud del peciolo. Izquierda J. pectoralis, derecha S. incarnata</i>	42
<i>Foto 4-1. Parte del proceso de extracción de ADN</i>	62
<i>Foto 4- 2. ADN total de las muestras colectadas de las especies Scutellaria incarnata y Justicia pectoralis</i>	62

Lista de tablas

<i>Tabla 3-1. Materiales de Scutellaria incarnata y Justicia pectoralis colectados en el Cauca y Valle del Cauca</i>	36
<i>Tabla 3-2. Medición de la altura de planta</i>	40
<i>Tabla 3-3. Resultados del análisis de estadística descriptiva</i>	45
<i>Tabla 3-4. Características de las hojas de Scutellaria incarnata y Justicia pectoralis</i>	46
<i>Tabla 3-5. Resultados de prueba de cuadrados medios y rangos múltiples de Duncan para los datos obtenidos de S. incarnata y J. pectoralis</i>	47
<i>Tabla 3-6. Componentes principales para Justicia pectoralis</i>	47
<i>Tabla 3-7. Contribución de las variables a los componentes principales de Justicia pectoralis</i>	48
<i>Tabla 3-8. Componentes principales para Scutellaria incarnata</i>	48
<i>Tabla 3-9. Contribución de las variables a los componentes principales de Scutellaria incarnata</i>	49
<i>Tabla 3-10. Agrupamientos de Justicia pectoralis</i>	49
<i>Tabla 3-11. Agrupamientos de Scutellaria incarnata</i>	50
<i>Tabla 4-1. Materiales de Scutellaria incarnata y Justicia pectoralis colectados en el Cauca y Valle del Cauca.</i>	60
<i>Tabla 4-2. Cálculos para dilución de ADN total a 10 ng/μl</i>	64
<i>Tabla 4-3. Cebadores Utilizados en la técnica Microsatelites RAM para las dos especies.</i>	65
<i>Tabla 4-4. Perfil térmico para los cebadores seleccionados para el estudio.</i>	66
<i>Tabla 4-5. Condiciones para coctel de PCR.</i>	66
<i>Tabla 4-6. Cebadores usados en la Genotificación de Scutellaria incarnata y Justicia pectoralis.</i>	69
<i>Tabla 4-7. Heterocigosidad y porcentaje de loci polimórficos total y por grupos</i>	70
<i>Tabla 4-8. Clasificación de la diferenciación genética de acuerdo al Fst propuesta por Wright -1978</i>	71
<i>Tabla 4-9. Distancia genética entre las cinco poblaciones de Scutellaria incarnata</i>	74
<i>Tabla 4-10. Distancia genética entre las tres poblaciones de Justicia pectoralis.</i>	74
<i>Tabla 4-11. Loci que soportan la construcción de los dendrogramas de distancia de Nei Li para las agrupaciones de muestreo de Scutellaria incarnata y Justicia pectoralis.</i>	75
<i>Tabla 4-12. Análisis de varianza molecular para los cinco grupos formados por Scutellaria incarnata.</i>	76
<i>Tabla 5-1. Interpretación del cambio de coloración.</i>	94
<i>Tabla 5-2. Altura de la espuma en el tubo da una idea de la cantidad de saponinas.</i>	96
<i>Tabla 5-3. Interpretación del cambio de coloración.</i>	97
<i>Tabla 5-4. Resultados de extracción con diferentes solventes para Justicia pectoralis y Scutellaria incarnata.</i>	106
<i>Tabla 5-5. Resultados de las pruebas Fitoquímicas en CCD para el extracto de Justicia pectoralis.</i>	108

1. Introducción General

En este documento y para una mejor comprensión del mismo, el lector encontrara tres capítulos que, en el formato de artículos científicos, describe la metodología y los resultados obtenidos de la investigación desarrollada para poder corroborar o negar lo planteado a través del objetivo general y sus específicos.

Esta investigación surge en el marco del concepto de la bioprospección, sus resultados permitieron ampliar el escaso conocimiento científico desde las áreas de botánica-taxonómica y fitoquímica de dos especies silvestres con alto potencial fitoterapéutico; también la variabilidad genotípica expresada en características no visibles, (Chávez, 2003; Hidalgo, 2003), de las especies referenciadas, *Scutellaria incarnata* Vent y *Justicia pectoralis* Jacq. Las cuales permiten avanzar en la utilización de nuevos metabolitos asociados a genomas con alta posibilidad de generar recursos económicos importantes que pueden consolidar nuevos emprendimientos agroindustriales, coincidiendo con lo expresado por Ferreira y otros en el año 1996. Quienes junto con Chapela, 1996, enmarcan la bioprospección como la “búsqueda intensa de metabolitos novedosos a partir de fuentes naturales...para un mayor uso de la biodiversidad”.

