

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica



Prospectiva de los flavonoides como potenciales compuestos antioxidantes con efecto anticancerígeno y el avance de la quercetina hacia estudios clínicos

Tesis presentada por el bachiller:

Silva Pinto, Piero Alex

ORCID 0009-0004-9166-1230

Para optar el título profesional de Ingeniero Biotecnólogo

Asesor:

Mg. Alvarado Quiroz, Keny David

ORCID 0000-0001-8882-9232

Arequipa – Perú

2024

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 27 de Noviembre del 2023

Dictamen: 005272-C-EPIB-2023

Visto el borrador del expediente 005272, presentado por:

2004247341 - SILVA PINTO PIERO ALEX

Titulado:

**PROSPECTIVA DE LOS FLAVONOIDES COMO POTENCIALES COMPUESTOS ANTIOXIDANTES
CON EFECTO ANTICANCERÍGENO Y EL AVANCE DE LA QUERCETINA HACIA ESTUDIOS
CLÍNICOS**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

INGENIERO BIOTECNOLOGO

**29389056 - PAZ ALIAGA CARLOS EITEL IVAN
DICTAMINADOR**



**43668681 - PAREDES FUENTES JULITZA LINDSEY
DICTAMINADOR**



**42671615 - CARPIO CARPIO JOSE MIGUEL
DICTAMINADOR**



Prospectiva de los flavonoides como potenciales compuestos antioxidantes con efecto anticancerígeno y el avance de la quercetina hacia estudios clínicos

INFORME DE ORIGINALIDAD

11%

INDICE DE SIMILITUD

10%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
2	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
3	dehesa.unex.es:8443 Fuente de Internet	<1 %
4	digital.csic.es Fuente de Internet	<1 %
5	repository.javeriana.edu.co Fuente de Internet	<1 %
6	hmong.es Fuente de Internet	<1 %
7	archive.org Fuente de Internet	<1 %
8	Submitted to ITESM: Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey Trabajo del estudiante	<1 %

DEDICATORIA

Esta Investigación se la dedico a Dios por acompañarme y guiarme por el camino correcto. A mis padres y hermanos por darme todo para ser lo que hoy soy.



AGRADECIMIENTOS

A mi Universidad por haberme abrigado estos años de formación académica y permitir darme armas para afrontar la vida, a mis excelentes docentes que supieron guiar este lindo camino, a mis compañeros de estudios que sin ellos no hubiera sido tan emocionante esta etapa en mi vida, a mis padres y hermanos por ser el soporte incondicional y a mi pareja y pequeña hija por ser motivación basta para la culminación de esta etapa.



RESUMEN

El cáncer es una enfermedad que ha cobrado millones de vidas en las últimas décadas, diversos esfuerzos están siendo realizados para descubrir las causas de la proliferación descontrolada de células cancerígenas. Una estrategia se encuentra basada en la aplicación de compuestos que puedan inhibir la producción de radicales libres, quienes serían algunos de los compuestos responsables de este hecho. A pesar de haber sido reportados varios antioxidantes, aún no se han logrado exitosamente llevar al mercado productos pues en la fase clínica, muchas de ellas pierden su eficiencia. Los flavonoides son un gran grupo de antioxidantes presentes comúnmente en frutas y algunas verduras; se han destacado por su gran actividad antioxidante y su baja citotoxicidad en células sanas. De este grupo, uno de los pocos flavonoides conocidos como quercetina, hasta el momento, ha logrado llegar a la fase clínica como potencial molécula contra diferentes tipos de cáncer. En esta revisión se detallan los flavonoides, sus principales aplicaciones contra células cancerígenas y se explica la importancia de la quercetina como potencial molécula antioxidante en fase clínica y en su forma nanoencapsulada.

Palabras clave: anticáncer, antioxidantes, flavonoides quercetina.

ABSTRACT

Cancer is a disease that has claimed millions of lives in recent decades, various efforts are being made to discover the causes of the uncontrolled proliferation of cancer cells. One strategy is based on the application of compounds that can inhibit the production of free radicals, which would be some of the compounds responsible for this fact. Despite the fact that several antioxidants have been reported, products have not yet been successfully brought to market because in the clinical phase, many of them lose their efficiency. Flavonoids are a large group of antioxidants commonly found in fruits and some vegetables; They have been highlighted for their great antioxidant activity and their low cytotoxicity in healthy cells. In this group, one of the few flavonoids known as quercetin, has so far managed to reach the clinical phase as a potential molecule against different types of cancer. This review details the flavonoids, their main applications against cancer cells and explains the importance of quercetin as a potential antioxidant molecule in the clinical phase and in its nanoencapsulated form.

Keywords: anticancer, antioxidants, flavonoids, quercetin.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	6
ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	4
1. INTRODUCCIÓN	10
2. BASES DE DATOS.....	11
3. INMUNOONCOLOGÍA.....	12
4. FLAVONOIDES.....	19
5. TECNICAS DE ANALISIS Y CARACTERIZACION	34
6. MICRO Y NANOTECNOLOGIA.....	37
a. MÉTODOS	37
b. PRINCIPALES COMPUESTOS PARA ENCAPSULACIÓN DE FLAVONOIDES	44
7. QUERCETINA (QRT).....	44
8. PERSPECTIVAS Y AVANCES CLÍNICOS	51
9. CONCLUSIONES	53
REFERENCIAS.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos antioxidantes derivados de flavonoides, actividad biológica y función. Imágenes diseñadas en ChemCAD 7.	18
Tabla 2. Principales métodos para calcular la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales de compuestos fitoquímicos como flavonoides.	32
Tabla 3. Aplicaciones de la micro o nanoencapsulación de antioxidantes en el sector biotecnológico.	37
Tabla 4. Importantes aplicaciones de sistemas nanoencapsulados de quercetina contra células de cáncer.	44



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Explicación del ciclo celular humano, sus fases y reguladores, además el tiempo estimado en concretar el proceso. Estos tiempos son relativos puesto que algunas células pueden tardar mucho más y en el caso de otras especies puede tardar inclusive días.	15
Figura 2.	Anillos fenólicos de la estructura base de los flavonoides.	17
Figura 3.	Análisis de datos usando la base de datos Web of Science – Clarivates, Este análisis fue recolectado el día 13/01/2022 usando los términos CANCER, refinado con QUERCETIN, refinado con NANOPARTICLES.	43
Figura 4.	Análisis de estudios clínicos a nivel mundial sobre la aplicación de la quercetina contra diferentes tipos de cáncer.	49



LISTA DE ABREVIATURAS

EROS	especies reactivas de oxígeno
NIH	National Institute of Health
IL	interleucina
TNF- α	factor de necrosis tumoral- α
TLR4	receptor tipo Toll-4
Wnt	vía de señalización Wingless
HepG2	células de hepatocarcinoma
ADN	ácido desoxirribonucleico
QDC	quinasas dependientes de ciclina
IQD	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina
mTOR	objetivo de rapamicina en mamíferos
PI3K	fosfatidilinositol 3-quinasas
PQB	proteína quinasa B
Akt	treonina quinasa
Nrf2	NFE2 relacionado con el factor 2
AP-1	proteína activadora 1
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidracil-hidrato
FRAP	Poder Antioxidante Reductor Férrico
ABTS	2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
FC	Folin-Ciocalteu
HPLC	cromatografía líquida de alta performance
HPTLC	cromatografía en capa fina de alta resolución
PTLC	cromatografía en capa fina
DAD	detector de matriz de diodos
TPP ⁻	tripolifosfato
QRT	quercetina
PLGA	ácido poli(d,l)-láctico-co-glicólico

NP

nanopartículas



1. INTRODUCCIÓN

La biotecnología farmacéutica y medica en el mundo, se ha desarrollada ampliamente durante los últimos años, pues muchas enfermedades se han ido expandiendo y causando una alta tasa de decesos (1). Las mayores tasas de mortalidad han sido provocadas por principalmente por microorganismos infectocontagiosas o mutaciones genéticas (2). La pandemia del COVID-19 ha cobrado millones de vidas desde su expansión hasta la actualidad, estudios avanzados y acelerados lograron la obtención de vacunas promisorias que son capaces de evitar la situación crítica del paciente (3). Sin embargo, el uso indiscriminado de agentes no aprobados por la *Food Drug Administration* (FDA), utilizando por ejemplo el dióxido de cloro, i.e. potencial oxidante y productor de especies reactivas de oxígeno (ROS, inglés o ERO, español); llevó en consecuencia a inducir alteraciones genéticas, cáncer y en otros inclusive la muerte (4).

