

**Estudio químico y evaluación biológica del extracto etanólico de *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling (Cebollín)**

Chemical study and biological assessment of *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling (Cebollín) ethanolic extract

Oswaldo Guillermo Pesantes Domínguez<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1773-533X>

Katherine Elizabeth Bustamante Pesantes<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3108-9736>

Migdalia Miranda Martínez<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6728-1818>

Yamilet Gutiérrez Gaitén<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8885-4849>

<sup>1</sup>Universidad de Guayaquil, Ciudadela Universitaria “Salvador Allende”. Facultad de Ciencias Químicas. Guayaquil, Ecuador.

<sup>2</sup>Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Guayaquil, Ecuador.

<sup>3</sup>Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia. [oswaldopesantes@yahoo.com](mailto:oswaldopesantes@yahoo.com)

## RESUMEN

**Introducción:** *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling, pertenece a la familia de las *Alliaceae* y se caracteriza por su uso doméstico. La mayoría de los estudios realizados a especies de este género se centraron en los bulbos.

**Objetivo:** Evaluar la composición química y la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas y bulbos de *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling cultivado en Ecuador.

**Métodos:** Los extractos de hojas y bulbos se elaboraron por el método de maceración por un tiempo de siete días, a partir de 500 g de muestra con 1 L de etanol al 80 %. A estos extractos se les determinaron las constantes físico-químicas, el tamizaje fitoquímico y la determinación de flavonoides por cromatografía líquida de alta resolución y le fue determinado su actividad antioxidante por la técnica del potencial de reducción de hierro total

**Resultados:** De las características fisicoquímicas el pH mostró valores en el rango ácido para ambos extractos y los sólidos totales fueron superiores para los bulbos (2,73 %), respecto al de las hojas (1,02). Se determinó en los extractos de las hojas presencia de los flavonoides, quercetina (18,33mg/L) y kaempferol (9,75 mg/L), mientras que en los bulbos solo se detectó quercetina (16,08 mg/L). El potencial de reducción del extracto de las hojas fue de 394,16  $\mu$ M y el de los bulbos 39,44  $\mu$ M, el que no presentó actividad antioxidante.

**Conclusiones:** Las hojas de la especie *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling cultivada en Ecuador, pueden ser consideradas como un potencial antioxidante.

**Palabras clave:** *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling; parámetros físico-químicos; flavonoides; carácter reductor.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling belongs to the Alliaceae's family and it is characterized by its domestic use. Most of the studies carried out on species of this genus were focused on the bulbs. In some of them the presence of flavonoids was reported, to which antioxidant activity is attributed.

**Objective:** To assess the chemical composition and the antioxidant activity of the ethanolic extract of the leaves and bulbs of *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling cultivated in Ecuador.

**Methods:** The extracts from the leaves and bulbs were elaborated by the maceration method for a period of seven days, starting from 500 g of sample with 1 L of 80% ethanol. In the extracts were determined the physical-chemical constants, the phytochemical screening and the determination of flavonoids by high performance liquid chromatography; and their antioxidant activity was determined by the technique of the total iron reduction's potential.

**Results:** Of the physical-chemical characteristics, the pH showed values in the acid range for both extracts and the total solids were higher for the bulbs (2.73%) with respect to the leaves (1.02). The presence of flavonoids, quercetin (18.33 mg / L) and kaempferol (9.75 mg / L) was determined in leaf extracts, while quercetin (16.08 mg / L) was only detected in the bulbs. The reduction's potential of the leaves extract was 394.16  $\mu$ M and that of the bulbs 39, 44  $\mu$ M; the latter did not present antioxidant activity.

**Conclusions:** The leaves of *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling cultivated in Ecuador can be considered as a potential antioxidant.

**Keywords:** *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling; physic-chemical parameters; flavonoids; reducing characteristics.