En las siguientes páginas y hasta el inicio del primero de los capítulos se podrá leer aspectos generales al desarrollo de las tres caracterizaciones realizadas, es información relevante y se sustrae de cada capítulo para no repetirla en los mismos y se debe entender como parte estructural de ellos, si estos se leen de manera independiente.

1.1 Conclusiones

Los extractos etanólicos obtenidos de las plantas *Scutellaria incarnata* y *Justicia pectoralis* contienen metabolitos que poseen propiedades ansiolíticas y antioxidantes.

Los productos elaborados por Agroindustrias Savia S.A.S con las partes aéreas de *Scutellaria incarnata* y *Justicia pectoralis* son inocuos a la salud humana en las concentraciones en las que se comercializa y sus características fitoquímicas se conservan como mínimo durante un año.

Con base en el conocimiento etnobotánico y atendiendo a la demanda cada vez más creciente de productos fitoterapéuticos, por su gran potencial medicinal, se considera social y económicamente viable la producción de extractos a partir de las partes aéreas de *Scutellaria incarnata* y *Justicia pectoralis* para tratar enfermedades del estado del ánimo.

1.2 Bibliografía

- Afolayan, A. J.; O. M.Aboyade; M. O.Sofidiya (2008). Total phenolic content and free radical scavenging activity of *Malva parviflora* L.(Malvaceae). *Journal of Biological Science* Vol.8, Pp 945-949.
- Agarwal, R. and Mukhtar, H. (1996).Cancer chemoprevention by polyphenols in Green Tea and Artichoke. In: *Dietary Phytochemicals in Cancer prevention and treatment*. Adv. Experim. Med. Biol.vol. 35,P. p. 401.
- Agencia del Gobierno de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID). *Plantas medicinales y aromáticas una alternativa de producción comercial* [online]. Primera edición. [Asunción; Paraguay].2010 [consultado5octubre 2014]. Disponible en:
http://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas_medicinales.pdf
- Bilbao, M., (1997). Análisis Fitoquímico Preliminar Armenia: Universidad del Quindío, *Biomembranes*, vol. 1237, pp 77-85.
- De Sousa A. (2013). Herbal medicines and anxiety disorders: anoverview. *Journal of Medicinal Plants Studies* vol. 1, pp, 18-23.
- De Vries J, Tauscher B, Wurzel G, (1988). Constituents of *Justicia pectoralis* Jacq. 2. Gas chromatography/mass spectrometry of simple coumarins, 3-phenylpropionic acids and their hydroxy and methoxy derivatives. *Biomed Environ Mass Spectrom*, vol.15, pp, 413-417.
- Escobar L, Alfonso P y Aristizábal F. (2009). Valoración de dos métodos de tinción en dos ensayos de citotoxicidad sobre líneas celulares tumorales. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol XI, pp, 49-56.
- Fatemeh, K y Khosro, P.(2013). In vitro cytotoxic activity of aqueous root extract of *Althea kurdica* against endotelial human bonemarrow cells (line k562) and human lymphocytes.*Bull Environm Pharmacol Life Sci.* Vol. 2, pp, 23-29.
- García, A. F. J. (2005). Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Murcia, Universidad de Murcia. Tesis Doctoral Europea