Los agentes oxidantes son los principales causantes de las enfermedades neurodegenerativas y cáncer, básicamente por la producción acelerada de EROs (5). Las enfermedades presentes o más recurrentes por oxidación conllevan a un envejecimiento prematuro, cataratas, Alzheimer, diabetes, hipertensión, obesidad, aterosclerosis y carcinogénesis (6). Las células del ser humano tienen como fuente principal al oxígeno, esto es para el requerimiento energético que necesitan, pero en exceso los EROs y en consecuencia los radicales libres (7). Los radicales libres son moléculas que poseen uno o más electrones no pareados muy reactivas, inestables y que usualmente reaccionan con sustancias químicas orgánicas presentes en la parte interna de las células para lograr su estabilidad (8). El tiempo de vida media de los radicales libres es media corta, sin embargo,

son capaces de reaccionar e interactuar rápidamente con ADN, las proteínas y los lípidos, generando un desorden metabólico y genético (9).

Los antioxidantes han abarcado una amplia gama de estudios preliminares que concluyen su eficiencia frente a la prevención y al tratamiento de las enfermedades causadas por los radicales libres (4). Los sistemas antioxidantes incluyen en su composición enzimas y agentes secuestrantes de oxígeno, todos estos tienen como finalidad, reducir y eliminar los efectos producidos EROs (7). Los antioxidantes pueden clasificarse en varios grupos, según su actividad enzimática, según su tamaño, según su cinética, según su solubilidad donde pueden ser hidrofílicos que actúan en el citoplasma celular y el plasma sanguíneo, o hidrofóbicos que protegen la membrana, o según su naturaleza pudiendo ser sintético o natural. Los antioxidantes naturales pueden subclasificarse en minerales antioxidantes, vitaminas antioxidantes y fitoquímicos (10). Esta revisión se ha basado específicamente en los antioxidantes fitoquímicos como flavonoides, catequinas, carotenoides, caroteno, licopeno y hierbas y especias como, tomillo, nuez moscada, clavo, pimienta negra, jengibre, ajo, curcumina y derivados.

2. BASES DE DATOS

Para la redacción de esta tesis en su versión final se consideraron artículos originales y de revisión actuales de los últimos 5 años de publicados, con ciertas excepciones cuando se refieren a conceptos predeterminados. Las bases de datos que se utilizaron fueron Web of Science, Scopus y Google académico. Se encontraron 1266 artículos, luego se filtraron apenas 2021 hasta 2023 totalizando 16 artículos relevantes con aplicaciones biotecnológicas. En la recopilación de datos de la Figura 3, se encontraron 1794 artículos que se procesaron.

3. INMUNOONCOLOGÍA

En el siglo XIX, el padre de la inmunoterapia conocido como William B. Coley, fue el primer investigador que intentó utilizar el sistema inmune como propia fuente de tratamiento de cáncer (11). Según el Instituto Nacional de Cancer (*National Cancer Institute* del *National Institute of Health*, NIH), el cáncer se define como una enfermedad en la que algunas células del cuerpo se multiplican sin control y se diseminan a otras partes del cuerpo (12). Estas células normalmente deberían ser eliminadas sin embargo muchas de ellas continúan en el mismo lugar y dan lugar a otras, aumentando el contenido de células formando tumores, de manera que algunas de ellas pueden ser malignas (canceroso) o benignas (no canceroso) (13). Según un reporte en 2018, los tipos de cáncer con mayor tasa de incidencia serían las de colorrectal, mama y próstata (14).

El cáncer colorrectal es una de las mayores causas de muerte en EEUU, se presume que esta incidencia esté relacionada con algunos hábitos cotidianos como fumar, una dieta poco saludable, alto consumo de alcohol, inactividad física y exceso de peso corporal (15). Este tipo de cáncer afecta tanto el recto como el colon (parte del intestino grueso), son tratados principalmente con 5-fluorouracilo, extirpe, inmunoterapia, quimioterapia o radioterapia, sin embargo, todos estos tratamientos llevan a efectos adversos altamente fastidiosos, alta toxicidad y tasa de reincidencia (16). Últimos reportes indican que la relación que existe entre la microbiota y su modulación e interacción inmunológica, podrían ayudar a la prevención e incidencia de este cáncer, y se han mencionado a los fitoquímicos como antioxidantes y a la microbiota intestinal, por lo tanto el uso de estos agentes como

flavonoides y probióticos mediante terapia combinada, podrían ser la solución a este problema (17).

El cáncer de colon es una enfermedad compleja que implica la transformación maligna de las células en el colon o el recto. Diversas rutas metabólicas y vías de señalización experimentan alteraciones en el contexto del cáncer de colon. Algunas de las principales vías afectadas incluyen:

Vía Wnt:

La vía de señalización Wnt es esencial para la regulación del crecimiento y la diferenciación celular en el colon. Mutaciones en el gen APC son comunes en el cáncer de colon, activando anormalmente la vía Wnt y contribuyendo al crecimiento celular descontrolado (18).

Vía de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR):

Alteraciones en la vía del EGFR, a través de mutaciones en el receptor EGFR o sus vías de señalización downstream, pueden favorecer la proliferación celular y la resistencia a la apoptosis, participando en el desarrollo del cáncer de colon (19).

Vía de señalización de PI3K/Akt/mTOR:

Mutaciones en genes como PIK3CA, PTEN y AKT pueden activar esta vía, que regula el crecimiento celular, la supervivencia y el metabolismo, y su desregulación está vinculada al cáncer de colon (20).

Vía de señalización Ras/Raf/MEK/ERK:

Las mutaciones en genes como KRAS son frecuentes y activan la vía Ras, involucrada en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular (21).

Vía p53:

La pérdida de la función del gen supresor de tumores p53 es común en el cáncer de colon. P53 regula la apoptosis, la reparación del ADN y la detención del ciclo celular, contribuyendo a la progresión tumoral (22).

Vía de señalización TGF-beta:

La vía TGF-beta actúa como supresora de tumores en las etapas iniciales, pero puede estar desactivada en el cáncer de colon avanzado, permitiendo la progresión tumoral (23).

Metabolismo de carbohidratos y glutamina:

Las células cancerosas experimentan cambios metabólicos para satisfacer sus demandas energéticas y biosintéticas, incluyendo el aumento de la glucólisis y la dependencia de la glutamina para el crecimiento y la proliferación celular (24).

Angiogénesis:

La angiogénesis, la formación de nuevos vasos sanguíneos, es esencial para el suministro de nutrientes y oxígeno a los tumores. Vías reguladoras como el VEGF pueden estar sobreexpresadas en el cáncer de colon (25).

Estas son solo algunas de las muchas vías afectadas en el cáncer de colon, y la complejidad de las interacciones moleculares hace que la comprensión de esta enfermedad sea un área activa de investigación.