Recibido: 26/04/2018

Aprobado: 23/06/2018

## INTRODUCCIÓN

Todas las especies del género *Allium* contienen compuestos derivados de sulfuro de alilo, los cuales desde el punto de vista medicinal se han estudiado y probado clínicamente, aunque en mayor medida en bulbos de *Allium sativum* L y *Allium cepa* L. En ellas se han identificado varios compuestos azufrados, entre ellos es mayoritaria la aliina, sulfuro inodoro, derivado de la cisteína, la cual, cuando las células se rompen (al cortar, o machacar el ajo y la cebolla), se transforma por medio una enzima (alinasas) en alicina, uno de los principios activos que dan al ajo su olor característico y propiedades medicinales.<sup>(1)</sup> La alicina se considera, al menos potencialmente, antibacteriana, antifúngica y, posiblemente, hipotensora e hipocolesteromiente.<sup>(2,3,4)</sup> Además, presenta ajoeno, que al parecer, es el compuesto de acción antiagregante plaquetaria y para combatir la arterioesclerosis, además de tener aplicación como antiviral.<sup>(5)</sup>

*Allium sativum*, está indicado en casos de trastornos circulatorios vasculares periféricos como hipertensión arterial, arteriopatías, prevención de trombosis, para mejorar la circulación entre otras, para prevenir la arteriosclerosis, y para el tratamiento de la hiperlipidemia. También se utiliza para tratar el asma, la tos, la dificultad respiratoria y la bronquitis crónica. Por su actividad antiséptica es útil para combatir los catarros y otras infecciones del tracto respiratorio. Se ha descrito su uso para las infecciones de las vías urinarias y parasitosis intestinales (oxiuriasis). Popularmente, además, se le atribuyen propiedades como antiespasmódicas, colagogas, diaforéticas, diurético, expectorante, febrífugo, estimulante, estomáquico, y tónico. En medicina popular se usan preparaciones obtenidas a partir de ajos machacados para evitar infecciones y para aliviar procesos inflamatorios y degenerativos de las articulaciones.<sup>(5)</sup>

De *Allium cepa* y *Allium schoenoprasum* se utilizan, principalmente, los bulbos y están indicados en casos de pérdida del apetito y en la prevención de la arteriosclerosis. Tradicionalmente se usan como hipocolesteromiante y tónico digestivo.<sup>(6)</sup>

Entre las actividades farmacológicas demostradas para la especie están las antibacteriana<sup>(7)</sup>, antiinflamatoria, antihelmíntica e hipotensora<sup>(8)</sup>, antitumoral<sup>(9)</sup>, entre otras.

Además de los compuestos azufrados, se han encontrado en diferentes especies de *Allium* y en particular en *Allium schoenoprasum* algunos compuestos fenólicos<sup>(10,11,12)</sup>, antocianidinas<sup>(13)</sup>, ácidos grasos y esteroides<sup>(14)</sup>, entre otros. Con respecto a los flavonoides, se ha reportado la presencia de quercetina, rutina, kaempferol e isorhamnetina.<sup>(15,16,17)</sup> A estos compuestos se les atribuye actividad antioxidante, la cual ha sido demostrada para la especie.<sup>(18,19,20)</sup>

El objetivo del presente trabajo es evaluar la composición química y la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas y bulbos de *Allium schoenoprasum* (L). Regel & Tiling, cultivado en Ecuador.

## MÉTODOS

La especie vegetal utilizada para la realización del trabajo fueron plantas adultas de *Allium schoenoprasum* (L). Regel & Tiling, recolectadas en los meses de agosto y septiembre. La comprobación taxonómica se llevó a cabo en el Herbario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, asignándole el número de identificación 008 y el número de herbario con código GUAY 13.100. De las colectas efectuadas se emplearon las hojas y bulbos en estado fresco troceadas con cuchilla.

Los extractos de hojas y bulbos se elaboraron por separado por el método de maceración, por un tiempo de siete días, a partir de 500 g de material vegetal fresco con 1 L de etanol al 80 % en recipientes bien cerrados y protegidos de la luz. Concluido el período de extracción, los extractos se filtraron y posteriormente se determinaron los parámetros físico-químicos de calidad por triplicado siguiendo procedimientos descritos en la literatura.<sup>(21)</sup> Los parámetros analizados fueron: características organolépticas, pH, sólidos totales, índice de refracción, densidad relativa y tamizaje fitoquímico.

