



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA Y CARACTERIZACIÓN
ESPECTROSCÓPICA DE UNA MEZCLA DE NARINGENINA E
ISORHAMNETINA

TORO JIMENEZ NATALY NICOLE
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2023



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA Y CARACTERIZACIÓN
ESPECTROSCÓPICA DE UNA MEZCLA DE NARINGENINA E
ISORHAMNETINA

TORO JIMENEZ NATALY NICOLE
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MACHALA
2023



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA Y CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA
DE UNA MEZCLA DE NARINGENINA E ISORHAMNETINA

TORO JIMENEZ NATALY NICOLE
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

MARQUEZ HERNANDEZ INGRID

MACHALA, 06 DE SEPTIEMBRE DE 2023

MACHALA
06 de septiembre de 2023

SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA Y CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE UNA MEZCLA DE NARINGENINA E ISORHAMNETINA

por Nataly Nicole Toro Jiménez

Fecha de entrega: 17-ago-2023 11:51p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2147399567

Nombre del archivo: versi_n_turnitin.docx (178.47K)

Total de palabras: 2860

Total de caracteres: 16374

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, TORO JIMENEZ NATALY NICOLE, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA Y CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA DE UNA MEZCLA DE NARINGENINA E ISORHAMNETINA, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 06 de septiembre de 2023

Nataly Toro

TORO JIMENEZ NATALY NICOLE
0706083565

RESUMEN

La naringenina y la isorhamnetina son dos flavonoides estrechamente relacionados que se encuentran en frutos cítricos, siendo la naringenina predominante en las naranjas y la isorhamnetina en los limones. Ambos compuestos se caracterizan por su compleja estructura química con anillos aromáticos fusionados y un grupo cetona en el anillo C. Se les reconoce por su poderoso efecto antioxidante y antiinflamatorio, así como por su estrecha relación con la prevención de enfermedades crónicas. El presente estudio se centra en la aplicación de métodos cromatográficos y espectroscópicos para la separación y caracterización de la mezcla de flavonoides compuesta por naringenina e isorhamnetina. El objetivo es establecer un esquema analítico, a partir del análisis de literatura científica actualizada, que permita la separación cromatográfica y la caracterización espectroscópica de una mezcla de naringenina e isorhamnetina. Mediante un enfoque científico riguroso y la consulta de literatura actualizada, se ha diseñado un esquema analítico integral que combina la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR) y la Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Esta estrategia analítica proporcionará resultados confiables y precisos para identificar y diferenciar los flavonoides en la mezcla, permitiendo un análisis cualitativo y cuantitativo de alto impacto científico.

Palabras claves: flavonoides, naringenina, isorhamnetina.

ABSTRACT

Naringenin and isorhamnetin are two closely related flavonoids found in citrus fruits, naringenin being predominant in oranges and isorhamnetin in lemons. Both compounds are characterized by their complex chemical structure with fused aromatic rings and a ketone group on the third ring. They are recognized for their powerful antioxidant and anti-inflammatory effect, as well as for their close relationship with the prevention of chronic diseases. The present study focuses on the application of chromatographic and spectroscopic methods for the separation and characterization of the flavonoid mixture composed of naringenin and isorhamnetin. The objective is to establish an analytical scheme, based on the analysis of updated scientific literature, that allows the chromatographic separation and spectroscopic characterization of a mixture of naringenin and isorhamnetin. Through a rigorous scientific approach and the consultation of updated literature, a comprehensive analytical scheme combining High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) has been designed. This analytical strategy will provide reliable and accurate results to identify and differentiate flavonoids in the mixture, allowing a qualitative and quantitative analysis of high scientific impact.

Key words: flavonoids, naringenin, isorhamnetin.

