






## Potencial antioxidante y Biofuncional de Suplementos Alimenticios de Origen Botánico Mediante Análisis *In vitro* e *In Silico*

### Antioxidant and Biofunctional Potential of Botanical-based Dietary Supplements Through *In vitro* and *In Silico* Analysis

Jiménez-Ortega, L.A. , López-Romero, B.J. , Heredia-Batiz, J.M. , Bastidas-Bastidas, P.J. , Heredia, J. Basilio\* 

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC, Carretera a Eldorado Km 5.5, Campo el Diez, 80110, Culiacán, Sinaloa, México.



**Please cite this article as/Como citar este artículo:**

Jiménez-Ortega, L.A., López-Romero, B.J., Heredia-Batiz, J.M., Bastidas-Bastidas, P.J., Heredia, J. B. (2024). Antioxidant and Biofunctional Potential of Botanical-Based Dietary Supplements Through *In Vitro* and *In Silico* Analysis. *Revista Bio Ciencias*, 11, e1585.

<https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1585>

**Article Info/Información del artículo**

Received/Recibido: October 09<sup>th</sup> 2023.

Accepted/Aceptado: January 24<sup>th</sup> 2024.

Available on line/Publicado: February 23<sup>th</sup> 2024.

#### RESUMEN

Los suplementos alimenticios pueden coadyuvar a minimizar la aparición de patologías, sin embargo, son necesarios estudios biofuncionales y toxicológicos para determinar su eficacia y toxicidad. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el potencial antioxidante y biofuncional de suplementos alimenticios, hechos a base de extractos botánicos, plantas medicinales y frutos como arándano, melón amargo, cítricos, *Gingko biloba*, gayuba, goyi y joconostle, entre otros. Para esto se determinó la capacidad antioxidante, capacidad reductora total, contenido de flavonoides totales y toxicidad mediante el bioensayo de *Artemia salina*. Además, se identificaron los compuestos orgánicos volátiles mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas y se evaluó su biofuncionalidad mediante estudios bioinformáticos. Los suplementos mostraron capacidad antioxidante debido al contenido de compuestos con capacidad reductora total, como polifenoles, flavonoides, terpenos, ácidos grasos (ácido hexadecanoico) y fitoesteroles. El producto con mayor actividad antioxidante no presentó toxicidad en el modelo de *A. salina*. El estudio bioinformático arrojó que los posibles objetivos de los compuestos en el organismo se encuentran relacionados con la inhibición de la patogénesis de algunas de las enfermedades crónico-degenerativas con mayor incidencia y prevalencia en México como la diabetes e hipertensión.

**PALABRAS CLAVE:** Inocuidad, funcionalidad biológica, fitoquímicos, herbolaria, flavonoides.

**\*Corresponding Author:**

**Heredia, J. Basilio.** Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC, Carretera a Eldorado Km 5.5, Campo el Diez, 80110, Culiacán, Sinaloa, México. E-mail: [jbheredia@ciad.mx](mailto:jbheredia@ciad.mx). Teléfono: (667)480-6950 <https://www.ciad.mx/>

---

## ABSTRACT

---

Dietary supplements can help minimize the appearance of pathologies; however, biofunctional and toxicological studies are necessary to determine efficacy and toxicity. The objective of the present investigation was to evaluate the antioxidant and biofunctional potential of commercial food supplements made from herbal extracts, medicinal plants, and fruits such as blueberry, bitter melon, citrus, *Gingko biloba*, bearberry, goyi and joconostle, among others. For this, the antioxidant capacity, total reducing capacity, total flavonoids, and toxicity *in vitro* in a model of *Artemia salina* were determined. In addition, volatile organic compounds were identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry, and their biofunctionality was evaluated through bioinformatics studies. The supplements showed antioxidant capacity due to their content of compounds with total reducing capacity, polyphenols, flavonoids, terpenes, fatty acids (hexadecenoic acid), and phytosterols. The product with the highest antioxidant activity did not present toxicity in the *A. salina* model. The bioinformatic study showed that the possible targets in the body are related to inhibiting the pathogenesis of some chronic-degenerative diseases with the highest incidence and prevalence in Mexico, such as diabetes and hypertension.

---

**KEY WORDS :** Food safety, biological activity, phytochemicals, herbalist, flavonoids.

---

## Introducción

Según la Administración de Drogas de Estados Unidos (FDA), los suplementos alimenticios son aquellos productos que son ingeridos vía oral y contienen un ingrediente dietario. Estos pueden incluir vitaminas, minerales, aminoácidos, extractos herbales y/o botánicos entre otros compuestos que pueden suplementar la dieta diaria (FDA, 2022a). La demanda de estos productos se intensificó considerablemente por la llegada del SARS-CoV-2. Hamulka *et al.* (2021) señala que durante el brote de COVID-19 del año 2020, incrementó el interés en la población en indagar acerca de suplementos que coadyuven a mejorar el sistema inmune; los principales compuestos buscados en la web fueron vitaminas (C y D) y extractos de plantas medicinales (ajo, jengibre y cúrcuma). Los suplementos alimenticios pueden coadyuvar a fortalecer el sistema inmunitario, y al tratamiento y/o prevención de enfermedades cardiovasculares, respiratorias, cáncer, diabetes y obesidad (Bruins *et al.*, 2019), las cuales son las principales enfermedades no transmisibles en el mundo (OMS, 2022).

Así mismo, la aparición de patologías crónicas-degenerativas se asocian estrechamente con el estrés oxidativo (OS), el cual se puede definir como un desbalance entre los antioxidantes y los oxidantes como radicales libres (FR) y especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales

ocasionan un daño a macromoléculas, y desencadenan una cascada de señalizaciones involucradas con factores pro inflamatorios, que posteriormente dan origen a una gran variedad de enfermedades no transmisibles (Byrne *et al.*, 2021; Charlton *et al.*, 2021; Pizzino *et al.*, 2017; Ramachandra *et al.*, 2021; Sabbatino *et al.*, 2021; Sies, 2020). Es por ello que una dieta equilibrada, rica en fitoquímicos y nutraceuticos puede minimizar el impacto del estrés oxidativo (Prior & Cao, 2000), ya que se ha observado que tienen la capacidad de brindar actividad antioxidante frente a los FR y ROS, además de ejercer actividad antiinflamatoria (Leyva-López *et al.*, 2016), anticancerígena (Criollo-Mendoza *et al.*, 2022), hipoglicémica (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2022) e hipocolesterolémica (Das *et al.*, 2022), entre otras.

La industria y el mercado de los suplementos alimenticios está en constante cambio, ya que los consumidores exigen cada vez más productos que cumplan con los estándares de calidad e inocuidad y que además satisfagan las necesidades nutricionales y/o funcionales buscadas. Los suplementos alimenticios con mayor demanda son aquellos que contienen vitaminas, minerales, aminoácidos, enzimas y fitoquímicos. Estos se presentan de forma individual o mezclas de ellos, los cuales pueden provenir de extractos herbales o bien de síntesis química o aislando y purificando los compuestos de interés (Hassan *et al.*, 2020; Lordan, 2021).

La mezcla de fitoquímicos y/o extractos de plantas, frutos medicinales y otros nutraceuticos puede potencializar su actividad biológica, creando una sinergia entre los compuestos. Sin embargo, en algunas ocasiones, se elaboran con conocimientos etnofarmacológicos carentes de ensayos que garanticen su funcionalidad e inocuidad, por lo que es importante indagar acerca de estos productos. De acuerdo a Brzezicha *et al.* (2021), se estima que más del 80 % de la población mundial usa algún tipo de suplemento alimenticio o remedio herbolario, por lo que es necesario estudiar su inocuidad y eficacia. Para esto se han propuesto modelos de estudio en líneas celulares, microorganismos y organismos vivos. En el presente trabajo se propuso utilizar el modelo biológico de *A. salina*, ya que se ha usado ampliamente para la evaluación de la toxicidad de compuestos naturales debido a que es económico, reproducible y permite dilucidar la posible toxicidad de los compuestos, previo a una evaluación en líneas celulares o en modelos murinos (Karchesy *et al.* 2016; Wanyoike *et al.* 2004). Para fines del presente estudio se seleccionaron suplementos alimenticios con indicaciones terapéuticas antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas, y prevención de enfermedades cardiovasculares, entre otras. Además, que estuvieran hechos a base de extractos de origen botánico como plantas medicinales y frutos comestibles abundantes en fitoquímicos como flavonoides, ácidos fenólicos, terpenos, fitoesteroles, ácidos grasos, vitaminas y minerales. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el potencial antioxidante, biofuncional y toxicológico de suplementos alimenticios comercializados en México, elaborados a base de plantas medicinales, extractos botánicos y/o frutos comestibles.

## Material y Métodos

Se analizaron 10 suplementos alimenticios a base de plantas medicinales, extractos naturales y/o frutos comestibles de diferente naturaleza química (Tabla 1). Se compraron en

comercios dedicados a la venta de suplementos alimenticios en México. Para los ensayos antioxidantes y toxicológicos se usó como referencia hojas de té verde (*Camellia sinensis* L.).