Los extractos alcohólicos provenientes de las hojas y los bulbos se concentraron a sequedad en rotoevaporador y se sometieron a un proceso de desengrase con éter de

petróleo a 30-40 °C. Los extractos secos fueron redissueltos en metanol, obteniendo finalmente las fracciones etéreas y metanólicas.

El análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), estuvo dirigido a la fracción metanólica con el propósito de detectar posibles flavonoides, específicamente, quercetina y kaempferol por ser los flavonoides identificados en diferentes especies del género, incluyendo la especie objeto de estudio. Para este trabajo se utilizó un cromatógrafo líquido *KNAVER*, bajo las condiciones de análisis siguientes:

- Fase móvil: solución amortiguadora fosfato 0,1 M: Acetonitrilo (70:30). Ambos disolventes grado HPLC (*Merck*).
- *Software: Claritychrom.*
- Temperatura del horno: 25 °C.
- Detector: arreglo de diodo, 370 nm (200-400). Bomba de doble pistón recíprocante, flujo a 0,9 mL/min.
- Presión: 14,1 µPa.
- Volumen de inyección: 20 µL. Columna: RP-18. Uptisphere 5 ODB 708965.

Para la caracterización antioxidante del ensayo, se seleccionó el Potencial de Reducción Total (FRAP), según las metodologías descritas en la literatura.<sup>(23,24,25)</sup> Las determinaciones se realizaron mediante un lector de placas de 96 pocillos, marca SUMA (Sistema ultramicroanalítico, La Habana, Cuba).

El procesamiento estadístico se realizó a través del programa *Statistic for Windows*. Se determinó la homogeneidad de varianza a través de un *Test de Levene* y la diferencia entre grupos por la prueba de *Duncan*. Los estudios se realizaron estableciendo comparaciones con grupos controles, blancos o patrones, según el protocolo de estudio.

## **RESULTADOS**

A los extractos obtenidos y, con el propósito de estandarizarlos, se les determinaron algunos de parámetros físico-químicos con el objetivo de crear las bases para establecer sus especificaciones de calidad. Para lo que se tuvo en consideración: las características

organolépticas, análisis del pH, sólidos totales, índice de refracción y densidad relativa. (Tabla 1)

**Tabla 1-** Características físico-químicas de los extractos etanólicos de hojas y bulbos

Parámetros	Resultados en las hojas	Resultados en los bulbos*
Características organolépticas	Líquido traslúcido de color amarillo intenso y aroma fuerte a cebolla	Líquido traslúcido de color amarillo y aroma fuerte a cebolla
pH	6,19 / 0,04	6,33 ± 0,03
Densidad relativa	0,8432 / 0,00 <sup>20</sup>	0,8209 ± 0,0070
Índice de refracción	1,360 / 0,000	1,364 ± 0,000
Sólidos totales ( %)	1,02 / 0,06	2,73 ± 0,04

\* Se refiere al valor medio/desviación estándar.

Los resultados del análisis por tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico tuvieron total concordancia con la respuesta de los ensayos efectuados a ambos órganos vegetales. Los que dieron respuesta positiva a saponinas, aminoácidos, sustancias reductoras, fenoles, triterpenos y/o esteroides, compuestos lactónicos y flavonoides.

El análisis por cromatografía líquida de alta resolución permitió identificar cualitativa y cuantitativamente los flavonoides presentes en los extractos metanólicos de hojas y bulbos de *Allium schoenoprasum*. En la prueba de detección cualitativa se establecieron los tiempos de retención que fueron para la quercetina de  $7,78 \pm 0,07$  min y para el kaempferol de  $15,05 \pm 0,03$  min.

Se pudo constatar, por similitud de los tiempos de retención que en el extracto de hojas había quercetina ( $Tr = 7,73$  min) y kaempferol ( $Tr = 15,01$ min) y en el extracto de bulbos solo estuvo presente el primer flavonoide con un tiempo de retención de 7,80 min (Figs.1 y 2).