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	4
2. DESARROLLO	5
2.1. Aspectos generales relacionados a los compuestos a separar	5
2.2. Cromatografía líquida de alta resolución aplicada al estudio de flavonoides	6
2.3. Métodos espectroscópicos utilizados para caracterizar los flavonoides objeto de estudio..	7
2.4. Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis)	8
2.5. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	8
2.6. Espectrometría de masas	9
2.7. Respuesta al caso práctico	10
3. Conclusiones	11
4. Bibliografía	11

INTRODUCCIÓN

Los flavonoides representan una extensa categoría de metabolitos secundarios biosintetizados por las plantas. Han sido objeto de estudio y creciente interés en la comunidad de ciencia e investigación por sus propiedades bioactivas y potencial impacto en la salud humana.¹

La naringenina y la isorhamnetina son dos flavonoides estrechamente relacionados, que se encuentran en muchos frutos cítricos. La naringenina es la forma predominante de flavonoide en las naranjas, mientras que la isorhamnetina es la forma predominante de flavonoide en los limones. Ambos compuestos tienen una serie de propiedades biológicas beneficiosas. Se caracterizan por su compleja estructura química, la cual se compone de dos anillos aromáticos y un tercer anillo alifático. La naringenina y la isorhamnetina se consideran los flavonoides más analizados, reconocidos por su potente efecto antioxidante y antiinflamatorio, así como una estrecha relación con prevención de enfermedades crónicas.²

La caracterización de los flavonoides resulta esencial para comprender sus estructuras, propiedades y actividades biológicas. En este contexto, los métodos cromatográficos y espectroscópicos han surgido como herramientas para identificar, cuantificar y diferenciar estos compuestos en complejas mezclas.

A lo largo de los años, los métodos cromatográficos han demostrado ser fundamentales en la separación y purificación de flavonoides. Entre ellos, la cromatografía de columna, la cromatografía en capa fina y la cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) se destacan por su eficacia y precisión en la separación de estos valiosos compuestos. La CLAR, en particular, ha cobrado mayor énfasis debido a su capacidad para proporcionar una resolución excepcional en muestras complejas. En el desarrollo de esta técnica, varios puntos críticos merecen especial atención para obtener resultados óptimos. La preparación correcta de la muestra asegura que los flavonoides estén en la forma más adecuada y concentrada posible para la separación. La elección adecuada de las columnas, la fase móvil y el detector son fundamentales para garantizar una separación eficiente y una detección sensible de los flavonoides. El tiempo de retención de cada flavonoide en la CLAR es crucial, la asociación con estándares de referencia se lleva a cabo bajo condiciones idénticas a las de la muestra problema ya que permite su identificación y consecuentemente la cuantificación precisa.³

Además de los métodos cromatográficos mencionados, otros enfoques como la extracción con disolventes, la precipitación y la cristalización también pueden ser relevantes en la separación de flavonoides, dependiendo de la naturaleza de la muestra y los objetivos específicos de la investigación.

La fundamentación estructural para la selección de los métodos espectroscópicos en el análisis de los flavonoides naringenina e isorhamnetina es crucial para una caracterización precisa de estos compuestos. La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) se destaca por su capacidad para proporcionar información detallada sobre la estructura molecular de los flavonoides, permitiendo identificar y confirmar la presencia de grupos funcionales específicos.⁴ La espectrometría de masas (EM) es una herramienta poderosa para la determinación de la masa molecular y la composición de los iones presentes en la muestra, lo

que facilita la identificación y cuantificación precisa de los flavonoides en una muestras complejas.⁵

Este estudio tiene como objetivo: establecer un esquema analítico, a partir del análisis de literatura científica actualizada, que permita la separación cromatográfica y la caracterización espectroscópica de una mezcla de naringenina e isorhamnetina.⁶

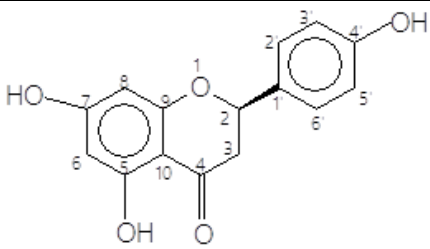
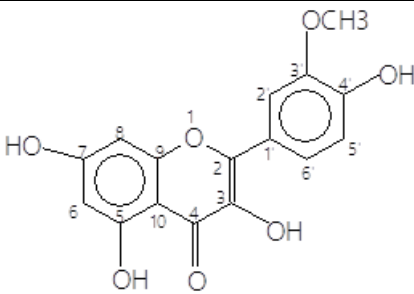
El caso práctico a resolver es el siguiente: considere artículos científicos publicados e indexados en bases de datos y cuya fecha de publicación no exceda los 10 años anteriores a la realización de este trabajo. A partir de dicha consulta, proponga un esquema que le permita separar cromatográficamente y diferenciar espectroscópicamente una mezcla de naringenina e isorhamnetina. Especifique y discuta los siguientes aspectos: Descripción general del método de separación seleccionado, preparación de la muestra a analizar, fundamentación estructural para discutir los métodos espectroscópicos seleccionados y la interpretación de los mismos.