Aunque existen similitudes en las vías de señalización y procesos metabólicos alterados entre diversos tipos de cáncer, también se encuentran diferencias significativas entre los cánceres de distintos órganos o tejidos. Cada tipo de cáncer puede presentar características genéticas, moleculares y clínicas particulares (26).

Las vías y procesos mencionados previamente, como la vía Wnt, la vía de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), la vía de señalización PI3K/Akt/mTOR, la vía de señalización Ras/Raf/MEK/ERK, la vía p53, la vía de señalización TGF-beta, el metabolismo de carbohidratos y glutamina, y la angiogénesis, son relevantes en el contexto del cáncer de colon (18–20,24,25). Sin embargo, la activación o desactivación específica de estas vías puede diferir en otros tipos de cáncer.

Por ejemplo, en el cáncer de mama, se observan alteraciones en vías como HER2/neu (una variante de la vía EGFR), la vía de señalización PI3K/Akt/mTOR, la vía de señalización p53, entre otras (27). Además, el cáncer de mama presenta características distintivas, como la expresión de receptores de estrógeno (ER) y receptores de progesterona (PR) (28).

Por otra parte, el cáncer de mama es una de las principales causas de muerte en mujeres a nivel mundial, y se presume que en 2030 se podría alcanzar la cifra de 11 millones de decesos (29). El cáncer de mama invasivo puede clasificarse en tres grupos objetivos para el diagnóstico, tratamiento y/o descubrimiento de fármacos, pudiendo ser positivo/negativo para cada uno de los receptores típicos de cáncer de mama como (i) el receptor de estrógeno,

(ii) el receptor de progesterona y (iii) el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano. Se han considerado algunos factores del estilo de vida para aumentar su incidencia como obesidad, sobrepeso, consumo de alcohol, y fumar; así mismo se mostró que la vitamina D (antioxidante) y el incremento de actividad física podría prevenir significativamente (29). Por otra parte, los flavonoides han cobrado relevancia y se introdujeron recientemente para tratar las células tumorales a través de la modulación de las vías de proliferación, apoptosis y angiogénesis en diferentes tipos de cánceres (4).

El cáncer de próstata es una de las causas de muerte más altas de mundo en varones después de la del cáncer de pulmón. Muchos tipos de cánceres de próstata son detectados por la presencia del antígeno prostático específico (glicoproteína) con valores elevados y por encima de 4 ng/mL (30). Se sabe que la mayoría de los cánceres producen inflamación, y en la detección de cáncer de próstata estaría involucrada algunos factores de reconocimiento como la interleucina-1 (IL-1), IL-6, IL-8 e IL-10, factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y receptor tipo Toll-4 (TLR4). Además la activación de la vía de señalización Wingleless (Wnt)/ β -catenina contribuye a la tumorigénesis y metástasis de próstata (31).

Cada tipo de cáncer se distingue por mutaciones genéticas específicas y perfiles moleculares únicos. La comprensión detallada de estas características es esencial para el desarrollo de terapias específicas y personalizadas para cada tipo de cáncer (26). Así, aunque hay cierta superposición en las vías afectadas, las diferencias particulares entre los tipos de cáncer también son esenciales para la comprensión y el tratamiento efectivo de la enfermedad.

Por otra parte, las células de hepatocarcinoma (HepG2) quienes también son considerados potencialmente mortales, poseen varios mecanismos de expresión y detección

en sistemas experimentales. Uno de los parámetros destacados sería el efecto Warburg, también conocido como transformación metabólica reversible, que permite que las células cancerígenas condicionarse en sistemas con escasez de oxígeno (principalmente afectados por la glucólisis) favoreciendo su rápida proliferación (32).

Para mejor entendimiento sobre el descubrimiento de fármacos contra el cáncer, es necesario referirse al ciclo celular como primer punto en destaque tanto para el control y la diseminación de células tumorales (Figura 1). El ciclo celular es un proceso extremadamente ordenado que da lugar a la duplicación y transferencia código-genética entre célula y célula (33). La división celular posee cuatro fases esenciales tales como G₀/G₁, S, G₂ y M. La Fase G₀/G₁ (33).

En la fase G₁ (pre-síntesis de ADN), la célula recién formada se desarrolla y es el proceso más largo del ciclo celular, esta fase está sujeta a la estimulación de mitógenos extracelulares y factores de crecimiento, sin embargo, existe un periodo llamado G₀ donde la célula puede salir del ciclo y ésta ya no se reproduce pudiendo ser temporal o permanentemente, además si fuese necesario la célula puede volver a ingresar a la fase G₁ y continuar el proceso (33). En la fase S, la célula duplica su material genético ósea el ácido desoxirribonucleico (ADN). La fase G₂, también llamado fase tardía de síntesis de ADN es la fase donde la célula se prepara para su división, además se forman los cromosomas y se sintetizan las proteínas necesarias para el próximo evento. Finalmente, en la fase M se da todo el proceso de la mitosis que incluyen la profase, metafase, telofase y anafase (34). Las fases del ciclo celular son reguladas por ciclinas, quinasas dependientes de ciclina (QDC), y el inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (IQD), y se notó niveles descontrolados de estos reguladores cuando se diagnosticaron o evaluaron la presencia de células tumorales,

por lo tanto son marcadores importantes durante para la obtención de fármacos anticancerígenos (35).

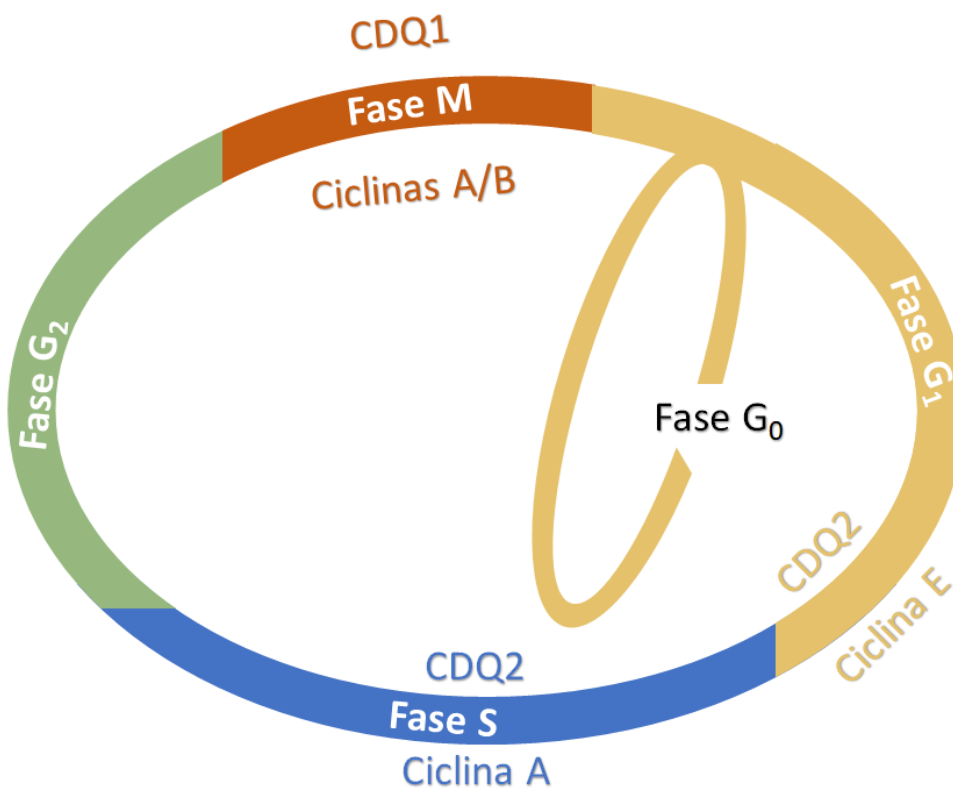


Figura 1. Explicación del ciclo celular humano, sus fases y reguladores, además el tiempo estimado en concretar el proceso. Estos tiempos son relativos puesto que algunas células pueden tardar mucho más y en el caso de otras especies puede tardar inclusive días. Adaptado de Israels y col. (33).