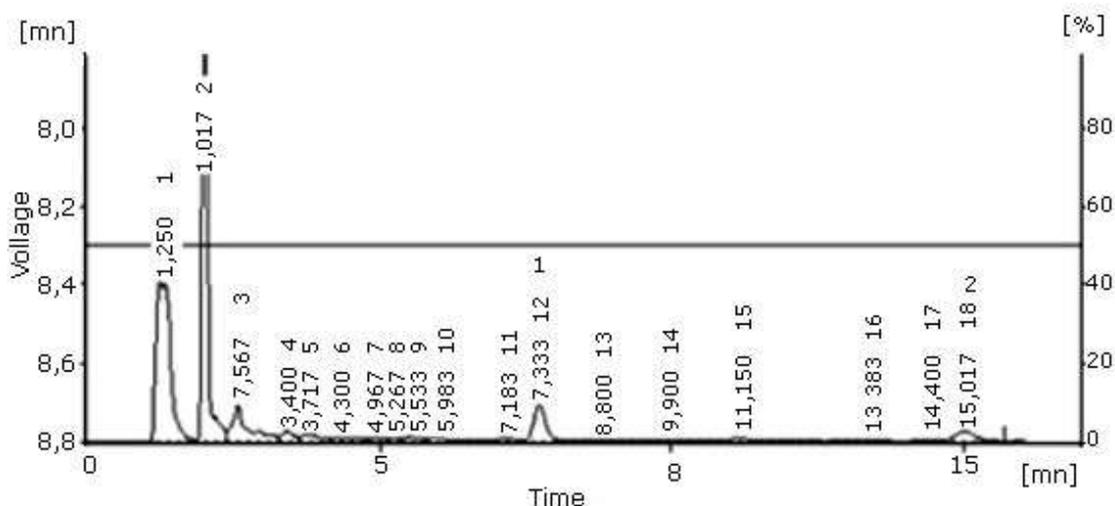


Fig. 1 - Cromatograma de los extractos de hojas. Pico 1 quercetina, pico 2 kaempferol.

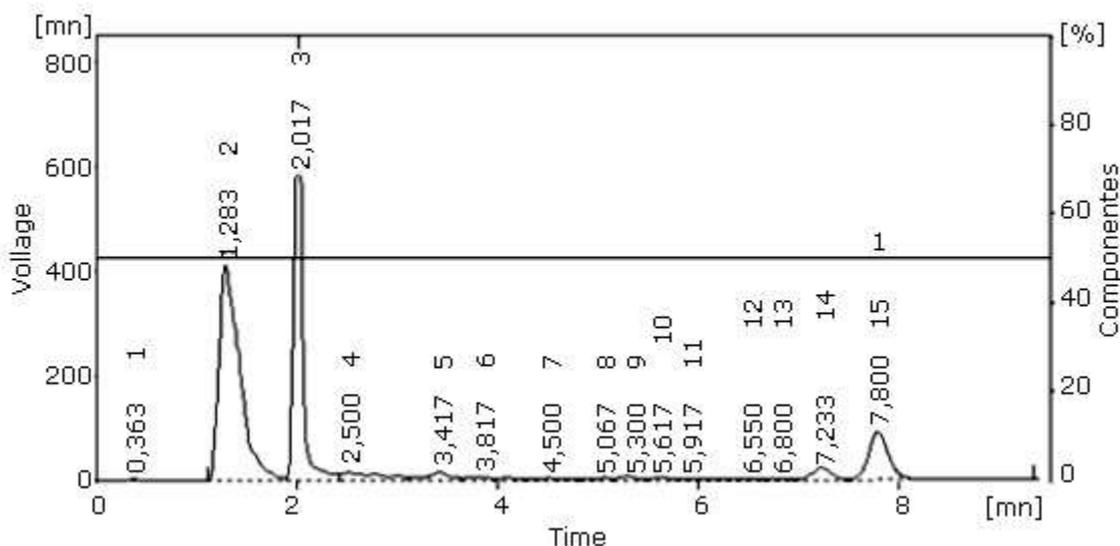


Fig. 2 - Cromatograma de los extractos de bulbos. Pico 1 quercetina.