2. DESARROLLO

2.1. Aspectos generales relacionados a los compuestos a separar

La naringenina e isorhamnetina son flavonoides pertenecientes a la familia de compuestos polifenólicos, ampliamente distribuidos en el reino vegetal. La naringenina es un flavonoide presente en cítricos, particularmente en las naranjas y pomelos, y se ha destacado por sus potenciales efectos antioxidantes y antiinflamatorios. Por otro lado, la isorhamnetina es un flavonoide encontrado en diversas fuentes vegetales, como frutas y verduras, y se ha asociado con propiedades antioxidantes y posibles beneficios para la salud cardiovascular. Ambos compuestos son objeto de interés en la investigación científica debido a sus potenciales aplicaciones terapéuticas y nutricionales. A continuación, se presenta la tabla 1, detallando algunas de sus propiedades y características.⁷

Tabla 1: Aspectos generales de naringenina e isorhamnetina (flavonoides de estudio).

Compuestos	Naringenina	Isorhamnetina
Fórmula Molecular	$C_{15} H_{12} O_5$	$C_{16} H_{12} O_7$
Clasificación	Flavanona: Subgrupo de flavonoides que contienen un anillo de flavano y un grupo cetona.	Flavonol: Subgrupo de flavonoides con estructura de flavona con hidroxilo en posición C3.
Estructura		
Solubilidad	Ligeramente solubles en agua. Solubles en disolventes orgánicos como etanol, metanol y acetato de etilo.	

Temperatura de fusión	249-251 °C	324-327 °C
Extracción	Extracción con disolventes orgánicos como etanol, metanol o acetato de etilo.	
Separación	Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) con columna C18, fase móvil compuesta por una mezcla de metanol y agua, y detección UV a 254 nm.	

Fuente: Artículos de revisión científica (6,8-10).

2.2. Cromatografía líquida de alta resolución aplicada al estudio de flavonoides

CLAR es una técnica analítica ampliamente utilizada en el estudio de flavonoides y otras clases de compuestos bioactivos presentes en plantas y alimentos.¹¹

La CLAR permite separar, identificar y cuantificar diferentes compuestos presentes en una muestra compleja. Esta técnica se basa en la interacción de los componentes de la muestra con una fase estacionaria y una fase móvil que fluye a través de una columna cromatográfica. Los flavonoides se separan en función de sus propiedades químicas y físicas, como la polaridad y la afinidad con la fase estacionaria.

Las condiciones cromatográficas en CLAR para la separación de flavonoides pueden variar según el objetivo del análisis y las características de los compuestos en estudio. Se utilizan diferentes tipos de columnas, como las columnas C18, C8 o C6, que son comunes en el análisis de flavonoides debido a su capacidad para retener estos compuestos. Los disolventes en la fase móvil suelen ser una combinación de agua y disolventes orgánicos como metanol o acetonitrilo, en diferentes proporciones, para optimizar la resolución y el tiempo de retención de los flavonoides.³

A continuación, en la Tabla 2, se detallan las condiciones cromatográficas específicas utilizadas en los estudios seleccionados.

Tabla 2: Ejemplos que demuestran la separación cromatográfica de los flavonoides de interés.

Compuesto Separado	Condiciones cromatográficas	Referencia bibliográfica
---------------------------	------------------------------------	---------------------------------

Naringenina	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de metanol y agua; Detector: PDA y espectrometría de masas (EM); NMR para identificación estructural; Tiempo de retención en minutos: 8,7.	12
	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de metanol y agua; Detector: UV; Tiempo de retención en minutos: 8,7.	13
	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de acetonitrilo y agua con 0.1% ácido fórmico; Detector: DAD y espectrometría de masas (ESI-EM/EM). Tiempo de retención en minutos: 16,3.	14
	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de metanol y agua con 0.1% ácido fórmico; Detector: EM/EM; Tiempo de retención en minutos: 1,5.	15
	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de acetonitrilo y agua con 0.1% ácido fórmico; Detector: EM/EM; Tiempo de retención en minutos: 1,65.	16
Isorhamnetina	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de metanol y agua; Detector: UV y espectrometría de masas (orbitrap); Tiempo de retención en minutos: 3,5.	17
	Columna: Sephadex LH-20 y preparative HPLC; Fase móvil: Mezcla de metanol y agua; Detector: UV.	18
	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de metanol y agua; Detector: MS/MS; Tiempo de retención en minutos: 5.	14
Mezcla de ambos (Naringenina e Isorhamnetina)	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de metanol y agua; Detector: UV; Tiempo de retención en minutos N:12,3 I:14,5.	13
	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de agua y acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico; Detector: DAD y espectrometría de masas (MS); Tiempo de retención en minutos: 8,7 / 10,2.	13
	Columna: C18; Fase móvil: Mezcla de metanol y agua con 0.1% ácido fórmico; Detector: DAD y MS/MS; Tiempo de retención en minutos: 7,6 / 13,2.	13