Continuando con los factores clave para el descubrimiento de fármacos contra el cáncer, surgieron los estudios de inhibición o modulación de las vías de señalización. Una de

las vías reportadas fue la de la regulación de la vía impulsada por el objetivo de rapamicina en mamíferos (mTOR), quinasa que regula el metabolismo ana/catabólico y está relacionado directamente con la carcinogénesis, y/o a la proliferación de células malignas y no apoptóticas (36). La fosforilación de mTOR se evidencia en respuesta a la activación de la vía de las fosfatidilinositol 3-quinasas (PI3K)/ proteína quinasa B (PQB o Akt) (37).

La familia de las PI3K se encuentra involucrada en el crecimiento, la proliferación, la migración y la supervivencia de las células, y cuando se relaciona al cáncer, podemos considerar la activación de la proteína quinasa B o también llamada como serina/treonina quinasa (Akt) (36). La vía de señalización PI3K/Akt/mTOR actúa como un punto clave de integración entre los entornos celulares intrínsecos y extrínsecos y regula un amplio espectro de procesos celulares; en consecuencia a estos hechos, actualmente los fármacos siendo estudiados para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer involucrarían la inhibición PI3K, Akt y mTOR (37).

4. FLAVONOIDES

Los flavonoides son metabolitos secundarios fitoquímicos que poseen actividad antioxidante con funciones esenciales dentro de los procesos metabólicos de los organismos vivos (38). Estas biomoléculas pueden generarse por factores externos o como mecanismo de respuesta a un estrés oxidativo o ambiental en las plantas. Los flavonoides poseen una forma estructural básica conformada de los flavanos con tres anillos fenólicos como se muestran en la Figura 2 (10).

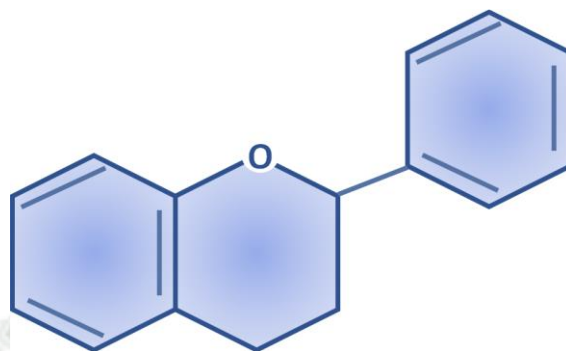
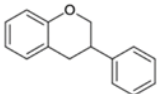
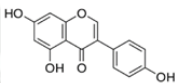


Figura 2. Anillos fenólicos de la estructura base de los flavonoides. Imagen diseñada y adaptada de Kopustinskiene y col. (2020).

Así como se demostró que los flavonoides forman parte del grande grupo de los antioxidantes, también podremos incluir a estos compuestos como principales potenciadores de la actividad anticancerígena, antimicrobiana, antiinflamatoria, y anti-neurodegenerativa (10,38). Los principales flavonoides que conforman esta agrupación se describen en la Tabla 1, evidenciando también su estructura, principal actividad biológica antioxidante y anticáncer reportados durante los últimos años. La recopilación de los datos de la tabla 1. Se realizaron utilizando *Web of Science* (artículos de los últimos 5 años) y utilizando como palabra clave el nombre del flavonoide en inglés, y con la palabra *CANCER*. Se excluyeron artículos de revisión.

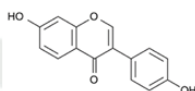
Tabla 1. Compuestos antioxidantes derivados de flavonoides, actividad biológica y función.

Imágenes diseñadas en ChemCAD 7.

Flavonoide	Compuestos	Actividad antioxidante/Efecto anticáncer
Isoflavonoides	Genisteína	La genisteína es un importante antioxidante presente en la soya y derivados, su actividad anticáncer se demostró en la detención ciclo celular, apoptosis, angiogénesis y metástasis. Su actividad toma como objetivo molecular a las caspasas, linfoma de células B2, proteína X asociada a Bcl-2, factor nuclear- κ B, inhibidor de NF- κ B, fosfoinositida 3-quinasa/Akt, quinasa 1/2 regulada por señal extracelular, proteína quinasa activada por mitógenos y las vías de señalización Wnt/ β -catenina. La activación de la vía de Wnt/ β -catenina contribuye a la tumorigénesis y metástasis de próstata. Además de los factores de transcripción, también se ha informado que el estrés del retículo endoplásmico inducido por genisteína y sus objetivos posteriores inducen la apoptosis en el cáncer (31).
		Se evidenció actividad contra cáncer de mama (39), de próstata (40), colorrectal (41,42), de ovario/

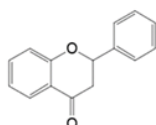
cuello uterino (43,44), de pulmón (45), de sangre (Leucemia) (46), de páncreas y riñón (47,48), y de vejiga (49).

Daidzeína

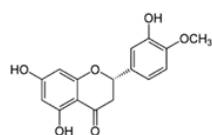


La daidzeína no se absorbe en su forma original, sino es procesada en el intestino formandose agliconas y ésta también puede ser metabolizada por la microflora; demás de todas las características ya descritas, este flavonoide es capaz de modular la expresión de ARN no codificante largo en algunos tipos de cáncer (6). Algunos estudios relatan su actividad combinada (genisteína y daidzeína) puede mejorar el efecto cancerígeno principalmente en cáncer de mama (50). Algunos experimentos reportados previamente evidenciaron su potencial en cáncer de mama (51), de próstata (52), colorrectal (53), de ovario y cuello uterino (54), de pulmón (55), de páncreas (52).

Flavanona



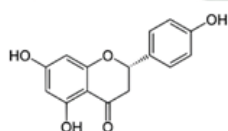
Hesperetina/Hesperitina



Es un antioxidante presente en frutas cítricas como naranjas y pomelos, controla los subproductos formados por el factor de necrosis tumoral, reduce el potencial metastásico, induce apoptosis, activador de Notch1 relacionadas con cánceres de

colon, carcinomas de células renales y cánceres de pulmón (56). Se destacó que este compuesto posee propiedades antiproliferativos usando como mecanismos de acción, la detención del ciclo celular y apoptosis; posee actividad citostáticas y citotóxicas, pudiendo aumentar los niveles de p53, gen involucrado en varios aspectos de la vía celular incluyendo la apoptosis. Disminuyeron significativamente la proliferación en las líneas celulares de leucemia y linfoma, dos tipos de cáncer más comunes en los niños. Estudios anteriores también mostraron actividad *in vitro* e *in vivo* contra cáncer colorrectal (57)

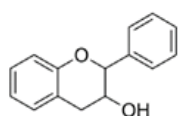
Naringenina



Este antioxidante es abundante en tomates y uvas, pero también en cítricos. El principal mecanismo de acción de este flavonoide es su poder antiinflamatorio que previene la degeneración del DNA y en consecuencia cáncer; estos parámetros fueron demostrados en cáncer de mama y colitis (58). También fue evidenciado que existe un efecto sinérgico entre fármacos convencionales, la naringenina y la naringina en contra de enfermedades cancerígenas resistentes a los

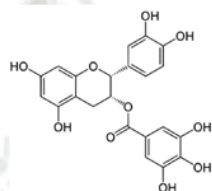
farmacos (59). Así mismo, la naringenina y la herperitina mostraron efecto anticáncer sinérgico en páncreas humano mediante la regulación a la baja de la vía de señalización FAK y p38 (60).