Para corroborar la presencia de dichos compuestos en los extractos, se efectuó una co-inyección de cada una de las muestras con los patrones. Se evidenció un incremento en los valores de áreas, lo que demostró de forma cualitativa que se correspondían con los compuestos identificados.

Para la determinación cuantitativa de los flavonoides se trazaron las curvas de calibración con las concentraciones ensayadas, teniendo en cuenta las áreas de los picos cromatográficos. En el intervalo de concentraciones evaluadas se logró una buena correlación entre las concentraciones y las cuentas de áreas, obteniendo para la quercetina patrón, una ecuación de la recta de  $Y = 77,2908X + 24,2250$  con un valor de coeficiente

de correlación (r) de 0,9994 ( $r > 0,99$ ) y para el kaempferol la ecuación  $Y = 55,1494 X + 37,260$  con un valor de  $r = 0,9981$ . Al reemplazar el valor de Y por las cuentas de áreas de las muestras de cada extracto y sus réplicas, se obtuvieron para las hojas, concentraciones de quercetina de 18,33 mg/L y de kaempferol de 9,75 mg/L. Para el extracto de los bulbos se obtuvo solo concentraciones de quercetina con valor de 16,08 mg/L (Tabla 2).

**Tabla 2-** Concentración de quercetina y kaempferol en los extractos

Muestras	Resultados (mg/L)* quercetina	Resultados (mg/L)* kaempferol
Extracto de hojas	18,33 / 0,26	9,75 / 0,26
Extracto de bulbos	16,08 / 1,41	-

Se evaluó, de manera preliminar, las potencialidades antioxidantes de los extractos de *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling, elaborados a partir de las hojas y bulbos de la planta. En la tabla 3 se observa que las propiedades antioxidante de carácter reductor del extracto elaborado con las hojas, tuvo resultados estadísticamente similares a los de la vitamina C, que se utilizó como referencia por su conocida capacidad antioxidante.

**Tabla 3 -** Potencial de reducción de los extractos de hojas y bulbos de *Allium schoenoprasum* (L). Regel & Tiling

Parámetro	extracto de hojas (conc. 10,2 mg/mL)*	extracto del bulbo (conc. 27,3 mg/mL)*	vitamina C (conc. 0,03 mg/mL)*
Potencial de Reducción ( $\mu$ M)	394,16 / 7,31 (a)	39,94 / 15,5 (b)	404 / 22,1 (a)

## DISCUSIÓN

El estudio de las características físico-químicas de los extractos, permite establecer sus parámetros de calidad, lo que contribuye a su propuesta para la Norma Farmacopea ecuatoriana. Los valores para ambos extractos se consideran aceptables y están dentro de los intervalos establecidos para la mayoría de los extractos vegetales. Los extractos mostraron un carácter débilmente ácido, o sea, pH 6,19 para las hojas y 6,33 para los bulbos, lo que puede ser por la presencia de compuestos de naturaleza fenólica. Otro parámetro de interés son los sólidos totales, donde los valores superiores se alcanzan

para el extracto de los bulbos (2,73 %), que es un indicativo de la presencia de mayor número de constituyentes no volátiles. Este dato está en correspondencia con los valores de extractivos solubles en etanol al 80 % evaluado para la droga vegetal y, que son mayores en los bulbos.

Los metabolitos secundarios detectados para los extractos a través del tamizaje fitoquímico se corresponden con los encontrados para la droga vegetal. Por lo que se destaca la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, que se aprecian con una mayor concentración en las hojas, debido a la intensidad de las reacciones de coloración. La evaluación cualitativa del extracto metanólico obtenido por CLAR permite establecer este método para la separación e identificación de los flavonoides de los extractos, lo que se corresponde con lo informado en la literatura<sup>(26,27,28)</sup> y con los resultados a través del tamizaje fitoquímico. Este método permitió asignar a la quercetina y al kaempferol como los flavonoides presentes en las hojas y a la quercetina como componente de los bulbos. La concentración de quercetina en las hojas es similar a la de los bulbos y es, aproximadamente, el doble de la concentración de kaempferol encontrada en las hojas. Este último flavonoide no se detecta en los bulbos. La presencia de kaempferol como componente de las hojas, ha sido también informado.<sup>(7)</sup>

