



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
UNIDAD XOCHIMILCO. División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Formato SS-T

**SOLICITUD DE TÉRMINO DE SERVICIO SOCIAL**

Mtra. María Elena Contreras Garfias  
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

**Datos del Alumno**

Nombre : Ivo Heyerdahl Viau	
Matrícula : 2163062611	Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica
Domicilio : Taxquena, 1818. Interior K-41. Colonia Paseos de Taxquena. CP 04250	
Teléfono : 5556460681	Celular : 5550551798
Correo Electrónico : ivoheyerdahl@gmail.com	CURP : HEVI970817HDFYX02

**Datos del Proyecto**

Nombre del Proyecto :	Revisión sobre las características, propiedades terapéuticas y obtención de flavonoides						
Lugar donde se realizó el Servicio Social :	Laboratorio de Biotransformaciones (N-201)						
Dependencia :	Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco						
Entidad Federativa :	Distrito Federal						
Municipio :	Coyoacán			Localidad :	CDMX		
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	20	11	2020		20	5	2021

**PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES**

Sector:	1.- Educativo	Tipo:	2.- Interno
Orientación:	10.- Otros		

 Liliana Hernández Vázquez 27790 Asesor Interno Nombre, firma y No. Económico  Ivo Heyerdahl Viau Alumno Nombre, firma	<b>FIRMAS</b>  Héctor Manuel Luna Contla 6252 Asesor Externo Nombre, firma y No. Económico  Felipe Mendoza Pérez Vo. Bo. de la Comisión Nombre y firma de la persona que autoriza
---	---

Ciudad de México., a 20 de mayo de 2021.

**Mtra. Mará Elena Contreras Garfias**  
**Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud**  
**Universidad Autónoma Metropolitana**  
**PRESENTE**

Por medio de la presente, me permito comunicar a usted que el (la) alumno (a): **IVO HEYERDAHL VIAU**, con matrícula **2163062611** concluyó el proyecto de Servicio Social "**REVISIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS, PROPIEDADES TERAPÉUTICAS Y OBTENCIÓN DE FLAVONOIDES**", que se realizó en el **LABORATORIO DE BIOTRANSFORMACIONES (N-201)**, ubicado en **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA - XOCHIMILCO** del **20 de Noviembre de 2020 al 20 de Mayo de 2021** bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE



---

Asesor Interno  
Dra. Liliana Hernández Vázquez  
Cargo Profesor Titular C  
No. económico: 27790

Ciudad de México., a 20 de mayo de 2021.

**Mtra. Mará Elena Contreras Garfias**  
**Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud**  
**Universidad Autónoma Metropolitana**  
**PRESENTE**

Por medio de la presente, me permito comunicar a usted que el (la) alumno (a): **IVO HEYERDAHL VIAU**, con matrícula **2163062611** concluyó el proyecto de Servicio Social "**REVISIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS, PROPIEDADES TERAPÉUTICAS Y OBTENCIÓN DE FLAVONOIDES**", que se realizó en el **LABORATORIO DE BIOTRANSFORMACIONES (N-201)**, ubicado en **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA - XOCHIMILCO** del **20 de Noviembre de 2020** al **20 de Mayo de 2021** bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE



---

Asesor Interno  
Dr. Héctor Manuel Luna Contla  
Cargo Profesor Titular C  
No. económico: 6252



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica**

**Informe de servicio social**

**“REVISIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS,  
PROPIEDADES TERAPÉUTICAS Y OBTENCIÓN DE  
FLAVONOIDES”.**

Nombre: Ivo Heyerdahl Viau

Matrícula: 2163062611

Asesores:

Dra. Liliana Hernández Vázquez

Dr. Héctor Manuel Luna Contla

Lugar de realización: Laboratorio de Biotransformaciones

Fecha de inicio y término: 20-Nov-2020 - 20-May-2021

Fecha de término: 20-Mayo-2021

## **DATOS DEL PROYECTO:**

**Título del proyecto específico:** Revisión sobre las características, propiedades terapéuticas y obtención de flavonoides.

**Proyecto genérico correspondiente:** Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

**Etapas:** Extracción de principios activos o sustancias auxiliares a partir de productos naturales.

**Lugar de realización:** Laboratorio de Biotransformaciones, UAM-X.

**Fecha de inicio y término:** del 20-Nov-2020 al 20-May-2021

**Asesor(a) Responsable Interno(a):** Liliana Hernández Vázquez

**Asesor(a) Responsable Interno(a):** Héctor Manuel Luna Contla

**Alumno:** Ivo Heyerdahl Viau

**Matrícula:** 2163062611

**División:** Ciencias Biológicas y de la Salud (CBS).

**Departamento:** Departamento de Sistemas Biológicos.

**Licenciatura:** Química Farmacéutica Biológica (QFB).

**Vinculación con el perfil profesional:** Vinculación con los módulos de cuarto y quinto de la carrera de Química Farmacéutica Biológica. Principalmente en el aislamiento, purificación e identificación de compuestos con actividad biológica.

## LISTA DE ABREVIATURAS:

**5-HT:** Serotonina.

**ACE:** Enzima convertidora de angiotensina.

**ACE2:** Enzima convertidora de angiotensina 2.

**ChCl:** Cloruro de colina.

**CHIKV:** Virus de Chikunguya.

**COX:** Ciclooxygenasas.

**CP:** Punto crítico.

**CPE:** Extracción por punto de enturbiamiento.

**DA:** Dopamina.

**DES:** Disolventes eutécticos profundos.

**DPA-FL:** 6-(bis (piridin-2-ilmetil) amino)-2-(4-(dimetilamino) fenil)  
-3-metoxi-4H-cromen-4-ona.

**DPCs:** Células de la papila dérmica.

**DSSC:** Celdas solares sensibilizadas con colorante.

**DW:** Peso seco.

**EAE:** Extracción asistida por enzimas.

**EBOV:** Virus del Ébola.

**EC<sub>50</sub>**: Concentración efectiva media.

**FDA**: *Food and Drug Administration*.

**FW**: Peso fresco.

**GAE**: Equivalentes de ácido gálico.

**HAE**: Extracción asistida por homogeneizado.

**HRE**: Extracción por reflujo calentado.

**IC<sub>50</sub>**: Concentración inhibidora media.

**ICPH**: Conferencia Internacional de Polifenoles y Salud.

**IR**: Infrarrojo.

**IRAE**: Extracción asistida por infrarrojo.

**JEV**: Virus de encefalitis japonés.

**LOX**: Lipooxigenasas.

**MAE**: Extracción asistida por microondas.

**MAOs**: Monoaminooxidasas.

**MBAE**: Extracción mecanobiológica.

**MCAE**: Extracción mecanoquímica.

**MPO**: Mieloperoxidasa.

**MSPD**: Dispersión de matriz en fase sólida.

**MTT**: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio.

**MW:** Microondas.

**NA:** Noradrenalina.

**NO:** Óxido nítrico.

**NOS:** Especies reactivas de nitrógeno.

**NPCE:** Extracción por cavitación de presión negativa.

**PEF:** Campo eléctrico pulsado.

**PLE:** Extracción con líquido presurizado.

**PMF:** Flavonoides polimetoxilados.

**RE:** Equivalentes de rutina.

**ROS:** Especies reactivas de oxígeno.

**TFC:** Contenido total de flavonoides.

**TPC:** Contenido total de polifenoles.

**QE:** Equivalentes de quercetina.

**SC<sub>50</sub>:** Concentración recolectora (de radicales libres) media.

**SFE:** Extracción con fluido supercrítico.

**SNC:** Sistema nervioso central.

**SOE:** Extracción asistida por salazón.

**SPE:** Extracción en fase sólida.

**SWE:** Extracción asistida por ondas de choque.



**UAE:** Extracción asistida por ultrasonido.

**UCE:** Extracción ultrasónica por circulación.

**UMAE:** Extracción asistida por ultrasonido-microondas.

**US:** Ultrasonido.

**VEGF:** Factor de crecimiento endotelial vascular.

**VIH:** Virus de inmunodeficiencia humana.

## ÍNDICE:

<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>1- INTRODUCCIÓN</b> .....	14
<b>2- OBJETIVOS</b> .....	15
2.1.- Objetivo general.....	15
2.2.- Objetivos específicos.....	15
<b>3- METODOLOGÍA</b> .....	15
<b>4- RESULTADOS</b> .....	15
<b>4.1.- CARACTERÍSTICAS DE LOS FLAVONOIDES</b> .....	15
4.1.1.- Química y fuentes naturales de los flavonoides.....	15
<b>4.2.- MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE FLAVONOIDES</b> .....	18
4.2.1.- Maceración.....	19
4.2.2.- Extracción continua (Soxhlet).....	19
4.2.3.- Extracción asistida por microondas (MAE).....	20
4.2.4.- Extracción asistida por ultrasonido (UAE).....	22
4.2.5- Extracción asistida por ultrasonido-microondas (UMAE).....	23
4.2.16- Extracción asistida por infrarrojo (IRAE).....	24

4.2.6- Extracción con disolventes eutécticos profundos (DES).....	24
4.2.7- Extracción por cavitación de presión negativa (NPCE).....	25
4.2.8- Extracción asistida por ondas de choque (SWE).....	26
4.2.9- Extracción asistida por campo eléctrico pulsado (PEF).....	27
4.2.10- Extracción con fluido supercrítico (SFE).....	27
4.2.11- Extracción con líquido presurizado (PLE).....	28
4.2.12- Dispersión de matriz en fase sólida (MSPD).....	29
4.2.13- Extracción asistida por enzimas (EAE).....	30
4.2.14- Extracción mecanoquímica (MCAE) y mecanobiológica (MBAE)..	31
4.2.15- Extracción asistida por salazón (SOE).....	32
4.2.16- Extracción por punto de enturbiamiento (CPE).....	33
4.2.17- Producción microbiana de flavonoides y biotransformación.....	34
<b>4.3- PROPIEDADES TERAPÉUTICAS DE LOS FLAVONOIDES.....</b>	<b>35</b>
4.3.1- Actividad antioxidante.....	35
4.3.2- Actividad antiinflamatoria y antinociceptiva.....	37
4.3.3- Actividad gastroprotectora.....	39
4.3.4- Actividad antibacteriana.....	40
4.3.5- Actividad antiviral.....	41
4.3.6- Actividad antidepresiva.....	44

4.3.7- Actividad anticancerígena.....	46
4.3.8- Actividad antiosteoporótica.....	48
4.3.9- Otras propiedades terapéuticas.....	49
4.3.9.1- Actividad hipotensiva.....	49
4.3.9.2- Actividad antidiabética.....	49
4.3.9.3- Actividad antifúngica.....	50
4.3.9.4- Otros efectos en el SNC.....	50
4.3.9.5- Actividad fotoprotectora.....	51
4.3.9.6.- Actividad antialopécia.....	51
4.3.9.7.- Curación de heridas de piel.....	52
4.3.9.8.- Inhibición de las anhidrasas carbónicas.....	52
<b>4.4- EL FUTURO DE LOS FLAVONOIDES.....</b>	<b>52</b>
4.4.1.- Enfoques a futuro en la investigación de flavonoides.....	52
4.4.2.- Formulación de flavonoides.....	53
4.4.3.- Otros usos de los flavonoides.....	55
4.4.3.1.- Uso en textiles.....	55
4.4.3.2.- Uso como sensores y agentes quelantes.....	56
4.4.3.3.- Uso en celdas solares.....	57
4.4.3.4.- Uso como cosméticos.....	58

<b>5- CONCLUSIÓN.....</b>	<b>58</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>59</b>

## **RESUMEN:**

**Título:** Revisión sobre las características, propiedades terapéuticas y obtención de flavonoides.

**Introducción:** Los flavonoides son el grupo de metabolitos secundarios más diversos y tienen múltiples funciones en las plantas así como diversos efectos terapéuticos para los humanos. Debido a su interés farmacéutico, hoy en día aún se investigan métodos de extracción para su obtención.

**Objetivo:** Realizar una revisión bibliográfica sobre las características, propiedades terapéuticas y obtención de flavonoides.

**Metodología:** Se realizó una búsqueda de literatura especializada en inglés con estudios publicados entre 2015-2021 sobre las características, propiedades terapéuticas y obtención de flavonoides.

**Resultados:** Los flavonoides están ampliamente distribuidos en los vegetales, encontrándose en plantas de uso común. Los métodos de extracción de flavonoides incluyen métodos convencionales como maceración y Soxhlet, así como métodos modernos como extracción asistida por ultrasonido (UAE), por microondas (MAE), por infrarrojo (IRAE), por enzimas (EAE), entre otras. Cada metodología presenta sus ventajas y es posible combinarlas para obtener mejores rendimientos de extracción. Hoy en día incluso es posible la producción microbiana de flavonoides y la biocatálisis, que hace posible la obtención de flavonoides que no existen en la naturaleza. Así mismo, debido a su diversidad estructural, los flavonoides presentan diversas actividades biológicas, dentro de los que se incluyen la actividad antioxidante, antiinflamatoria, gastroprotectora, antibacteriana, antiviral, antidepresiva, anticancerígena y antiosteoporótica, entre otras. Sin embargo, debido a su baja biodisponibilidad, su formulación aún es tema vigente de investigación, siendo útiles sobre todo las nanoencapsulaciones, que han dado resultados prometedores.

**Conclusión:** Hoy en día se cuenta con diversos métodos de extracción para la obtención de flavonoides que garantizan rapidez y altos rendimientos. Por otro lado, pese a que se han demostrado los efectos biológicos de los flavonoides, hacen falta más pruebas clínicas para estudiar sus efectos biológicos y su biodisponibilidad en pacientes, que son quienes deben verse beneficiados por estas investigaciones. Continuar con estas investigaciones permitirá el descubrimiento de nuevas fuentes de flavonoides, el desarrollo de nuevas técnicas de extracción con mejores rendimientos y la obtención de nuevos flavonoides con efectos terapéuticos antes no observados.

**Palabras clave:** Flavonoides, características, extracción, terapéutica.

## **ABSTRACT:**

**Title:** Review of the characteristics, therapeutic properties and obtention of flavonoids.

**Introduction:** Flavonoids are the most diverse group of secondary metabolites and have multiple functions in plants as well as various therapeutic effects for humans. Due to its pharmaceutical interest, extraction methods for obtaining them are still being investigated today.

**Objective:** To carry out a bibliographic review on the characteristics, therapeutic properties and obtention of flavonoids.

**Methodology:** A specialized literature search in English was carried out with studies published between 2015-2021 on the characteristics, therapeutic properties and obtention of flavonoids.

**Results:** Flavonoids are widely distributed in plants, found in commonly used plants. Flavonoid extraction methods include conventional methods such as maceration and Soxhlet, as well as modern methods such as ultrasound-assisted extraction (UAE), microwave (MAE), infrared (IRAE), enzyme (EAE), among others. Each methodology has its advantages and it is possible to combine them to obtain better extraction yields. Today the microbial production of flavonoids and biocatalysis is possible, which makes possible to obtain flavonoids that do not exist in nature. Likewise, due to their structural diversity, flavonoids have various biological activities, including antioxidant, anti-inflammatory, gastroprotective, antibacterial, antiviral, antidepressant, anticancer and antiosteoporotic activity, among others. However, due to its low bioavailability, its formulation is still a current subject of research, especially nanoencapsulations being useful, which have given promising results.

**Conclusion:** Today there are various extraction methods to obtain flavonoids that guarantee speed and high yields. On the other hand, although the biological effects



of flavonoids have been demonstrated, more clinical trials are needed to study their biological effects and bioavailability in patients, who are the ones who should benefit from these research. Continuing with these investigations will allow the discovery of new sources of flavonoids, the development of new extraction techniques with better yields and the obtention of new flavonoids with previously unobserved therapeutic effects.

**Key words:** Flavonoids, characteristics, extraction, therapy.

## 1- INTRODUCCIÓN:

Los metabolitos primarios de las plantas son compuestos nutricionales esenciales, como azúcares, aminoácidos y proteínas, que no suelen tener efectos terapéuticos (Abubakar & Haque, 2020). Por otro lado, los metabolitos secundarios son moléculas pequeñas que, si bien no son esenciales para la sobrevivencia de la planta, son importantes para la interacción con su ambiente y para su protección contra estrés biótico y abiótico. Muchos de estos metabolitos son responsables de diversos efectos terapéuticos, por lo que son de interés farmacéutico (Yang, *et al.*, 2018).

Los flavonoides son el grupo de metabolitos secundarios más diversos de las plantas (Nabavi, , *et al.*, 2020). Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, pudiendo encontrarse en cualquier parte de las plantas, e incluso se encuentran en alimentos y bebidas de origen vegetal (Panche, *et al.*, 2016).

Los flavonoides tienen diferentes funciones en las plantas. Por ejemplo, son responsables del color y aroma de flores, atraen polinizadores a las frutas (Panche, *et al.*, 2016), pueden actuar como fitoestrógenos (Tronina, *et al.*, 2020), como señalizadores para comunicarse con los microorganismos de la rizosfera, participan en el crecimiento de la planta, absorben radiación ultravioleta (UV) para evitar daño celular en la planta, son nematocidas, repelentes de insectos y herbívoros e incluso pueden ejercer función fitotóxica de manera alelopática. También cumplen funciones que se relacionan con los beneficios terapéuticos que confieren al humano, como función antioxidante, antibacteriana y antifúngica (Shah & Smith, 2020).

Los flavonoides son responsables de múltiples actividades biológicas como antioxidante, antiinflamatoria, anti-úlceras, antimicrobiana, anticancerígena, entre otras (Ekalu & Habila, 2020). Debido a su interés farmacéutico, hoy en día se buscan métodos de extracción para estos compuestos que sean modernos, que garanticen rapidez, bajo costo, altos rendimientos y cuidado al medio ambiente,

tales como extracción asistida por microondas (MAE), por ultrasonido (UAE), por enzimas (EAE), extracción con fluido supercrítico (SFE), entre otros (Chávez-González, *et al.*, 2020).

## **2- OBJETIVOS:**

### **2.1.- Objetivo general:**

- Realizar una revisión bibliográfica sobre las características, propiedades terapéuticas y obtención de flavonoides.

### **2.2.- Objetivos específicos:**

- Describir las características generales de los flavonoides.
- Comparar diferentes metodologías para la obtención de flavonoides.
- Recopilar información sobre las propiedades terapéuticas de los flavonoides.

## **3- METODOLOGÍA:**

En la presente revisión se realizó una búsqueda de literatura especializada en inglés con estudios publicados entre 2015-2021 sobre las características, propiedades terapéuticas y obtención de flavonoides.

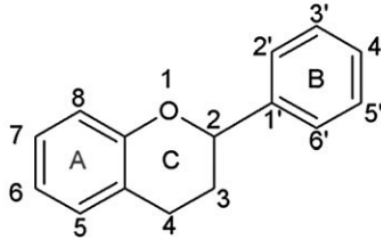
## **4- RESULTADOS:**

### **4.1- CARACTERÍSTICAS DE LOS FLAVONOIDES:**

#### **4.1.1- Química y fuentes naturales de los flavonoides:**

Los flavonoides son el principal grupo de compuestos fenólicos. Tienen una estructura C6-C3-C6 (Nabavi, *et al.*, 2020) debido a que consisten de tres anillos, dos de ellos bencénicos (anillos A y B), conectados entre sí por un anillo pirano

(anillo C), y pueden tener diferentes sustituyentes, normalmente hidroxilos (Figura 1.) (Damián-Reyna, *et al.*, 2016).