- Guevara, H., Luengas, P y Garavito, G. (2010). Revisión documental de los productos naturales legalmente autorizados para su mercadeo en Colombia. Colombia Médicavol. 41, pp, 129-140.
- Jiangsu New Medical College, (1977). Dictionary of Chinese Materia Medical. Science and Technology Press of Shanghai, ShangHai (in Chinese).
- K. Kethen, "Abiotic Degradations/transformations of EDCs through Oxidation Processes", Endocrine Disruptors in the Environment, 2014.
- Kavas, Aysegül, Dilek Kes Kin, Korhan Altumbas and Ayson Tezcanar. "Raloxifene/raloxifene-poly (ethylene glycol) conjugate-loadad microphares: A novel strategy for drug delivery to bone farmacing cells", International journal of Pharmaceutics, 2016.
- Kuskoski E; A. Asuero; A. Troncoso; J. Manzini-Filho, R. Fett (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Tecnol. Aliment.vol, 25, pp.726-732.
- Mabry T.J., K.R. Markham, in: J.B. Harborne, T.J. Mabry, H. Mabry (Eds.), (1975). The Flavonoids, Academic Press, New York, pp. 78.
- March, R. e., "A fragmentation study of Kaempferol using electrospray quadropole time-of-flight mass spectrometry at high mass resolution" International Journal of Mass Spectrometry, 2004 02.
- Matos, Luciana Guilhem de (Montoyama, Andrea Barreto). "Expressao de genes relacionados a pluripotencia em pacientes acometidos con leucemia linfoide aguda infantil", RIUnB, 2013
- O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T. y Pognan, F. (2002). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. European Journal of Biochemistry 267: 5421-5426. *officinalis* L.) como fuentes naturales de antioxidantes. Investigación Universitaria.
- Organización mundial de la salud (OMS), 2002 [citado 17 mayo 2014].
- Raymond E. March; M. Xiu-Sheng (2004). A fragmentation study of kaempferol using electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry at high mass resolution. International Journal of Mass Spectrometry. Vol. 231. Pp157–167.
- Rojano, A.; M. Botero; C. Monsalve y S. Ricaute (2007). Capacidad reductora de 15 frutas tropicales. Scientia et Technica. Vol. 8, Pp 295-296.

-
- Rout S and Banerjee R. (2007). Free radical scavenging, anti-glycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punicagranatum*. *Bioresource Technology* vol.98, pp,3159-3163.
- Sánchez, Y.G.; L.A. Rondón; R.E. Hermosilla y M.S. Almeida (2010). Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas, tallos y flores de la *Helychrysum bracteatum*. *Revista Química Viva*. Vol.1, Pp 40-45.
- Sarris J, Panossian A, Schweitzer I, Stough C y Scholey A. (2011). Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: A review of psychopharmacology and clinical evidence. *European Neuropsychopharmacology*, vol. 21, pp, 841-860.
- Satyendra Suryamanshi. "Liquid chromatography/tandem mass spectrometric study and analysis of the xanthone and secoiridoid glycoside composition of *Swertia chirata*, a potent antidiabetic", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 12/30/2006
- Siramon P and Ohtani Y. (2007). Antioxidative and antiradical activities of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand. *J. Wood Sci.* vol. 53, pp, 498-504.
- Sollozo, M.I., Estrada E y López C. (2011). Medicina tradicional: estudios preclínicos de plantas con propiedades ansiolíticas. *El Residente VI* (2), pp, 78-84.
- Sowemimo AA, Adio O and Fageyinbo S. (2011). Anticonvulsant activity of the methanolic extract of *Justicia extensa* T. Anders. *Journal of Ethnopharmacology*, vol.138, pp, 697-699.
- Takuo O; Y. Takashi; H. Tsutomu (1991). Chemistry and antioxidative effects of phenolic compounds from Licorice tea and composite and Labiate Herbs.
- Takao, L. K., M Imatomi and S. C. J. Galtien. "Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna)" *Brazilian Journal of Biology*, 2015
- Tiwari, Ashok (2001). Imbalance in antioxidant defence human diseases: Multiple approach of natural antioxidant therapy. *Current Science*. November. Vol. 81. Pp 1179-1187.
- Vásquez O, Alba A y Marreros J. (2001). Extracción y caracterización del aceite esencial de jengibre (*Zingiber officinale*). *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, vol. 1, pp, 38- 42.

- W. Chen, Wendy, Geng-yao Quin, Ting Zhang and Won-Yong Feng. "in vitro Drug Metabolism of Green Tea Catechins in Human, monkey, Dog, Rat and mouse Hepatocytes" Drug Metabolism letters, 2012.
- Yara, E., Suescun, F., Murillo E y Méndez JJ. (2007). Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante de extractos acuoso y orgánicos de *Justicia pectoralis* Jacq. (amansa toros) y de volátiles y no volátiles de *Lippia alba* Mill (pronto alivio) cultivadas en diferentes pisos térmicos. *Scientia et Technica* Año, vol. XIII, pp, 349-350.
- Zhang, Z., Lian, X., Li S and Stringer JL. (2009). Characterization of chemical ingredients and anticonvulsant activity of American skullcap (*Scutellaria lateriflora*). *Phytomedicine*, vol. 16, pp 485-493. 82 Viviana Zúñiga.
- Zhi-Jun Wu. "Analysis of caffeic acid derivatives from *Osmanthus yunnanensis* using electrospray ionization quadrupole time-flight mass spectrometry", *European Journal of Mass Spectrometry*, 2009