2.3. Métodos espectroscópicos utilizados para caracterizar los flavonoides objeto de estudio

Los métodos espectroscópicos son técnicas analíticas ampliamente empleadas para la caracterización de compuestos bioactivos como la naringenina e isorhamnetina. Estas herramientas permiten estudiar la estructura molecular y las propiedades químicas de estos flavonoides.

Entre los métodos más comunes se encuentran la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), que proporciona información detallada sobre la conectividad de los átomos y grupos funcionales presentes en las moléculas. Asimismo, la espectrometría de masas (EM) es útil para determinar la masa molecular y fragmentación de los compuestos. La espectroscopia infrarroja (IR) y la espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) permiten identificar grupos funcionales y analizar la absorción de luz a diferentes longitudes de onda. Estos métodos espectroscópicos son fundamentales para el análisis estructural y la autenticación de naringenina e isorhamnetina en muestras complejas.

2.4. Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis)

La naringenina muestra máximos de absorción en el rango de 260-360 nm, correspondiente a la absorbancia típica de flavanonas. La isorhamnetina por su parte los presenta en el rango de 250-370 nm característico de flavonas.

2.5. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La RMN ha sido una técnica espectroscópica muy utilizada en el estudio de los flavonoides. Se han utilizado los espectros protónicos, de carbono 13 y técnicas bidimensionales varias. Los datos espectrales correspondientes a ambos compuestos se encuentran en las tablas 3 y 4. En ningún caso se están tomando en consideración los hidroxilos fenólicos.

Tabla 3: Datos espectros RMN. ¹H y RMN-¹³C de Naringenina

Posición en la estructura	Protónico			¹³ C
	Corrimiento químico (ppm)	Multiplicidad	Integración	Corrimiento químico (ppm)
2	5,32	dd	1	78,36
3	2,68	dd	1	42,31
3	3,08	dd	1	
4				196,14
5				166,46
6	5,88	d	1	95,79
7				166,59
8	5,89	d	1	94,95
9				162,86
10				101,77
1'				128,84
2'	6,80	m	1	128,15
3'	7,30	m	1	115,15

4'				157,67
5'	7,30	m	1	115,15
6'	6,80	m	1	128,15

Fuente: Elaboración propia en base a el artículo de revisión científica (15)

Tabla 4: Datos espectros RMN.1H y RMN-13C de isorhamnetina

Posición en la estructura	Protónico			¹³ C
	Corrimiento químico (ppm)	multiplicidad	integración	Corrimiento químico (ppm)
Grupo metoxilo	3,8	s	3	59,3
2				156,5
3				135,2
4				177,5
5				160,8
6	6,2	d	1	99,2
7				163,7
8	6,4	d	1	93,5
9				156,2
10				105,5
1'				120,9
2'	7,4	d	1	114,6
3'				146,3
4'				149,5
5'	6,8	d	1	113,5
6'	7,4	dd	1	122,1

Fuente: Artículo de revisión científica (15)

2.6. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas es una técnica analítica poderosa utilizada en química y bioquímica para identificar y caracterizar compuestos basados en sus masas moleculares y fragmentos iónicos. La naringenina tiene una masa molecular de 272, y al someterla a impacto electrónico, se pueden observar fragmentos característicos, como el ión [M-H]- a m/z 271 y el ión [M-CH3]- a m/z 227. Por otro lado, la isorhamnetina tiene una masa molecular de 314 y en la espectrometría de masas por impacto electrónico, se pueden detectar fragmentos importantes, como el ión [M-H]- a m/z 313 y el ión [M-CO]- a m/z 300. Estos patrones de fragmentación específicos para cada compuesto son cruciales para su identificación y análisis cualitativo en diversas muestras. La espectrometría de masas con impacto

electrónico es una herramienta valiosa para el estudio de flavonoides y otros compuestos naturales, permitiendo su detección y cuantificación con alta precisión y sensibilidad.¹⁶