**Tabla 1. Características de los suplementos alimenticios analizados.**

Codificación	Ingredientes	Indicación terapéutica**	Porción/día**	Peso (mg)*	Dosis/día (mg)	Origen
Suppl.1	Extracto de bioflavonoides de <i>Citrus limon</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>C. paradisi</i> , <i>C. reticulata</i> , <i>C. aurantifolia</i> y extracto de hesperidina de cáscara de <i>Citrus sinensis</i> .	Antioxidante	1-3 cápsulas	650	1,950	Canadá
Suppl.2	Concentrado estandarizado de <i>Vaccinium corymbosum</i> 36:1 y antocianinas.	Antioxidante	1-3 cápsulas	512.5	1,537.5	Canadá
Suppl.3	Extracto seco de: <i>C. longa</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>Arthrospira platensis</i> , <i>L. ododes</i> , <i>R. officinalis</i> , <i>S. hispanica</i> , <i>T. officinale</i> , <i>R. rosea</i> , <i>A. muricata</i> , <i>E. oleracea</i> , <i>M. citrifolia</i> , <i>G. mangostana</i> , <i>A. propinquus</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , semilla de <i>V. vinifera</i> , <i>P. africana</i> . Mezcla de aminoácidos, carotenoides, vitaminas y minerales.	Antioxidante	1 tableta	1,200	1,200	México
Suppl.4	Extracto seco de hojas de <i>G. biloba</i> . Vitaminas y minerales.	Concentración	1-2 tabletas	445	890	México
Suppl.5	Extracto de <i>M. charantia</i> del cual 10% son fitoquímicos amargos como charantina.	Control glucémico	1 cápsula	500	500	EUA

## Continuación

Tabla 1. Características de los suplementos alimenticios analizados.

Codificación	Ingredientes	Indicación terapéutica**	Porción/día**	Peso (mg)*	Dosis/día (mg)	Origen
Suppl.6	Mezcla de fitoesteroles estandarizados ( $\beta$ -sitoesterol, campesterol, stigmasterol). Extracto de <i>G. monogyna</i> , <i>A. hippocastanum</i> , <i>V. vinifera</i> , <i>V. myrtillus</i> , <i>A. sativum</i> , <i>C. annuum</i> , <i>C. sinensis</i> , resveratrol de raíz de <i>P. cuspidatum</i> . Mezcla de vitaminas y minerales.	Salud cardiovascular	3 tabletas	1,003	3,009	EUA
Suppl.7	Polvo de <i>O. ficcus</i> , <i>O. joconoestle</i> , <i>A. sativum</i> , <i>C. sinensis</i> , <i>C. longa</i> , <i>C. limon</i> , <i>C. cyminum</i> , <i>I. sonorae</i> .	Control glucémico	6 cápsulas	400	2,400	México
Suppl.8	Bayas de <i>J. communis</i> , hojas de <i>P. alba</i> y hojas de <i>P. silvestris</i> .	Antiinflamatoria	6 cápsulas	300	1,800	México
Suppl.9	Extracto de <i>C. vulgaris</i> , <i>C. sempervirens</i> , <i>A. uva-ursi</i> , <i>C. pubescens</i> .	Antiinflamatoria	2 tabletas	500	1,000	México
Suppl.10	Fruto seco de <i>L. barbarum</i> orgánico	Antioxidante	3 cápsulas	500	1,500	México
Control	Hojas de <i>C. sinensis</i>	Antioxidante	N/D	N/D	N/D	N/D

**Nota:** Suppl. (Suplemento); USA (Estados Unidos de América); N/D (No declarado). \*Peso en mg de cada tableta/cápsula. \*\*Señalado por el fabricante.

## Extracción

Se pesaron 500 mg de cada suplemento alimenticio y se disolvieron con 10 mL de etanol (EtOH) al 80 % asistido por ultrasonido, con una potencia de 50 Hz y una frecuencia de 40 KHz (Baño ultrasónico Cole Parmer EW-08895-15) a 45 °C, durante 2 h. Pasado el tiempo los extractos se centrifugaron a 10,000 rpm, a 4 °C durante 15 min y se recuperó el sobrenadante el cual se usó para las determinaciones siguientes. Para la evaluación de los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) se obtuvieron extractos hexánicos y metanólicos del suplemento 8 y metanólico del suplemento 3. Se utilizaron dichos disolventes con la finalidad de extraer los compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes en los suplementos seleccionados. Se emplearon las mismas condiciones de extracción antes mencionadas.

## Determinación de la Capacidad reductora total (TRC) y Flavonoides totales (TF)

Para la determinación de TRC, se usó el método de Folin-Ciocalteu descrito por Swain & Hillis (1959), con ligeras modificaciones. Se realizó una curva de calibración de ácido gálico (0-0.4 mg/mL), la cual se usó como estándar. Se usó EtOH al 80 % como blanco. En una microplaca Costar® de 96 pozos se mezclaron 10 µL del extracto con 230 µL de agua destilada y 10 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu 2N. Después de 3 min se añadieron 25 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se dejó en reposo durante 2 h en oscuridad. Se leyó la absorbancia a 725 nm en un lector de microplacas Synergy HT (BioTek, Inc, USA). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de muestra.

Los TF se determinaron siguiendo el método de Ebrahimzadeh *et al.* (2018), el cual consistió en agregar en una microplaca de 96 pocillos, 10 µL de los extractos, seguido de 250 µL de agua destilada, 10 µL de AlCl<sub>3</sub> al 10 % y 10 µL de CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>K 1M. Se dejó incubar durante 30 min y se leyó la absorbancia a 415 nm mediante un lector de microplacas Synergy HT (BioTek, Inc, USA). Se usó como blanco EtOH al 80 % y se elaboró una curva estándar de quercetina de 0 a 1.0 mg/mL. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de quercetina (QE) por g de muestra.

## Actividad antioxidante (AOX)

### Capacidad captadora de radicales de oxígeno (ORAC)

Se realizó siguiendo el método descrito por Huang *et al.* (2002), con ligeras modificaciones. Se preparó un buffer de fosfatos 75 mM ajustado a pH 7.4, una solución de fluoresceína 22.5 mg/mL en buffer de fosfatos (solución stock), de la cual se tomaron 100 µL y se aforó a 10 mL con el buffer de fosfatos (solución intermedia). De esta última solución se tomaron 400 µL y se aforaron a 25 mL con buffer de fosfatos (solución de trabajo). Se preparó una solución de dihidrocloruro de 2,2'-azobis(2-metilpropionamidina) (AAPH) 2.6 mg/mL con buffer de fosfatos y una curva de calibración de Trolox 400 µM en buffer de fosfatos.

En una microplaca de fondo oscuro se depositaron 230  $\mu\text{L}$  de agua destilada en las filas y columnas externas esto para mantener los pocillos de trabajo a una temperatura estable ( $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Se depositó en el lector de microplacas (Synergy HT, BioTek, Inc, USA) la solución de trabajo de fluoresceína y de AAPH para ser dispensados automáticamente. Se depositaron 25  $\mu\text{L}$  de blanco (buffer de fosfato), curva de calibración (Trolox) y muestras, y se colocó la microplaca dentro del lector a una temperatura de  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se procedió a realizar el experimento. El equipo dispuso 150  $\mu\text{L}$  fluoresceína y 50  $\mu\text{L}$  de AAPH y tomó lecturas durante 70 min con intervalos de 60 s con una longitud de onda de excitación de 485 nm y de emisión de 580 nm. Los resultados se expresaron como  $\mu\text{moles}$  equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

### **Capacidad captadora de radicales ABTS**

Se realizó mediante el método propuesto por Thaipong *et al.* (2006), con ligeras modificaciones. Se preparó una solución stock de ABTS (depleción del 2, 2'-Azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfónico) 7.4 mM y una solución stock de persulfato de potasio 2.6 mM; ambas se mezclaron en volúmenes iguales y se dejaron en reposo, protegidas de la luz, a temperatura ambiente durante 16 h. De esta mezcla se elaboró la solución de trabajo la cual consistió en diluirla con EtOH absoluto hasta obtener una absorbancia de 0.7 a 734 nm. Se preparó una solución stock de Trolox 1 mM, con la cual se elaboró una curva de calibración de 0.1 a 1.0 mM. Para el ensayo se depositaron 10  $\mu\text{L}$  del blanco (EtOH al 80 %), curva de calibración y muestra en una microplaca de 96 pocillos, seguido se añadieron 190  $\mu\text{L}$  del radical ABTS y se dejó reaccionar durante 2 h a temperatura ambiente, cubierto de la luz. Una vez transcurrido el tiempo se leyó la absorbancia a 734 nm en un lector de microplacas Synergy HT (BioTek, Inc, USA). Los resultados se expresaron como  $\text{mmoles}$  equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

### **Capacidad captadora de radicales DPPH**

Se realizó acorde a la metodología propuesta por Karadag *et al.* (2009), con ligeras modificaciones. Se preparó una solución de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) 100  $\mu\text{M}$  y una solución stock de Trolox 1 mM. Se preparó una curva de calibración de 0.1 a 1.0 mM de Trolox. Para el ensayo se depositaron 10  $\mu\text{L}$  del blanco (EtOH al 80 %), curva de calibración y muestra en una microplaca de 96 pocillos, seguido se añadieron 190  $\mu\text{L}$  del radical DPPH y se dejó reaccionar durante 30 min a temperatura ambiente, cubierto de la luz. Una vez transcurrido el tiempo se leyó la absorbancia a 540 nm en un lector de microplacas Synergy HT (BioTek, Inc, USA). Los resultados se expresaron como  $\text{mmoles}$  equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

### **Determinación de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) por GC-IT-MS/MS**

Se identificaron los VOCs presentes en los extractos metanólicos y hexánicos del suplemento No. 8 y metanólico del suplemento No. 3. La identificación se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent 7890B con detector de espectrometría de masas en tándem de trampa iónica (CG-IT-MS Agilent 240). Se usó una columna VF-5 MS, 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ . Los espectros de masas fueron comparados con la biblioteca del equipo (NIST Mass Spectral Library) usando la búsqueda NIST MS, o la probabilidad basada en el formato de búsqueda por

coincidencia como parte de tecnologías Agilent estación de trabajo MS Software Version 7.0.1. Aquellos compuestos con un porcentaje de similitud superior al 80 fueron considerados como presentes en los extractos.