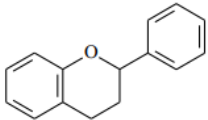
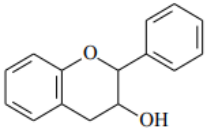
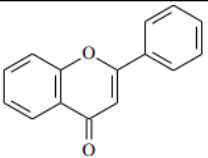
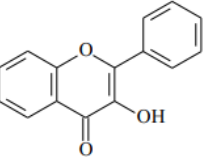
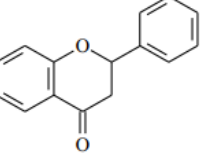
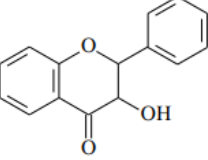


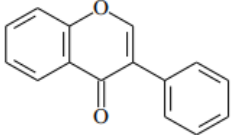
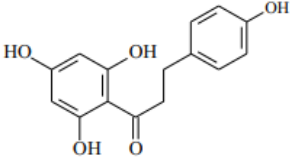
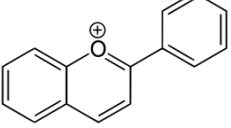
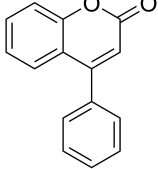
*Figura 1: Estructura básica de los flavonoides. Los flavonoides tienen una estructura C6-C3-C6 de manera que consisten de dos anillos bencénicos (A y B) y un anillo pirano (C). Tienen sustituyentes de diversos tipos, aunque normalmente son hidroxilos.*

A partir de este esqueleto, los flavonoides se clasifican de acuerdo a su estructura en flavanos (los más simples) (Nabavi, *et al.*, 2020), flavanoles (flavanos hidroxilados, como flavan-3-oles y flavan-3,4-dioles), flavonas (2-fenilcromona; doble enlace en C2-C3 y cetona en C4), flavonoles (derivados 3-hidroxi de las flavonas), flavanonas (flavonas con C2-C3 saturado), flavanonoles (derivados 3-hidroxi de las flavanonas), isoflavonoides (con anillo B en C3, como isoflavonas; 3-fenilcromenos), chalconas (con anillo C abierto), antocianinas (catión flavilio) y neoflavonoides (con anillo B en C4; 4-fenilcromenos) (Panche, *et al.*, 2016; Nabavi, *et al.*, 2020). Así mismo, los flavonoides pueden encontrarse en forma de aglicones libres o en forma glicosidada, normalmente con un O-glicosil en C3, aunque también pueden tener C-glicosidaciones (Nabavi, *et al.*, 2020). Incluso existen flavonoides sulfatados (normalmente flavonas y flavonoles), que si bien son menos comunes, también presentan efectos terapéuticos para el humano y tienen funciones interesantes en la planta. Por ejemplo, la quercetina 3-sulfato revierte la inhibición de salida de auxina causada por la quercetina, actuando como antagonista de esta (Teles, *et al.*, 2018).

En la Tabla 1 se muestra la clasificación estructural de los flavonoides, ejemplos y algunas de sus fuentes naturales.

Tabla 1. Clasificación estructural de los flavonoides, ejemplos y algunas de sus fuentes naturales.

Clasificación estructural	Flavonoides	Fuentes naturales comunes	Referencia
 <p>Flvanos</p>	7,4'-dihidroxi-8-prenilflavano y 4'-hidroxi-7,8-(2'',2''-dimetilpirano)flavano	<i>Brosimum acutifolium</i> subsp. <i>interjectum</i> (Moráceas)	Sá, <i>et al.</i> , 2020
 <p>Flavan-3-oles</p>	Catequina, epicatequina, procianidina B1 y procianidina B2	Cocoa	Martin, <i>et al.</i> , 2016
 <p>Flavonas</p>	Apigenina y luteolina	Hoja de tanaceto, espinaca, orégano, vino tinto, sorgo rojo, aceitunas negras y verdes y aceite de oliva	Hostetler, <i>et al.</i> , 2017
 <p>Flavonoles</p>	Quercetina y kaempferol	Col rizada, cebollas, mora azul, té negro, vino tinto, hojas de hinojo, eneldo, espinaca y brócoli	Dabeek, & Marra, 2019
 <p>Flavanonas</p>	Hesperidina, naringenina, naringina, narirutina y hesperetina	Especies de <i>Citrus</i> , especialmente en las cáscaras	Damián-Reyna, <i>et al.</i> , 2016
 <p>Flavanonoles</p>	Taxifolina (dihidroquercetina)	Cebolla, frutas cítricas, cardo de leche y cortezas de <i>Cedrus brevifolia</i> , <i>Cedrus brevifolia</i> , <i>Laric siberica</i> y <i>Texus chinensis</i>	Chen, <i>et al.</i> , 2018

 <p>Isoflavonas</p>	Daidzeina y genisteína	Productos de soya	Miura, <i>et al.</i> , 2016
 <p>Chalconas</p>	Isoliquiritigenina, isobavachalcona, kanzonol B, kanzonol C y corilifol B	<i>B. acutifolium</i> subsp. <i>interjectum</i> (Moráceas)	Sá, <i>et al.</i> , 2020
 <p>Antocianinas</p>	Cianidina Pelargonidina	Salvado de arroz	Samyó, <i>et al.</i> , 2017
 <p>Neoflavonoides</p>	(1S,8R,9S)-1,5-dihidroxi-4,12-dimetoxi-8-vinil-triciclo[7.3.1.02,7]trideca-2,4,6,11-tetraen-10-ona, 2,5,2',5'-tetrahidroxi-4-metoxibenzofenona y 2,5,3'-trihidroxi-4-metoxibenzofenona	<i>Dalbergia melanoxyton</i>	Wang, <i>et al.</i> , 2020

#### 4.2-MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE FLAVONOIDES:

Debido al interés farmacéutico de los flavonoides, se ha desarrollado mucha investigación fitoquímica y métodos de extracción para la obtención de flavonoides. De acuerdo con Abubakar & Haque, (2020), “la extracción es un proceso de separación de los metabolitos secundarios de la planta”. Algunos de los métodos de extracción empleadas para la obtención de flavonoides se detallan a continuación.

#### **4.2.1- Maceración:**

El proceso de maceración consiste en colocar la planta hecha polvo en un contenedor, añadir el disolvente de extracción hasta que cubra todo el material, cerrar el contenedor y agitar periódicamente durante por lo menos tres días. Al final, se filtra o decanta el extracto y se evapora el disolvente (Abubakar & Haque, 2020). Es un método muy simple, económico y útil para extraer compuestos termolábiles, pero consume mucho tiempo y su eficiencia es baja (Zhang, *et al.*, 2018).

Pese a sus desventajas, aún se emplea para la obtención de flavonoides. Por ejemplo, Lin, *et al.* (2016) realizaron una maceración de *Pteris vittata* L. (la planta completa) tres veces con metanol a 25 °C, encontrando kaempferol (52 mg), quercetina (53 mg), rutina (280 mg) y kaempferol-3-O-D-glucopiranosido (36 mg), siendo éste último encontrado por primera vez en *P. vittata* L. En otro estudio, Čujić, *et al.*, (2016) optimizaron un método de extracción de polifenoles a partir de fruta seca de *Aronia melanocarpa* mediante maceración, encontrando que las mejores condiciones fueron: tamaño de partícula de 0.75 mm, 50% de etanol con un proporción sólido-disolvente de 1:20 y 60 minutos de extracción a temperatura ambiente. Se obtuvo un contenido total de fenoles (TPC) de 27.8 mg GAE/g y un 0.27% de antocianinas totales. Los flavonoides y antocianinas encontrados fueron cianidina-3-galactósido (0.81 mg/g DW), cianidina-3-glucósido (0.14 mg/g DW), cianidina-3-arabinósido (0.3 mg/g DW), quercetina-3-rutinósido (0.42 mg/g DW), quercetina-3-galactósido (0.27 mg/g DW) y quercetina-3-glucósido (0.15 mg/g DW).

#### **4.2.2- Extracción continua (Soxhlet):**

El equipo Soxhlet consiste de un matraz redondo, una cámara de extracción, un tubo de sifón y un condensador (Abubakar & Haque, 2020). La muestra se coloca en una bolsa porosa de papel filtro o celulosa llamada dedal (Azwanida, 2015), el cual se coloca en la cámara de extracción, mientras el disolvente de extracción se coloca en el matraz, se calienta, se evapora y llega al condensador donde se

condensa y cae a la cámara de extracción, extrayendo el material (Abubakar & Haque, 2020). Cuando el líquido alcanza el brazo del sifón, el líquido se vierte al matraz nuevamente y vuelve a comenzar el proceso (Azwanida, 2015). La extracción se lleva a cabo de manera continua y automática, siendo altamente eficiente y consumiendo menor cantidad de tiempo y disolventes comparado con la maceración. Sin embargo, los compuestos termolábiles pueden sufrir degradación (Zhang, *et al.*, 2018).

Por ejemplo, Alara, *et al.*, (2018) optimizaron un método para la extracción de flavonoides y fenoles a partir de hojas de *Vernonia cinera* mediante Soxhlet, encontrando que las condiciones óptimas fueron: tiempo de extracción de 2 h, proporción sólido:líquido de 1:20 g/mL y etanol al 60% (v/v). Se obtuvo un TPC de  $53.96 \pm 1.45$  mg GAE/g DW y un contenido total de flavonoides (TFC) de  $30.09 \pm 0.44$  mg de equivalentes de quercetina (QE)/g DW Sin embargo, sólo se encontraron dos flavonoides; quercetina-7-O-rutinósido y kaempferol, y aunque el extracto sí presentó actividad antioxidante, ésta fue notablemente menor a la del ácido ascórbico, probablemente debido a degradación de los compuestos antioxidantes a causa del calentamiento localizado que genera la propia técnica Soxhlet.

Sin embargo, la extracción con Soxhlet puede ser más efectiva que otras técnicas. Por ejemplo, Larki, *et al.*, (2020) demostraron que la extracción con Soxhlet fue más efectivo y obtuvo mayores rendimientos de rutina comparado con maceración, percolación y digestión tanto con frutas secas como con frutas frescas de *Cordia myxa*.

#### **4.2.3- Extracción asistida por microondas (MAE):**

Las microondas (MW) son radiación del espectro electromagnético cuyas frecuencias son de 300 MHz a 300 GHz. Se trata de radiación no ionizante, y es capaz de calentar a los materiales capaces de absorberla mediante dos mecanismos: 1) Conducción iónica, que se refiere a la capacidad del campo eléctrico de las MW de inducir migración electroforética de iones y electrones



presentes en el medio, ocasionando una "fricción" entre los iones en movimiento y el medio, generando calor. 2) Rotación del dipolo, que se sucede cuando las moléculas dipolares intentan alinearse con el campo eléctrico alternante de las MW, generando colisiones entre ellas y las moléculas que les rodean, produciendo calor (Vinatoru, *et al.*, 2017). Entonces, las MW generan el calor cuando interactúan con compuestos polares como agua y algunos fitoquímicos. Con esta técnica se evita la degradación térmica, se obtienen altos rendimientos y se reduce el uso de disolventes, por lo que se considera un método ecológico (Zhang, *et al.*, 2018).

A comparación de otras técnicas, la MAE puede ser más efectiva para la obtención de flavonoides, tal como lo demostraron Sonar, & Rathod, (2020), quienes encontraron que el rendimiento de flavonoides obtenidos a partir de fruta pulverizada de *Aegle marmelos* mediante MAE tuvo mayor rendimiento (77.26 mg de equivalentes de rutina (RE)/g) comparado con la extracción con Soxhlet (67.85 mg RE/g) y extracción por lotes (48.15 mg RE/g), así como una mayor actividad antioxidante y antiinflamatoria, y requiriendo menos tiempo de extracción. Las condiciones óptimas de extracción fueron: temperatura de 50 °C, proporción de soluto a disolvente de 1:20, tiempo de irradiación de microondas de 30 s y tiempo de pre-lixiviación de 10 min. En otro estudio, Vieira, *et al.*, (2017) encontraron que la obtención de fenoles a partir de *Juglans regia* L. mediante MAE obtuvo mayor rendimiento en TFC ( $66.5 \pm 6.56$  mg/g DW) comparado con maceración ( $54.7 \pm 2.98$  mg QE/g DW). Los flavonoides obtenidos fueron quercetina 3-O-glucósido y quercetina 3-O-pentósido. Las condiciones óptimas fueron: 45 min, 180 °C y 66.8% de etanol para MAE, y 77.7 min, 90 °C y 56.3% de etanol para la maceración.

Es interesante mencionar que Oualcadi, *et al.*, (2020) desarrollaron un método que combina MAE con Soxhlet (MASE) para obtener fitoquímicos a partir de cáscaras de *Punica granatum* L., y aunque los taninos fueron mayoritarios y el TFC fue minoritario (163 mg RE/g DW, correspondientes a quercetina 3-O-ramnósido), la MASE demostró ser un método eficaz, de bajo costo y rápido, en el que la

radiación microondas produce un calentamiento rápido, aumentando el número de ciclos de sifón y acelerando el proceso, evitando así la degradación de los compuestos de interés, lo cual, como ya se ha mencionado, es una gran desventaja de extracción con Soxhlet. El extracto además presentó actividad antioxidante pero, nuevamente, es probable que se deba en gran parte a los taninos presentes en él.

#### **4.2.4- Extracción asistida por ultrasonido (UAE):**

La extracción por sonicación es un proceso dinámico inducido por la cavitación acústica (Vinatoru, *et al.*, 2017). La cavitación es la generación, crecimiento y colapso de millones de pequeñas burbujas de vapor en un líquido o en interfaces líquido-sólido, lo cual libera alta energía y produce altas temperaturas y presiones locales (Roohinejad, *et al.*, 2016). El ultrasonido (US) se propaga a través de ondas sucesivas de compresión y rarefacción, y cuando la potencia acústica es lo suficientemente grande, se forman burbujas de cavitación del líquido durante la rarefacción, las cuales crecen durante los ciclos sucesivos debido a que ingresan a ellas pequeñas cantidades de gas o vapor del medio que es expulsado parcialmente durante la compresión hasta que, después de algunos ciclos, alcanzan un tamaño inestable y se colapsan violentamente, generando un chorro de disolvente a alta velocidad que colapsa con el vegetal, dañándolo (Vinatoru, *et al.*, 2017). Con la UAE se reduce el tiempo, disolventes, energía y temperaturas utilizadas y es útil para la obtención de compuestos termolábiles (Zhang, *et al.*, 2018).

Hay varios estudios en los que UAE ha resultado mejor método de extracción de flavonoides que otros. Por ejemplo, Lin, *et al.*, (2020) obtuvieron flavonoides a partir de hojas de *Moringa oleifera* L. mediante UAE, encontrando que con las condiciones óptimas (proporción líquido-sólido de 40:1, etanol al 52%, poder de US de 188 W, temperatura de 30 °C y tiempo de extracción de 20 min) se obtuvo mayor TFC ( $43.96 \pm 1.90$  mg RE/g DW) comparado con extracción asistida por agitación (SAE) ( $33.25 \pm 1.81$  mg RE/g DW), Soxhlet ( $23.22 \pm 1.12$  mg RE/g DW)

y MAE ( $36.13 \pm 0.94$  mg RE/g DW), entre los que se incluyen ocho flavonoides. También presentó mayor actividad antioxidante. En otro estudio, Das, *et al.*, (2019) encontraron que un extracto obtenido a partir de hojas de *Pipe betle* presentó mayor TFC al emplear UAE como método de extracción ( $49.79 \pm 1.54$  mg QE/g) comparado maceración ( $32.10 \pm 0.65$  mg QE/g) y Soxhlet ( $40.89 \pm 0.87$  mg QE/g), así como mayor actividad antioxidante debida a los flavonoides y demás fenoles presentes en el extracto. Fue el método más rápido y sencillo de los tres.

Actualmente existen variantes de esta metodología. Por ejemplo, Chen, *et al.*, (2017) emplearon una metodología de extracción ultrasónica por circulación (UCE), que usa un controlador de reflujo para hacer circular el vegetal y el disolvente de extracción, siendo un proceso dinámico y mejorando los rendimientos de extracción. Los autores usaron flores de *Trollius chinensis* y obtuvieron mayores rendimientos de orientina ( $6.05 \pm 0.19$  mg/g) y vitexina ( $0.96 \pm 0.03$  mg/g) comparado con extracción por baño ultrasónico ( $4.98 \pm 0.16$  mg/g y  $0.72 \pm 0.02$  mg/g, respectivamente) y extracción ultrasónica con triturador de células ( $5.35 \pm 0.17$  mg/g y  $0.81 \pm 0.02$  mg/g, respectivamente).

#### **4.2.5- Extracción asistida por ultrasonido-microondas (UMAE):**

Las técnicas de UAE y MAE se han utilizado en conjunto (UMAE), obteniendo buenos resultados. Por ejemplo, Wang, *et al.*, (2020) obtuvieron flavonoides a partir de hojas de *Eucommia ulmoides* mediante UMAE, encontrando que con las condiciones óptimas (etanol al 41% poder MW de 178 W y tiempo de extracción con ultrasonido de 26 min) se obtuvo mayor TFC (2.45 %) comparado con UAE sola (2.04 %), MAE sola (1.731%) y extracción con disolventes (1.56 %). Además, ese extracto presentó actividad antioxidante y antibacteriana. Por otro lado, Yu, *et al.*, (2017) optimizaron un método de combinación secuencial de MAE y UAE (SC-MUAE) para obtener flavonoides a partir de flores de *Osmanthus fragrans*, encontrando como mejores condiciones (proporción sólido-líquido 1:45, etanol al 48.15%, tiempo de extracción de microondas de 6.43 min, tiempo de extracción ultrasónica de 10.09 min y poder ultrasónico de 370.9 W), se obtuvo un mayor

TFC (7.86 mg/g), comparado con MAE (4.79 mg/g), UAE (6.23 mg/g) y combinación secuencial de UAE y MAE (SC-UMAE) (6.55 mg/g).

#### **4.2.16- Extracción asistida por infrarrojo (IRAE):**

El infrarrojo (IR) es radiación electromagnética cuyas longitudes de onda van de 0.78–1,000  $\mu\text{m}$ . Esta radiación puede usarse como fuente de calentamiento, e incluso se utiliza como método de secado de alimentos (Pawar & Pratape, 2017), pero también se puede emplear para extracción de flavonoides, tal como lo hicieron Mou, *et al.*, (2017), quienes desarrollaron un método para la extracción de flavonoides a partir de los botones florales de *Sophora japonica* L. mediante extracción asistida por infrarrojo (IRAE), encontrando que en las condiciones óptimas (proporción sólido-líquido de 1:72, etanol al 40% v/v, poder de extracción de 200 W y tiempo de extracción de 9 min), se obtuvo un mayor rendimiento de flavonoides ( $33.199 \pm 0.24$  mg/g) y en menor tiempo (9 min) comparado con UAE (30 min;  $30.217 \pm 0.88$  mg/g) y extracción por reflujo calentado (HRE) (120 min;  $33.199 \pm 0.24$  mg/g), demostrando que es un método eficiente, fácil, rápido, de bajo costo y ecológico. Los flavonoides encontrados fueron rutina ( $18.9 \pm 0.14$  mg/g), quercetina ( $12.52 \pm 0.17$  mg/g), kaempferol ( $0.54 \pm 0.01$  mg/g) e isorhamnetina ( $1.16 \pm 0.01$  mg/g).

#### **4.2.6- Extracción con disolventes eutécticos profundos (DES):**

Los disolventes eutécticos profundos (DES) se preparan muy fácilmente en laboratorio a partir de dos componentes no tóxicos; uno de ellos con capacidad de aceptar hidrógenos, (por ejemplo, cloruro de colina (ChCl), una sal de amonio cuaternario), y el otro de donarlos (alcoholes, ácidos, aminas, etc.). Tienen una presión de vapor baja, no son tóxicos ni inflamables, son de bajo costo, biodegradables, reciclables y, por supuesto, pueden ser utilizados como disolventes de extracción. Sin embargo, pueden ser altamente viscosos a temperatura ambiente, lo cual no es conveniente, pero esto se puede reducir al aumentar la temperatura, adicionar agua o aumentando la concentración de ChCl (Cunha & Fernandes, 2018).