Flavanol



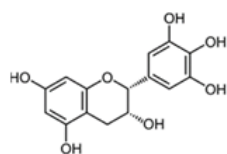
Galato de

Epicatequina



Componente principal del té verde, y además modulador de la producción de lípidos en el organismo, el principal problema metabólico cuando de cáncer de próstata se refiere inhibiendo la vía de señalización PI3K/AKT/mTOR (efecto regulador sobre la lipogénesis) y atenuando la expresión de genes lipogénicos que inducen la migración de las células del cáncer de próstata (61). Otros estudios relataron la relación estructura-función de la epicatequina galato, la catequina y la quercetina concentración dependientes para la producción de ceramidas, los principales responsables de la apoptosis en células de cáncer pulmonar (62).

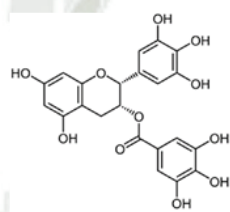
Epigallocatequina



Otro compuesto derivado de las catequinas presentes en el té verde, con potencial actividad antioxidante frente al cáncer de mama (línea celular MCF-7), potencial inhibidor de la actividad

enzimática de la fosfatasa PTP1B, compuestos que se sobreexpresan en las células de cáncer de mama, desencadenan el crecimiento del tumor (63).

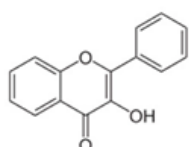
Galato de
epigallocatequina



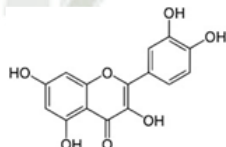
Es uno de los componentes principales del té verde, té negro, té blanco, frutas (manzanas y ciruelas), nueces, cebollas y avellanas (64). Es un éster de epigallocatequina y ácido gálico, que además de sus propiedades antioxidantes posee actividad biológica antiinflamatoria, antiangiogénicas, antiproliferativas, proapoptóticas y antimetastásicas (65). Su actividad antioxidantes y antiinflamatorios en el cáncer se da a través de las vías de señalización de NF- κ B y PI3K/Akt que modulan la expresión de genes clave, como el factor de transcripción NFE2 relacionado con el factor 2 (Nrf2), que es sobreexpresado en el pulmón del cáncer de mama y el cáncer de los tejidos (66,67); activadores de c-Jun, asociada con la proliferación y la angiogénesis en el cáncer de mama invasivo (68); y proteína activadora 1 (AP-1) que es un factor de transcripción estrechamente relacionado con la proliferación, diferenciación y apoptosis celular (69). Esta biomolécula fue ampliamente estudiado

en la última década para varios tipos de cáncer mostrando excelentes resultados, para más detalle cada aplicación y su mecanismo de acción profundamente ver Aggarwal y col. 2020.

Flavonol



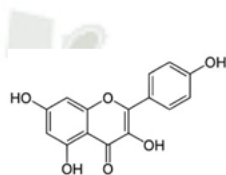
Quercetina



La quercetina además de poseer propiedades antioxidantes, es utilizado como agente dietético abundante en plantas, frutas y verduras, como cebolla, trigo sarraceno y brócoli (35). Además en cáncer de mama conduce a la apoptosis por el citocromo C de las mitocondrias, inhibidor de la peroxidación de lípidos, la prevención del crecimiento tumoral, La estabilización de la estructura del ADN telomérico y la reducción de la vía de señalización de P38MAPK y PI3K conducen a la propiedad antiproliferativa, las evidencias mostraron que posee extensa actividad en varias líneas celulares, xenoinjertos, y en estudios *in vivo* (4,70). Durante el proceso de apoptosis, la quercetina influye en la expresión de receptores de la muerte celular programada como TRAILR, FAS, TNFR1, quienes matan predominantemente las células tumorales y evita las células normales. Esto fue demostrado aumentando la expresión de DR5 e

inhibiendo la expresión de supervivencia durante la apoptosis en cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de colon, glioma y muchas otras células cancerosas (35,71).

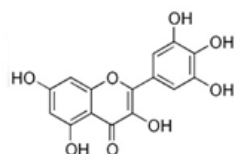
Kaempferol



Esta molécula se encuentra en té, así como en pomelos, frijoles, manzanas, col rizada, coles de Bruselas, repollo, uvas, brócoli, tomates, frutas cítricas, grosellas y fresas (8). Evidencias de estudios en células mostraron que el Kaempferol suprime la proliferación, pero aumenta la apoptosis y la autofagia regulando al alza el microARN-340 en las células de cáncer de pulmón humano (72). En próstata, inhibe la proliferación celular a través de la vía dependiente de los andrógenos y suprime el mimetismo vasculogénico y la invasión (73). También en cáncer de vejiga se atenúa la hemólisis inducida por EROs (74). En cáncer gástrico induce la muerte celular autofágica a través de la vía IRE1-JNK-CHOP y logra modular el cambio epigenético inhibiendo el eje HDAC/G9a activando la muerte celular autofágica en las células (75). Este compuesto ha demostrado excelentes propiedades anticáncer inclusive en otras líneas celulares *in vitro*

e *in vivo* (76,77), que ha sido posible llevarlo a la etapa preclínica y clínica con resultados promisoros (78).

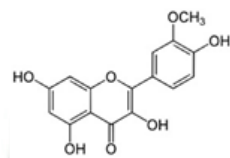
Miricetina



Se encuentran principalmente en té, vinos y bayas; es una molécula que posee actividad anticancerígena potencial contra cáncer de mama pero que su farmacodinamia y mecanismo molecular aun no fue bien estudiada, sin embargo, los últimos estudios indicaron que su tratamiento en ratones logró la disminución de nódulos tumorales y la expresión de genes responsables de su proliferación; así mismo la apoptosis fue mediada por EROs intracelulares que dañaron el ADN de las células cancerosas (79,80). Frente a cáncer de próstata se evidenció efectos tóxico-selectivos y la inhibición de la expresión de PIM1 – otro factor clave en la proliferación – siendo catalogada como un agente quimiopreventivo (81). La miricetina también se mostró como inhibidor de la endonucleasa 1 del colgajo humano, que potencialmente puede usarse como agente

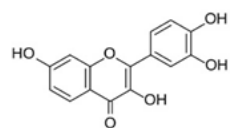
sensibilizante contra las células de cáncer de colon humano HT-29 (82).

Isorhamnetina



Es un derivado de la quercetina, que sorprendentemente evidenció resultados promisorios contra cáncer de mama triple negativo – tipo de cáncer que mama que no posee receptor específico y en consecuencia más agresivo. Un estudio del uso de cloroquina (inhibidor clásico de autofagia/mitofagia) combinado con isorhamnetina mejoraría la selectividad de la fisión mitocondrial y la apoptosis (83). También mostró inhibición celular en células cancerosas de páncreas mediante la detención de la fase S del ciclo celular (84); activación de la vía de señalización de la proteína quinasa activada mediada por EROs en células cancerosas de vejiga humana (85) y daño mitocondrial en células para inducir apoptosis en cáncer de colon (86).