## Ensayo de toxicidad

Se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Meyer *et al.* (1982). Los huevecillos de *A. salina* se obtuvieron de un acuario local en la ciudad de Culiacán, Sinaloa. Se depositaron 3 g de huevecillos de *Artemia salina* en un L de salmuera ajustada a un pH 7 con hidróxido de sodio 1N. Se dejaron eclosionar durante 12 h a 28 °C, con oxigenación y luz incandescente. Una vez eclosionados los huevecillos, se trasladaron 10 nauplios a microplacas de 6 pozos. Y se procedió a realizar el bioensayo. Para esto se depositaron los nauplios en contacto con las concentraciones evaluadas (100, 200, 300, 400, 500, 1,000, 1,500, 2,000 y 2,500 µg/mL) (solo del suplemento 8). Posterior a 24 h se contaron los crustáceos supervivientes con un estereoscopio. Se usó cafeína al 99 % obtenida de Sigma Merck® como control positivo y agua destilada como control negativo.

## Estudio bioinformático

Para predecir el potencial biofuncional que tienen los metabolitos identificados en los extractos de los suplementos 3 y 8, se utilizó la plataforma SuperPred (<https://prediction.charite.de/>). Los targets relacionados con patologías relacionadas con el estrés oxidativo se obtuvieron de Comparative Toxigenomics Database (CTD) (<http://ctdbase.org/>).

## Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como promedios y desviación estándar. Para los análisis de AOX, TRC y FT se realizó un ANOVA de una vía totalmente al azar, las medias se contrastaron mediante la prueba de Tukey con un  $\alpha \leq 0.05$ . Para esto se usó el programa Minitab18 (Minitab Inc. State College, Pa., USA). Para el estudio de toxicidad, se determinó la IC<sub>50</sub> del extracto No. 8 mediante regresión lineal, representada por el logaritmo de la concentración contra el porcentaje de letalidad.

## Resultados y Discusión

### Determinación de la Capacidad Reductora Total (TRC) y Flavonoides Totales (TF)

Resalta la TRC de los suplementos 3 y 8 (Tabla 2). Así mismo el contenido de FT fue mayor en el suplemento 3, seguido de los suplementos 4, 5 y 2 (Tabla 2). En contraste, el contenido de flavonoides totales en el suplemento 8 fue de  $3.15 \pm 0.31$  mg EQ/g, por lo que su TRC se puede deber a otros fitoquímicos y compuestos presentes, como ácidos fenólicos, ácidos grasos, terpenos, azúcares y saponinas, entre otros. El método de Folin-Ciocalteu frecuentemente se



usa para estimar el contenido total de compuestos fenólicos, sin embargo, se ha demostrado que otros compuestos como terpenos, esteroides, vitaminas, azúcares, alcaloides, cetonas, aldehídos y ácidos grasos con TRC pueden interferir en el ensayo (Magalhães *et al.*, 2010). Por lo que diversas investigaciones señalan que además es un método para estimar la AOX de extractos naturales. Esto es debido a la transferencia de electrones que mide la TRC de un compuesto antioxidante, aunado a esto se correlaciona con otros ensayos de transferencia de electrones como DPPH y ABTS (Everette *et al.*, 2010; Lamuela-Raventós, 2018; Magalhães *et al.*, 2006). Por otro lado, la estructura molecular de los fenoles puede interferir en el ensayo, principalmente en la cantidad y posición de los grupos OH presentes (Magalhães *et al.*, 2010; Platzer *et al.*, 2021). Esto puede explicar el contenido tan bajo de FT del suplemento 8, siendo el que mayor TRC obtuvo.

La TRC se correlaciona estrechamente con el contenido de fitoquímicos. La composición del suplemento 8 resalta por su contenido mayoritario de frutos de *Juniperus communis*, hojas de *Pinus sylvestris* y hojas de *Populus alba*. En los frutos de *J. communis*, se ha observado un mayor contenido de monoterpenos, diterpenos y flavonoides (Ben Mrid *et al.*, 2019; Falasca *et al.*, 2014; Jegal *et al.*, 2017). Mientras que en *P. sylvestris* se han identificado principalmente monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos (Allenspach *et al.*, 2020), flavonoides de tipo flavan-3-oles, acetilados, glicosilados, neolignanós y taninos condensados (Tegelberg *et al.*, 2018). Así mismo, la corteza presenta cantidades importantes de compuestos fenólicos (Pap *et al.*, 2021). También se ha reportado el contenido de compuestos fenólicos totales en extractos de hojas de *P. sylvestris*, aportando 0.19 mg GAE/g y 51.09 mg QE/g de flavonoides totales (Fierascu *et al.* 2018).

En hojas de *P. alba* se ha demostrado la presencia de ácidos fenólicos, lignanos, flavonoides agliconas y glicosilados (Danise *et al.*, 2021; Elsbaey *et al.*, 2019; Tawfeek *et al.*, 2019). Así mismo los extractos de hojas de *P. alba* contienen compuestos fenólicos totales con  $139.55 \pm 8.81$  mg GAE/g y TF con  $46.12 \pm 1.19$  mg QE/g (Elsbaey *et al.*, 2019).

Por otro lado, el suplemento 3, fue el que mayor cantidad de TF presentó (Tabla 2) TRCGAE. Estos resultados se deben a la gran diversidad de fitoquímicos presentes en el producto, los cuales se ha demostrado que ejercen una potente capacidad antioxidante, destacando por su mayor concentración en el producto los extractos de *Curcuma longa* (Memarzia *et al.*, 2021), *Camelia sinensis* (Zhang *et al.*, 2019), *Arthrospira platensis* (Braune *et al.*, 2021) y *Rosmanirus officinalis* (Ali *et al.*, 2019). Cabe mencionar que este producto es una mezcla de al menos 16 extractos herbales, aminoácidos, vitaminas, minerales y carotenoides, los cuales también aportan TRC y AOX.

El suplemento 4, fue el tercero con mayor TRC y TF (Tabla 2). Este producto se compone principalmente de extracto seco de hojas de *Gingko biloba*. Es bien sabido que el *G. biloba* es una buena fuente de fitoquímicos, en particular flavonoides glicosilados derivados de la quercetina, kaempferol e isoramantina (Liu *et al.*, 2015). En contraste, los suplementos 1 y 2, mencionan ser extractos de flavonoides, como hesperidina (flavanona) (Suplemento 1), y concentrado de arándano (*Vaccinium corymbosum*) (Suplemento 2), el cual es abundante en antocianinas, ácidos fenólicos y flavonoides (Sun *et al.*, 2018). Para ambos suplementos (1 y 2), los fabricantes recomiendan una porción diaria de 1,950 y 1,535.5 mg, respectivamente, sin

embargo y acorde a nuestros resultados, estos solo aportan 2.70 y 5.98 mg EQ/g de flavonoides totales, respectivamente. Estos resultados inferiores a lo reportado por los fabricantes, se pueden deber al tipo de solvente empleado para la extracción (EtOH 80 %) y al método de extracción (ultrasonido), además del estándar de referencia (quercetina), el cual es un flavonol, mientras que la hesperidina es una flavanona y los compuestos del arándano son principalmente antocianinas y ácidos fenólicos. De igual forma, pueden existir irregularidades en los procesos de producción de este tipo de productos (Wolsko *et al.*, 2005).

El suplemento 9 presentó un bajo contenido de TRC y TF (Tabla 2). Su principal ingrediente es *Chlorella vulgaris*, seguido de *Cupressus sempervirens*, *Arctostaphylos uva-ursi* y *Capsicum pubescens*. *C. vulgaris* se caracteriza por presentar ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, y triterpenoides, entre otros (Habashy *et al.*, 2018). También resalta por ser una fuente de compuestos hidrofóbicos, por lo que el disolvente usado para la extracción probablemente no pudo ser capaz de extraerlos (Ho & Redan, 2022). Por su parte las hojas de *C. sempervirens* contienen flavonoides y ácidos fenólicos con capacidad reductora (Ibrahim *et al.*, 2007). Así mismo, las hojas de *A. uva-ursi* contienen arbutina, ácido gálico, galotaninos, glicósidos de quercetina, kaempferol y miricetina, los cuales han demostrado TRC (Panusa *et al.*, 2015).

De manera similar, el suplemento 10, compuesto de bayas de goji, no presentó un contenido significativo de TRC ni TF (Tabla 2); esto se puede deber a que se compone principalmente de metabolitos hidrofóbicos como carotenoides y ácidos grasos; sin embargo, también se han identificado flavonoides y ácidos fenólicos (Amagase & Farnsworth, 2011). Estas diferencias significativas se pueden deber a las condiciones de cultivo, cosecha, variedad, origen, estrés biótico y abiótico, clima, así como el proceso de manipulación (Figueiredo *et al.*, 2008). Sin embargo, deja una ausencia de credibilidad por parte de estos productos, ya que según sus ingredientes deberían presentar un contenido de TRC y TF mayor. Debido a lo anterior, es correcto mencionar que este tipo de productos siempre debe ser recomendado por un especialista, monitorear su consumo y adquirirlos de empresas registradas ante las comisiones sanitarias correspondientes.

### **AOX *in vitro***

Los resultados de AOX se muestran en la Tabla 2. El suplemento 3 fue el que presentó mayor AOX en los métodos ABTS y DPPH, observando diferencias significativas con los demás suplementos. El suplemento 8 también mostró una AOX con diferencias significativas en los métodos DPPH y ABTS. Los compuestos fenólicos y los terpenos son los dos fitoquímicos que contribuyen mayormente a la AOX de los alimentos vegetales y de las plantas (Zhang *et al.*, 2015). En el suplemento 3, el principal ingrediente es el rizoma de *C. longa*, la cual es abundante en compuestos fenólicos y terpenos por lo que ejerce una potente AOX y considerable capacidad antirradical *in vitro* (Altir *et al.*, 2021).