Los DESs ya se han utilizado para la obtención de flavonoides. Por ejemplo, Ali, *et al.*, (2019) desarrollaron diversos DESs para la extracción de flavonoides a partir de frutas de *Lycium barbarum* L. mediante UAE, y se encontró que con el DES obtenido a partir de la mezcla 1:2 M de ChCl y ácido p-toluenosulfónico sin agua en las condiciones óptimas de extracción (proporción sólido-líquido de 0.05 g/mL, 90 min de extracción y temperatura de 25 °C) se obtuvo miricetina (57.2 mg/g), morina (12.7 mg/g), y rutina (9.1 mg/g). En otro estudio, Cui, *et al.*, (2018) extrajeron flavonoides a partir de hojas de espino cerval de mar (*Hippophae rhamnoides* L.) mediante DES-MAE (1,4-butanediol:ChCl (3:1 mol/mol) con 20 % de agua como DES, temperatura de 64 °C, poder de MW de 600 W y tiempo de extracción de 17 min), encontrando mayores rendimientos de rutina (8.97 mg/g DW), quercetina-3-O-glucósido (1.81 mg/g DW), quercetina (9.11 mg/g DW), kaempferol (0.45 mg/g DW) e isorhamnetina (0.49 mg/g DW) comparados con EtOH-MAE (4.37 mg/g DW, 0.87 mg/g DW, 2.97 mg/g DW, 0.26 mg/g DW y 0.2 mg/g DW, respectivamente). DES-MAE también fue más eficaz y rápido que DES-UAE (45 min; 7.16 mg/g DW, 1.67 mg/g DW, 5.74 mg/g DW, 0.30 y 0.39 mg/g DW, respectivamente) y DES-HRE (6.73 mg/g DW, 1.52 mg/g DW, 6.84 mg/g DW, 0.37 mg/g DW, y 0.30 mg/g DW, respectivamente), pero todos los rendimientos fueron mayores al de EtOH-MAE.

#### **4.2.7- Extracción por cavitación de presión negativa (NPCE):**

La extracción por cavitación de presión negativa (NPCE) requiere una bomba de vacío que genera presión negativa, produciendo una cavitación intensa que produce turbulencia, colisión y transferencia de masa entre el disolvente de extracción y las partículas sólidas, dañándolas, lo cual se ve intensificado cuando se añade aire continuamente al sistema. Este método es simple, de bajo costo, ecológico, eficaz y se puede usar solo o en combinación con otras técnicas de extracción (Roohinejad, *et al.*, 2016).

Ya se ha demostrado que esta técnica es efectiva para la obtención de flavonoides. Por ejemplo, Wang, *et al.*, (2020) optimizaron un método para la

extracción de flavonoides a partir de *Flos Sophorae Immaturus* (botones florales de *Sophora japonica* L.) mediante extracción asistida por ultrasonido basada en cavitación negativa (NPC-UAE), encontrando que con las condiciones óptimas (etanol al 72%, tiempo de extracción 16 min, proporción líquido-sólido 25:1 mL/g, intensidad ultrasónica de 0.33 W/cm<sup>2</sup>, presión negativa de -0.07 MPa y temperatura de 60 °C) se obtuvieron rendimientos de rutina (125.17 mg/g), nicotiflorina (15.02 mg/g), narcisina (25.61 mg/g), quercetina (51.89 mg/g), kaempferol (4.32 g/mg) e isoramnetina (6.30 mg/g) y actividad antioxidante mayores a los de NPCE y UAE solos. Por otro lado, Li, *et al.*, (2016) extrajeron flavonoides a partir de hojas de *Dalbergia odorifera* T. Chen mediante DES-NPCE, encontrando que con las condiciones óptimas (DES compuesto de ChCl/etilenglicol 1:2 mol/mol, proporción líquido-sólido de 20:1 mL/g, tiempo de extracción de 20 min, presión negativa de -0.07 MPa, temperatura de 45 °C y concentración de agua del 26%) se obtuvieron mayores rendimientos de prunetina (1.20 mg/g DW), tectorigenina (1.057 mg/g DW), genisteina (0.911 mg/g DW) y biochanina A (2.448 mg/g DW) comparado con DES-UAE (1.120, 0.96, 0.85 y 2.22 mg/g DW respectivamente).

#### **4.2.8- Extracción asistida por ondas de choque (SWE):**

Molina, *et al.*, (2020) desarrollaron un nuevo método para la obtención de flavonoides y ácidos fenólicos basado en extracción asistida por ondas de choque (SWE), las cuales, según explican, son perturbaciones agudas y no lineales que consisten de un pulso de presión positiva ( $p^+$ ) que dura menos de un microsegundo, seguido por una caída de presión, hasta llegar a ser negativa ( $p^-$ ), generando cavitación acústica y esfuerzo cortante, fenómenos que muy probablemente son responsables de la extracción de flavonoides, en este caso a partir del duramen pulverizado de *Eysenhardtia polystachia*, usando agua desionizada para evitar cualquier disolvente orgánico y comparando su contenido y actividad antioxidante con extractos obtenidos por Soxhlet y UAE. Pese a que el Soxhlet resultó ser la técnica más efectiva, la SWE resultó ser un método eficiente,

ecológico y sobre todo, con tiempos de extracción mucho más cortos (5 min) comparados con los de Soxhlet (96 h).

#### **4.2.9- Extracción asistida por campo eléctrico pulsado (PEF):**

El campo eléctrico pulsado (PEF) se utiliza comúnmente como una técnica no-térmica para la inactivación de microorganismos mediante electroporación en preservación de alimentos. Sin embargo, se puede emplear como una técnica de extracción innovadora que resulta económica y eficiente (Yan, *et al.*, 2017).

Por ejemplo, un PEF puede aumentar el efecto de cavitación del US (y por ende el rendimiento de extracción), tal como lo demostraron Yang, *et al.*, (2017), quienes obtuvieron flavonoides a partir de *Hemerocallis citrina baroni* mediante extracción por ultrasonido sinergizada por campo electrostático (UEE). El extracto obtenido con las condiciones óptimas (proporción sólido-líquido 1:25 g/mL, etanol al 70%, temperatura de 55 °C, poder ultrasónico de 500 W, campo electrostático de 7 kV y tiempo de extracción de 20 min) obtuvo mayor rendimiento de TFC (1.54%) comparado con el de UAE solo (1.4 %) y el de extracción de baño de agua (WE) (1.3 %), así como mayor actividad antioxidante. Así mismo, Liu, *et al.* (2018) emplearon un PEF como tratamiento de cebolla (2.5 kV/cm, 90 pulsos y 45 °C) previa a extracción con agua, encontrando que el TFC (37.58 mg QE 100 g<sup>-1</sup> FW) fue mayor comparado con el del extracto sin tratar (10.22 mg QE 100 g<sup>-1</sup> FW), y pese a que el rendimiento fue notablemente menor al obtenido con Soxhlet (35.54 mg QE 100 g<sup>-1</sup> FW a 78.59 QE 100 g<sup>-1</sup> FW), ésta técnica no usó disolventes orgánicos tóxicos, siendo más ecológica. Además, presentó actividad antioxidante.

#### **4.2.10- Extracción con fluido supercrítico (SFE):**

Un fluido supercrítico (SCF) se forma cuando la temperatura y presión están por encima su punto crítico (CP), resultando en una mesofase; una fase homogénea con propiedades de gas y líquido. Debido a su baja viscosidad pero alta difusividad, pueden penetrar fácilmente a los vegetales, logrando una rápida transferencia de masa. La extracción con fluido supercrítico (SFE) se realiza normalmente con CO<sub>2</sub> y requiere poco tiempo de procesamiento, minimizando la

degradación de los fitoquímicos. Sin embargo, se requieren instalaciones costosas y el CO<sub>2</sub> al ser no polar, requiere de la adición de pequeñas cantidades de disolventes orgánicos como etanol y metanol (llamados "modificadores") para mejorar el poder de solvatación del CO<sub>2</sub> y lograr mayor solubilidad de compuestos polares (Khaw, *et al.*, 2017).

La SFE ya se ha utilizado para la obtención de flavonoides. Por ejemplo, Song, *et al.*, (2019) optimizaron un método de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico (SFE-CO<sub>2</sub>) para obtención de flavonoides a partir de hojas de *Ziziphus jujuba Mill.*, encontrando como mejores condiciones (temperatura de 52.52 °C, presión de 27.12 MPa, tiempo de 113.42 minutos y flujo de 0.44 mL/min), se obtuvo un TFC de 29.052 mg/g, entre los cuales se encuentran glicósidos de kaempferol y quercetina. Este extracto tuvo mayor contenido de flavonoides y mayor actividad antioxidante y antiproliferativa que los obtenidos a partir de Soxhlet y UAE. En otro estudio, Ouédraogo, *et al.* (2018) extrajeron flavonoides a partir de hojas de *Odontonema strictum* mediante SFE-CO<sub>2</sub> (temperatura de 65 °C, tiempo de extracción de 270 min, presión de 200 bar, flujo de 15 g/min con 15% de co-solvente (etanol al 95%) siendo más mucho más rápido y obteniendo mucho mayor rendimiento de TFC (230.48 mg/g) comparado con extracción convencional con disolvente (36.45 mg/g). También presentó mayor actividad antioxidante.

#### **4.2.11- Extracción con líquido presurizado (PLE):**

La extracción con líquido presurizado (PLE) se basa en el uso de disolventes a altas temperaturas y presiones, para lo cual se requieren equipos especiales. La muestra se coloca en la celda de extracción, que está tapada con filtros, y el sistema presuriza y calienta las muestras a 1500-3000 psi y 70-200 °C, respectivamente (Andreu, & Picó, 2019). La alta presión mantiene al disolvente en estado líquido por arriba de su punto de ebullición, aumentando su penetración a la matriz vegetal y la solubilidad de los compuestos (Zhang, *et al.*, 2018). El extracto eluye a un recipiente recolector con nitrógeno durante el modo estático. El proceso es automático y se requiere poco tiempo y disolvente, sin embargo, es



necesario optimizar cuidadosamente las condiciones de operación para cada matriz (Andreu, & Picó, 2019).

Kamali, *et al.*, (2016) optimizaron un método para extraer fenoles y flavonoides a partir de partes aéreas de *Dracocephalum kotschyi* mediante PLE, encontrando que con las mejores condiciones (temperatura de 74 °C, presión de 34 bar, tiempo estático 11.3 min, tiempo dinámico 17.45 min y flujo de disolvente de 0.7 mL/min), se obtuvo un mayor rendimiento ( $12.19 \pm 0.4$  %), mayor TFC ( $6.13 \pm 0.07$  QE mg/g de extracto seco), mayor contenido de luteolina ( $13,25 \pm 0.2$  µg/g de extracto) y mayor actividad antioxidante comparado con el obtenido por percolación ( $11.11 \pm 0.3$  %,  $5.04 \pm 0.04$  QE mg/g de extracto seco y  $9550 \pm 0.3$  µg/g de extracto, respectivamente). En otro estudio, Rodríguez-Pérez, *et al.*, (2016) extrajeron fenoles a partir de hojas de *Moringa oleifera* mediante PLE (temperatura de 128 °C, presión de 10 MPa, tiempo de calentamiento de 5 min, tiempo estático de 5 min, 20 min de extracción, 1 ciclo, purga N<sub>2</sub> 60 s), obteniendo mayores rendimientos ( $56 \pm 2$ %) y TFC ( $6.5 \pm 0.2$  QE mg/g DW) comparado con MAE ( $26 \pm 2$ % y  $5.2 \pm 0.5$  QE mg/g, respectivamente), aunque con menor actividad antioxidante, probablemente debida al menor rendimiento de TPC.

#### **4.2.12- Dispersión de matriz en fase sólida (MSPD):**

En la dispersión de matriz en fase sólida (MSPD), la muestra vegetal (matriz) se mezcla con un material sorbente (dispersante) y se coloca en una columna para ser lavarla y eluida con disolventes, de manera que se evitan pasos posteriores como re-extracciones o purificaciones, así como extracciones previas con disolvente, ya que, a diferencia de la extracción en fase sólida (SPE), la MSPD es útil para muestras sólidas, semisólidas y viscosas. Entonces, es fácil y se ahorra tiempo y disolvente (Tu, & Chen, 2018).

Mansur, *et al.*, (2020) optimizaron un método para la extracción de flavonoides a partir de brotes de trigo sarraceno común (CBS) y tartario (TBS) mediante MSPD y se encontró que a partir de CBS se obtuvieron rendimientos significativamente mayores de orientina ( $4.00 \pm 0.09$  mg/g), isoorientina ( $7.15 \pm 0.20$  mg/g), vitexina

( $4.27 \pm 0.24$  mg/g), isovitexina ( $7.00 \pm 0.11$  mg/g), quercetina-3-O-robinobiosido ( $1.02 \pm 0.03$  mg RE/g), y rutina ( $2.13 \pm 0.10$  mg/g) comparados con los obtenidos mediante UAE ( $3.08 \pm 0.13$  mg/g,  $5.64 \pm 0.30$  mg/g,  $3.12 \pm 0.12$  mg/g,  $5.34 \pm 0.26$  mg/g,  $0.87 \pm 0.05$  mg/g y  $2.05 \pm 0.13$  mg/g, respectivamente) y extracción asistida por homogeneizado (HAE) ( $3.20 \pm 0.01$  mg/g,  $6.01 \pm 0.04$  mg/g,  $3.22 \pm 0.03$  mg/g,  $5.64 \pm 0.07$  mg/g,  $1.01 \pm 0.06$  mg/g y  $2.51 \pm 0.23$  mg/g, respectivamente). A partir de TBS sólo se encontró rutina ( $33.34 \pm 0.49$  mg/g), siendo su rendimiento significativamente mayor al de UAE ( $26.50 \pm 0.93$  mg/g) y comparable con el de HAE ( $33.45 \pm 1.20$  mg/g). Las condiciones óptimas fueron: C18 como sorbente, proporción de muestra 2:1 con 100 mg totales de mezcla, 10 min de extracción estática y 5 mL de etanol al 80%. La versatilidad de la MSPD se ejemplifica en el estudio de Tu, *et al.*, (2017), quienes desarrollaron una metodología para la extracción e hidrólisis de flavonoides glicosilados en un solo paso mediante dispersión en matriz en fase sólida asistida por Soxhlet (SA-MSPD) a partir de polen de abeja. Para esto, se colocó la muestra y sílica gel como dispersante a proporción 1:2 en el tubo Soxhlet y se usó etanol al 60% con ácido clorhídrico 0.3 M como solución de extracción. Se llevó a cabo a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 2 h. Este método consumió menos tiempo y obtuvo mayores rendimientos de quercetina ( $0.75 \pm 0.01$  mg/g), kaempferol ( $2.18 \pm 0.12$  mg/g) e isorhamnetina ( $0.16 \pm 0.002$  mg/g) comparado con maceración (73.5 h;  $0.71 \pm 0.053$  mg/g,  $2.03 \pm 0.16$  mg/g,  $0.15 \pm 0.002$  mg/g, respectivamente) y UAE (2.5 h;  $0.49 \pm 0.01$  mg/g,  $1.42 \pm 0.04$  mg/g e isorhamnetina por debajo de los límites de cuantificación, respectivamente).

#### **4.2.13- Extracción asistida por enzimas (EAE):**

Las enzimas son catalizadores biológicos que aceleran reacciones bioquímicas en los seres vivos, pero pueden ser utilizadas para catalizar procesos comerciales importantes. Sólo se requieren en pequeñas concentraciones, no se consumen durante la reacción y son muy específicas, actuando sólo sobre un tipo (o grupos similares) de sustratos. (Robinson, 2015). Por otro lado, hay componentes de la pared celular vegetal que pueden ser difíciles de lixiviar mediante métodos de extracción convencionales, principalmente polisacáridos como hemicelulosas,

almidón y pectina. Entonces, la extracción asistida por enzimas (EAE) es una alternativa eficiente y ecológica que utiliza celulasa, hemicelulasa, pectinasa, proteasas y otras enzimas para solubilizar la pared celular del vegetal, acelerando la liberación de los fitoquímicos (Nadar, *et al.*, 2018).

En realidad, la EAE normalmente se aplica como pre-tratamiento antes de la extracción. Por ejemplo, Zuorro, *et al.*, (2019) extrajeron flavonoides a partir de hojas de maíz, empleando celulasa como pretratamiento y una posterior extracción con etanol, encontrando que con las condiciones óptimas de EAE (celulasa a 0.4 g/100 g e incubación a 40 °C por 2 h) y de extracción con disolvente (etanol al 70% v/v con proporción sólido-líquido de 35 mL g<sup>-1</sup> por 2 h a 80 °C) se obtuvo un rendimiento de TFC de 1.31 ± 0.08 g/100 g DW, que fue mayor al obtenido mediante extracción por calor-reflujo (0.95 ± 0.10 g/100 g), demostrando que la efectividad del pre-tratamiento por EAE. En otro estudio, Xu, *et al.*, (2018) optimizaron un método para la obtención de flavonoides a partir de cáscaras de *Eleocharis dulcis* mediante extracción sinérgica por ultrasonido-microondas asistida por enzimas (EAUMSE), encontrando que con las condiciones óptimas de EAE (proporción de celuasa y pectinasa de 2:1 v/v, concentración enzimática de 1.5%, pH 5, temperatura de hidrólisis de 50 °C, y tiempo de hidrólisis de 2 h) y de ultrasonido y microondas (mezcla de etanol y 0.1 mol/L de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2:1 v/v, poder ultrasónico de 50 W, poder de microondas de 200 W y tiempo de extracción de 60 s), se obtuvo un rendimiento de 1.48 ± 0.11 % (p/p), que fue mayor al obtenido por extracción con disolvente (1.17 ± 0.07 %), UAE (1.17 ± 0.07 %) y MAE (1.31 ± 0.08 %), demostrando que la este es un método ecológico y eficiente. Además, se encontraron 16 flavonoides, de entre los cuales destacan luteolina (249.6 ± 1.07 mg/100 g DW), eriodictiol (97.4 ± 0.53 mg/100 g DW), 6-metiluteolina (74.3 ± 0.48 mg/100 g DW) y fisetina (45.8 ± 0.56 mg/100 g DW).

#### **4.2.14- Extracción mecanoquímica (MCAE) y mecanobiológica (MBAE):**

La extracción mecanoquímica (MCAE) consiste en primero hacer un tratamiento mecánico de la muestra, seguido de un tratamiento mecanoquímico con un reactivo sólido y triturar. Incluso se puede emplear un molino de bolas para triturar con alta presión mecánica. Finalmente, se puede llevar a cabo la extracción. Debido a los tratamientos mecánicos, es más fácil extraer los compuestos de interés con agua, evitando el uso de disolventes orgánicos. Es un método eficaz, que requiere de menos temperaturas y poca cantidad de disolventes orgánicos (Wu, *et al.*, 2017).

Zhang, *et al.*, (2016) emplearon esta técnica para la extracción selectiva de flavonoides a partir de raíces de *Sophora flavescens* (usando  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (15%) a 440 rpm/min por 17 min a 25° C y agua como único disolvente a proporción sólido-líquido de 25 mL/g), obteniendo un rendimiento de  $35.17 \pm 0.06$  mg/g y un contenido de flavonoides de  $4.76 \pm 0.14$  %, siendo más eficiente, selectivo, rápido y empleando menos temperatura y disolventes que UAE (44.2% de etanol como disolvente, 57° C, 29.5 min, rendimiento de  $33.56 \pm 0.11$  mg/g y contenido de flavonoides de  $1.98 \pm 0.09$ ), MAE (60% de etanol como disolvente, 25 min, rendimiento de  $35.35 \pm 0.09$  mg/g y contenido de flavonoides de  $1.73 \pm 0.08$  %) y extracción convencional por calentamiento (80% de etanol como disolvente, 85° C, 60 + 60 min, rendimiento de  $33.87 \pm 0.10$  mg/g y contenido de flavonoides de  $2.01 \pm 0.13$  %). En otro estudio Zhang, *et al.*, (2020) combinaron esta técnica y el uso de enzimas, desarrollando un método de extracción mecanobiológica (MBAE) para la extracción simultánea de ácidos fenólicos y flavonoides a partir de *Chrysanthemum morifolium* (cantidad de enzima 1% ( $\text{wt}^{-1}$ ), proporción celulasa/pectinasa de 2:1 (mL/g), pH de solución enzimática de 4.88, pH de extracción de 10, tiempo de trituración de 40 min y proporción sólido-líquido de 20:1 mL/g), obteniendo luteolina ( $0.43 \text{ mgg}^{-1}$ ), hiperósido ( $0.36 \text{ mgg}^{-1}$ ) y luteolósido ( $8.58 \text{ mgg}^{-1}$ ).