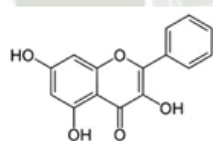
Fisetina



Este compuesto promisor, demostró inhibición de mTOR e indujo autofagia en células de cáncer de próstata (87). Es encontrado varias frutas como fresas, manzanas, caquis, y algunos otros vegetales

como cebolla, tomate. La fisetina posee propiedades antioxidantes en bajas dosis ($40\mu\text{M}$), inclusive demostró inhibición de la resistencia hacia los fármacos, como es el caso del cisplatino ($10\mu\text{M}$); indujo la fragmentación del ADN, la generación de EROs y la apoptosis en células NCI-H460 mediante una reducción de Bcl-2 y un aumento de la expresión de Bax, excelente contra cáncer de pulmón, melanoma y cáncer de piel, próstata, colorrectal, vejiga, cervical, cerebro y leucemia (88). Por lo general esta molécula permite potenciar fármacos obsoletos mediante efecto sinérgico.

Galangina

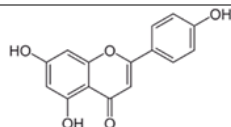
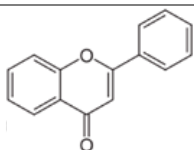


Esta molécula fue también evaluada contra la proliferación de hepatocarcinoma, mediante la reversión del efecto Warburg, posee actividad antígenotóxica, y supresor de la G0/G1 (32). La galanina demostró tener actividad inhibitoria de β -catenina que se genera significativamente cuando existe proliferación de células de cáncer colorrectal y de hígado (89).

Flavonas

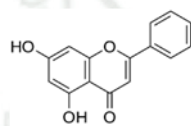
Apigenina

La apigenina puede modular considerablemente varios de los factores y vías relacionadas con



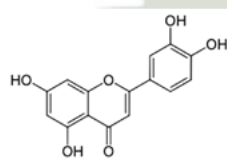
cáncer, como PI3K/AKT/mTOR, JAK/STAT, NF- κ B, MAPK/ERK, Wnt/ β -catenina y sus proteínas posteriores involucradas en el cáncer, proliferación celular, apoptosis, detención del ciclo celular, invasión, metástasis y autofagia (90).

Crisina



Crisina demostró regular algunos genes involucrados en la proliferación de células cancerígenas gástricas como TET1 (91). Otro estudio evidenció que la crisina combinada con daidzeína pueden disminuir la expresión proteica de p-ERK/ERK y p-AKT/AKT e inclusive restaurar alteraciones bioquímicas en células tumorales, revirtiendo los daños tisulares analizados mediante histopatología (53).

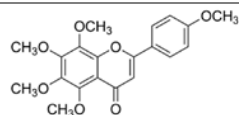
Luteolina



Estudios en luteolina son escasos sin embargo, algunos de los pocos estudios, indican que posee actividad contra hepatocarcinogénesis inducida en ratas por *N*-butil-*N*-(4-hidroxibutil) nitrosamina (92).

Tangeritina

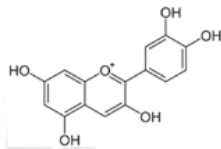
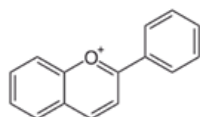
Es una de las principales polmetoxiflavonas encontradas en *Citrus sinensis* y *Citrus reticulata*. Fue descrito que este flavonoide actúa en las



mitocondrias mediante la modulación de la vía apoptótica intrínseca (93).

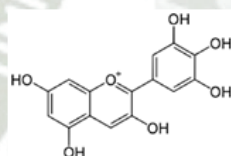
Antocianidinas

Cianidina



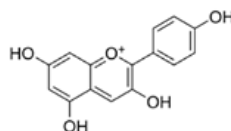
Son encontradas principalmente en plantas de mora, y en su forma conjugada, cianidina 3-rutinósido y la cianidina 3-glucósido; quienes demostraron que éstas moléculas poseen potencial actividad inhibitoria dependiente de la dosis contra células metastásicas de cáncer de pulmón A549 (invasión y la motilidad) (94).

Delfinidina



Así como la cianidina, un estudio demostró que junto con delfinidina son capaces de inactivar el sistema antioxidante del glutatión en células metastásicas como LoVo y LoVo/ADR pertenecientes a cáncer colorrectal (95). Prometiendo resultados innovadores y promisoros utilizando las antocianidinas.

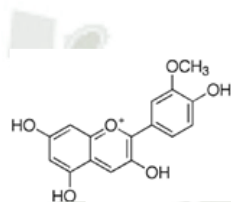
Pelargonidina



La pelargonidina es capaz de activar la AhR, que es un receptor de anillo de hidrocarburos, que son ligandos que activan genes relacionados a la carcinogénesis y metabolismo presentes en líneas celulares de cáncer humano y hepatocitos humanos, sirviendo como monitor de fármacos tóxicos

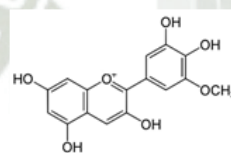
(96). Además se encontró actividad anticáncer colorrectal modulando el estado antioxidante intracelular, proliferación celular y daño genético (97).

Peonidina



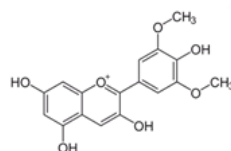
Son escasos los estudios para este flavonoide, sin embargo su forma conjugada peonidin 3-glucoside tuvo eficiente actividad anti-invasiva, afectó la motilidad, la secreción de la matriz metaloproteinas 2 y 9 en células de cáncer de pulmón (98).

Petunidina



Muchos de los trabajos involucrados con petunidina son relacionados con compuestos de caracterización UPLC, destacando el contenido de flavonoides. No hay estudios recientes de este flavonoide, se sabe que es el que otorga el color rosado a las bayas (99).

Malvidina



Es el pigmento principal de las manzanas, sin embargo esta molécula no fue estudiada recientemente (100).

5. TECNICAS DE ANALISIS Y CARACTERIZACION

Para el estudio y cuantificación de estas moléculas se utilizan eventualmente técnicas espectrofotométricas basadas en el principio de oxidorreducción y atrapamiento del radical libre. En la tabla 2 se muestran las principales técnicas utilizadas durante los últimos 20 años como 2,2-difenil-1-picril-hidrácil-hidrato (DPPH), Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP), 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), y Folin-Ciocalteu (FC) (101,102).

Tabla 2. Principales métodos para calcular la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles totales de compuestos fitoquímicos como flavonoides. Imágenes de acceso abierto obtenidas y adaptadas al español de Roque-Borda y col. (102).

Método antioxidante	Principio teórico	Ref.
2,2-difenil-1-picril-hidrácil-hidrato (DPPH)	Este método es el más aplicado cuando se refiere a antioxidantes naturales. El principio de esta técnica radica en la reducción del DPPH que es de color violeta y muda radicalmente hacia amarillo formando el DPPH ₂ . Los cálculos de concentración	(103)

y porcentaje de inhibición se realizan obteniendo los valores de absorbancia (Abs) entre 515 a 520nm.

La ecuación usada para el porcentaje de inhibición (I%) es la siguiente:

$$\frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs DPPH}} \times 100$$

Poder Reductor Férrico (FRAP)	Antioxidante	Este otro método espectrofotométrico se encuentra basado en la reducción de iones de hierro +3 de coloración rojo ladrillo conformado por cloruro férrico y 2,3,5-trifenil-1,3,4-triaza-2-azonia ciclopenta-1,4-dienocloruro (TPTZ) a hierro +2 verde azulado (104). Los resultados se analizan a una absorbancia de 595nm. Los cálculos se realizan utilizando la siguiente ecuación:	(105)
-------------------------------	--------------	--	-------

$$\frac{\Delta \text{abs muestra a } 0 - 4 \text{ min}}{\Delta \text{abs control a } 0 - 4 \text{ min}} \times \text{FRAP standar}$$

2,2'-azino-bis (ácido etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)	3-	Muchos estudios indican el ABTS como método aplicado para antioxidantes por su versatilidad con diferentes compuestos inclusive lipofílicos. Como todo método, éste también presentó limitaciones en la década de los 90's, sin embargo, fueron surgiéndose complementos para evitar que los	(106)
--	----	--	-------

resultados y la unión con el radical no sea específica.