Entre los otros componentes del suplemento 3 también se encuentra el té verde (*C. sinensis*), el cual es reconocido por su capacidad captadora de radicales libres y por disminuir los biomarcadores de estrés oxidativo (Thitimuta *et al.*, 2017). También contiene *Arthrospira plantensis*, cuyas propiedades protectoras contra daños oxidativos han sido reportadas con

anterioridad (Gutiérrez-Rebolledo *et al.*, 2015). Finamore *et al.* (2017), reportaron los efectos antioxidantes de *A. platensis*, relacionándolos principalmente con su contenido de compuestos fenólicos, ficocianinas y polisacáridos. Respecto a los resultados del método ORAC, el suplemento 6 fue el que mostró mayor AOX, seguido del suplemento 4 y 1 (Tabla 2).

**Tabla 2. Capacidad reductora total, flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos hidroetanólicos de suplementos alimenticios.**

Muestra	TRC (mg GAE/g)	TF (mg QE/g)	AOX (μmol TE/g)		
			ABTS	DPPH	ORAC
Suppl.1	7.47 ± 0.48 <sup>D,E,F</sup>	2.70 ± 0.02 <sup>E,F</sup>	0.9 ± 0.00 <sup>E,F</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>C</sup>	311,720 ± 16,840 <sup>C,D</sup>
Suppl.2	5.03 ± 0.38 <sup>E,F</sup>	5.98 ± 0.05 <sup>C,D,E</sup>	0.074 ± 0.00 <sup>E,F,G</sup>	0.18 ± 0.00 <sup>D</sup>	124,980 ± 2,230 <sup>E</sup>
Suppl.3	28.82 ± 2.09 <sup>C,D</sup>	11.82 ± 0.83 <sup>A,B</sup>	4.02 ± 0.04 <sup>A</sup>	1.91 ± 0.12 <sup>A</sup>	263,430 ± 24,220 <sup>D</sup>
Suppl.4	18.50 ± 2.05 <sup>C</sup>	9.66 ± 1.14 <sup>A,B,C</sup>	0.22 ± 0.01 <sup>D</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>D</sup>	333,770 ± 11,160 <sup>B,C</sup>
Suppl.5	8.19 ± 0.54 <sup>D,E,F</sup>	7.53 ± 0.50 <sup>B,C,D</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>E</sup>	0.03 ± 0.01 <sup>D</sup>	45,900 ± 4,840 <sup>F</sup>
Suppl.6	11.82 ± 0.75 <sup>C,D,E</sup>	1.61 ± 0.24 <sup>E,F</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>D</sup>	0.05 ± 0.00 <sup>D</sup>	384,220 ± 9,340 <sup>B</sup>
Suppl.7	7.70 ± 0.75 <sup>D,E,F</sup>	1.56 ± 0.06 <sup>E,F</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>E,F,G</sup>	0.5 ± 0.01 <sup>D</sup>	150,010 ± 680 <sup>E</sup>
Suppl.8	43.08 ± 3.13 <sup>B</sup>	3.15 ± 0.31 <sup>D,E,F</sup>	2.43 ± 0.02 <sup>C</sup>	1.28 ± 0.00 <sup>B</sup>	308,140 ± 10,040 <sup>C,D</sup>
Suppl.9	0.62 ± 0.16 <sup>F</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>F</sup>	0.009 ± 0.00 <sup>G</sup>	0.03 ± 0.02 <sup>D</sup>	25,560 ± 3,210 <sup>F</sup>
Suppl.10	1.32 ± 0.17 <sup>E,F</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>F</sup>	0.01 ± 0.00 <sup>F,G</sup>	0.02 ± 0.00 <sup>D</sup>	12,810 ± 640 <sup>F</sup>
Control*	78 ± 10.92 <sup>A</sup>	14.64 ± 2.87 <sup>A</sup>	3.57 ± 0.04 <sup>B</sup>	1.62 ± 0.55 <sup>B</sup>	681,210 ± 50,710 <sup>A</sup>

**Nota:** \*Hojas de *C. sinensis*. Los resultados son los promedios y desviación estándar de tres réplicas y cinco repeticiones. GAE (equivalente de ácido gálico); QE (equivalente de quercetina); TRC (Capacidad Reductora Total); TF (Flavonoides totales); TE (equivalente de Trolox). Letras diferentes en columnas indican diferencia estadística según la prueba de Tukey  $\alpha \leq 0.05$ .

El suplemento 6 es una mezcla de fitoesteroles, los cuales tienen una alta capacidad captadora de radicales y actúan principalmente protegiendo las membranas celulares (Veza *et al.*, 2020; Yoshida & Niki, 2003). Por otro lado, el suplemento 4 está hecho a base de *G. biloba*, el cual tiene capacidad antioxidante, la cual relacionan con su contenido de compuestos fenólicos (Liu *et al.*, 2007). En relación al suplemento 1, está elaborado a base de plantas abundantes en flavonoides, cuyas propiedades farmacológicas están atribuidas a la inhibición de enzimas

que participan en la producción de radicales libres y su capacidad captadora de los mismos, así como la quelación de hierro (Russo *et al.*, 2000). Los resultados obtenidos son respaldados con lo obtenido por Ferretti *et al.* (2010), quienes reportaron anteriormente la capacidad de los fitoesteros vegetales en la reducción de la peroxidación lipídica del colesterol LDL, demostrando su actividad antioxidante. Las diferencias en AOX obtenidas con los diferentes métodos podrían deberse a que el método ABTS permite medir la actividad antioxidante de compuestos con naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medios orgánicos (Kuskoski *et al.*, 2005) y el método ORAC mide la capacidad atrapadora de radicales oxígeno, por lo que es uno de los métodos que brinda mayor información sobre el potencial antioxidante en sistemas biológicos (Zapata *et al.*, 2014).

Los radicales libres se han relacionado con la incidencia y desarrollo de enfermedades crónicas como cardiovasculares, diversos tipos de cáncer y enfermedades neurodegenerativas, entre otras (Ginter *et al.*, 2014). Es por esto que los productos ricos en antioxidantes son altamente atractivos a los consumidores, ya que consideran que el consumo de este tipo de suplementos no causa ningún daño a la salud (Schroder & Navarro, 2006). Sin embargo, por sus dosis elevadas en fitoquímicos, es necesario seguir evaluando las dosis y periodos en los cuales esta suplementación es adecuada y segura, de tal forma que se puedan evitar posibles efectos adversos y daños a la salud en su consumo.

### **Determinación de Compuestos Orgánicos Volátiles (VOCs)**

Para la determinación de los VOCs, solo se seleccionaron los suplementos 3 y 8 debido que presentaron mayor contenido nutraceutico (Tabla 2). Se identificaron ácidos grasos, terpenoides y fitoesteros (Tabla 3). En el suplemento 3, resaltan terpenos aromáticos derivados de la cúrcuma. Mientras que en el suplemento 8 se identificaron una gran variedad de terpenos con actividades biológicas.

**Tabla 3. Compuestos orgánicos volátiles identificados en extractos hexánicos y metanólicos de los suplementos 3 y 8.**

Suplemento	Extracto	Compuesto	Tiempo de retención	#CAS	% Similitud
Suppl. 3	MeOH	o-Etilhidroxilamina	2.41	624-86-2	91.1
		Metanamina, N-hidroxi-N-metil-	2.44	5725-96-2	95.9
		N-allyl-N, N-dimetilamina	2.47	2155-94-4	90.6
		3(2H)-Pydazinona	3.04	504-30-3	86.0
		1H-Tetrazol	3.15	288-94-8	81.3
		2(5H)-furanona	3.16	597-23-4	88.0
		1,2-Cyclopentanediona	3.21	3008-40-0	94.05
		Metanamina, N-metoxi-	3.54	1117-97-1	93.9
		2-pirrolidinona	3.71	616-45-5	92.8
		2,4,5-trihidroxipirimidina	3.90	496-76-4	82.5
		Ácido benzoico	3.97	613-94-5	86.8
		1,azabicyclo[3.1.0] hexano	3.99	285-76-7	84.3
		1, metil-5-flurouracilo	4.22	1000427-92-0	86.3
		Camfor	4.24	76-22-2	91.5
		Catecol	4.40	120-80-9	85.6
		4-vinilfenol	4.48	2628-17-3	96.0
		4-Cloro-1-azabicyclo[2.2.2] octano	4.76	5960-95-2	92.1
		1,2-benzenodiol, 3-metoxi-	4.76	934-00-9	91.2
		2-propen-1-ol, 3-fenil-	4.96	104-54-1	93.1
		2-metoxi-4-vinilfenol	5.00	7786-61-0	95.1
		Fenol, 2, 6-dimetoxi-	5.17	91-10-1	85.1
		Benzaldehído, 2,4-dihidroxi-6-metil-	5.48	487-69-4	85.1
		Isobisaboleno	6.10	1000-424-85-5	80.1
		Ácido pentanoico	6.70	109-52-4	80.5
		aR-turmerona	6.92	5-32-65-0	82.0
		Turmerona	7.26	180315-67-7	95.8
		Heptadecano	7.33	629-78-7	96.4
		(E)-atlantona	8.08	108645-54-1	90.1
		Neofitadieno	8.46	504-96-1	80.4
		Cafeína	8.78	58-08-2	84.9
		Ácido hexadecanoico, metil ester	9.18	112-39-0	91.0
		Turmeronol A	9.38	13165-37-1	87.1
		n-ácido hexadecanoico	9.49	57-10-3	89.0
		Ácido hexadecanoico, etil ester	9.75	628-97-7	90.8
		Metil gama – linolenato	10.53	16326-32-2	95.4
		9,12-ácido octadecanoico(Z,Z)-,metil ester	10.65	112-63-0	94.3
		9,12,15-ácido octadecatrienoico, metil ester, (Z,Z,Z)-	10.72	301-00-8	82.2
		Fitol	10.80	150-86-7	94.9
		Estearato de metilo	10.89	112-61-8	91.1
		Ácido linoleico, etil ester	11.22	544-35-4	94.0
Ácido octadecanoico, etil ester	11.45	111-61-5	87.2		
Curlona	13.06		90.9		
Campesterol	19.45	474-62-4	83.0		
Stigmasterol	19.72	83-48-7	86.5		
Gama-sitoesterol	20.26	83-47-6	83.9		