#### **4.2.15- Extracción asistida por salazón (SOE):**

La extracción por salazón consiste en mezclar una sal con un disolvente anfifático, afectando fuerzas como enlaces de hidrógeno e hidrófobos, formando una fase superior rica en disolvente y una fase inferior rica en sal y agua, pudiendo usarse para separar y recuperar compuestos. Además, debido a que algunos de estos disolventes son parcialmente solubles en agua, la adición de un agente de salazón puede mejorar la eficiencia de extracción (Fu, *et al.*, 2020).

Park, & Jung, (2017) desarrollaron un método de extracción líquido-líquido asistida por salazón en un solo paso a partir de leche de soya (20% NaCl, proporción disolvente a muestra 6:1, pH 2.5, tiempo de agitación de 30 min a 300 rpm y centrifugación a 3000 rpm por 5 min a  $25 \pm 4$  °C), encontrando 12 isoflavonas, y pese a obtener rendimientos comparables a los de extracción convencional con disolventes, fue mucho más rápido (40 min) que dichos métodos (74 h) y sin necesidad de liofilizar previamente la muestra, ahorrando tiempo, costos y disolventes. Además, el método se aplicó a 22 leches de soya comerciales. En otro estudio, Wei, *et al.*, (2019) obtuvieron flavonoides a partir de semillas de *Cuscuta chinensis* Lam. mediante extracción por dienzimas (5% celulasa ácida, 5% proteasa neutra, pH 4.5, 45 °C, y 45 min) seguido de extracción por salazón (sulfato de amonio y etanol 1:2 p/v), en menos tiempo de extracción y obteniendo mayores rendimientos de TFC (18.75 mg/g) e hiperósido (4.34 mg/g) comparado con UAE (9.74 mg/g y 0.36 mg/g, respectivamente) y reflujo (3.43 mg/g y 0.19 mg/g, respectivamente) , así como mayor actividad antioxidante. En otro estudio, Fu, *et al.*, (2018) desarrollaron un método de extracción acuosa de dos fases co-asistida por microondas y enzimas (MEAATPE) (etanol 28% p/p, sulfato de amonio 20% p/p, concentración de enzima 0.45 U/g, tiempo de enzimólisis de 150 min, temperatura de enzimólisis de 45 °C, tiempo de microondas de 120 s y poder de microondas de 270 W), obteniendo un rendimiento de luteína de 7.32 mg/g a partir de *Tagetes erecta* L.

#### **4.2.16- Extracción por punto de enturbiamiento (CPE):**

Se usan tensioactivos no iónicos para formar micelas en medios acuosos al calentar por encima de una temperatura dada (llamada punto de enturbiamiento) o adición de sales (salazón), y se forman dos fases; una acuosa y otra rica en tensioactivos, siendo esta última donde normalmente queda el analito. La separación es posible por centrifugación. Es un método rápido, barato, ecológico, seguro y efectivo (Mortada, 2020).

More & Arya, (2019) desarrollaron un método para la extracción de flavonoides a partir de polvo de cáscara de granada mediante CPE (8.27% de Triton X-114 como tensioactivo, pH 5.07, 34.3 °C y 4.06% de NaCl como agente de salazón), obteniendo 60.05 mg de QE/g. En otro estudio, Mai, *et al.*, (2020) desarrollaron una metodología para la extracción y enriquecimiento simultáneo de flavonoides a partir de *Euonymus alatus* mediante extracción asistida por ultrasonidos acoplada a extracción por punto de enturbiamiento inducido por la temperatura (UAE-TICPE) usando polietilenglicol (PEG-400) y  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Se obtuvieron mayores rendimientos de TFC (2.61–3.15 mg/g), catequina (0.38–0.68 mg/g) y dihidromiricetina (1.09–1.35 mg/g) comparado con UAE convencional, HRE, maceración en frío y extracción asistida por microondas presurizada (PMAE).

#### **4.2.17- Producción microbiana de flavonoides y biotransformación:**

A pesar de haber grandes avances en los métodos de extracción de flavonoides, los rendimientos también dependen de la disponibilidad de la fuente vegetal y variaciones estacionales. Por eso, hoy en día con ayuda de la ingeniería metabólica se han logrado obtener diversos flavonoides naturales e incluso derivados no naturales a partir de microorganismos como *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae* (Pandey, *et al.*, 2016). En general, estos procesos presentan muchos parámetros a optimizar y se recomienda apoyarse en modelos computacionales. Por ejemplo, Jones, *et al.* (2016) optimizaron co-cultivo de *E. coli* para la producción de flavan-3-oles con ayuda de un modelo computacional empírico, obteniendo un rendimiento de  $40.77 \pm 0.1$  mg/L; un 65% más que el óptimo sin el modelo computacional y 970 veces mayor comparado con

monocultivos previamente realizados debido a una mejor distribución de la carga metabólica.

Además de la producción microbiana de flavonoides, también es posible su biotransformación, siendo una alternativa para la obtención de nuevos flavonoides bioactivos que no existen en la naturaleza. Para esto no sólo se utilizan células microbianas completas como *Cunninghamella*, *Penicillium* y *Aspergillus*, sino que también se pueden emplear simplemente las enzimas aisladas o incluso cultivos de células de mamíferos que son capaces de llevar a cabo reacciones como hidroxilaciones, deshidrogenaciones, O-metilaciones, O-desmetilaciones, glicosilaciones, desglicosilaciones, hidrogenaciones, deshidrogenaciones, reducción de carbonilos, ciclaciones o ruptura del anillo C, entre otras (Cao, *et al.*, 2015).

Por ejemplo, Sun, *et al.* (2017). realizaron una conjugación enzimática de flavonoides (naringina, neohesperidina dihidrochalcona y extracto de toronja) con ácidos poliinsaturados omega-3 mediante una reacción de esterificación catalizada por la lipasa *Novozyme 435* en acetona a 45 °C a escala semipreparativa, obteniendo altos rendimientos (> 85%) y demostrando actividad antioxidante, anti-peroxidación y anti-angiogénica. En otro estudio, Łużny, M., *et al.* (2020) obtuvieron 18 nuevos flavonoides (no reportados anteriormente) mediante biotransformación fúngica empleando células completas de cinco cepas *Beauveria bassiana* (KCh J1.5, J2.1, J3.2, J1, BBT), dos cepas *Beauveria caledonica* (KCh J3.3, J3.4), una cepa *Isaria fumosorosea* (KCh J2) y una cepa *Isaria farinosa* (KCh KW 1.1). Se obtuvieron 13 flavonoides 4-O-metilglucósidos y 5 hidroxiflavonas.

#### **4.3- PROPIEDADES TERAPÉUTICAS DE LOS FLAVONOIDES:**

##### **4.3.1- Actividad antioxidante:**

Los radicales libres se generan en la mitocondria como subproductos de la fosforilación oxidativa durante la cadena de transporte de electrones (Kopustinskiene, *et al.*, 2020). A bajas concentraciones participan en procesos de

señalización celular y regulación fisiológica (Nahar, *et al.*, 2017). Sin embargo, un desequilibrio entre radicales libres y antioxidantes produce estrés oxidativo, causando daños en componentes celulares como proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos (Adwas, *et al.*, 2019). El daño ocasionado conduce a muerte celular por apoptosis y la generación de radicales como superóxido y peroxinitrilo, que se relacionan con enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer (Nahar, *et al.*, 2017) y otras enfermedades como diabetes, enfermedades hepáticas, aterosclerosis y cáncer (Adwas, *et al.*, 2019).

Los beneficios que brindan los flavonoides a la salud se deben principalmente a su actividad antioxidante, que es mayor a la de otros compuestos fenólicos debido a que contienen múltiples grupos hidroxilos (D'Amelia, *et al.*, 2018). De hecho, se ha demostrado que la actividad antioxidante de los flavonoides se ve influenciada por el número y posición de los grupos hidroxilo (Tavsan, & Kayali, 2019). Estos grupos son responsables de la captura de radicales libres, y lo logran mediante dos mecanismos diferentes: la transferencia de átomo de hidrógeno o la transferencia de un solo electrón seguida de transferencia de protón a los radicales libres (Vo, *et al.*, 2019). Cuando los flavonoides llevan a estas transferencias, estabilizan especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (NOS), dando lugar a radicales de flavonoides relativamente estables (D'Amelia, *et al.*, 2018).

La importancia de los grupos hidroxilo en los flavonoides lo demostraron Hu, *et al.*, (2017), quienes encontraron que los flavonoides 3',4'-dihidroxi obtenidos a partir de flores de *Chrysanthemum morifolium* (quercetina, eriodictol, piracantósido, luteolina, axilarina, cirsiol y crisosplenol D) tuvieron alta capacidad antioxidante, mientras que los de un sólo hidroxilo (apigenina, apigetrina, diosmetina, spinacetina e isorhamnetina 3-O- $\beta$ -D-glucósido) mostraron actividad moderada, y los metoxilados, sin hidroxilos (acacetina, acacipetalina, bonanzina y artemetina) no presentaron actividad antioxidante. De manera similar, Tavsan, & Kayali, (2019), encontraron que la actividad antioxidante de los flavonoides 7,6



dihidroxiados aumenta conforme aumentan los grupos hidroxilos en su estructura: apigenina (4') < luteolina (3' y 4') < miricetina (3',4',5' y 3).

Es de gran importancia determinar la identidad de los compuestos responsables del efecto terapéutico como se ilustra en el estudio de Chen, *et al.* (2017), quienes encontraron menor contenido de flavonoides hidroxilados (hesperidina y narirutina), pero mayor contenido de flavonoides polimetoxilados (PMF) (nobiletina y tangeritina) en un extracto de cáscaras de *Citrus reticulata* procedentes de Xinhui y Sichuan comparado con cáscaras de otros lugares. Sin embargo, también presentaron mayor actividad antioxidante, pero esta se correlacionó con el TPC y no con el TFC, que además fue notablemente menor, por lo que el efecto antioxidante no se debe a los flavonoides.

Otra consideración estructural importante es que la actividad antioxidante se ve reducida con las glicosidaciones (D'Amelia, *et al.*, 2018). Esto también lo demuestran Hu, *et al.*, (2017), quienes encontraron que el SC<sub>50</sub> de los flavonoides aglicones (quercetina, apigenina y eriodictol) es mayor al de sus respectivos glucósidos (isorhamnetina 3-O-β-D-glucósido, apigetrina y piracantosido, respectivamente) probablemente debido a impedimento estérico.

Como última consideración estructural, en un estudio realizado por Vo, *et al.*, (2019) demostraron que aunque la energía de disociación de enlaces O-H es mayor a la de los enlaces C-H, éstos también contribuyen a la actividad antioxidante de los flavonoides, sobre todo los C3-H en flavonoides que contienen grupos 4-carbonilos y/o 3-hidroxilos.

#### **4.3.2- Actividad antiinflamatoria y antinociceptiva:**

La inflamación es una respuesta defensiva a infecciones microbianas o lesiones en tejidos. Es un proceso complejo y participan varios mediadores. Sin embargo, la inflamación desregulada tiene implicaciones en enfermedades como diabetes, cáncer o alergias. Los flavonoides pueden inhibir a las enzimas ciclooxigenasas (COX) y lipoxigenasas (LOX), que se encargan de convertir al ácido araquidónico

en prostaglandinas y otros mediadores inflamatorios (Maleki, *et al.*, 2019). Por ejemplo, Zhao, *et al.*, (2018) demostraron que rutina, isoquercetina y quercetina, obtenidos a partir de hojas de *Juniperus sabina*, inhibieron la actividad de COX-2 y 5-LOX a IC<sub>50</sub> de 31.92 µg/mL, 129.26 µg /mL respectivamente. Además, el extracto presentó actividad antiinflamatoria y analgésica *in vivo* en ratones a dosis de 250 y 500 mg/Kg. De manera similar, Chung, *et al.*, (2019) encontraron que la naringenina administrada por vía oral a ratas y ratones a dosis de 100 y 200 mg/Kg presentó efectos antiinflamatorios y antinociceptivos. Pese a no haber evaluado el mecanismo de acción, la inflamación fue inducida mediante inyección de carragenano en oreja de ratón, que se sabe que favorece la producción de COX, por lo que los autores piensan que el mecanismo de acción debe ser similar al del ibuprofeno; inhibición de la COX.

Otro mediador inflamatorio es el óxido nítrico (NO), cuya inhibición por flavonoides fue estudiada por Hu, *et al.*, (2017), quienes observaron que la luteolina (con doble enlace en C2-C3) fue muy activa, mientras que el eriodictol (sin ese doble enlace) no, por lo que es posible que ese enlace sea necesario para inhibir la producción de NO. Esto también lo observó Chen, *et al.* (2017), quienes encontraron que la hesperidina (que no contiene ese enlace) no presentó inhibición de NO. Otra observación hecha por Hu, *et al.*, (2017) es que los flavonoides 3',4'-dimetoxilados (bonanzina y artemetina) mostraron más actividad que el flavonoide 3'-metoxilado (espinacetina), y los tres mostraron más actividad que sus análogos sin metoxilación alguna (axilarina y artemetina), lo que coincide nuevamente con lo observado por Chen, *et al.* (2017), quienes encontraron que los PMF, especialmente la nobiletina, presentan mayor inhibición de NO que hesperidina (un metoxilo) y narirutina (sin metoxilos). De manera similar, Mansourabadi, *et al.* (2015) demostraron que salvigenina, obtenida a partir de *Salvia officinalis* tiene efecto antiinflamatorio y analgésico de manera dosis-dependiente en ratones, y pese a no evaluar el mecanismo de acción, los autores proponen que la inhibición de NO es posible, lo cual es consistente con lo anteriormente mencionado, ya que es un flavonoide metoxilado, no contiene

3-hidroxilo y tiene doble enlace en C2-C3. Por otro lado, Hu, *et al.*, (2017) que todos los flavonoides glucosidados (isorhamnetina 3-O-β-D-glucósido, piracantósido, apigetrina y acacipetalina) fueron inactivos o altamente citotóxicos. Esto nuevamente coincide con lo observado por Chen, *et al.* (2017), quienes tampoco observaron inhibición de NO por flavanonas glicosidadas. Otra consideración estructural importante observada por Hu, *et al.*, (2017) es que, aunque no vuelve inactivo a los flavonoides, el grupo 3-hidroxil reduce el efecto inflamatorio, ya que las flavonas fueron más activos que sus correspondientes flavonoles.

#### **4.3.3- Actividad gastroprotectora:**

Se sabe que la mieloperoxidasa (MPO) es una enzima que genera ROS que, como se ha mencionado, son capaces de producir daño oxidativo en tejidos, así como inflamación y lesiones en las mucosas intestinales. De hecho, los niveles de los biomarcadores de daño oxidativo y la MPO se ven aumentados en la mucosa de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (Chami, *et al.*, 2018). Entonces, varios autores sugieren que la actividad gastroprotectora y antiúlcera de los flavonoides está fuertemente relacionada con su capacidad antioxidante y antiinflamatoria. Por ejemplo, Pereira, *et al.*, (2017), sugieren que la actividad gastroprotectora y antiúlceras de los flavonoides y polifenoles obtenidos de un extracto de resina de *Virola olifera* (dosis de 10 mg/Kg y 100 mg/Kg) podría estar relacionada con la actividad antioxidante encontrada *in vitro*. Onyeka, *et al.*, (2020) también sugieren que la actividad antiúlcera encontrada en un extracto de hojas de *Euphorbia hirta* (dosis de 200 mg/Kg) podría estar relacionada con la actividad antioxidante de los flavonoides presentes en el extracto, así como su capacidad de aumentar la resistencia capilar y mejorar la microcirculación.

Por otro lado, Sadraei, *et al.*, (2017) encontraron que un extracto hidroalcohólico de partes aéreas de *Dracocephalum kotschyi* a dosis de 10 mg/Kg y apigenina sola a 5 mg/Kg presentaron actividad antiinflamatoria en ratas con colitis inducida. Los efectos se vieron atenuados a dosis más altas. Ambos redujeron la actividad

de la MPO con respecto al control negativo, manteniéndola a niveles normales. Los autores señalan que el compuesto responsable de la actividad antiinflamatoria del extracto es la apigenina, que, como también se demostró, por sí sola tiene un gran potencial para tratar la colitis, incluso comparable al de la prednisolona.

#### **4.3.4- Actividad antibacteriana:**

Los flavonoides tienen diversos mecanismos por los cuales ejercen su efecto antimicrobiano; pueden unirse a proteínas bacterianas e inactivarlas, formar complejos con su pared celular (D'Amelia, *et al.*, 2018), inhibir el metabolismo energético, la síntesis de ácidos nucleicos y crecimiento bacteriano al interferir con la permeabilidad de la pared celular, ocasionando lisis (Gultom, *et al.*, 2020). Por ejemplo, Xu, *et al.*, (2019) observaron *in vitro* que un concentrado de flavonoides obtenido a partir de *Sedum aizoon* L. tiene actividad antibacteriana contra *Aeromonas* (Gram-negativa) a 0.67 mg/mL, produciendo destrucción de la membrana bacteriana con una consecuente fuga, así como una posible interferencia en la síntesis de proteínas e inhibición de la actividad ATPasa, ocasionando apoptosis. Estos flavonoides inhibieron el crecimiento bacteriano en carne de puerco congelada, retardando su deterioro, por lo que son candidatos a ser conservadores naturales. El extracto contiene 13 flavonoides, de los cuales kaempferol, dihidrato de quercetina y catequina son los más abundantes.

Así mismo, se ha observado que los flavonoides suelen ser más potentes contra bacterias Gram-positivas. Por ejemplo, Fathima, & Rao, (2016) demostraron que la catequina resulta tóxica para *Escherichia coli* (Gram-negativa) y *Bacillus subtilis* (Gram-positiva) a un IC<sub>50</sub> de 9 ppm, ocasionando un daño en la membrana externa de la célula, siendo de manera más evidente contra la bacteria Gram-positiva, en la que incluso se observó daño a su DNA, atribuido a interacciones por puentes de hidrógeno entre el anillo B del flavonoide con las bases de los ácidos nucleicos. Los autores argumentan que los flavonoides son menos efectivos contra bacterias Gram-negativas porque el lipopolisacárido, que tiene carga negativa, repele a los grupos hidroxilo de los flavonoides, impidiendo su unión y absorción.

Esa aseveración es consistente con lo observado por Satish, *et al.* (2018), quienes encontraron actividad antimicrobiana en flavonoides obtenidos a partir de *Brassica oleracea* var. *Capitata* L. en un disco de 50 µg cargado con 25 µL de extracto, obteniendo una inhibición de crecimiento bacteriano comparable con la estreptomicina contra *E. coli* y *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) siendo más efectivo contra esta última. Los flavonoides encontrados en el extracto fueron genisteína, kaempferol, naringenina y catequina. De manera similar, Safari, *et al.* (2019) demostraron que el extracto metanólico de hojas de *Mespilus germanica* L. presentó actividad antibacteriana contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, siendo más efectivo contra estas últimas (sobre todo contra *Staphylococcus aureus*). Los autores atribuyeron la actividad antimicrobiana al alto contenido de flavonoides y otros fenoles presentes en el extracto, aunque estos no fueron caracterizados. Vale la pena mencionar que este extracto fue más efectivo que la gentamicina contra *S. aureus*, *Staphylococcus epidermis* y *E. coli*.