Se utiliza ABTS y persulfato de potasio leídas a 734nm.

Folin-Ciocalteu (FC)

Esta técnica es ampliamente usada para determinar el contenido total de polifenoles de un extracto acuoso. Ayuda en el complementar los resultados de la actividad antioxidante.

Muchas veces el control para cálculos de concentración se utiliza TROLOX, como parámetro; sin embargo, otros antioxidantes previamente estandarizados pueden usarse para la aproximación como ácido cafeico, ácido gálico, etc.

Ref: referencia.

Como fue explicado, los métodos para evaluar la actividad han sido fuertemente estudiados, sin embargo, un cuestionamiento reciente de Granato y col. (107), indicaron que los artículos modernos sobre la actividad antioxidante, ya no se aceptan solamente estas técnicas de estudios *in vitro*, si no también que deben incluirse estudios de espectrometría o cromatografía para poder corroborar y sustentar los resultados obtenidos. De esta forma surgieron los métodos combinados de análisis utilizando cromatografía líquida de alta performance (HPLC) y los métodos antes descritos, estos fueron considerados y actualmente son los más aceptados dentro de la comunidad científica que implica investigaciones con

flavonoides. Algunos métodos para DPPH combinados fueron descritos HPLC-DPPH (108), cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC)-DPPH (109), cromatografía en capa fina (PTLC)-DPPH (110) y detector de matriz de diodos de cromatografía líquida de alta resolución acoplado a un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo cuadripolar (HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS)-DPPH (111). De esta misma forma se han generado combinaciones con los otros métodos como FRAP y ABTS (112,113).

6. MICRO Y NANOTECNOLOGIA

Algunas tecnologías ayudan a la administración de compuestos bioactivos que poseen inestabilidad durante su administración como parte de un tratamiento terapéutico. Como bien mencionamos en las secciones anteriores, los antioxidantes pueden ser excelente biomoléculas contra diferentes tipos de cáncer, sin embargo, diversos factores de ambientales y/o condiciones en sistemas biológicos, inclusive la luz pueden inestabilizar e inhibir/minimizar el efecto anticancerígeno (114). La micro y nanoencapsulación, son tecnologías actuales de administración de fármacos, protección de bioactivos y liberación controlada o dirigida (115). A continuación, se describen los métodos de encapsulación más utilizados en la industria de alimentos y que son escalables industrialmente.

a. MÉTODOS

En la industria alimentaria y farmacéutica, se ha tomado en relevancia algunas técnicas más fáciles y menos costosas (65). Entre estos métodos uno de los más aceptados es

la gelificación iónica; la gelificación iónica consiste en encapsular compuestos mediante intercambio de iones en sistemas dispersivos; los estudios más usados de este método son a base de alginato y quitosano, pues el alginato presenta una carga iónica neta negativa y que por el contrario el quitosano con carga neta positiva (115). Ambos polímeros buscan un intercambio con un ion de carga opuesto para que puedan recircularse con éxito. Para ello, tanto las sales de cloruro (Ca^{+2} , Al^{+3}) como el tripolifosfato (TPP^-) son considerados una excelente opción puesto que la formación de capsulas (micro o nano) se dan instantáneamente (en la mayoría de los casos) o con mecanismo de inducción externa como el ultrasonido (116,117).

Otros métodos como secado por pulverización, es una técnica muy utilizada a escala industrial, rápido y continuo, que permite encapsular compuestos utilizando la solución líquida que atraviesa un contenedor gaseoso de secado caliente, donde pierden el solvente y se recolecta mediante un filtro que retira el aire del medio (118). Por otra parte, la extrusión se ha implementado y usado principalmente para sustancias que presentan volatilidad e inestabilidad en matrices poliméricas. Varios estudios relatan que la estabilidad para este tipo de matrices encapsuladas, pueden poseer mucho más tiempo de vida útil comparadas con las del secado por pulverización (119–121).

Coacervación es un proceso de encapsulación que permite que el material polimérico modifique las propiedades físicas del medio como pH, polaridad, temperatura y fuerza iónica; es relativamente simple de preparar, no requiere de solventes orgánicos y de bajo costo, utilizado para sólidos y líquidos. Sin embargo, la coacervación presenta limitaciones como rangos específicos de pH, concentración coloidal y de electrolitos (122,123).

Lecho fluidizado que permite la encapsulación y revestimiento entérico de compuestos bioactivos; en este tipo de encapsulado deben ser manipuladas condiciones de flujo de aire, vibración, flujo, y temperatura. Permite la protección generalmente de compuestos sensibles al pH gastrointestinal (124). Un ejemplo claro de su aplicación sería el acetato succinato hidroxipropil metilcelulosa, que posee propiedades gastroprotectores lo que no le permite liberar compuestos ácido lábiles/inestables en el estómago pero si en el intestino, ya que su solubilidad oscila entre los 6.5 a 7.4 de pH (125).

Complejación de inclusión es un método basado en la combinación de un compuesto que actuaría como ligando, y que es el compuesto bioactivo (generalmente volátiles como aceites esenciales y vitaminas); y el material poroso o de recubierta (como β ciclodextrinas y la β -lactoglobulina) que se unen a través de impulsos entrópicos hidrofóbicos como fuerzas iónicas, puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals (126). Algunas aplicaciones de la nanotecnología en la biotecnología se presentan en la Tabla 3. Para ello se seleccionaron artículos del 2023 y 2022 de la *Web of Science*.

Tabla 3. Aplicaciones de la micro o nanoencapsulación de antioxidantes en el sector biotecnológico.

Antioxidante	Técnica/Método	Aplicación y relevancia	Ref.
Las micropartículas de copolioxalato que contienen alcohol vanilílico encapsulan dexametasona.	método de doble emulsión	Sistemas terapéuticos para las enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias mediante inyección intratraqueal.	(127)
Micropartículas de Prunus salicina	extracción etanólica	Aditivos e ingredientes naturales antioxidantes para la conservación funcional de alimentos.	(128)
extracto de flores de Calendula officinalis L. encapsulado en micropartículas de alginato de calcio	extrusión asistida por un flujo de aire secundario	Aditivo alimentario natural antioxidante para la conservación de alimentos.	(129)
Micropartículas de etilcelulosa cargadas con extracto de orujo de molino de oliva	Evaporación de disolvente de doble emulsión agua en aceite en agua	Mejorar la estabilidad oxidativa de los aceites de oliva para aumentar la conservación de los alimentos	(130)

Microencapsulación de hidrolizado de hígado porcino	Secado por aspersión y liofilización	Acción inhibidora contra <i>Candida albicans</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> para aplicación en industrias farmacéuticas.	(131)
Encapsulación de resveratrol en nanopartículas de biopolímeros núcleo-cubierta	precipitación antisolvente y deposición electrostática	Función anticancerígena en productos farmacéuticos.	(132)
Aceite de menta y aceite de té verde encapsulados en nanopartículas de quitosano	emulsificación/gelación iónica	Acción inhibidora contra <i>Staphylococcus aureus</i> para aplicación en industrias farmacéuticas.	(133)
nanopartículas poliméricas cargadas de curcumina	nanoprecipitación	Tratamiento de enfermedades basadas en inflamación y estrés oxidativo, con aplicación en industrias farmacéuticas.	(134)
α -tocoferol y resveratrol encapsulados en nanopartículas de zeína	desolvatación	Diseño de sistemas de administración de portadores a base de zeína para la coencapsulación de varios componentes/nutrientes bioactivos en alimentos funcionales.	(135)
Aceite de pequi en WPI y micropartículas de maltodextrina	secador en spray	Las micropartículas podrían ser una forma de introducir el pequi en el mercado de alimentos (desarrollo de nuevos productos con bajo contenido calórico), en la industria de piensos o en la fabricación de materiales renovables.	(136)