Continuación

**Tabla 3. Compuestos orgánicos volátiles identificados en extractos hexánicos y metanólicos de los suplementos 3 y 8.**

Suplemento	Extracto	Compuesto	Tiempo de retención	#CAS	% Similitud	
Suppl. 8	MeOH	o-etilhidroxilamina	2.41	624-86-2	89.9	
		Hidrazina, propil-	2.53	5039-61-2	83.8	
		1H-imidazol,1-metil-	2.90	616-47-7	88.0	
		1H-pirazol,1 metil-	2.90	930-36-9	81.8	
		Metanamida, N-hidroxi-N-metil-	3.04	5725-96-2	83.6	
		3-amino-1,2,4-triazina	3.05	1120-99-6	80.7	
		1H-tetrazol	3.16	288-94-8	85.2	
		1,2-ciclopentanediona	3.19	3008-40-0	95.0	
		N-metoxi-N-metilacetamida	3.45	78191-00-1	84.6	
		Timina	3.85	65-71-4	85.8	
		Dihidro-3-metileno-5-metil-2-furanona	3.88	62873-16-9	91.0	
		Fenol, 2-metoxi-	3.94	90-05-1	91.9	
		Ácido benzoico, metil ester	3.96	93-58-3	83.5	
		Etanona, 1-(2-hidroxi-6-metoxifenil)-	4.11	703-23-1	80.8	
		Catecol	4.38	120-809	95.1	
		Beta-D-glucopiranosido-metil	6.82	709-50-2	80.2	
		Neofitadieno	8.46	504-96-1	85.9	
		Ácido hexadecanoico, metil ester	9.17	112-39-0	92.6	
		n-ácido hexadecanoico	9.47	57-10-3	91.2	
		9-ácido octadecenoico, metil ester, (E)-	10.69	1937-62-8	82.6	
		Fitol	10.80	150-86-7	87.1	
		Ácido octadecanoico	11.17	57-11-4	80.9	
		Ácido hexadecanoico,2-hidroxi-1-(hidroximetil) etil ester	14.02	23470-00-0	80.4	
		Escualeno	16.37	111-02-4	92.9	
		Hentriacontano	16.79	630-04-6	88.8	
		Stigmasterol	19.72	83-48-7	86.6	
		Gamma-sitoesterol	20.26	83-47-6	84.1	
		Olean-12-en-3-ol, acetato, (3.beta.)-	20.71	1616-93-9		
		Alfa-amirina	44.74		83.5	
		Beta-amirina	20.72	559-70-6	84.9	
		D-friedoolean-14-en-3-ol	20.55	81654-73-1	80.5	
		2-pirrolidinona	2.11	616-45-5	82.2	
		(-)-spatuleno	11.70		84.5	
		Cubenol	12.21		80.2	
		7-epi-cis-sesquisabineno	12.39		74.3	
		Tau-muurolol	12.54		79.9	
		Cis-verbenol	7.63		84.3	
		(-)-mirtenol	8.27		82.1	
		4-epi-cubedol	11.09		82.2	
		Trans-calameno	11.14		81.6	
		1,3-propanediamina	2.72	109-76-2	86.6	
		Neofitadieno	8.45	504-96-1	94.9	
		Hexano	2-pentadecanona, 6,10,14-trimetil-	8.51	502-69-2	89.8
		n-ácido hexadecanoico	9.44	57-10-3	82.4	
		Fitol	10.79	150-86-7	90.1	
		Heneicosano	13.89	629-94-7	83.5	
		Hentriacontano	15.38	630-04-6	90.8	
Eicosano	15.38	112-95-8	90.7			
Escualeno	16.37	111-02-4	94.3			
Triacantano	19.66	638-68-6	81.5			
Stigmasterol	19.71	83-48-7	81.6			
Gamma-sitoesterol	20.25	83-47-6	83.3			
D-Friedooleano-14-en-3-ol	20.53	81654-73-1	80.5			
Beta-amirina	20.71	559-70-6	87.8			

Los compuestos identificados en el suplemento No. 3 aR-turmerona, turmerona, (E)-atlantona, turmeronol A y curlone, son curcuminoides y sesquiterpenos derivados de la cúrcuma, ingrediente principal del producto (Salem *et al.*, 2022). Dichos metabolitos sugieren presentar actividad biológica, principalmente antiinflamatoria, anticancerígena y antioxidante (Jayaprakasha *et al.*, 2005). Así mismo los fitoesteroles identificados en *C. longa* (e.g., campesterol, stigmasterol y gamma-sitosterol), han demostrado disminuir los niveles de colesterol en individuos con hipercolesterolemia (Ferguson *et al.*, 2018).

El extracto hexánico y metanólico del suplemento No. 8 extrajo una gran diversidad de metabolitos debido las diferentes polaridades de los disolventes utilizados, de manera general destacan los terpenos y triterpenos como el escualeno, hentriacontano,  $\alpha$ -amirina y  $\beta$ -amirina, esto es debido que dentro de la composición de los ingredientes del producto resalta el contenido de hojas de álamo blanco, hojas de pino silvestre, y bayas de enebro, los cuales son abundantes en dichos compuestos. Además de que los terpenos son los metabolitos secundarios con mayor presencia y distribución en las plantas. Destacan por su actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena y antibacteriana (Bajac *et al.*, 2023; Guleria *et al.*, 2021; Ji & Ji, 2021).

### Ensayo de toxicidad

Los extractos con una  $IC_{50}$  inferior a 1,000  $\mu\text{g/mL}$  fueron considerados como tóxicos, mientras que una  $IC_{50}$  superior a 1,000  $\mu\text{g/mL}$  fueron considerados como no tóxicos (Meyer *et al.*, 1982). Nuestros resultados indicaron que el extracto número 8 tuvo una  $IC_{50}$  de 1,562.5  $\mu\text{g/mL}$ , lo que indica que no es tóxico para el modelo de estudio utilizado. La  $IC_{50}$  del control positivo (cafeína), fue de 800  $\mu\text{g/mL}$ , por lo que es considerada como ligeramente tóxica. Se evaluó la toxicidad aguda con el modelo de *A. salina* debido que es práctico, fácil y económico, además de que brinda una rápida orientación sobre el potencial tóxico de muestras orgánicas (Aydın *et al.*, 2016).

Como se mencionó previamente el extracto 8 se encuentra compuesto principalmente por bayas de *J. communis*. Diversas investigaciones corroboran nuestros resultados ya que se ha demostrado la inocuidad de extractos de diferentes especies de *Juniperus* (Miceli *et al.*, 2020; Taviano *et al.*, 2011). Schneider *et al.*, (2004), reportaron valores de  $IC_{50}$  inferiores a lo obtenido en nuestra investigación, sin embargo, se puede deber al tipo de extracto empleado (cloruro de metileno y acetato de etilo), ambos disolventes son extremadamente tóxicos para organismos vivos (Kimura *et al.*, 1971). A nuestro conocimiento, no se cuentan con investigaciones sobre la toxicidad de extractos de hojas de *P. alba* y hojas de *P. silvestris* (ingredientes complementarios del suplemento 8), sin embargo de esta última se observó una ligera citotoxicidad en fibroblastos NIH 3T3 (Smirnova *et al.*, 2020). El fabricante del suplemento 8, recomienda la ingesta diaria de 1,800 mg, por lo que según nuestros resultados se recomienda precaución en su consumo, ya que, si bien no fue tóxico a las concentraciones evaluadas, esta recomendación las excede, por lo que es necesario que los fabricantes evalúen en modelos *in vivo* las dosis recomendadas.

## Estudio bioinformático

En la Tabla 4 se dilucidó el potencial biofuncional de los fitoquímicos presentes en los suplementos No. 3 y 8. Solo se seleccionaron los compuestos de relevancia medicinal identificados. En el suplemento 3, se identificaron ácidos grasos y terpenoides derivados de la cúrcuma (*aR*-turmerona, turmerona, (*E*)-atlantona, turmeronol A y curlone), los cuales, según el análisis bioinformático, en su mayoría comparten los targets relacionados con el cáncer, inflamación e hiperactividad por déficit de atención. Así mismo se identificaron fitoesteroles (campesterol, stigmasterol y  $\gamma$ -sitosterol), los cuales se relacionan con la prevención de enfermedades cardiovasculares. En cuanto a los fitoquímicos del suplemento 8, resaltan los terpenos y triterpenos (escualeno, hentriacontano,  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina, D-friedoolean-14-en-3-ol, cubenol, tau-muurolol, *cis*-verbenol, (-)-mirtenol y 4-epi-cubedol).

Según el análisis efectuado en la base de datos CTD (Therapeutic Toxicogenomics Database), el *Ar*-turmerone se asocia principalmente con la diabetes involucrando los genes BAX, CASP3, CYP1A1, PPARG y TP53. El escualeno se asocia como agente terapéutico contra afecciones coronarias (BAX, BCL2, CASP3, CAT, MMP2, TNF), carcinoma renal (EPAS1, RELA) y diabetes (BAX, BCL2, CASP3, CAT, MMP2, RELA, TNF). El (-)-mirtenol se asocia como agente terapéutico para tratar daños hepáticos, edemas, hipocolesterolemia, hiperglicemia, infertilidad en mujeres y enfermedades pancreáticas. La  $\alpha$ -amirina es un terpeno identificado en ambos suplementos, el cual se asocia con el tratamiento de la hiperalgesia, dolor e inflamación. Por su parte el  $\gamma$ -sitosterol se usa para tratar la hipercolesterolemia y daños hepáticos (Davis *et al.*, 2021). Los resultados arrojados por la base de datos SuperPred (Tabla 5) señalan que los compuestos ejercen una actividad sobre patologías relacionadas con la inflamación, el estrés oxidativo y el sistema cardiovascular. Acorde a los presentes resultados, se pueden dilucidar los posibles mecanismos de acción asociados al consumo de dichos compuestos, además de brindar un panorama más amplio sobre el uso y seguridad del uso de suplementos alimenticios, ya que estos si se consumen de forma simultánea con medicamentos puede generar interacciones medicamentosas (FDA, 2022b).