#### **4.3.5- Actividad antiviral:**

Diversos autores han demostrado que los flavonoides glicosidados muestran actividad antiviral. Por ejemplo, Bang, *et al.*, (2018) encontraron que los flavonoides glicosidados obtenidos a partir de un extracto metanólico de *Salvia plebeia* (la planta completa) presentaron inhibición de la neuraminidasa (enzima del virus de la influenza H1N1) a 50 µM, siendo estos nepitrina, 6-hidroxiluteolina 7-O-β-D-glucósido y homoplantaginina, en ese orden, sugiriendo que el grupo hidroxilo en C-5', y sobre todo el metoxilo en C-6 podrían contribuir a su interacción con esa enzima. También redujeron el efecto citopático inducido por H1N1 en células renales caninas de Madin-Darby (MDCK) a 20 µM. De manera similar, Qiu, *et al.*, (2016) encontraron que la quercetina 3- β-O-D-glucósido fue efectivo contra el virus del Ébola (EBOV) a concentraciones efectivas EC<sub>50</sub>= 5.3 µM y EC<sub>90</sub>= 9.3 µM en células Vero E6, y fue efectivo contra dos variantes; EBOV-Makona y SUDV-Boniface. *In vivo* También fue capaz de proteger a ratones de la infección a dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg (intraperitoneal).

Así mismo, Ortega, *et al.*, (2017) observaron que los residuos glicosídicos favorecen la internalización de los flavonoides a la célula al demostrar que la miricetina ramnósido y la miricetina 3-(6-ramnosilgalactósido) obtenidas a partir de *Marctia taxifolia* presentan actividad antiviral contra VIH-1 a concentraciones significativamente menores (120  $\mu\text{M}$  y 45  $\mu\text{M}$ ) que la miricetina aglicona (230  $\mu\text{M}$ ). Sin embargo, ambos requirieron mayores concentraciones para inhibir a la transcriptasa reversa del virus ( $\text{IC}_{50}$  DE 10.6  $\mu\text{M}$  y 13.8  $\mu\text{M}$  respectivamente) comparado con la aglicona (7.6  $\mu\text{M}$ ), lo que sugiere que una vez dentro de la célula, los residuos glicosilados son cortados y es el aglicón libre el que ejerce el efecto.

Evidentemente, también es posible que los aglicones libres ejerzan actividad antiviral dentro de la célula, como se observó en el estudio de Fan, *et al.*, (2016), en el que se demostró que la luteolina (aglicón libre) inhibe de manera dosis-dependiente la infección por virus de encefalitis japonés (JEV) en eventos posteriores a su entrada a la célula (no así en la etapa de unión y entrada) en líneas celulares A549. De manera similar, Lani, *et al.*, (2016) demostraron en células Vero que los flavonoides aglicones baicaleina ( $\text{IC}_{50}$ = 1.891  $\mu\text{mL}$ ; 6.997  $\mu\text{M}$ ), fisteina ( $\text{IC}_{50}$ = 8.444  $\mu\text{mL}$ ; 29.5  $\mu\text{M}$ ) y quercetagetina ( $\text{IC}_{50}$ = 13.85  $\mu\text{mL}$ ; 43.52  $\mu\text{M}$ ), presentaron actividad intracelular contra el virus de Chikungunya (CHIKV) de manera comparable e incluso superior que el antiviral ribavirina ( $\text{IC}_{50}$ = 11.07  $\mu\text{mL}$ ), aunque la baicaleina y la quercetagetina ejercen sus efectos principalmente durante eventos extracelulares, mientras la fisteina sólo los ejerce durante eventos intracelulares, y de hecho, muestra mayor inhibición de la replicación de CHIKV que los demás compuestos cuando se adiciona después de la internalización del virus.

Hoy en día incluso se estudia la posibilidad de utilizar flavonoides contra COVID-19, aunque muchos estudios están en fases muy tempranas, enfocándose en predicciones *in silico* mediante el aprendizaje automático de máquinas y *docking* molecular. Una de las principales dianas es la proteasa de tipo 3-quimotripsina del SARS-CoV-2 (3CL<sup>pro</sup> o proteasa principal; M<sup>pro</sup>), que es una

proteína crucial para el ciclo de vida del virus (Motiwale, *et al.*, 2020), la cual, de acuerdo con las predicciones *in silico*, podría ser inhibida por flavonoides glicosidados, sobre todo rutina (Cherrak, *et al.*, 2020; Xu, *et al.*, 2020), miricetina 3-rutinósido y quercetina 3-ramnosa (Cherrak, *et al.*, 2020), 3'-hidroxi-4'-metoxi-croman-7-O- $\beta$ -D-glucopiranosido, 4,2',4'-trihidroxi-6'-metoxichalcona-4'-O- $\beta$ -D-glucopiranosido (Allam, *et al.*, 2020), glicósidos de isorhamnetina y kaempferol (Owis, *et al.*, 2020) y aglicones libres como naringenina (Jain, *et al.*, 2021), por lo que estos flavonoides son buenos candidatos a estudios posteriores *in vitro* o *in vivo*. De hecho, Clementi, *et al.*, (2021) ya demostraron *in vitro* que la naringenina disminuyó el efecto citopático en células Vero E6 infectadas por SARS-CoV-2 de manera dependiente de tiempo (48 y 72 h) y concentración (62.5 y 250  $\mu$ M). También fue efectivo contra otros coronavirus (HCoVOC43 y HCoV229E), por lo que se considera que tiene actividad anti pan-CoV humano.

Otro blanco prometedor para tratar esta enfermedad es la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), que es una proteína transmembranal humana que funge como el receptor para el SARS-CoV-2, ya que se une a la proteína *spike* del virus, lo que permite su entrada a las células huésped (Zhang, *et al.*, 2020). En predicciones *in silico* se ha observado que 3'-hidroxi-4'-metoxi-croman-7-O- $\beta$ -D-glucopiranosido, 4,2',4'-trihidroxi-6'-metoxichalcona-4'-O- $\beta$ -D-glucopiranosido se unen a la proteína *spike* del virus (Allam, *et al.*, 2020), y que crisina y sobre todo hesperidina modulan la interacción entre la ACE2 y el virus, bloqueando su entrada (Basu, *et al.*, 2020).

También se ha visto que la baicaleína tiene mejor potencial inhibidor de la proteína *spike* comparado con Abacavir e hidroxiclороquina, que son antivirales contra VIH que se han usado para tratar COVID-19 (Pandey, *et al.*, 2021). Así mismo, Ngwa, *et al.*, (2020) observaron *in silico* que hesperitina, miricetina, linebacker y caflanona también son capaces de impedir la entrada del virus mediante un mecanismo similar. Además, la caflanona inhibió *in vitro* al propio virus ( $IC_{50}$ = 0.42  $\mu$ M), diversas citocinas ( $IC_{50}$ = 2.4-9.9  $\mu$ M) y diversos factores de entrada del virus,

incluyendo al receptor de tirosina quinasa AXL ( $IC_{50} = < 5.0 \mu M$ ), que facilita la transmisión de madre a feto.

En general, se considera a la hesperidina como un candidato muy prometedor, ya que no sólo interfiere en la entrada del virus y mejora la inmunidad celular del huésped, sino que también se sabe que minimiza la inflamación y su mezcla con diosmina co-administrada con heparina protege contra la tromboembolia venosa, padecimientos que suelen sufrir los pacientes de COVID-19 (Haggag, *et al.*, 2020). Este flavonoide es tan prometedor, que actualmente se está analizando la posibilidad de emplear extracción por cavitación hidrodinámica como método de obtención de hesperidina a gran escala para tratar y prevenir COVID-19 (Meneguzzo, *et al.*, 2020). Cabe resaltar que son pocos estudios los que han evaluado este método de extracción para la obtención de flavonoides, por lo que podría estudiarse con mayor profundidad. Sin embargo, hay otros flavonoides con potencial para tratar y prevenir COVID-19 (quercetina, baicalina y hesperetina, entre otros flavonoides ya mencionados) que, debido a sus diversos efectos terapéuticos y baja toxicidad, podrían ser utilizados para tratar la enfermedad, y deben estudiarse con mayor profundidad en pruebas clínicas (Russo, *et al.*, 2020).

#### **4.3.6- Actividad antidepresiva:**

La principal causa bioquímica de la depresión se debe a hipoactividad de neurotransmisores monoaminas, tales como noradrenalina (NA), serotonina (5-HT) y dopamina (DA), debida a una disfunción de las enzimas monoamina oxidasas (MAOs), responsables de la degradación de estos neurotransmisores y cuyas alteraciones (actividad elevada o reducida) ocasionan psicopatologías (Khan, *et al.*, 2018; Guan & Liu, , 2016).

Se sabe que los flavonoides, sobre todo los aglicones libres, pueden cruzar la barrera hematoencefálica, razón por la cual ejercen múltiples efectos sobre el sistema nervioso central (SNC), entre ellos el efecto antidepresivo, que se debe al aumento de las concentraciones de los neurotransmisores NA, 5-HT y DA mediante la inhibición de las MAOs, interacción con receptores serotoninérgicos



(5-HT<sub>1A</sub> Y 5-HT<sub>2</sub>), noradrenérgicos (adrenoceptores  $\alpha$ 1 y  $\alpha$ 2) y dopaminérgico (D1 y D2) y aumento del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en hipocampo, entre otros mecanismos (German-Ponciano, *et al.*, 2018; Guan & Liu, 2016; Khan, *et al.*, 2018). Por ejemplo, Carradori, *et al.*, (2016) observaron *in vitro* e *in silico* que apigenina y diosmetina actúan de manera prometedora como inhibidores competitivos y reversibles de las MAOs humanas A y B, ejerciendo interacciones hidrofóbicas y de puentes de hidrógeno con las enzimas. La inhibición se reduce notablemente al no estar presente el doble enlace C2-C3 y al cambiar el patrón de 4'-hidroxi-3'-metoxi (isorhamnetina). También se observó *in silico* que flavonoides glicosilados no logran unirse eficazmente a las enzimas debido a impedimento estérico, justificando los resultados *in vitro* de la isoquercetina (sin actividad) y los flavonoides diglicosídicos (baja). Sin embargo, los ocho flavonoides estudiados presentaron menor efecto que los controles positivos harmina y safinamida.

Por otro lado, varios autores han reportado extractos metanólicos con actividad antidepresiva. Tal es el caso de Küpeli-Akkol, *et al.* (2019), que realizaron extractos de partes aéreas de *Micromeria myrtifolia* con hexano, acetato de etilo, etanol y metanol, siendo este último el más efectivo como antidepresivo, demostrado *in vivo* e *in vitro* (inhibición de MAOs). Los flavonoides responsables de la actividad antidepresiva fueron miricetina, apigenina y naringenina. De manera asimilar, Kaur, *et al.* (2019), obtuvieron extractos de hojas de *Citrus limetta* con éter de petróleo, cloroformo, agua y metanol, siendo nuevamente el metanólico el de actividad antidepresiva significativa en ratones e incrementó los niveles de norepinefrina, serotonina y dopamina después de 14 días. Pese a que no se caracterizaron los flavonoides presentes en el extracto, se piensa que éstos fueron los responsables de la actividad antidepresiva. Así mismo, otros extractos alcohólicos también muestran efectos, tal como lo demostró Alves, *et al.*, (2020), quienes encontraron actividad antidepresiva *in vivo* en un extracto etanólico de hojas de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, así como en isoorientina

(luteolina-6-C- $\beta$ -D-glucósido) purificada, que se piensa que, junto con el resto de los flavonoides presentes en el extracto, es la responsable del efecto del mismo.

Otros flavonoides que actúan sobre el sistema monoaminérgico son kaempferitrina, luteolina, vitexina, amentoflavona, naringenina, fisteina, nobiletina y quercetina. Además, otro mecanismo por el cual los flavonoides pueden ejercer un efecto antidepresivo es mediante el aumento de la concentración de BDNF, y dentro de este grupo, se pueden encontrar tanto aglicones libres como flavonoides glicosilados (crisina, naringenina, astilbina, icariina, 7,8-dihydroxiflavona, hiperósido, baicaleina y 3,5,6,7,8,3',4'-heptametoxiflavona) (Hrictu, *et al.*, 2017).

#### **4.3.7- Actividad anticancerígena:**

El cáncer es una enfermedad caracterizada por proliferación celular incontrolada que ocasiona crecimiento celular anormal e invasivo, con posibilidad de metastatizar a otros órganos (Kopustinskiene, *et al.*, 2020). Sus causas son multifactoriales, incluyendo el estrés oxidativo e inflamación, por lo que ya se ha evaluado la actividad anticancerígena de compuestos antioxidantes y antiinflamatorios (Imran, *et al.*, 2019). Los flavonoides pueden interrumpir el ciclo celular, inducir autofagia y apoptosis y tienen un efecto dual en la regulación de ROS; pueden actuar como antioxidantes en condiciones normales o ser pro-oxidantes en células cancerígenas, provocando apoptosis (Kopustinskiene, *et al.*, 2020).

Por ejemplo, Zhang, *et al.*, (2018) encontraron que los flavonoides isorhamnetina, genkawina y acacetina obtenidos a partir de *Tephrosia kirilowii* disminuyeron de manera dosis-dependiente la viabilidad de células humanas cancerígenas MDA-MB-231 con una IC<sub>50</sub> de 55.51  $\mu$ M, 58.54  $\mu$ M, y 82.75  $\mu$ M, respectivamente, induciendo apoptosis, interrupción del ciclo celular en fase G2/M y muerte celular por autofagia.

En otro estudio, Hashemzei, *et al.*, (2017) demostraron que la quercetina indujo apoptosis *in vitro* de manera dosis y tiempo dependiente a 9 líneas celulares

tumorales (células de carcinoma de colon CT-26, células de adenocarcinoma de próstata LNCaP, células de próstata humano PC3, células de feocromocitoma PC12, células de cáncer de mama con receptor de estrógeno positivo MCF-7, células de leucemia linfoblástica aguda MOLT-4, células de mieloma humano U266B1, células de linfoides humanas Raji y células de cáncer de ovario CHO) mediante el ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT), que mide la proliferación celular. También aumentó significativamente la tasa de supervivencia de ratones portadores de tumores CT-26 y MCF-7 a dosis de 100 y 200 mg/kg, así como una reducción del volumen tumoral a esas dosis y a 50 mg/kg, por lo que se concluye que la quercetina ejerce actividad anticancerígena *in vitro* e *in vivo*.

Así mismo, Jose, *et al.*, (2016) obtuvieron un derivado de miricetina (2-(2',6'-dimetil-3',4',5'-alquil o fenil sustituido con hidroxialquilo)-3-oxi-(alquil o hidroxialquilo)-5,7-dihidroxi-cromen-4-ona) a partir de *Mimosa pudica* (planta completa), y se le encontró potente actividad anticancerígena dosis-dependiente *in vitro* en líneas celulares de adenocarcinoma de pulmón humano A549 ( $IC_{50} = 76.67 \pm 4.27 \mu\text{g/mL}$ ) y células eritroleucémicas humanas K562 ( $IC_{50} = 287.63 \pm 18.64 \mu\text{g/mL}$ ) mediante el ensayo MTT. Así mismo, a dosis de 25 mg/kg y 100 mg/kg aumentó la vida de ratones con Linfoma de Ascitis de Dalton (DAL), protegió la arquitectura celular de hígado y riñón e inhibió el desarrollo tumoral.

Por último, Tavsan, & Kayali, (2019) evaluaron el efecto citotóxico de 10 flavonoides comunes en células ováricas cancerígenas (A2780, OVCAR-3 y SKOV-3) y células ováricas epiteliales (OSE), encontrando que apigenina, miricetina y luteolina tuvieron el mayor efecto sobre las células cancerígenas, sobre todo contra células resistentes a platino OVCAR-3 y SKOV-3, por lo que son candidatos prometedores a convertirse en anticancerígenos selectivos capaces de diferenciar entre células ováricas normales y cancerígenas. El efecto se atribuyó a 1) alteraciones en la señalización de ROS, generado daño en los lípidos de la membrana celular, 2) inducción de apoptosis, 3) detención del ciclo celular en

diferentes fases del mismo y 4) supresión de la invasión de células cancerosas, siendo mucho mayor a la producida por carboplatina, que es el anticancerígeno utilizado contra el cáncer de ovario.

#### **4.3.8- Actividad antiosteoporótica:**

La osteoporosis es la enfermedad ósea más común, y se caracteriza por una alteración del balance entre la formación de hueso (llevada a cabo por los osteoblastos) y su reabsorción (llevada a cabo por los osteoclastos) generando una reducción de la masa ósea y aumentando el riesgo de fracturas. Se debe a, entre otras cosas, deficiencia de estrógeno debida o enfermedades autoinmunes, por lo que afecta sobre todo a mujeres post-menopáusicas y personas mayores (Wang, *et al.*, 2018). Como ya se ha mencionado, algunos flavonoides pueden actuar como fitoestrógenos en las plantas (Tronina, *et al.*, 2020), por lo que no es sorpresa que algunos flavonoides, como la icariina, pueden restablecer el balance de remodelación ósea debido a, entre otros mecanismos, efecto mimético de estrógeno (Wang, *et al.*, 2018).

Por ejemplo, Adhikary, *et al.*, (2018) encontraron que el kaempferol redujo la pérdida de hueso en ratas con osteoporosis inducida por glucocorticoide y mejoró la curación de fracturas cuando se administró metilprednisolona (el glucocorticoide) + kaempferol (5 mg/kg/día) por vía oral durante 4 semanas. Así mismo, kaempferol a 5  $\mu\text{M}$  antagoniza el efecto apoptótico de la dexametasona en osteoblastos de la calota y produce un aumento de la expresión de genes osteogénicos para la supervivencia y diferenciación de osteoblastos *in vitro*.

También se ha observado que neoflavonoides obtenidos a partir de *Dalbergia sissoo* tienen actividad contra osteoporosis post-menopáusica. Por ejemplo, Choudhary, *et al.*, (2016) encontraron que la dalbergina obtenida a partir de duramen de *D. sissoo* administrada por vía oral (1 mg/kg<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) a ratones ovariectomizados (con osteoporosis post-menopáusica) durante 8 semanas tuvo efectos anabólicos significativos, mejorando la microarquitectura del hueso,

teniendo un efecto contra la pérdida ósea similar al del estradiol. También inhibió la diferenciación de osteoclastos y redujo la expresión de marcadores de resorción ósea sin comprometer la seguridad a nivel uterino ni hepático, por lo que éste flavonoide es un candidato prometedor para tratar la osteoporosis post-menopáusica. De manera similar, Kushwaha, *et al.*, (2016) encontraron en un modelo de ratones con osteoporosis post-menopáusica que el nuevo neoflavonoide dalsissooal obtenido a partir de duramen de *D. sissoo* administrado por vía oral (5 mg/kg/día) por 6 semanas mejoró la micro-arquitectura ósea, la fuerza biomecánica, aumentó la velocidad de aposición mineral, promovió la formación de hueso al aumentar la expresión genética de osteoblastos y disminuyó la pérdida de hueso al disminuir la expresión genética de osteoclastos, entre otros mecanismos. Los efectos fueron comparables con los de estradiol y no presentó hiperplasia uterina.

#### **4.3.9- Otras propiedades terapéuticas:**

##### 4.3.9.1- Actividad hipotensiva:

Se sabe que algunos flavonoides como quercetina y kaempferol ejercen efectos cardiovasculares benéficos (Dabeek, & Marra, 2019) Como ya se mencionó, los flavonoides pueden inhibir la ACE. Al hacerlo, ejercen actividad hipotensiva ya que aumentan los niveles de NO, que está involucrado en el mantenimiento de procesos de homeostasis vascular, como el flujo sanguíneo (Sánchez, M., *et al.*, 2018). Por ejemplo, Hettihewa, *et al.* (2018), demostraron que los flavonoides obtenidos a partir de fruta de *Actinidia macrosperm* inhiben ACE *in vitro* ( $IC_{50}$ = 0.49 mg/mL), posiblemente mediante unión no específica a la enzima o compitiendo con el sustrato por el sitio activo de la enzima. Los flavonoides presentes en el extracto fueron quercetina, quercetina-3-O-galactósido, quercetina-3-O-glucósido, quercetina-3-O-ramnósido, quercetina-3-O-rutinósido, epigallocatequina, catequina, epicatequina y epigallocatequin galato.