2.7. Respuesta al caso práctico

Para separar y caracterizar una mezcla de naringenina e isorhamnetina, se empleará una estrategia combinada de CLAR y Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

Inicialmente, la CLAR se realizará utilizando una columna de fase reversa C18 a una temperatura de 25°C, con una mezcla de metanol y agua (90:10, v/v) como sistema de elución a un flujo de 1 ml/min y una inyección de muestra de 20 µL. La muestra será previamente disuelta en una disolución de metanol y agua para su completa solubilidad.

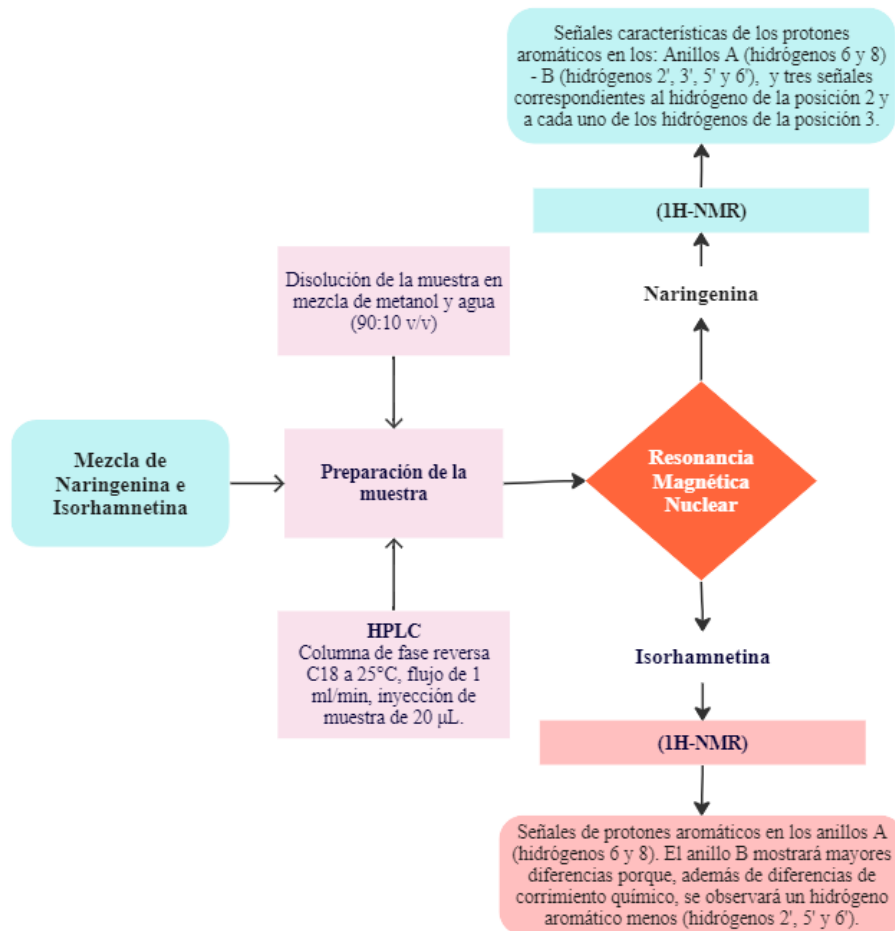
Posteriormente, la muestra purificada será analizada por RMN en cloroformo deuterado. En el espectro protónico (¹H-NMR) de la naringenina, se esperan señales características de los protones aromáticos en los anillos A (hidrógenos 6 y 8) y B (hidrógenos 2', 3', 5' y 6'), tal y como se describió en las tablas 3 y 4 y tres señales correspondientes al hidrógeno de la posición 2 y a cada uno de los hidrógenos de la posición 3 (anillo C), debido a que son no equivalentes por estar adyacentes a un centro quiral. En resumen, se obtienen señales correspondientes a 9 hidrógenos totales. En contraste, en el espectro protónico (¹H-NMR) de la isorhamnetina, se esperan señales similares de protones aromáticos en los anillos A (hidrógenos 6 y 8) pero a corrimientos químicos un tanto diferentes al caso de la naringenina. El anillo B mostrará mayores diferencias porque, además de diferencias de corrimiento químico, se observará un hidrógeno aromático menos (hidrógenos 2', 5' y 6'). Adicionalmente no se constatarán señales correspondientes a hidrógenos sobre el anillo C pero sí una señal que integra 3 correspondiente al metoxilo de la posición 3' con un corrimiento químico de 3,8 ppm, bien diferente a los observados para la naringenina (tablas 3 y 4). El total de hidrógenos detectados será 8. En ningún caso se están tomando en consideración los hidroxilos fenólicos.