**Tabla 4. Blancos moleculares e indicaciones terapéuticas predichas por la Base de Datos de Toxigenómica Comparativa (CTD, por sus siglas en inglés) de los fitoquímicos presentes en los extractos.**

Compuesto	Genes	Patología	Puntuación de inferencia
<i>Ar</i> -Turmerona	ABCB1, AHR, BAX, CASP3, CYP1A1, PPARG, TP53	Diabetes Mellitus	25.62
		Infertilidad	20.89
		Cáncer de seno	18.78
		Neoplasma colorrectal	17.23
		Neoplasma esofágico	14.98
		Enfermedades bronquiales	6.28
$\alpha$ -amirina	TACR1	Inflamación neurogénica	5.76
		Alcoholismo	5.45
		Trastorno por déficit de atención con hiperactividad	5.31



## Continuation

**Tabla 4. Blancos moleculares e indicaciones terapéuticas predichas por la Base de Datos de Toxigenómica Comparativa (CTD, por sus siglas en inglés) de los fitoquímicos presentes en los extractos.**

Compuesto	Genes	Patología	Puntuación de inferencia
γ-sitosterol	AKT1, APOA1, APOB, BAX, BCL2, BIRC2, CASP3, CASP9, CAT, CDH1, CLEC4E, CYCS, EEIG1, EGFR, ESR1, ESR2, IL10, IL1B, IL6, LDLR, PARP1, TNF, VEGFA	Neoplasmas en seno	45.18
		Neoplasmas prostáticos	37.74
		Adenocarcinoma	34.89
		Isquemia cerebral	33.81
		Lesión por reperfusión	32.02
		Diabetes Mellitus	31.83

**Tabla 5. Blancos moleculares e indicaciones terapéuticas predichas por SuperPred de los fitoquímicos presentes en los extractos.**

Compuesto	Objetivo previsto	TTD ID	Indicación de los objetivos previstos	Probabilidad (%)	Precisión del modelo (%)	
Ar-Turmerona	Catepsina D	T67102	Hipertensión	95.31	98.95	
		T67102	Esclerosis múltiple	95.31	98.95	
	Receptor X de pregnano	T82702	Arteriosclerosis	93.29	94.73	
			Glioma	88.97	91.11	
	DNA-liasa	T13348	Melanoma	88.97	91.11	
			Cáncer en ojo	88.97	91.11	
			Cáncer/tumor	88.97	91.11	
			Trastorno por déficit de atención con hiperactividad	84.19	78.15	
	Proteína G acoplada al receptor 55	T87670				
	Receptor de péptido formil 1	T87831	Inflamación	83.01	93.56	
	Curlona	DNA-liasa	T13348	Glioma	93.48	91.11
				Melanoma	93.48	91.11
Cáncer en ojo				93.48	91.11	
Cáncer/tumor				93.48	91.11	
Catepsina D		T67102	Hipertensión	91.48	98.95	
			Esclerosis múltiple	91.48	98.95	
Receptor de péptido formil 1		T87831	Inflamación	83.31	93.56	
			Úlcera péptica	83.31	93.56	
Proteína G acoplada al receptor 55	T87670	Trastorno por déficit de atención con hiperactividad	81.9	78.15		

## Continuación

**Tabla 5. Blancos moleculares e indicaciones terapéuticas predichas por SuperPred de los fitoquímicos presentes en los extractos.**

Compuesto	Objetivo previsto	TTD ID	Indicación de los objetivos previstos	Probabilidad (%)	Precisión del modelo (%)
Escualeno	Catepsina D	T67102	Hipertensión	82.96	98.95
			Esclerosis múltiple	82.96	98.95
	Receptor X de pregnano	T82702	Arteriosclerosis	82.68	94.73
			Glioma	80.29	91.11
	DNA-liasa	T13348	Melanoma	80.29	91.11
			Cáncer en ojo	80.29	91.11
			Cáncer/tumor	80.29	91.11

Nota: TTD (Base de datos de blancos terapéuticos)

## Conclusiones

Los suplementos alimenticios analizados mostraron contener flavonoides y ejercer actividad antioxidante. Los metabolitos identificados fueron en su mayoría triterpenos, terpenos, esteroides y ácidos grasos, los cuales mostraron estar relacionados con biomarcadores del estrés oxidativo e inflamación, por lo que su consumo podría coadyuvar a minimizar la aparición de enfermedades crónicas degenerativas. Se logró dilucidar el potencial biofuncional de los suplementos alimenticios evaluados, según el análisis bioinformático los fitoquímicos presentes potencialmente pueden ejercer actividad en el sistema cardiovascular y protección contra diferentes tipos de cáncer y diabetes tipo 2. Sin embargo, es necesario llevar a cabo estudios *in vivo* para determinar su funcionalidad clínica. El suplemento 8 no mostró toxicidad en el modelo de *A. salina*, a pesar de ello se recomienda evaluar la toxicidad aguda y crónica en otros modelos biológicos, ya que las dosis recomendadas por los fabricantes pueden llegar a presentar efectos secundarios a la salud del consumidor. El consumo de este tipo de productos se recomienda sea supervisada por un especialista de la salud, extremando precauciones si se está en tratamiento farmacológico ya que, según nuestros resultados, los suplementos pueden ejercer más de una bioactividad por la diversidad de ingredientes y compuestos presentes, interactuando con diferentes blancos moleculares.

## Contribución de los autores

“Conceptualización del trabajo, Jiménez-Ortega, L.A.; Heredia, J.B.; desarrollo de la metodología, Jiménez-Ortega, L.A.; López-Romero, B. J.; Heredia-Bátiz, J.; Bastidas-Bastidas, P .J.; manejo de software, Bastidas-Bastidas, P .J, Jiménez-Ortega, L.A.; validación experimental, Heredia, J. Basilio.; análisis de resultados, Jiménez-Ortega, L.A.; manejo de datos, Jiménez-Ortega, L.A.; escritura y preparación del manuscrito, Jiménez-Ortega, L.A, López-Romero, B. J.; Heredia-Bátiz, J.; redacción, revisión y edición, Heredia, J. Basilio, Bastidas-Bastidas, P .J.; administrador de proyectos, Heredia, J. Basilio.; adquisición de fondos, Heredia, J. Basilio.

“Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.”

## Financiamiento

Esta investigación no recibió financiamiento externo

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

## Referencias

- Ali, A., Chua, B. L. & Chow, Y. H. (2019). An insight into the extraction and fractionation technologies of the essential oils and bioactive compounds in *Rosmarinus officinalis* L.: Past, present and future. *Trends in Analytical Chemistry*, 118, 338-351. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.040>
- Allenspach, M., Valder, C., Flamm, D., Grisoni, F. & Steuer, C. (2020). Verification of Chromatographic Profile of Primary Essential Oil of *Pinus sylvestris* L. Combined with Chemometric Analysis. *Molecules*, 25(13), 2973. <https://doi.org/10.3390/molecules25132973>
- Altir, N. K. M., Ali, A. M. A., Gaafar, A.-R. Z., Qahtan, A. A., Abdel-Salam, E. M., Alshameri, A., Hodhod, M. S. & Almunqedhi, B. (2021). Phytochemical profile, in vitro antioxidant, and anti-protein denaturation activities of *Curcuma longa* L. rhizome and leaves. *Open Chemistry*, 19(1), 945-952. <https://doi.org/10.1515/chem-2021-0086>
- Amagase, H. & Farnsworth, N. R. (2011). A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). *Food Research International*, 44(7), 1702-1717. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.027>
- Aydın, A., Aktay, G. & Yesilada, E. (2016). A Guidance Manual for the Toxicity Assessment of Traditional Herbal Medicines. *Natural Product Communications*, 11(11), 1763-1773. <https://doi.org/10.1177/1934578X1601101131>
- Bajac, J., Zengin, G., Mitrović, I., Antić, I., Radojković, M., Nikolovski, B. & Terzić, M. (2023).