##### 4.3.9.2- Actividad antidiabética:

Se sabe que algunos flavonoides tienen efecto antidiabético, por ejemplo, los presentes en cocoa (Martin, *et al.*, 2016). Mechchate, *et al.*, (2021) encontraron que un extracto de flavonoides obtenido a partir de hojas de *Olea europea* L. presentó actividad antidiabética y antihiper glucémica a dosis de 25 y 50 mg/kg, reduciendo los niveles de glucosa en sangre a ratones con diabetes inducida. Los experimentos *in silico* indicaron inhibición de los receptores tirosina fosfatasa 1B, dipeptidil-peptidasa 4,  $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa, aldosa reductasa, y glicógeno fosforilasa, así como la activación del receptor de ácidos grasos libres 1; todos ellos participan en el manejo y complicación de la diabetes. Los flavonoides presentes en el extracto fueron amentoflavona, quercetina-3-O-glucosido, quercetina-3-O-hexosa-deoxihexosa, luteolina-7-O-glucósido y rutina.

#### 4.3.9.3- Actividad antifúngica:

Los flavonoides no sólo presentan actividad antibacteriana, sino también antifúngica. Por ejemplo, Silva, *et al.*, (2017) demostraron que un extracto hidroalcohólico de hojas de *Chrysobalanus icaco* presentó actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Candida parapsilosis* orales y *C. albicans* obtenida del *American Type Culture Collection* (a 3.12, 6.25 y <1.56 mg/mL, respectivamente), que son hongos de importancia clínica y responsables de la candidiasis oral. El efecto se le atribuyó a los flavonoides rutina y miricetina presentes en el extracto. Por otro lado, Al-Huqail, *et al.*, (2019), observaron que un extracto de flores de *Acacia saligna* al 3% presentó actividad antifúngica moderada contra los hongos de moho *Fusarium culmorum*, *Rhizoctonia solani*, y *Penicillium chrysogenum* en muestras de madera, sugiriendo que es posible utilizarlo como bioconservador de madera amigable para el medio ambiente. Contiene naringenina, quercetina, kaempferol y otros fenoles.

#### 4.3.9.4- Otros efectos en el SNC:

Como se mencionó, los flavonoides pueden ejercer efectos en el SNC. Además de tener efectos antidepresivos, también pueden tener efecto ansiolítico. Según la revisión realizada por Karim, *et al.* (2018), algunos flavonoides con actividad

ansiolítica son gospina, miricitrina, naringina, diversas chalconas, kaempferol, quercetina, luteolina, crisina, glucósido de apigenina, wogonina, rutina e isoorientina.

También se ha demostrado que pueden reducir o prevenir enfermedades neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson, Huntington y esclerosis lateral amiotrófica. Varios flavonoides tienen efecto en alguna de esas enfermedades, habiendo sinergia entre varios, e incluso fisteína y 7,8-dihidroxi-flavona han demostrado eficacia contra estos cuatro padecimientos (Maher, 2019).

Los flavonoides son capaces de modular la plasticidad sináptica y mejorar el flujo sanguíneo cerebral, resultando en la mejora de procesos cognitivos como aprendizaje y memoria (Rendeiro, C., Rhodes, J. S., & Spencer, J. P., 2015). Por ejemplo, Whyte, & Williams (2015) prepararon una bebida de arándano rica en flavonoides (143 mg de antocianina) que resultó mejorar la memoria de niños de 8 a 10 años, evaluado mediante una lista de palabras previamente aprendidas, aunque no hubo beneficios en atención ni memoria visuoespacial.

#### 4.3.9.5- Actividad fotoprotectora:

Debido a su capacidad natural para absorber radiación UV, los flavonoides pueden ser utilizados como fotoprotectores, tal como lo demostraron Lefahal, *et al.*, (2018), quienes encontraron que un extracto metanólico de partes aéreas de *Capnophyllum peregrinum* con alto contenido de fenoles y flavonoides (no caracterizados) presentó actividad antioxidante y fotoprotectora, ésta última evaluada mediante un método espectrofotométrico usando la región UV-B (que es la de mayor incidencia durante el día), obteniendo un factor de protección solar de  $35.21 \pm 0.18$  (>30 se considera alta), por lo que podría ser utilizado como un antioxidante y protector solar natural.

#### 4.3.9.6.- Actividad antialopécia:

Madaan, *et al.*, (2017) encontraron *in vitro* que la naringenina y hesperidina produjeron proliferación de células de la papila dérmica (DPCs) y queratinocitos en

estado basal y con daño oxidativo inducido por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, así como un aumento en la secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Las DPCs se encuentran en el folículo del cabello y son esenciales para el mantenimiento del crecimiento del cabello, mientras que el VEGF promueve la angiogénesis, restaurando el suministro de oxígeno durante el ciclo del crecimiento del cabello, por lo que estos flavonoides son buenos candidatos a ser promotores de crecimiento del cabello de origen natural.

#### 4.3.9.7.- Curación de heridas de piel:

Pang, *et al.*, (2017) demostraron que los flavonoides de *Blumea balsamifera* (L.) DC. tuvieron efectos curativos en heridas en la piel de ratas, especialmente a altas dosis (2.52 g·kg<sup>-1</sup>) debido a activación de macrófagos en la etapa inflamatoria, contracción de herida, regeneración capilar, depósito de colágeno y reepitelización. Se atribuyen estos efectos a la regulación a la alta de la expresión de factores de crecimiento. Al décimo día, la regeneración era de casi el 95%. Se encontraron 16 flavonoides aglicones y 5 flavonoides glicosilados, así como 5 análogos de ácidos fenólicos y 1 cumarina que seguramente también tuvieron efecto sinérgico con los flavonoides para ejercer el efecto.

#### 4.3.9.8.- Inhibición de las anhidrasas carbónicas:

Huyut, *et al.* (2017) demostraron que las anhidrasas carbónicas humanas I y II, que están relacionadas con enfermedades como glaucoma, epilepsia, ectasia dural, parálisis periódica, apnea central el sueño e hipertensión intracraneal idiopática, entre otras) se ven inhibidas por algunos flavonoides, especialmente por malvina y oenina, por lo que podrían utilizarse en el futuro para tratar algunas de esas enfermedades.

### **4.4.- EL FUTURO DE LOS FLAVONOIDES:**

#### **4.4.1.- Enfoques a futuro en la investigación de flavonoides:**



La importancia de los flavonoides es tal, que desde 2003 se lleva a cabo la Conferencia Internacional de Polifenoles y Salud (ICPH), en la que se discute la relevancia de los flavonoides y otros polifenoles en la salud humana. Y es que a pesar de que sus efectos biológicos están demostrados, su investigación debe madurar, y deben llevarse a cabo más pruebas clínicas, tener en cuenta las limitaciones de los estudios *in vitro* e *in vivo*, apoyarse en metodologías computacionales, cuantificar e identificar los flavonoides empleados y siempre establecer el mecanismo de acción farmacológico, sin importar que sean compuestos presentes en productos alimenticios (Perez-Vizcaino & Fraga, 2018).

Hoy en día hay una gran variedad de métodos de extracción de flavonoides que garantizan buenos rendimientos en poco tiempo, y aunque en gran parte eso depende de la fuente vegetal y su estado, hoy en día también se pueden obtener flavonoides mediante producción microbiana apoyándose en ingeniería genética, siendo posible incluso la obtención de flavonoides que no existen en la naturaleza y que tienen efectos terapéuticos. Estos procesos no son procesos sencillos, pero pueden apoyarse de estudios *in silico* y plataformas robóticas para acelerar el descubrimiento de flavonoides con potencial terapéutico y expandir de manera dirigida de su diversidad química, siendo relevante para el rápido tratamiento de enfermedades emergentes como el COVID-19 (Goris, *et al.*, 2021).

#### **4.4.2.- Formulación de flavonoides:**

En 2012 la *Food and Drug Administration* (FDA) aprobó cloferemer (una proantocianidina para tratar algunos efectos adversos causados por tratamiento de VIH, lo cual representó un gran logro para la investigación de flavonoides. Sin embargo, esta molécula no fue propuesta ni diseñada para uso sistémico. Y es que el gran problema con respecto al uso medicinal de flavonoides es que tienen baja biodisponibilidad por vía oral (Hu, *et al.* 2017). Por eso, hoy en día, además de aumentar los rendimientos de obtención de flavonoides y de descubrir y demostrar sus actividades biológicas, también es necesario apoyarse de la

tecnología farmacéutica para mejorar su biodisponibilidad y que puedan ser utilizados en la práctica clínica.

Por ejemplo, Li, *et al.*, (2019) encapsularon naringenina en micelas de proteínas  $\beta$ -caseína, que es una proteína anfifílica que se auto-ensambla en micelas, y que podría utilizarse para aumentar la biodisponibilidad de este flavonoide. Después, este mismo autor, Li, *et al.*, (2021) usaron una transglutaminasa microbiana para entrecruzar estas micelas y estabilizarlas, demostrando que a pH 7.4 (pH del intestino delgado) la liberación fue más lenta comparada con las micelas no tratadas, y mostraron resistencia parcial a las pepsinas y una liberación más lenta en el medio gástrico simulado, por lo que podrían emplearse para liberar flavonoides en el intestino delgado.

En otro estudio, Silva, *et al.*, (2020) desarrollaron alginatos metálicos para su carga con epicatequina y epigallocatequin-3-galato (función antioxidante y prevención de melanoma) en un parche que fue probado en un modelo de piel *ex-vivo*, y fue capaz de liberar cantidades significativas del flavonoide en la piel. Los agentes reticuladores metálicos efectivos fueron  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$ .

Por otro lado, Alves, *et al.*, (2020) obtuvieron un extracto de *P. edulis* cuyo contenido de flavonoides consistió de vicenina-2, orientina, isoorientina, vitexina, e isovitexina. El extracto fue encapsulado en un copolímero de polimetilmetacrilato Eudragit E PO para formar nanopartículas catiónicas cargadas con el extracto. Esta formulación es capaz de mantenerse estable por lo menos durante 6 meses. Además, se emplearon ratones para probar la actividad antidepresiva de esta formulación (5 mg/kg) y la del extracto sin encapsular (50 y 100 mg/kg), encontrando que con la formulación desarrollada se obtuvo un efecto hasta 10 veces mayor debido a que se mejora la estabilidad y biodisponibilidad de los flavonoides. También se demostró mediante análisis bioquímico (niveles de proteínas totales, albúmina, aminotransferasas, urea y creatinina) e histopatológico (arquitectura de cerebro, riñón, hígado, corazón y bazo) que la formulación no genera toxicidad alguna, por lo que es biocompatible. Entonces,

con esta formulación se obtiene un producto altamente estable y eficaz que puede ser empleado para tratar la depresión.

Estas investigaciones pueden ser relevantes hoy en día. Por ejemplo, Ngwa, *et al.*, (2020) diseñaron nanopartículas inteligentes (nanodrones) para la administración dirigida de flavonoides a los receptores ACE2 en los pulmones (para el tratamiento de COVID-19) con la intención de mejorar su biodisponibilidad y hacer posible su monitoreo guiado por imágenes. Por otro lado, Jin, *et al.* (2020) desarrollaron recientemente nanopartículas de quitosano cargadas con hesperidina para administración nasal, encontrando actividad antiinflamatoria *in vitro* (en macrófagos) e *in vivo* (en ratones) a dosis de 10 µg/mL; se suprimió la tormenta de citosinas, la lesión pulmonar aguda y el síndrome de dificultad respiratoria aguda, por lo que basándose en esta investigación, podría desarrollarse una terapia para los pacientes con COVID-19.

#### **4.4.3.- Otros usos de los flavonoides:**

##### 4.4.3.1.- Uso en textiles:

Además de los claros usos farmacéuticos que se le pueden dar a los flavonoides, también pueden tener otros usos de relevancia industrial. Por ejemplo, Zhou & Tang, (2017) diseñaron dos fibras de seda que, debido a adsorción de rutina o quercetina, tienen capacidades antibacteriana, antioxidante y fotoprotectora. La seda tratada con quercetina fue más efectiva y resistente a los lavados, por lo que son ideales para uso repetido. Obviamente, debido a la mayor capacidad de desorción, la seda tratada con rutina es ideal para la preparación de materiales medicinales que deban liberar sostenidamente el flavonoide para uso antioxidante y antibacteriano. En otro estudio, este mismo autor, Zhou, *et al.* (2019) diseñaron otras fibras de seda, esta vez con baicalina, rutina y quercetina que, debido a la complejación con iones metálicos Fe<sup>2+</sup> y Ti<sup>4+</sup>, son resistentes a lavados y es posible teñirlas de diferentes colores. La fibra tiene capacidad antioxidante moderada y buena capacidad antibacteriana e ignífuga.

#### 4.4.3.2.- Uso como sensores y agentes quelantes:

Hoy en día, incluso se pueden utilizar flavonoides como componentes de biosensores. Por ejemplo, Amiri-Aref, *et al.* (2014) construyeron un sensor electroquímico usando un electrodo modificado mediante la electrodeposición de luteolina en un nanotubo de carbono inmovilizado en la superficie de un electrodo de carbono vítreo (Lt/fMWCNT/MGCE) para la detección simultánea de noradrenalina, acetaminofén, xantina y cafeína (límites de detección de 0.53  $\mu\text{M}$ , 0.78  $\mu\text{M}$ , 0.65  $\mu\text{M}$  y 3.54  $\mu\text{M}$ , respectivamente). Para inmovilizar la luteolina durante la construcción del sensor, ésta fue oxidada a su correspondiente derivado O-quinona, por lo que ésta oxida a los analitos ya mencionados para llevar a cabo su detección. Este sensor fue utilizado para la cuantificación de noradrenalina en muestras farmacéutica usando el método de adiciones estándar, obteniendo resultados satisfactorios. En general, el dispositivo tiene buena sensibilidad y reproducibilidad, siendo un proyecto prometedor y de gran relevancia para las ciencias farmacéuticas.

Además, los flavonoides pueden actuar como agentes quelantes (forman complejos con metales). Esta propiedad se puede explotar para el desarrollo de sensores. Por ejemplo, Su, *et al.*, (2019) extrajeron flavonoides a partir de residuos de bambú; proporción sólido-líquido de 1:25, 50% de etanol, 90 °C y 240 min, obteniendo un rendimiento de 104.7 mg/100 g de residuos de bambú, cuyo contenido incluye isoorientina, isovitexina, pinosilvina, tricina e isorhamnetina. Estos flavonoides se utilizaron como sensores fluorescentes para la detección de cationes metálicos y se logró detectar  $\text{Fe}^{3+}$  (fluorescencia azul-verde a 360 nm) en un rango de 0 a 16 mM y con un límite de detección de 38 nM y sin interferencias por otros cationes metálicos, excepto por  $\text{Al}^{3+}$ . Además, se utilizó para la detección de este metal en células L02, demostrando buena biocompatibilidad, por lo que es un método simple y eficiente que se puede utilizar en el campo de las bioimágenes y los biosensores. También presentó actividad antioxidante *in vitro* (células L02) e *in vivo* (pez cebra). En un estudio similar, Zhao, *et al.*, (2016) desarrollaron una

sonda biológica de 6-(bis (piridin-2-ilmetil) amino)-2-(4-(dimetilamino) fenil) -3-metoxi-4H-cromen-4-ona (DPA-FL) para la detección selectiva de  $\text{Cu}^{2+}$  (fluorescencia azul-verde a 510 nm). Se obtuvieron respuestas lineales de 0 a 10  $\mu\text{M}$  con un límite de detección más bajo que 100 nM. También se usó para la detección intracelular de este metal en células endoteliales de la vena umbilical humana, mostrando buena biocompatibilidad. Además, el complejo DPA-FL- $\text{Cu}^{2+}$  funcionó como sensor secundario para la detección de pirofosfato en estas células. Xu, *et al.*, (2018) fueron más allá al utilizar flavonoides extraídos de *Ginkgo biloba* para desarrollar un punto de carbono de autofocalización que no sólo es capaz de detectar selectivamente  $\text{Pb}^{2+}$  mediante fluorescencia, sino que al prepararlo con gel de agarosa fue posible remover el metal del agua, lo que tiene gran importancia ecológica, ya que el plomo es un metal pesado tóxico, y con este nanomaterial es posible su remoción de agua ambiental.

#### 4.4.3.3.- Uso en celdas solares:

Las celdas solares sensibilizadas con colorante (DSSC) son dispositivos que transforman la radiación solar en energía eléctrica, por lo que son de gran interés para la generación de energía sustentable y ecológica. La eficiencia de estos dispositivos se mide por su eficiencia de conversión de energía. Contienen una capa de óxido metálico mesoporoso que actúa como un foto-ánodo, normalmente hechas de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ . Anclado a ese foto-ánodo se encuentra un agente sensibilizador, que es una molécula de colorante. Estos colorantes sensibilizadores se pueden obtener a partir de fuentes vegetales como frutas, hojas y flores que contienen pigmentos que pueden extraerse y emplearse con estos propósitos. Por ejemplo, los flavonoides pueden adsorberse fácilmente a la superficie de  $\text{TiO}_2$  al desplazar un contraión OH del Ti(IV) que se combina con un protón proveniente del flavonoide (Shalini, *et al.*, 2015). Por ejemplo, Lim, *et al.*, (2015) extrajeron flavonoides a partir de piel de frutos de *Canarium odontophyllum* y se utilizaron como colorantes sensibilizadores en DSSC, siendo el de mayor eficiencia de conversión el de los derivados de cianidina (1.43%), seguido de

pelargodina (0.79%) y auronas (0.51%). Salvo por la aurona, los flavonoides individuales tuvieron mayor eficiencia de conversión que la mezcla (0.68%).

#### 4.4.3.4.- Uso como cosméticos:

Debido a su actividad antioxidante, los flavonoides han sido ya estudiados para su uso cosmético. Por ejemplo, se tiene mucho interés en los flavonoides presentes en *Alpinia galanga* (L.) Willd (galangina, kaempferol, quercetina, miricetina, galangina 3-metil éter, kaempferide, isokaempferide, kumatakenina, isorhamnetina, quercetina 3-metil éter, pinobanksina 3-acetato, pinobanksina 3-cinamato, alpinona, pinocembrina y catequina), ya que puede tener efectos anti-envejecimiento. Además, se trata de una planta abundante, fácil de crecer y barata, cuyos flavonoides han sido consumidos en alimentos por mucho tiempo, por lo que se sabe que no son tóxicos, por lo que es una alternativa barata que la industria de cosméticos debería estudiar a mayor profundidad (Tungmunnithum, *et al.*, 2020). Otro caso similar es el de *Nymphaea lotus* L.; una planta medicinal abundante y ampliamente utilizada en Asia y África cuyos flavonoides (isorhamnetina-7-O-galactósido, isorhamnetina-7-O-xilósido, isorhamnetina-3-O-xilósido, miricetina-3-O-galactósido, miricetina-3'-O-xilósido, quercetina-3-O-ramnósido, quercetina-3'-O-xilósido, kaempferol-3-O-galactósido y chalcononaringenina-2"-O-galactósido) también podrían ser explotados por la industria cosmética (Tungmunnithum, *et al.*, 2021).

## **5- CONCLUSIÓN:**

Existe una gran variedad de fuentes vegetales de flavonoides, desde frutas y vegetales comunes, hasta plantas endémicas de diferentes partes del mundo, y los métodos de extracción para su obtención siguen en constante innovación, siendo objeto de investigación fitoquímica. Hoy en día, con ayuda de ingeniería metabólica, biocatálisis y software computacional es posible obtener flavonoides que no existen en la naturaleza y que son capaces de ejercer efectos terapéuticos. Así mismo, debido a su diversidad estructural, los flavonoides presentan efectos

terapéuticos variados, los cuales están bien demostrados por diferentes métodos. Sin embargo, las investigaciones fitoquímicas sobre flavonoides, aunque abundantes y diversas, no están terminadas y hacen falta más pruebas clínicas para estudiar sus efectos biológicos y su biodisponibilidad en pacientes, que son quienes deben verse beneficiados por estas investigaciones. Pero con el tiempo se siguen haciendo descubrimientos, por lo que esta investigación aún es vigente, y continuar con ella potencialmente permitirá el descubrimiento de nuevas fuentes de flavonoides, el desarrollo de nuevas técnicas de extracción con mejores rendimientos y la obtención de nuevos flavonoides con efectos terapéuticos antes no observados.