Los espectros ¹³C-RMN de ambos flavonoides muestran notables diferencias de corrimiento químico en prácticamente todas las señales, así como diferente número de ellas (15 para la naringenina y 16 para la isorhamnetina). Sin embargo, las señales correspondientes al anillo C y al grupo metoxilo del flavonol constituyen las diferencias más notorias. Las señales en 78,36, 42, 31 y 196, 14 ppm (C2, C3 y C4 respectivamente) de la naringenina, no se encuentran en el espectro de la isorhamnetina. Por su parte la señal a 59,3 ppm, correspondiente al metoxilo que tiene el flavonol, no se encuentra en el espectro de la naringenina. Las tablas 3 y 4 amplían dicha información.

Se debe destacar que se seleccionó la RMN como la técnica para la caracterización ya que a nuestro juicio es suficiente para diferenciar ambos compuestos, sin embargo, se podría utilizar también UV-visible y masas, tal y como se fundamentó en el desarrollo de este propio trabajo.

A continuación, se presenta el esquema con la resolución del caso práctico (figura 1)

Figura 1: Esquema de resolución al caso práctico.



3. Conclusiones

Se ha diseñado un esquema analítico integral para separar y caracterizar una mezcla de naringenina e isorhamnetina, empleando una combinación de técnicas avanzadas como Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR) y Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Esta metodología integrada es esencial para el avance en la investigación en ciencias de la salud y ciencias químicas, proporcionando una base sólida para futuros estudios y aplicaciones en diversos campos.

4. Bibliografía

- (1) Rodríguez-Yoldi, J.; Melrose, J. The Potential of Flavonoids and Flavonoid Metabolites in the Treatment of Neurodegenerative Pathology in Disorders of Cognitive Decline. *Antioxidants* 2023, Vol. 12, Page 663 2023, 12 (3), 663. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX12030663>.
- (2) Naeini, F.; Namkhah, Z.; Ostadrahimi, A.; Tutunchi, H.; Hosseinzadeh-Attar, M. J. A Comprehensive Systematic Review of the Effects of Naringenin, a Citrus-Derived Flavonoid, on Risk Factors for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Advances in Nutrition* 2021, 12 (2), 413. <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMAA106>.