- Juniper berry essential oils as natural resources of biological and pharmacological high-valuable molecules. *Industrial Crops and Products*, 204, 117248. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117248>
- Ben Mrid, R., Bouchmaa, N., Bouargalne, Y., Ramdan, B., Karrouchi, K., Kabach, I., El Karbane, M., Idir, A., Zyad, A. & Nhiri, M. (2019). Phytochemical Characterization, Antioxidant and *In Vitro* Cytotoxic Activity Evaluation of *Juniperus oxycedrus* Subsp. *oxycedrus* Needles and Berries. *Molecules*, 24(3), 502. <https://doi.org/10.3390/molecules24030502>
- Braune, S., Krüger-Genge, A., Kammerer, S., Jung, F. & Küpper, J.-H. (2021). Phycocyanin from *Arthrospira platensis* as Potential Anti-Cancer Drug: Review of *In Vitro* and *In Vivo* Studies. *Life*, 11(2), 91. <https://doi.org/10.3390/life11020091>
- Brzezicha, J., Błażejewicz, D., Brzezińska, J. & Grembecka, M. (2021). Green coffee VS dietary supplements: A comparative analysis of bioactive compounds and antioxidant activity. *Food and Chemical Toxicology*, 155, 112377. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112377>
- Bruins, M. J., Van Dael, P. & Eggersdorfer, M. (2019). The Role of Nutrients in Reducing the Risk for Noncommunicable Diseases during Aging. *Nutrients*, 11(1), 85. <https://doi.org/10.3390/nu11010085>
- Byrne, N. J., Rajasekaran, N. S., Abel, E. D. & Bugger, H. (2021). Therapeutic potential of targeting oxidative stress in diabetic cardiomyopathy. *Free Radical Biology and Medicine*, 169, 317-342. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.03.046>
- Charlton, A., Garzarella, J., Jandeleit-Dahm, K. A. M. & Jha, J. C. (2021). Oxidative Stress and Inflammation in Renal and Cardiovascular Complications of Diabetes. *Biology*, 10(1), 18. <https://doi.org/10.3390/biology10010018>
- Criollo-Mendoza, M. S., Ramos-Payán, R., Contreras-Angulo, L. A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., León-Félix, J., Villicaña, C., Angulo-Escalante, M. A. & Heredia, J. B. (2022). Cytotoxic Activity of Polyphenol Extracts from Three Oregano Species: *Hedeoma patens*, *Lippia graveolens* and *Lippia palmeri*, and Antiproliferative Potential of *Lippia graveolens* against Two Types of Breast Cancer Cell Lines (MDA-MB-231 and MCF-7). *Molecules*, 27(16), 5240. <https://doi.org/10.3390/molecules27165240>
- Danise, T., Innangi, M., Curcio, E., Piccolella, S., Fioretto, A. & Pacifico, S. (2021). White poplar (*Populus alba* L.) leaf waste recovery and intercropping outcome on its polyphenols. *Industrial Crops and Products*, 171, 113866. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113866>
- Das, G., Gonçalves, S., Basilio Heredia, J., Romano, A., Jiménez-Ortega, L. A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., & Patra, J. K. (2022). Cardiovascular protective effect of cinnamon and its major bioactive constituents: An update. *Journal of Functional Foods*, 97, 105045. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105045>
- Davis, A. P., Grondin, C. J., Johnson, R. J., Sciaky, D., Wieggers, J., Wieggers, T. C. & Mattingly, C. J. (2021). Comparative Toxicogenomics Database (CTD): update 2021. *Nucleic Acids Research*, 49(1), 1138-1143. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa891>
- Ebrahimzadeh, M. A., Khalili, M. & Dehpour, A. A. (2018). Antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of two marine algae, *Nannochloropsis oculata* and *Gracilaria gracilis* - an *in vitro* assay. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(1), 6. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000117280>
- Elsbaey, M., Amen, Y., Nakagawa, T. & Shimizu, K. (2019). White poplar: Targeted isolation of pancreatic lipase inhibitors. *Industrial Crops and Products*, 141, 111778. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111778>

- [org/10.1016/j.indcrop.2019.111778](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111778)
- Everette, J. D., Bryant, Q. M., Green, A. M., Abbey, Y. A., Wangila, G. W. & Walker, R. B. (2010). Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin–Ciocalteu RGAEent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139-8144. <https://doi.org/10.1021/jf1005935>
- Falasca, A., Melck, D., Paris, D., Saviano, G., Motta, A. & Iorizzi, M. (2014). Seasonal changes in the metabolic fingerprint of *Juniperus communis* L. berry extracts by <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics. *Metabolomics*, 10(1), 165-174. <https://doi.org/10.1007/s11306-013-0566-1>
- Ferguson, J. J. A., Stokanovski, E., MacDonald-Wicks., Garg, M. L. (2018). Curcumin potentiates cholesterol-lowering effects of phytosterols in hypercholesterolaemic individuals. A randomised controlled trial. *Metabolism Clinical and Experimental*, 82, 22-35. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.12.009>
- Ferretti, G., Bacchetti, T., Masciangelo, S. & Bicchiega, V. (2010). Effect of phytosterols on copper lipid peroxidation of human low-density lipoproteins. *Nutrition*, 26(3), 296-304. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.015>
- Fierascu, I., Ungureanu, C., Avramescu, S. M., Cimpeanu, C., Georgescu, M. I., Fierascu, R. C., Ortan, A., Sutan, A. N., Anuta, V., Zangfirescu, A., Dinu-Pirvu, C. E. & Velescu, B. S. (2018). Genoprotective, antioxidant, antifungal and anti-inflammatory evaluation of hydroalcoholic extract of wild-growing *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) native to Romanian southern sub-Carpathian hills. *Complementary and Alternative Medicine*, 18(3). <https://doi.org/10.1186/s12906-017-2066-8>
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G. & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213-226. <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>
- Finamore, A., Palmery, M., Bensehaila, S. & Peluso, I. (2017). Antioxidant, Immunomodulating, and Microbial-Modulating Activities of the Sustainable and Ecofriendly Spirulina. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 3247528-3247528. <https://doi.org/10.1155/2017/3247528>
- Food and Drug Administration [FDA]. (2022a) Introducción básica a los suplementos dietéticos. <https://www.fda.gov/consumers/articulos-para-el-consumidor-en-espanol/introduccion-basica-los-suplementos-dieteticos>
- Food and Drug Administration [FDA]. (2022b) Mixing Medications and Dietary Supplements Can Endanger Your Health. <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/mixing-medications-and-dietary-supplements-can-endanger-your-health#:~:text=Certain%20dietary%20supplements%20can%20change,of%20the%20medication%20you%20need.>
- Ginter, E., Simko, V. & Panakova, V. (2014). Antioxidants in health and disease. *Bratislava Medical Journal*, 115(10), 603-606. [https://doi.org/10.4149/bll\\_2014\\_116](https://doi.org/10.4149/bll_2014_116)
- Guleria, I., Kumari, A., Lacaille-Dubois, M. A., Nishant, Kumar, V., Saini, A. K., Dhatwalia, J. & Lal, S. (2021). A review on the genus *Populus*: a potential source of biologically active compounds. *Phytochemistry Reviews*, 21, 987-1046. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09772-2>
- Gutiérrez-Grijalva, E. P., Leyva-López, N., Vazquez-Olivo, G. & Heredia, J. B. (2022). Oregano as a potential source of antidiabetic agents. *Journal of Food Biochemistry*, 46(12), e14388. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14388>

- Gutiérrez-Rebolledo, G. A., Galar-Martínez, M., García-Rodríguez, R. V., Chamorro-Cevallos, G. A., Hernández-Reyes, A. G. & Martínez-Galero, E. (2015). Antioxidant Effect of *Spirulina* (Arthrospira) maxima on Chronic Inflammation Induced by Freund's Complete Adjuvant in Rats. *Journal of Medicinal Food*, 18(8), 865-871. <https://doi.org/10.1089/jmf.2014.0117>
- Habashy, N. H., Abu Serie, M. M., Attia, W. E. & Abdelgaleil, S. A. M. (2018). Chemical characterization, antioxidant and anti-inflammatory properties of Greek *Thymus vulgaris* extracts and their possible synergism with Egyptian *Chlorella vulgaris*. *Journal of Functional Foods*, 40, 317-328. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.022>
- Hamulka, J., Jeruszka-Bielak, M., Górnicka, M., Drywień, M. E. & Zielinska-Pukos, M. A. (2021). Dietary Supplements during COVID-19 Outbreak. Results of Google Trends Analysis Supported by PLifeCOVID-19 Online Studies. *Nutrients*, 13(1), 54. <https://doi.org/10.3390/nu13010054>
- Hassan, S., Egbuna, C., Tijjani, H., Ifemeje, J. C., Olisah, M. C., Patrick-Iwuanyanwu, K. C., Onyeike, P. C. & Ephraim-Emmanuel, B. C. (2020). Dietary Supplements: Types, Health Benefits, Industry and Regulation. In: Egbuna, C., Dable Tupas, G. (eds.). *Functional Foods and Nutraceuticals: Bioactive Components, Formulations and Innovations* (pp. 23-38). Springer, Cham. International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-42319-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-42319-3_3)
- Ho, K. K. H. Y. & Redan, B. W. (2022). Impact of thermal processing on the nutrients, phytochemicals, and metal contaminants in edible algae. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(2), 508-526. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1821598>
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A. & Prior, R. L. (2002). High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16), 4437-4444. <https://doi.org/10.1021/jf0201529>
- Ibrahim, N. A., El-Seedi, H. R. & Mohammed, M. M. D. (2007). Phytochemical investigation and hepatoprotective activity of Cupressus sempervirens L. leaves growing in Egypt. *Natural Product Research*, 21(10), 857-866. <https://doi.org/10.1080/14786410601132477>
- Jayaprakasha, G. K., Rao, M. L. & Sakariah, K. K. (2005). Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends in Food Science & Technology*, 16 (12), 533-548. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.08.006>
- Jegal, J., Chung, K. W., Chung, H. Y., Jeong, E. J. & Yang, M. H. (2017). The Standardized Extract of *Juniperus communis* Alleviates Hyperpigmentation *in Vivo* HRM-2 Hairless Mice and *in Vitro* Murine B16 Melanoma Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 40(9), 1381-1388. <https://doi.org/10.1248/bpb.b17-00122>
- Ji, W. & Ji, X. (2021). Comparative Analysis of Volatile Terpenes and Terpenoids in the Leaves of *Pinus* Species—A Potentially Abundant Renewable Resource. *Molecules*, 26(17), 5244. <https://doi.org/10.3390/molecules26175244>
- Karadag, A., Ozcelik, B. & Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2, 41-60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Karchesy, Y. M., Kelsey, R. G., Constantine, G. & Karchesy, J. J. (2016). Biological screening of selected Pacific Northwest forest plants using the brine shrimp (*Artemia salina*) toxicity bioassay. *Springer Plus*, 5. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2145-1>
- Kimura, E. T., Ebert, D. M. & Dodge, P. W. (1971). Acute toxicity and limits of solvent residue for sixteen organic solvents. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 19(4), 699-704. [https://doi.org/10.1016/0041-0129\(71\)90001-0](https://doi.org/10.1016/0041-0129(71)90001-0)