## **BIBLIOGRAFÍA:**

Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 12(1), 1.

Adhikary, S., Choudhary, D., Ahmad, N., Karvande, A., Kumar, A., Banala, V. T., Mishra, P.R., & Trivedi, R. (2018). Dietary flavonoid kaempferol inhibits glucocorticoid-induced bone loss by promoting osteoblast survival. *Nutrition*, 53, 64-76.

Adwas, A. A., Elsayed, A., Azab, A. E., & Quwaydir, F. A. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J. Appl. Biotechnol. Bioeng*, 6(1), 43.

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2018). Soxhlet extraction of phenolic compounds from Vernonia cinerea leaves and its antioxidant activity. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11, 12-17.

Al-Huqail, A. A., Behiry, S. I., Salem, M. Z., Ali, H. M., Siddiqui, M. H., & Salem, A. Z. (2019). Antifungal, antibacterial, and antioxidant activities of Acacia saligna (Labill.) HL Wendl. flower extract: HPLC analysis of phenolic and flavonoid compounds. *Molecules*, 24(4), 700.

Ali, M. C., Chen, J., Zhang, H., Li, Z., Zhao, L., & Qiu, H. (2019). Effective extraction of flavonoids from Lycium barbarum L. fruits by deep eutectic solvents-based ultrasound-assisted extraction. *Talanta*, 203, 16-22.

Allam, A. E., Assaf, H. K., Hassan, H. A., Shimizu, K., & Elshaier, Y. A. (2020). An in silico perception for newly isolated flavonoids from peach fruit as privileged avenue for a countermeasure outbreak of COVID-19. *Rsc Advances*, *10*(50), 29983-29998.

Alves, J. S., Marques, J. I., Demarque, D. P., Costa, L. R., Amaral, J. G., Lopes, N. P., da Silva-Júnior, A.A., Soares, L.A., Gavioli, E.C., Ferreira, L.D.S., & Zucolotto, S. M. (2020). Involvement of isoorientin in the antidepressant bioactivity of a flavonoid-rich extract from *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *30*(2), 240-250.

Alves, J. S. F., Silva, A. M. D. S., da Silva, R. M., Tiago, P. R. F., de Carvalho, T. G., de Araújo Júnior, R. F., de Azevedo, E.P., Lopes, N.P., Ferreira, L.D.S., Gavioli, E.C., da Silva-Júnior, A.A., & Zucolotto, S. M. (2020). In Vivo Antidepressant Effect of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* into Cationic Nanoparticles: Improving Bioactivity and Safety. *Pharmaceutics*, *12*(4), 383.

Amiri-Aref, M., Raof, J. B., & Ojani, R. (2014). A highly sensitive electrochemical sensor for simultaneous voltammetric determination of noradrenaline, acetaminophen, xanthine and caffeine based on a flavonoid nanostructured modified glassy carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *192*, 634-641.

Andreu, V., & Picó, Y. (2019). Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. *Trends in Analytical Chemistry*, *118*, 709-721.

Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants*, *4*(196), 2167-0412.

Bang, S., Li, W., Ha, T. K. Q., Lee, C., Oh, W. K., & Shim, S. H. (2018). Anti-influenza effect of the major flavonoids from *Salvia plebeia* R. Br. via inhibition of influenza H1N1 virus neuraminidase. *Natural product research*, *32*(10), 1224-1228.

Basu, A., Sarkar, A., & Maulik, U. (2020). Molecular docking study of potential phytochemicals and their effects on the complex of SARS-CoV2 spike protein and human ACE2. *Scientific reports*, *10*(1), 1-15.

Cao, H., Chen, X., Jassbi, A. R., & Xiao, J. (2015). Microbial biotransformation of bioactive flavonoids. *Biotechnology Advances*, *33*(1), 214-223.

Carradori, S., Gidaro, M. C., Petzer, A., Costa, G., Guglielmi, P., Chimenti, P., Alcaro, S., & Petzer, J. P. (2016). Inhibition of human monoamine oxidase: biological and molecular modeling studies on selected natural flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, *64*(47), 9004-9011.



Chami, B., Martin, N. J., Dennis, J. M., & Witting, P. K. (2018). Myeloperoxidase in the inflamed colon: A novel target for treating inflammatory bowel disease. *Archives of biochemistry and biophysics*, 645, 61-71.

Chávez-González, M. L., Sepúlveda, L., Verma, D. K., Luna-García, H. A., Rodríguez-Durán, L. V., Iliana, A., & Aguilar, C. N. (2020). Conventional and emerging extraction processes of flavonoids. *Processes*, 8(4), 434.

Chen, X., Gu, N., Xue, C., & Li, B. (2018). Plant flavonoid taxifolin inhibits the growth, migration and invasion of human osteosarcoma cells. *Molecular Medicine Reports*, 17, 3239-3245.

Chen, X. M., Tait, A. R., & Kitts, D. D. (2017). Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food chemistry*, 218, 15-21.

Chen, F., Zhang, Q., Liu, J., Gu, H., & Yang, L. (2017). An efficient approach for the extraction of orientin and vitexin from *Trollius chinensis* flowers using ultrasonic circulating technique. *Ultrasonics sonochemistry*, 37, 267-278.

Cheng, L., Zheng, W., Li, M., Huang, J., Bao, S., Xu, Q., & Ma, Z. (2020). Citrus fruits are rich in flavonoids for Immunoregulation and potential targeting ACE2. Preprint, 2020020313. Retrieved from <https://www.preprints.org/manuscript/202002.0313/v1>

Cherrak, S. A., Merzouk, H., & Mokhtari-Soulimane, N. (2020). Potential bioactive glycosylated flavonoids as SARS-CoV-2 main protease inhibitors: A molecular docking and simulation studies. *Plos one*, 15(10), e0240653.

Choudhary, D., Kushwaha, P., Gautam, J., Kumar, P., Verma, A., Kumar, A., Maurya, S.W., Siddiqui, I.R., Mishra, P.R., Maurya, R., & Trivedi, R. (2016). Fast and long acting neoflavonoids dalbergin isolated from Dalbergia Sissoo heartwood is osteoprotective in ovariectomized model of osteoporosis: Osteoprotective effect of Dalbergin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, 942-957.

Chung, T. W., Li, S., Lin, C. C., & Tsai, S. W. (2019). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the citrus flavanone naringenin. *Tzu-Chi Medical Journal*, 31(2), 81.

Clementi, N., Scagnolari, C., D'Amore, A., Palombi, F., Criscuolo, E., Frasca, F., Pierangeli, A., Mancini, N., Antonelli, G., Clementi, M., Carpaneto, A., Filippini, A., & Carpaneto, A. (2021). Naringenin is a powerful inhibitor of SARS-CoV-2 infection in vitro. *Pharmacological research*, 163, 105255.

- Cui, Q., Liu, J. Z., Wang, L. T., Kang, Y. F., Meng, Y., Jiao, J., & Fu, Y. J. (2018). Sustainable deep eutectic solvents preparation and their efficiency in extraction and enrichment of main bioactive flavonoids from sea buckthorn leaves. *Journal of Cleaner Production*, *184*, 826-835.
- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, *194*, 135-142.
- Cunha, S. C., & Fernandes, J. O. (2018). Extraction techniques with deep eutectic solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *105*, 225-239.
- Dabeek, W. M., & Marra, M. V. (2019). Dietary quercetin and kaempferol: Bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans. *Nutrients*, *11*(10), 2288.
- D'Amelia, V., Aversano, R., Chiaiese, P., & Carputo, D. (2018). The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. *Phytochemistry Reviews*, *17*(3), 611-625.
- Damián-Reyna, A. A., González-Hernández, J. C., & Chávez-Parga, M. (2016). Current procedures for extraction and purification of citrus flavonoides. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *18*(1), 135-147.
- Das, S., Ray, A., Nasim, N., Nayak, S., & Mohanty, S. (2019). Effect of different extraction techniques on total phenolic and flavonoid contents, and antioxidant activity of betelvine and quantification of its phenolic constituents by validated HPTLC method. *3 Biotech*, *9*(1), 37.
- Ekalu, A., & Habila, J. D. (2020). Flavonoids: isolation, characterization, and health benefits. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, *9*(1), 1-14.
- Fan, W., Qian, S., Qian, P., & Li, X. (2016). Antiviral activity of luteolin against Japanese encephalitis virus. *Virus research*, *220*, 112-116.
- Fathima, A., & Rao, J. R. (2016). Selective toxicity of Catechin—a natural flavonoid towards bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, *100*(14), 6395-6402.
- Fu, C., Li, Z., Sun, Z., & Xie, S. (2020). A review of salting-out effect and sugaring-out effect: driving forces for novel liquid-liquid extraction of biofuels and biochemicals. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 1-18.
- Fu, X. Q., Ma, N., Sun, W. P., & Dang, Y. Y. (2018). Microwave and enzyme co-assisted aqueous two-phase extraction of polyphenol and lutein from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. *Industrial Crops and Products*, *123*, 296-302.

German-Ponciano, L. J., Rosas-Sánchez, G. U., Rivadeneyra-Domínguez, E., & Rodríguez-Landa, J. F. (2018). Advances in the preclinical study of some flavonoids as potential antidepressant agents. *Scientifica*, 2018, 2963565.

Goris, T., Pérez-Valero, Á., Martínez, I., Yi, D., Fernández-Calleja, L., San León, D., Bornscheuer, U.T., Magadán-Corpas, P., Lombó, F., & Nogales, J. (2021). Repositioning microbial biotechnology against COVID-19: the case of microbial production of flavonoids. *Microbial biotechnology*, 14(1), 94-110.

Guan, L. P., & Liu, B. Y. (2016). Antidepressant-like effects and mechanisms of flavonoids and related analogues. *European journal of medicinal chemistry*, 121, 47-57.

Gultom, R., Sjojfan, O., & Sudjarwo, E. (2020). Evaluation of Nutritional Content, Total Flavonoid Content, and Antibacterial Activity of Bitter melon (*Momordica charantia*). *The International Journal of Engineering and Science*, 9(11), 33-36.

Haggag, Y. A., El-Ashmawy, N. E., & Okasha, K. M. (2020). Is hesperidin essential for prophylaxis and treatment of COVID-19 Infection?. *Medical Hypotheses*, 144, 109957.

Hamounpeima I, Mohebbati R, Hosseini M, KhajaviRadA, Rakhshandeh H, Safarnejad A, Shafei MN. Cardiovascular effects of standardized hydroalcoholic extract of *Ribes khorasanicum* fruit in acute hypertensive rats. *Avicenna J Phytomed*, 2020; 10(3), 253-262.

Hashemzaei, M., Delarami Far, A., Yari, A., Heravi, R. E., Tabrizian, K., Taghdisi, S. M., Sadegh, S. E., Tsarouhas, K., Kouretas, D., Tzanakakis, G., Nikitovic, D., Anisimov, N. Y., Spandidos, D. A., Tsatsakis, A. M., & Rezaee, R. (2017). Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo. *Oncology reports*, 38(2), 819-828.

Hettihewa, S. K., Hemar, Y., & Rupasinghe, H. P. (2018). Flavonoid-rich extract of *actinidia macrosperma* (a wild kiwifruit) inhibits angiotensin-converting enzyme in vitro. *Foods*, 7(9), 146.

Hostetler, G. L., Ralston, R. A., & Schwartz, S. J. (2017). Flavones: Food sources, bioavailability, metabolism, and bioactivity. *Advances in Nutrition*, 8(3), 423-435.

Hritcu, L., Ionita, R., Postu, P. A., Gupta, G. K., Turkez, H., Lima, T. C., Carvalho, C. U. S., & de Sousa, D. P. (2017). Antidepressant flavonoids and their relationship with oxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 5762172.

Hu, J., Ma, W., Li, N., & Wang, K. J. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory flavonoids from the flowers of Chuju, a medical cultivar of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 61(4), 282-289.

Hu, M., Wu, B., & Liu, Z. (2017). Bioavailability of polyphenols and flavonoids in the era of precision medicine. *Molecular pharmaceutics*, 14, 2861-2863.

Huyut, Z., Beydemir, Ş., & Gülçin, İ. (2017). Inhibition properties of some flavonoids on carbonic anhydrase I and II isoenzymes purified from human erythrocytes. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 31(9), e21930.

Imran, M., Rauf, A., Shah, Z. A., Saeed, F., Imran, A., Arshad, M. U., Ahmad, B., Bawazeer, S., Atif, M., Peters, D.G., & Mubarak, M. S. (2019). Chemo-preventive and therapeutic effect of the dietary flavonoid kaempferol: A comprehensive review. *Phytotherapy research*, 33(2), 263-275.

Jain, A. S., Sushma, P., Dharmashekar, C., Beelagi, M. S., Prasad, S. K., Shivamallu, C., ... & Prasad, K. S. (2021). In silico evaluation of flavonoids as effective antiviral agents on the spike glycoprotein of SARS-CoV-2. *Saudi journal of biological sciences*, 28(1), 1040-1051.

Jin, H., Zhao, Z., Lan, Q., Zhou, H., Mai, Z., Wang, Y., Ding, X., Zhang, W., Pi, J., Evans, C. E., & Liu, X. (2020). Nasal Delivery of Hesperidin/Chitosan Nanoparticles Suppresses Cytokine Storm Syndrome in a Mouse Model of Acute Lung Injury. *Frontiers in pharmacology*, 11, 592238.

Jones, J. A., Vernacchio, V. R., Sinkoe, A. L., Collins, S. M., Ibrahim, M. H., Lachance, D. M., Hahn, J., & Koffas, M. A. (2016). Experimental and computational optimization of an *Escherichia coli* co-culture for the efficient production of flavonoids. *Metabolic engineering*, 35, 55-63.

Jose, J., Dhanya, A. T., Haridas, K. R., Kumar, T. S., Jayaraman, S., Variyar, E. J., & Sudhakaran, S. (2016). Structural characterization of a novel derivative of myricetin from *Mimosa pudica* as an anti-proliferative agent for the treatment of cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1067-1077.

Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat-and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369-380.

Kamali, H., Khodaverdi, E., Hadizadeh, F., & Ghaziaskar, S. H. (2016). Optimization of phenolic and flavonoid content and antioxidants capacity of pressurized liquid extraction from *Dracocephalum kotschyi* via circumscribed central composite. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107, 307-314.

Karim, N., Khan, I., Khan, H., Ayub, B., Abdel-Halim, H., & Gavande, N. (2018). Anxiolytic potential of natural flavonoids. *SM Journal of Steroids Hormonal Science*, 1, 1001-1010.

Kaur, J., Bhatia, M., & Nain, P. (2019). Antidepressant activity of Citrus limetta leaves in mice using battery of behavior models modulating via serotonergic systems. ||| *Bangladesh Journal of Pharmacology*|||, 14(4), 181-187.

Khan, H., Perviz, S., Sureda, A., Nabavi, S. M., & Tejada, S. (2018). Current standing of plant derived flavonoids as an antidepressant. *Food and Chemical Toxicology*, 119, 176-188.

Khaw, K. Y., Parat, M. O., Shaw, P. N., & Falconer, J. R. (2017). Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: a review. *Molecules*, 22(7), 1186.

Khaw, K. Y., Parat, M. O., Shaw, P. N., & Falconer, J. R. (2017). Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: A review. *Molecules*, 22(7), 1186.

Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, 12(2), 457.

Küpeli Akkol, E., Güragaç Dereli, F. T., & İlhan, M. (2019). Assessment of antidepressant effect of the aerial parts of micromeria myrtifolia Boiss. & Hohen on mice. *Molecules*, 24(10), 1869.

Kushwaha, P., Khedgikar, V., Ahmad, N., Karvande, A., Gautam, J., Kumar, P., Maurya, R., & Trivedi, R. (2016). A neoflavonoid dalsissoal isolated from heartwood of Dalbergia sissoo Roxb. has bone forming effects in mice model for osteoporosis. *European journal of pharmacology*, 788, 65-74.

Lani, R., Hassandarvish, P., Shu, M. H., Phoon, W. H., Chu, J. J. H., Higgs, S., Vanlandingham, D., Bakar, S. A., & Zandi, K. (2016). Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. *Antiviral research*, 133, 50-61.

Larki, A., Shakiba Maram, N., Zarei Ahmady, A., Mohtasham, N., Mafakher, L., Khelghati, N., & Hedayati, E. (2020). Comparing different extraction methods for oral syrup formulation of major bioactive compounds from Cordia Myxa fruit. *Eurasian Chemical Communications*, 2(9), 953-960.

Lefahal, M., Zaabat, N., Ayad, R., Makhloufi, E.H., Djarri, L., Benahmed, M., Laouer, H., Nieto, G., & Akkal, S. (2018). In vitro assessment of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and photoprotective activities of crude methanolic extract of aerial parts of *Capnophyllum peregrinum* (L.) Lange (Apiaceae) growing in Algeria. *Medicines*, 5(2), 26.

Li, M., Fokkink, R., Ni, Y., & Kleijn, J. M. (2019). Bovine beta-casein micelles as delivery systems for hydrophobic flavonoids. *Food Hydrocolloids*, 96, 653-662.

Li, M., Kembaren, R., Ni, Y., & Kleijn, J. M. (2021). Effect of enzymatic cross-linking of naringenin-loaded  $\beta$ -casein micelles on their release properties and fate in in vitro digestion. *Food Chemistry*, 352, 129400.

Li, L., Liu, J. Z., Luo, M., Wang, W., Huang, Y. Y., Efferth, T., Wang, H. M., & Fu, Y. J. (2016). Efficient extraction and preparative separation of four main isoflavonoids from *Dalbergia odorifera* T. Chen leaves by deep eutectic solvents-based negative pressure cavitation extraction followed by macroporous resin column chromatography. *Journal of Chromatography B*, 1033, 40-48.

Lim, A., Kumara, N. T. R. N., Tan, A. L., Mirza, A. H., Chandrakanthi, R. L. N., Petra, M. I., Ming, L.C., Senadeera, G.K.R., & Ekanayake, P. (2015). Potential natural sensitizers extracted from the skin of *Canarium odontophyllum* fruits for dye-sensitized solar cells. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 138, 596-602.

Lin, L. J., Huang, X. B., & Lv, Z. C. (2016). Isolation and identification of flavonoids components from *Pteris vittata* L. *SpringerPlus*, 5(1), 1-3.

Lin, X., Wu, L., Wang, X., Yao, L., & Wang, L. (2020). Ultrasonic-assisted extraction for flavonoid compounds content and antioxidant activities of India *Moringa oleifera* L. leaves: Simultaneous optimization, HPLC characterization and comparison with other methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 100284.

Liu, Z. W., Zeng, X. A., & Ngadi, M. (2018). Enhanced extraction of phenolic compounds from onion by pulsed electric field (PEF). *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(9), e13755.

Łuźny, M., Tronina, T., Kozłowska, E., Dymarska, M., Popłoński, J., Łyczko, J., Kostrzewa-Susłow, E., & Janeczko, T. (2020). Biotransformation of methoxyflavones by selected entomopathogenic filamentous fungi. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6121.

Madaan, A., Joshi, V., Kishore, A., Verma, R., Singh, A. T., Jaggi, M., & Sung, Y. K. (2017). In vitro hair growth promoting effects of naringenin and hesperetin on human dermal papilla cells and keratinocytes. *Am J Dermatol Benereol*, 6, 51-7.

Maher, P. (2019). The potential of flavonoids for the treatment of neurodegenerative diseases. *International journal of molecular sciences*, 20(12), 3056.