Los resultados de la evaluación del potencial de reducción por el método FRAP indican que el extracto elaborado a partir de las hojas de la especie posee propiedades antioxidantes de carácter reductor similares a la vitamina C (sustancia de referencia y reconocido antioxidante). Además, sus potenciales de reducción no arrojaron, desde la estadística, diferencias significativas (hojas, 394,16  $\mu\text{M}$  y la vitamina C, 404,00  $\mu\text{M}$ ). Lo que puede estar dado por la presencia en las hojas de altas concentraciones de flavonoides, sobre todo quercetina y kaempferol, como se demostró en el estudio químico.

Sin embargo, al analizar los resultados para el extracto de los bulbos, aunque se utilizó a una mayor concentración, los valores obtenidos para el potencial de reducción son muy pequeños (39,94  $\mu\text{M}$ ), lo que indica que en el modelo ensayado no se evidencian propiedades reductoras para este extracto. En el análisis de su composición química, se aprecia, que a diferencia del extracto de hojas, su concentración de flavonoides es inferior; no hay presencia de kaempferol y la concentración de quercetina es baja.

En conclusión, los resultados obtenidos permiten considerar a las hojas de la especie *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling cultivado en Ecuador como un potencial

antioxidante, debido a la presencia de los flavonoides quercetina y kaempferol, lo que constituye un elemento novedoso para la especie.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castroviejo S, Aedo C, Cirujano S, Laínz M, Montserrat P, Morales R, et al. Flora Ibérica 3. Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC; 1993.
2. Rahman K, Lowe GM. Garlic and cardiovascular disease: A critical review. *J Nutr.* 2006;136 (3):736S-740.
3. Gurley BJ, Gardner SF, Hubbard MA, Williams DK, Gentry WB, Cui Y, Ang CY. Clinical assessment of effects of botanical supplementation on cytochrome P450 phenotypes in the elderly: St John's wort, garlic oil, Panax ginseng and Ginkgo biloba. *Drugs Aging.* 2005;22:525-39.
4. Lu X, Samuelson DR, Rasco BA, Konkell. Antimicrobial effect of diallyl sulphide on *Campylobacter jejuni* biofilms. *J Antimicrob Chemoter.* 2012 [acceso 15/12/2017];67:1915-26. Disponible en: <https://academic.oup.com/jac/article/67/8/1915/746474>
5. World Health Organization. WHO monographs on selected medicinal plants. Vol.1. Geneva, Switzerland: WHO; 1999.
6. Vallejo Villalobos JR, Peral Pacheco D, Carrasco Ramos MC. Las especies del género *Allium* con interés medicinal en Extremadura. *Medicina naturista.* 2008;2(1):2-6.
7. Mnayer D, Fabiano-Tixier AS, Petitcolas E, Hamieh T, Nehme N, Ferrant C, Fernandez X, Chemat F. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the alliaceae family. *Molecules.* 2014;19:20034-53.
8. Varinder S, Gargi Ch, Pawan K, Richa Sh. *Allium schoenoprasum* L.: a review of phytochemistry, pharmacology and future directions. *Natural Product Research.* 2017 [acceso 15/12/2017];32(18):2202-2216. DOI: [10.1080/14786419.2017.1367783](https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1367783)
9. Shirshova TI, Beshlei IV, Deryagina VP. Chemical composition of *Allium schoenoprasum* leaves and inhibitory effect of their extract on tumor growth in mice. *Pharm Chem J.* 2013;46:672-675.
10. Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem.* 2001;49:5165-5170.