- (3) León-Roque, N.; Romero Guzmán, B. M.; Oblitas, J.; Hidalgo-Chávez, D. W.; León-Roque, N.; Romero Guzmán, B. M.; Oblitas, J.; Hidalgo-Chávez, D. W. Identification of Flavonoids by HPLC-MS in Fruit Waste of Latin America: A Systematic Review. *Scientia Agropecuaria* **2023**, *14* (1), 153–163. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2023.014>.
- (4) Razavi, B. M.; Hosseinzadeh, H. A Review of the Effects of Citrus Paradisi (Grapefruit) and Its Flavonoids, Naringin, and Naringenin in Metabolic Syndrome. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes* **2019**, 515–543. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813822-9.00034-5>.
- (5) Pastene, E. R.; Wilkomirsky, T.; Bocaz, G.; Havel, J.; Peric, I.; Vega, M.; Gonzalez, M.; Alderete, Y. J. USO DE ESPECTROSCOPIA DE RMN Y MALDI-TOF MS EN LA ELUCIDACION ESTRUCTURAL DE FLAVONOIDES ANTIOXIDANTES PROVENIENTES DE LA PLANTA MEDICINAL CHILENA Cheilanthes Glauca (Cav.) Mett. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* **2001**, *46* (4), 449–457. <https://doi.org/10.4067/S0366-16442001000400009>.
- (6) Llanes, P. R.; Villamil, A. P.; López, C. O. Determinación Por HPLC de Flavanonas En Jugos Cítricos de variedades Cultivadas En Santander. *Scientia Et Technica* **2007**, *XIII* (33), 293–294. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.057>.
- (7) Ekalu, A.; Habila, J. D. Flavonoids: Isolation, Characterization, and Health Benefits. *Beni Suef Univ J Basic Appl Sci* **2020**, *9* (1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S43088-020-00065-9/FIGURES/4>.
- (8) Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships. *J Nutr Biochem* **2002**, *13* (10), 572–584. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00208-5).
- (9) Fu, C.; Yu, P.; Wang, M.; Qiu, F. Phytochemical Analysis and Geographic Assessment of Flavonoids, Coumarins and Sesquiterpenes in Artemisia Annua L. Based on HPLC-DAD Quantification and LC-ESI-QTOF-MS/MS Confirmation. *Food Chem* **2020**, *312*, 126070. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.126070>.
- (10) Zhao, J.; Zhang, Y.; Zhao, Q.; He, Y.; Li, Z.; Chen, A.; Wang, C.; Wang, B.; Jiao, B.; Cui, Y. A Sensitive and Practical ELISA for Analyzing Naringenin in Pummelo and Herb Samples. *Food Chem* **2021**, *362*, 130223. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130223>.
- (11) Tsimogiannis, D.; Samiotaki, M.; Panayotou, G.; Oreopoulou, V. Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules* **2007**, *Vol. 12*, Pages 593–606 **2007**, *12* (3), 593–606. <https://doi.org/10.3390/12030593>.

- (12) Torres-Aguirre, G. A.; Muñoz-Bernal, Ó. A.; Álvarez-Parrilla, E.; Núñez-Gastélum, J. A.; Wall-Medrano, A.; Sáyago-Ayerdi, S. G.; Rosa, L. A. de la; Torres-Aguirre, G. A.; Muñoz-Bernal, Ó. A.; Álvarez-Parrilla, E.; Núñez-Gastélum, J. A.; Wall-Medrano, A.; Sáyago-Ayerdi, S. G.; Rosa, L. A. de la. Optimización de La Extracción e Identificación de Compuestos Polifenólicos En Anís (*Pimpinella Anisum*), Clavo (*Syzygium Aromaticum*) y Cilantro (*Coriandrum Sativum*) Mediante HPLC Acoplado a Espectrometría de Masas. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas* **2018**, *21* (2), 103–115. <https://doi.org/10.22201/FESZ.23958723E.2018.2.4>.
- (13) de la Rosa, L. A. Optimización de La Extracción e Identificación de Compuestos Polifenólicos En Anís (*Pimpinella Anisum*), Clavo (*Syzygium Aromaticum*) y Cilantro (*Coriandrum Sativum*) Mediante HPLC Acoplado a Espectrometría de Masas. <https://doi.org/10.22201/FESZ.23958723E.2018.2.137>.
- (14) Wang, F.; Zhao, X.; Su, X.; Song, D.; Zou, F.; Fang, L. Isorhamnetin, the Xanthine Oxidase Inhibitor from *Sophora Japonica*, Ameliorates Uric Acid Levels and Renal Function in Hyperuricemic Mice. *Food Funct* **2021**, *12* (24), 12503–12512. <https://doi.org/10.1039/D1FO02719K>.
- (15) Wang, H.; Chen, L.; Yang, B.; Du, J.; Chen, L.; Li, Y.; Guo, F. Structures, Sources, Identification/Quantification Methods, Health Benefits, Bioaccessibility, and Products of Isorhamnetin Glycosides as Phytonutrients. *Nutrients* **2023**, *15* (8), 1947. <https://doi.org/10.3390/NU15081947>.
- (16) Rosa, L. A. de la; Álvarez-Parrilla, E.; García-Fajardo, J. A.; Rosa, L. A. de la; Álvarez-Parrilla, E.; García-Fajardo, J. A. Identificación de Compuestos Fenólicos En Extractos de Almendra (*Prunus Dulcis*) y Nuez Pecana (*Carya Illinoensis*) Mediante Cromatografía Líquida Acoplada a Espectrometría de Masas En Tándem (HPLC-MS/MS). *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas* **2019**, *22*. <https://doi.org/10.22201/FESZ.23958723E.2019.0.179>.