Mai, X., Liu, Y., Tang, X., Wang, L., Lin, Y., Zeng, H., Luo, L., Fan, H., & Li, P. (2020). Sequential extraction and enrichment of flavonoids from *Euonymus alatus* by ultrasonic-assisted polyethylene glycol-based extraction coupled to temperature-induced cloud point extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 66, 105073.

Maleki, S. J., Crespo, J. F., & Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food chemistry*, 299, 125124.

Mansourabadi, A. H., Sadeghi, H. M., Razavi, N., & Rezvani, E. (2016). Anti-inflammatory and analgesic properties of salvigenin, *Salvia officinalis* flavonoid extracted. *Advanced Herbal Medicine*, 2(1), 31-41.

Mansur, A. R., Kim, K. J., Kim, D. B., Yoo, M., Jang, H. W., Kim, D. O., & Nam, T. G. (2020). Matrix solid-phase dispersion extraction method for HPLC determination of flavonoids from buckwheat sprouts. *LWT*, 133, 110121.

Martin, M. Á., Goya, L., & Ramos, S. (2016). Antidiabetic actions of cocoa flavanols. *Molecular nutrition & food research*, 60(8), 1756-1769.

Mechchate, H., Es-Safi, I., Bourhia, M., Kyrilchuk, A., El Moussaoui, A., Conte, R., Ullah, R., Ezzeldin, E., Mostafa, G., Grafov, A., Bekkari, H., & Bousta, D. (2020). In-Vivo Antidiabetic Activity and In-Silico Mode of Action of LC/MS-MS Identified Flavonoids in Oleaster Leaves. *Molecules*, 25(21), 5073.

Meneguzzo, F., Ciriminna, R., Zabini, F., & Pagliaro, M. (2020). Review of evidence available on hesperidin-rich products as potential tools against COVID-19 and hydrodynamic cavitation-based extraction as a method of increasing their production. *Processes*, 8(5), 549.

Miura, A., Sugiyama, C., Sakakibara, H., Simoi, K., & Goda, T. (2016). Bioavailability of isoflavones from soy products in equol producers and non-producers in Japanese women. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, 6, 41-47.

Molina, G. A., González-Fuentes, F., Loske, A. M., Fernández, F., & Estevez, M. (2020). Shock wave-assisted extraction of phenolic acids and flavonoids from *Eysenhardtia polystachya* heartwood: A novel method and its comparison with conventional methodologies. *Ultrasonics sonochemistry*, 61, 104809.

More, P. R., & Arya, S. S. (2019). A novel, green cloud point extraction and separation of phenols and flavonoids from pomegranate peel: An optimization study using RCCD. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(5), 103306.

Mortada, W. I. (2020). Recent developments and applications of cloud point extraction: A critical review. *Microchemical Journal*, 105055.

Motiwale, M., Yadav, N. S., Kumar, S., Kushwaha, T., Choudhir, G., Sharma, S., & Singour, P. K. (2020). Finding potent inhibitors for COVID-19 main protease (Mpro): an in silico approach using SARS-CoV-2 3CL protease inhibitors for combating CORONA. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-12.

Mou, Q., He, J., Yin, R., Yang, B., Fu, M., Fang, J., & Li, H. (2017). Response surface optimized infrared-assisted extraction and UHPLC determination of flavonoid types from *Flos Sophorae*. *Molecules*, 22(6), 1000.

Nabavi, S. M., Šamec, D., Tomczyk, M., Milella, L., Russo, D., Habtemariam, S., Suntar, I., Rastrelli, L., Daglia, M., Xiao, J., Giampieri, F., Battino, M., Sobarzo-Sanchez, E., Nabavi, S.F., Yousefi, B., Jeandet, P., Xu, S. & Shirooie, S. (2020). Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology advances*, 38, 107316.

Nadar, S. S., Rao, P., & Rathod, V. K. (2018). Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. *Food Research International*, 108, 309-330.

Nahar, M., Hasan, W., Rajak, R., & Jat, D. (2017). Oxidative stress and antioxidants: An overview. *Int. J. Adv. Res. Rev.* 2, 110–119.

Ngwa, W., Kumar, R., Thompson, D., Lyerly, W., Moore, R., Reid, T. E., Lowe, H., & Toyang, N. (2020). Potential of flavonoid-inspired phytomedicines against COVID-19. *Molecules*, 25(11), 2707.



Onyeka, I. P., Bako, S. P., Suleiman, M. M., Onyegbule, F. A., Morikwe, U. C., & Ogbue, C. O. (2020). Antiulcer Effects of Methanol Extract of *Euphorbia hirta* and Honey Combination in Rats. *BioMed Research International*, 2020, 6827504.

Ortega, J. T., Suárez, A. I., Serrano, M. L., Baptista, J., Pujol, F. H., & Rangel, H. R. (2017). The role of the glycosyl moiety of myricetin derivatives in anti-HIV-1 activity in vitro. *AIDS research and therapy*, 14(1), 1-6.

Oualcadi, Y., Sebban, M. F., & Berrekhis, F. (2020). Improvement of microwave-assisted Soxhlet extraction of bioactive compounds applied to pomegranate peels. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(5), e14409.

Ouédraogo, J. C. W., Dicko, C., Kini, F. B., Bonzi-Coulibaly, Y. L., & Dey, E. S. (2018). Enhanced extraction of flavonoids from *Odontonema strictum* leaves with antioxidant activity using supercritical carbon dioxide fluid combined with ethanol. *The Journal of Supercritical Fluids*, 131, 66-71.

Owis, A. I., El-Hawary, M. S., El Amir, D., Aly, O. M., Abdelmohsen, U. R., & Kamel, M. S. (2020). Molecular docking reveals the potential of *Salvadora persica* flavonoids to inhibit COVID-19 virus main protease. *RSC Advances*, 10(33), 19570-19575.

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5, E47.

Pandey, R. P., Parajuli, P., Koffas, M. A., & Sohng, J. K. (2016). Microbial production of natural and non-natural flavonoids: pathway engineering, directed evolution and systems/synthetic biology. *Biotechnology advances*, 34(5), 634-662.

Pang, Y., Zhang, Y., Huang, L., Xu, L., Wang, K., Wang, D., Guan, L., Zhang, Y., Yu, F., Chen, Z., & Xie, X. (2017). Effects and mechanisms of total flavonoids from *Blumea balsamifera* (L.) DC. on skin wound in rats. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2766.

Park, H. J., & Jung, M. Y. (2017). One step salting-out assisted liquid-liquid extraction followed by UHPLC-ESI-MS/MS for the analysis of isoflavones in soy milk. *Food chemistry*, 229, 797-804.

Pawar, S. B., & Pratape, V. M. (2017). Fundamentals of infrared heating and its application in drying of food materials: a review. *Journal of food process engineering*, 40(1), e12308.

Pereira, A. C. H., Lenz, D., Nogueira, B. V., Scherer, R., Andrade, T. U., Costa, H. B. D., Romao, W., Costa-Pereira, T.M., & Endringer, D. C. (2017). Gastroprotective activity of the resin from *Virola oleifera*. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 472-480.

Perez-Vizcaino, F., & Fraga, C. G. (2018). Research trends in flavonoids and health. *Archives of biochemistry and biophysics*, 646, 107-112.

Qiu, X., Kroeker, A., He, S., Kozak, R., Audet, J., Mbikay, M., & Chrétien, M. (2016). Prophylactic efficacy of quercetin 3- $\beta$ -OD-glucoside against Ebola virus infection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(9), 5182-5188.

Rendeiro, C., Rhodes, J. S., & Spencer, J. P. (2015). The mechanisms of action of flavonoids in the brain: Direct versus indirect effects. *Neurochemistry international*, 89, 126-139.

Robinson P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in biochemistry*, 59, 1-41.

Rodríguez-Pérez, C., Gilbert-López, B., Mendiola, J. A., Quirantes-Piné, R., Segura-Carretero, A., & Ibáñez, E. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves by multiresponse surface methodology. *Electrophoresis*, 37(13), 1938-1946.

Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F. J., Greiner, R., Orlie, V., & Lebovka, N. I. (2016). Negative pressure cavitation extraction: A novel method for extraction of food bioactive compounds from plant materials. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 98-108.

Russo, M., Moccia, S., Spagnuolo, C., Tedesco, I., & Russo, G. L. (2020). Roles of flavonoids against coronavirus infection. *Chemico-biological interactions*, 109211.

Sá, I. S., Neves, K. O., Guimarães, A. C., da Silva, F. M., & de CS Nunomura, R. (2020). Chalcones and flavans from the bark of *Brosimum acutifolium* subsp. *interjectum* (Moraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 93, 104175.

Sadraei, H., Asghari, G., Khanabadi, M., & Minaiyan, M. (2017). Anti-inflammatory effect of apigenin and hydroalcoholic extract of *Dracocephalum kotschyi* on acetic acid-induced colitis in rats. *Research in pharmaceutical sciences*, 12(4), 322.

Safari, M., & Ahmady-Asbchin, S. (2019). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extract of medlar (*Mespilus germanica* L.) leaves. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1), 372-378.

Samyot, D., Das, A. B., & Deka, S. C. (2017). Pigmented rice a potential source of bioactive compounds: a review. *International journal of food science & technology*, 52(5), 1073-1081.

Sánchez, M., Romero, M., Gómez-Guzmán, M., Tamargo, J., Pérez-Vizcaino, F., & Duarte, J. (2019). Cardiovascular effects of flavonoids. *Current medicinal chemistry*, 26(39), 6991-7034.

Satish, A., & Asna, U. (2018). Quantification of flavonoids by UPLC-MS and its antibacterial activity from *Brassica oleracea* var. *Capitata* L. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 109-114.

Shah, A., & Smith, D. L. (2020). Flavonoids in Agriculture: Chemistry and Roles in, Biotic and Abiotic Stress Responses, and Microbial Associations. *Agronomy*, 10(8), 1209.

Shalini, S., Prasanna, S., Mallick, T. K., & Senthilarasu, S. (2015). Review on natural dye sensitized solar cells: operation, materials and methods. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 51, 1306-1325.

Silva, J. P., Peres, A. R., Paixão, T. P., Silva, A. S., Baetas, A. C., Barbosa, W. L., Monteiro, M. C., & Andrade, M. A. (2017). Antifungal Activity of Hydroalcoholic Extract of *Chrysobalanus icaco* Against Oral Clinical Isolates of *Candida* Species. *Pharmacognosy research*, 9(1), 96–100.

Silva, J., Vanat, P., Marques-da-Silva, D., Rodrigues, J. R., & Lagoa, R. (2020). Metal alginates for polyphenol delivery systems: Studies on crosslinking ions and easy-to-use patches for release of protective flavonoids in skin. *Bioactive materials*, 5(3), 447-457.

Sonar, M. P., & Rathod, V. K. (2020). Microwave assisted extraction (MAE) used as a tool for rapid extraction of Marmelosin from *Aegle marmelos* and evaluations of total phenolic and flavonoids content, antioxidant and anti-inflammatory activity. *Chemical Data Collections*, 30, 100545.

Song, L., Liu, P., Yan, Y., Huang, Y., Bai, B., Hou, X., & Zhang, L. (2019). Supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) leaves and associated biological activities and flavonoid compositions. *Industrial Crops and Products*, 139, 111508.

Su, Y., Dong, H., Li, M., Lai, C., Huang, C., & Yong, Q. (2019). Isolation of the flavonoid from bamboo residues and its application as metal ion sensor in vitro. *Polymers*, 11(9), 1377.

Sun, C. Q., Johnson, K. D., Wong, H., & Foo, L. Y. (2017). Biotransformation of flavonoid conjugates with fatty acids and evaluations of their functionalities. *Frontiers in pharmacology*, 8, 759.

Tavsan, Z., & Kayali, H. A. (2019). Flavonoids showed anticancer effects on the ovarian cancer cells: Involvement of reactive oxygen species, apoptosis, cell cycle and invasion. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 116, 109004.

Teles, Y. C., Souza, M. S. R., & Souza, M. D. F. V. D. (2018). Sulphated flavonoids: biosynthesis, structures, and biological activities. *Molecules*, 23(2), 480.

Tronina, T., Popłoński, J., & Bartmańska, A. (2020). Flavonoids as Phytoestrogenic Components of Hops and Beer. *Molecules*, 25(18), 4201.

Tu, X., & Chen, W. (2018). A review on the recent progress in matrix solid phase dispersion. *Molecules*, 23(11), 2767.

Tu, X., Ma, S., Gao, Z., Wang, J., Huang, S., & Chen, W. (2017). One-Step Extraction and Hydrolysis of Flavonoid Glycosides in Rape Bee Pollen Based on Soxhlet-Assisted Matrix Solid Phase Dispersion. *Phytochemical Analysis*, 28(6), 505-511.

Tungmunnithum, D., Kongsawadworakul, P., & Hano, C. (2021). A Cosmetic Perspective on the Antioxidant Flavonoids from *Nymphaea lotus* L. *Cosmetics*, 8(1), 12.

Tungmunnithum, D., Tanaka, N., Uehara, A., & Iwashina, T. (2020). Flavonoids Profile, Taxonomic Data, History of Cosmetic Uses, Anti-Oxidant and Anti-Aging Potential of *Alpinia galanga* (L.) Willd. *Cosmetics*, 7(4), 89.

Vieira, V., Prieto, M. A., Barros, L., Coutinho, J. A., Ferreira, O., & Ferreira, I. C. (2017). Optimization and comparison of maceration and microwave extraction systems for the production of phenolic compounds from *Juglans regia* L. for the valorization of walnut leaves. *Industrial Crops and Products*, 107, 341-352.

Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159-178.

Vo, Q. V., Nam, P. C., Thong, N. M., Trung, N. T., Phan, C. T. D., & Mechler, A. (2019). Antioxidant motifs in flavonoids: O–h versus c–h bond dissociation. *ACS omega*, 4(5), 8935-8942.

Wang, G., Cui, Q., Yin, L. J., Li, Y., Gao, M. Z., Meng, Y., Li, J., Zhang, S. D., & Wang, W. (2020). Negative pressure cavitation based ultrasound-assisted extraction of main flavonoids from *Flos Sophorae Immaturus* and evaluation of its extraction kinetics. *Separation and Purification Technology*, 244, 115805

Wang, M. F., Ma, G. Q., Shao, F., Liu, R. H., Chen, L. Y., Liu, Y., Yang, L., & Meng, X. W. (2020). Neoflavonoids from the heartwood of *Dalbergia melanoxylon*. *Natural Product Research*, 1-7.

Wang, X., Peng, M. J., Wang, Z. H., Yang, Q. L., & Peng, S. (2020). Ultrasound-microwave assisted extraction of flavonoid compounds from *Eucommia ulmoides* leaves and an evaluation of their antioxidant and antibacterial activities. *Archives of Biological Sciences*, 72(2), 211-221.

Wang, Z., Wang, D., Yang, D., Zhen, W., Zhang, J., & Peng, S. (2018). The effect of icariin on bone metabolism and its potential clinical application. *Osteoporosis International*, 29(3), 535-544.

Wei, Y. Q., Sun, M. M., & Fang, H. Y. (2019). Dienzyme-assisted salting-out extraction of flavonoids from the seeds of *Cuscuta chinensis* Lam. *Industrial Crops and Products*, 127, 232-236.

Wu, K., Ju, T., Deng, Y., & Xi, J. (2017). Mechanochemical assisted extraction: a novel, efficient, eco-friendly technology. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 166-175.

Whyte, A. R., & Williams, C. M. (2015). Effects of a single dose of a flavonoid-rich blueberry drink on memory in 8 to 10 y old children. *Nutrition*, 31(3), 531-534.

Xu, F., Cao, S., Wang, C., Wang, K., Wei, Y., Shao, X., & Wang, H. (2019). Antimicrobial activity of flavonoids from *Sedum aizoon* L. against *Aeromonas* in culture medium and in frozen pork. *Food science & nutrition*, 7(10), 3224-3232.

Xu, L., He, W., Lu, M., Yuan, B., Zeng, M., Tao, G., Qin, F., Chen, J., Guan, Y., & He, Z. (2018). Enzyme-assisted ultrasonic-microwave synergistic extraction and UPLC-QTOF-MS analysis of flavonoids from Chinese water chestnut peels. *Industrial Crops and Products*, 117, 179-186.

Xu, J., Jie, X., Xie, F., Yang, H., Wei, W., & Xia, Z. (2018). Flavonoid moiety-incorporated carbon dots for ultrasensitive and highly selective fluorescence detection and removal of Pb<sup>2+</sup>. *Nano Research*, 11(7), 3648-3657.

Xu, Z., Yang, L., Zhang, X., Zhang, Q., Yang, Z., Liu, Y., Wei, S., & Liu, W. (2020). Discovery of potential flavonoid inhibitors against COVID-19 3CL proteinase based on virtual screening strategy. *Frontiers in molecular biosciences*, 7, 556481.

Yan, L. G., He, L., & Xi, J. (2017). High intensity pulsed electric field as an innovative technique for extraction of bioactive compounds—A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(13), 2877-2888.

Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 762.

Yang, R. F., Geng, L. L., Lu, H. Q., & Fan, X. D. (2017). Ultrasound-synergized electrostatic field extraction of total flavonoids from *Hemerocallis citrina baroni*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 571-579.

Yu, J., Lou, Q., Zheng, X., Cui, Z., & Fu, J. (2017). Sequential combination of microwave-and ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from *Osmanthus fragrans* Lour. flowers. *Molecules*, 22(12), 2216.

Zhang, H. W., Hu, J. J., Fu, R. Q., Liu, X., Zhang, Y. H., Li, J., Liu, L., Li, Y.N., Deng, Q., Luo, Q.S., Ouyang, Q., & Gao, N. (2018). Flavonoids inhibit cell proliferation and induce apoptosis and autophagy through downregulation of PI3K mediated PI3K/AKT/mTOR/p70S6K/ULK signaling pathway in human breast cancer cells. *Scientific reports*, 8(1), 1-13.

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*, 13(1), 20.

Zhang, H., Penninger, J. M., Li, Y., Zhong, N., & Slutsky, A. S. (2020). Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive care medicine*, 46(4), 586-590.

Zhang, R., Wang, Y., Song, X., Yang, J., Dong, X., Xie, T., Wang, S., & Cao, J. (2020). Eco-friendly mechanobiological assisted extraction of phenolic acids and flavonoids from *Chrysanthemum*. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 186, 113327.

Zhang, Q., Yu, J., Wang, Y., & Su, W. (2016). Selective extraction of flavonoids from *Sophora flavescens* Ait. by mechanochemistry. *Molecules*, 21(8), 989.

Zhao, C., Liu, B., Bi, X., Liu, D., Pan, C., Wang, L., & Pang, Y. (2016). A novel flavonoid-based bioprobe for intracellular recognition of Cu<sup>2+</sup> and its complex with Cu<sup>2+</sup> for secondary sensing of pyrophosphate. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 229, 131-137.

Zhao, J., Maitituersun, A., Li, C., Li, Q., Xu, F., & Liu, T. (2018). Evaluation on analgesic and anti-inflammatory activities of total flavonoids from *Juniperus sabina*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 7965306.

Zhou, Y., & Tang, R. C. (2017). Natural flavonoid-functionalized silk fiber presenting antibacterial, antioxidant, and UV protection performance. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(11), 10518-10526.

Zhou, Y., Tang, R. C., Xing, T., Guan, J. P., Shen, Z. H., & Zhai, A. D. (2019). Flavonoids-metal salts combination: A facile and efficient route for enhancing the flame retardancy of silk. *Industrial Crops and Products*, 130, 580-591.

Zuorro, A., Lavecchia, R., González-Delgado, Á. D., García-Martínez, J. B., & L'Abbate, P. (2019). Optimization of Enzyme-Assisted Extraction of Flavonoids from Corn Husks. *Processes*, 7(11), 804.

**Vo. Bo. del (la) o los (las) asesores (as) respecto a los contenidos académicos**



---

Asesor Interno  
Dra. Liliana Hernández Vázquez  
Cargo Profesor Titular C  
No. económico: 27790



---

Asesor Interno  
Dr. Héctor Manuel Luna Contla  
Cargo Profesor Titular C  
No. económico: 6252