11. Ulla J, Pia K. Composition of flavonoids in fresh herbs in traditional Danish dishes. *Food Chemistry*. 2001;73(2):245-50.
12. Kucekova Z, Mlcek J, Humpolicek P, Rop O, Valasek P, Saha P. Phenolic compounds from *Allium schoenoprasum*, *Tragopogon pratensis* and *Rumex acetosa* and their antiproliferative effects. *Molecules*. 2011;16:9207-17.
13. Fossen T, Slimestad R, Ovstedal DO, Andersen OM. Covalent anthocyanin-flavonol complexes from flowers of chive, *Allium schoenoprasum*. *Phytochemistry*. 2000;4:317-23.
14. Vlase L, Parvu M, Parvu EA, Toiu A. Chemical constituents of three *Allium* species from Romania. *Molecules*. 2012;18:114-27.
15. Justesen U, Knuthsen P, Andersen NL, Leth T. Estimation of daily intake distribution of flavonols and flavanones in Denmark. *Scandinavian Journal of Nutrition*. 2000;44:158-60.
16. Justesen U, Knuthsen P and Leth T. Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by HPLC with photodiodearray and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 1998;799:101-10.
17. Trichopoulou A, Vasilopoulou E, Hollman P, Chamalides C, Fouta E, Kaloudis T, et al. Nutritional Composition and flavonoid: contents of edible wild greens and green pies: a potential rich source of antioxidant nutrients in the mediterranean diet. *Food Chemistry*. 2000;70:319-23.
18. Štajner D, Čanadanović-Brunet J, Pavlović A. *Allium schoenoprasum* L., as a natural antioxidant. *Phytother Res*. 2004;18:522-524.
19. Nuutila AM, Puupponen-Pimiä R, Aarni M, Oksman-Caldentey K. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chem*. 2003;81:485-93.
20. Sourì E, Amin G, Farsam H, Andaji S. The antioxidant activity of some commonly used vegetables in Iranian diet. *Fitoterapia*. 2004;75:585-8.
21. Miranda M, Cuellar A. Farmacognosia y Productos Naturales. En: *Manual de Prácticas de Laboratorio*; La Habana, Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos, UH; 2000. p. 34-73.

22. Pesantes DOG, Bustamante PKE, Miranda MM, García MV. Validation of an analysis method through high performance liquid chromatography for determination of quercetin in *Allium schoenoprasum* Regel & Tiling (chives). Rev Cubana Farmacia. 2016[acceso: 15/12/2017];50(3). Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/45/50>
23. Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharm J. 2013;21:143-52.
24. EMA, Calderón SJV. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. Revista de Educación Bioquímica. 2009;28(3):89-101.
25. Mercado MG, Carrillo LR, Wall-Medrano A, López DJA, Álvarez PE. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. Nutr Hosp. 2013;28(1):36-46.
26. Kahoun D, Rezková S, Veskrnová K, Královský J, Holcapek M. Determination of phenolic compounds and hydroxymethylfurfural in meads using high performance liquid chromatography with coulometric-array and UV detection. J Chromatogr A. 2008;1202(1):19-33.
27. Mehrdad M, Zebardast M, Abedi G, Koupaei MN, Rasouli H, Talebi M. Validated high-throughput HPLC method for the analysis of flavonolaglycones myricetin, quercetin, and kaempferol in *Rhus coriaria* L. using a monolithic column. J AOAC Int. 2009;92(4):1035-43.
28. Avula B, Wang YH, Smillie TJ, Mabusela W, Vincent L, Weitz F, Khan IA. Quantitative determination of flavonoids by column high-performance liquid chromatography with mass spectrometry and ultraviolet absorption detection in *Artemisia afra* and comparative studies with various species of *Artemisia* plants. J AOAC Int. 2009;92(2):633-44.

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

### **Contribuciones de los autores**

*Oswaldo Guillermo Pesantes Domínguez*: Realizó la parte experimental y contribuyó con la escritura de los resultados.

*Katherine Elizabeth Bustamante Pesantes:* Participó en la parte experimental y en la escritura de los resultados

*Migdalia Miranda Martínez:* Revisó los resultados y participó en la redacción y revisión del trabajo

*Yamilet Gutiérrez Gaitén.* Participó en el diseño del estudio y en la revisión del trabajo.