- [org/10.1016/0041-008X\(71\)90301-2](https://doi.org/10.1016/0041-008X(71)90301-2)
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J. & Fett, R. (2005). Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutas. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
- Lamuela-Raventós, R. M. (2018). Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. In *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity*. <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6>
- Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., Ambriz-Perez, D. L. & Heredia, J. B. (2016). Flavonoids as Cytokine Modulators: A Possible Therapy for Inflammation-Related Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 921. <https://doi.org/10.3390/ijms17060921>
- Liu, X., Dong, M., Chen, X., Jiang, M., Lv, X. & Yan, G. (2007). Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*. *Food Chemistry*, 105(2), 548-554. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.008>
- Liu, X.-G., Wu, S.-Q., Li, P. & Yang, H. (2015). Advancement in the chemical analysis and quality control of flavonoid in *Ginkgo biloba*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113, 212-225. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.03.006>
- Lordan, R. (2021). Dietary supplements and nutraceuticals market growth during the coronavirus pandemic – Implications for consumers and regulatory oversight. *PharmaNutrition*, 18, (100282), 2213-4344. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2021.100282>
- Magalhães, L. M., Santos, F., Segundo, M. A., Reis, S. & Lima, J. L. F. C. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*, 83(2), 441-447. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.09.042>
- Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., Lima, J. L. F. C. & Rangel, A. O. S. S. (2006). Automatic Method for the Determination of Folin–Ciocalteu Reducing Capacity in Food Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(15), 5241-5246. <https://doi.org/10.1021/jf060324s>
- Memarzia, A., Khazdair, M. R., Behrouz, S., Gholamnezhad, Z., Jafarnejhad, M., Saadat, S. & Boskabady, M. H. (2021). Experimental and clinical reports on anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Curcuma longa* and curcumin, an updated and comprehensive review. *BioFactors*, 47(3), 311-350. <https://doi.org/10.1002/biof.1716>
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. & McLaughlin, J. L. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(05), 31-34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Miceli, N., Marino, A., Köroğlu, A., Cacciola, F., Dugo, P., Mondello, L. & Taviano, M. F. (2020). Comparative study of the phenolic profile, antioxidant and antimicrobial activities of leaf extracts of five *Juniperus* L. (*Cupressaceae*) taxa growing in Turkey. *Natural Product Research*, 34(11), 1636-1641. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1523162>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2022) Noncommunicable diseases. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases#:~:text=Cardiovascular%20diseases%20account%20for%20most,disease%20deaths%20caused%20by%20diabetes>
- Panusa, A., Petrucci, R., Marrosu, G., Multari, G. & Gallo, F. R. (2015). UHPLC-PDA-ESI-TOF/MS metabolic profiling of *Arctostaphylos pungens* and *Arctostaphylos uva-ursi*. A comparative study of phenolic compounds from leaf methanolic extracts. *Phytochemistry*, 115, 79-88.

- <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.01.002>
- Pap, N., Reshamwala, D., Korpinen, R., Kilpeläinen, P., Fidelis, M., Furtado, M. M., Sant'Ana, A. S., Wen, M., Zhang, L., Hellström, J., Marnilla, P., Mattila, P., Sarjala, T., Yang, B., Lima, A. d. S., Azevedo, L., Marjomäki, V. & Granato, D. (2021). Toxicological and bioactivity evaluation of blackcurrant press cake, sea buckthorn leaves and bark from Scots pine and Norway spruce extracts under a green integrated approach. *Food and Chemical Toxicology*, 153, 112284. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112284>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Platzer, M., Kiese, S., Herfellner, T., Schweiggert-Weisz, U. & Eisner, P. (2021). How Does the Phenol Structure Influence the Results of the Folin-Ciocalteu Assay? *Antioxidants*, 10(5), 811. <https://doi.org/10.3390/antiox10050811>
- Prior, R. L. & Cao, G. (2000). Analysis of Botanicals and Dietary Supplements for Antioxidant Capacity: A Review. *Journal of AOAC International*, 83(4), 950-956. <https://doi.org/10.1093/jaoac/83.4.950>
- Ramachandra, C. J. A., Cong, S., Chan, X., Yap, E. P., Yu, F. & Hausenloy, D. J. (2021). Oxidative stress in cardiac hypertrophy: From molecular mechanisms to novel therapeutic targets. *Free Radical Biology and Medicine*, 166, 297-312. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.02.040>
- Russo, A., Acquaviva, R., Campisi, A., Sorrenti, V., Di Giacomo, C., Virgata, G., Barcellona, M. L. & Vanella, A. (2000). Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biology and Toxicology*, 16(2), 91. <https://doi.org/10.1023/A:1007685909018>
- Sabbatino, F., Conti, V., Liguori, L., Polcaro, G., Corbi, G., Manzo, V., Tortora, V., Carlomagno, C., Vecchione, C., Filippelli, A. & Pepe, S. (2021). Molecules and Mechanisms to Overcome Oxidative Stress Inducing Cardiovascular Disease in Cancer Patients. *Life*, 11(2), 105. <https://doi.org/10.3390/life11020105>
- Salem, M. A., El-Shiekh, R. A., Fernie, A. R. & Alseekh, S. (2022). Metabolomics-based profiling for quality assessment and revealing the impact of drying of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Scientific Reports*, 12, 10288. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13882-y>
- Schneider, I., Gibbons, S. & Bucar, F. (2004). Inhibitory Activity of *Juniperus communis* on 12(S)-HETE Production in Human Platelets. *Planta Medica*, 70(5), 471-474. <https://doi.org/10.1055/s-2004-818980>
- Schroder, H. & Navarro, E. (2006). Effects and safety of antioxidant supplementation. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 4(1), 23-33.
- Sies, H. (2020). Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852. <https://doi.org/10.3390/antiox9090852>
- Smirnova, I. E., Kazakova, O. B., Loesche, A., Hoenke, S. & Csuk, R. (2020). Evaluation of cholinesterase inhibitory activity and cytotoxicity of synthetic derivatives of di- and triterpene metabolites from *Pinus silvestris* and *Dipterocarpus alatus* resins. *Medicinal Chemistry Research*, 29(8), 1478-1485. <https://doi.org/10.1007/s00044-020-02566-9>
- Sun, Y., Li, M., Mitra, S., Hafiz Muhammad, R., Debnath, B., Lu, X., Jian, H. & Qiu, D. (2018). Comparative Phytochemical Profiles and Antioxidant Enzyme Activity Analyses of the Southern Highbush Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) at Different Developmental Stages.



- Molecules*, 23(9), 2209. <https://doi.org/10.3390/molecules23092209>
- Swain, T. & Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1), 63-68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
- Taviano, M. F., Marino, A., Trovato, A., Bellinghieri, V., La Barbera, T. M., Güvenç, A., Hürkul, M. M., Pasquale, R. D. & Miceli, N. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of branches extracts of five *Juniperus* species from Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 49(10), 1014-1022. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.560161>
- Tawfeek, N., Sobeh, M., Hamdan, D. I., Farrag, N., Roxo, M., El-Shazly, A. M. & Wink, M. (2019). Phenolic Compounds from *Populus alba* L. and *Salix subserrata* Willd. (Salicaceae) Counteract Oxidative Stress in *Caenorhabditis elegans*. *Molecules*, 24(10), 1999. <https://doi.org/10.3390/molecules24101999>
- Tegelberg, R., Virjamo, V. & Julkunen-Tiitto, R. (2018). Dry-air drying at room temperature – a practical pre-treatment method of tree leaves for quantitative analyses of phenolics?. *Phytochemical Analysis*, 29(5), 493-499. <https://doi.org/10.1002/pca.2755>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6), 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Thitimita, S., Pithayanukul, P., Nithitanakool, S., Bavovada, R., Leanpolchareanchai, J. & Saparpakorn, P. (2017). *Camellia sinensis* L. Extract and Its Potential Beneficial Effects in Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Hepatotoxic, and Anti-Tyrosinase Activities. *Molecules*, 22(3), 401. <https://doi.org/10.3390/molecules22030401>
- Veza, T., Canet, F., de Marañón, A. M., Bañuls, C., Rocha, M. & Víctor, V. M. (2020). Phytosterols: Nutritional Health Players in the Management of Obesity and Its Related Disorders. *Antioxidants*, 9(12), 1266. <https://doi.org/10.3390/antiox9121266>
- Wanyoike, G. M., Chhabra, S. C., Lang'at-Thoruwa, C. C. & Omar, S. A. (2004). Brine shrimp toxicity and antiplasmodial activity of five Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 9(1), 129-133. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.047>
- Wolsko, P. M., Solondz, D. K., Phillips, R. S., Schachter, S. C. & Eisenberg, D. M. (2005). Lack of herbal supplement characterization in published randomized controlled trials. *The American Journal of Medicine*, 118(10), 1087-1093. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2005.01.076>
- Yoshida, Y. & Niki, E. (2003). Antioxidant effects of phytosterol and its components. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 49(4), 277-280. <https://doi.org/10.3177/jnsv.49.277>
- Zapata, S., Piedrahita, A. M. & Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16(1), 25-36. <https://doi.org/10.17533/udea.penh.20310>
- Zhang, L., Ho, C.-T., Zhou, J., Santos, J. S., Armstrong, L. & Granato, D. (2019). Chemistry and Biological Activities of Processed *Camellia sinensis* Teas: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1474-1495. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12479>
- Zhang, Y.-J., Gan, R.-Y., Li, S., Zhou, Y., Li, A.-N., Xu, D.-P. & Li, H.-B. (2015). Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. *Molecules*, 20(12), 21138-21156. <https://doi.org/10.3390/molecules201219753>