Nanofibras compuestas de goma de almendra y alcohol polivinílico cargadas con curcumina	proceso de electrohilado	Aplicación en las industrias alimentaria y farmacéutica al ser un vehículo adecuado para compuestos hidrofóbicos para mejorar su solubilidad.	(137)
Nanopartículas de ácido poli(d,l-láctico-co-glicólico) que contienen extracto fenólico de guabiroba	evaporación de emulsión	Aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica, especialmente en productos con actividad antimicrobiana.	(138)
Microencapsulación de antocianinas de pieles de uva	coacervación y liofilización	Antioxidantes y colorantes naturales en la industria alimentaria.	(139)
Portador lipídico nanoestructurado cocargado de quercetina y aceite de linaza	emulsificación de fusión	Ingrediente nutricional en las industrias alimentaria y farmacéutica por sus propiedades bioactivas para la salud humana.	(140)
Encapsulación del flavonoide quercetina con nanoliposomas recubiertos de quitosano	deposición electrostática	Aplicación en industrias alimentarias como alimentos funcionales por su actividad antioxidante y anticancerígena.	(141)

Nanoportadores lipídicos cargados con tocoferol	Metodología de miniemulsiones con un paso de ultrasonificación.	Industrias cosméticas mediante la aplicación en biocosmética con excipiente antioxidante.	(142)
liposomas para administrar luteolina	método de hidratación de película delgada	Aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica, para el tratamiento del carcinoma colorrectal.	(143)
Nanoencapsulados de apocarotenoides de azafrán en maltodextrina	secador en spray	compuesto bioactivo para uso alimentario, farmacéutico y cosmético, por sus propiedades antitumorales, antidesórdenes gástricos, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Alzheimer y depresión leve a moderada.	(144)
Vitaminas del complejo B/micropartículas de zeína	electropulverizado	Los productos farmacéuticos se centran en la función cerebral y celular y en la prevención de infecciones y enfermedades.	(145)
Micropartículas de ácido gálico con floretina	Reacción de polimerización radicalaria en emulsión de fase inversa.	Productos farmacéuticos con una estrategia de liberación transdérmica de floretina para la protección del daño cutáneo inducido por los rayos UV.	(146)

b. PRINCIPALES COMPUESTOS PARA ENCAPSULACIÓN DE FLAVONOIDES

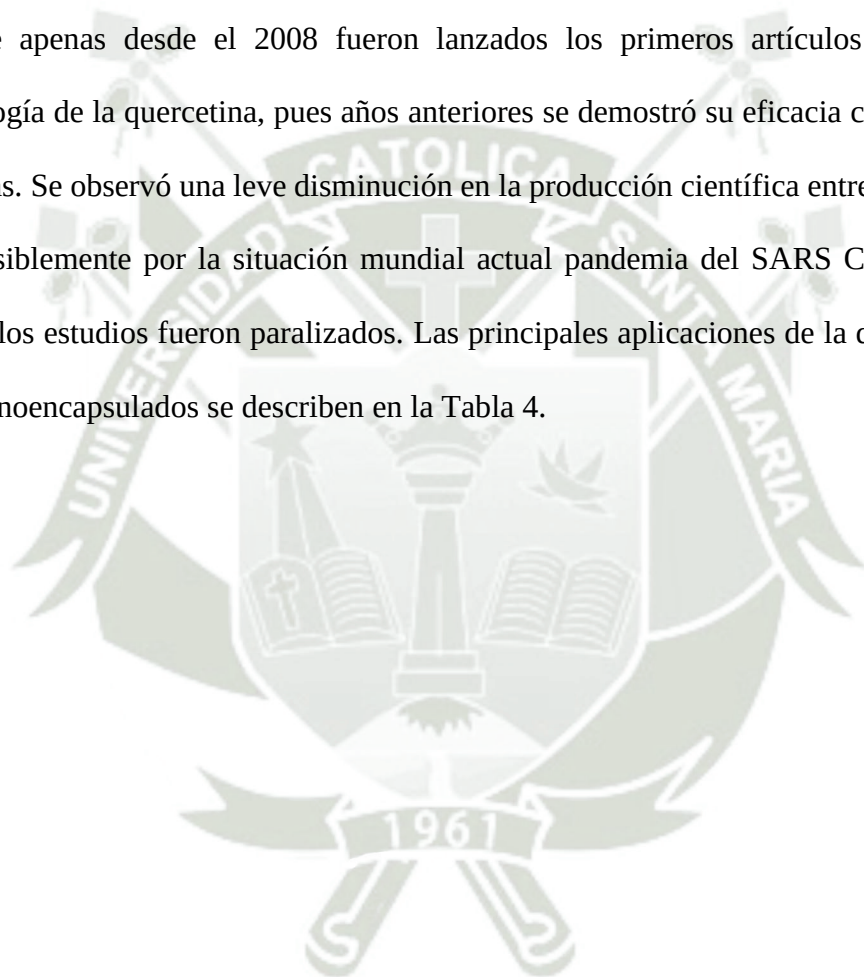
Para realizarse exitosamente el proceso de encapsulación es necesario utilizar compuestos con capacidad transportadora, de carga o porosa (147). Estos compuestos no deben tener ninguna interacción con el compuesto bioactivo a ser encapsulado, además debe promover una mayor protección del mismo (148). Entre algunos de estos compuestos son los carbohidratos como almidón, maltodextrinas, sólidos de jarabe de maíz, dextrano, almidón modificado, sacarosa, ciclodextrinas, carbohidratos marinos (aniónicos, catiónicos). Derivados de gomas como goma arábica, agar, alginato de sodio, carragenina; derivados de lípidos como cera, parafina, cera de abejas, ácido triestearico, diacilglicerol, monoacilglicerol, aceites, grasas, aceites endurecidos. Algunas proteínas también pueden ser modificadas y reaprovechadas para el transporte de bioactivos como gluten, caseína, gelatina, albúmina, hemoglobina, péptidos; finalmente algunos derivados de celulosa también pueden servir como protectores de fármacos eficaces y potenciales revestidores como la carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, nitrocelulosa, acetilcelulosa, acetato-ftalato de celulosa, acetato-butilato-ftalato de celulosa, etc (149).

7. QUERCETINA (QRT)

La QRT posee una gran dificultad por su escasa solubilidad en soluciones acuosas, lo que limita su aplicación en sector alimentario y farmacéutico (150). Varios estudios demostraron que su encapsulación en diferentes nano/microsistemas, pueden mejorar su

administración y transporte; recientemente se reportó el uso de capsulas organometálicos con γ -ciclodextrina capaces de mejorar la absorción y el direccionamiento eficaz de la QRT, no produjeron citotoxicidad en células renales tubulares proximales HK-2, pero inhibieron la proliferación de una línea celular de cáncer de colon HT-29 (150).

Un análisis comparativo mediante la base de datos de la *Web Of Science* (Figura 3), mostró que apenas desde el 2008 fueron lanzados los primeros artículos basados en nanotecnología de la quercetina, pues años anteriores se demostró su eficacia contra células cancerígenas. Se observó una leve disminución en la producción científica entre el año 2021 y 2020, posiblemente por la situación mundial actual pandemia del SARS CoV-2, donde muchos de los estudios fueron paralizados. Las principales aplicaciones de la quercetina en sistemas nanoencapsulados se describen en la Tabla 4.



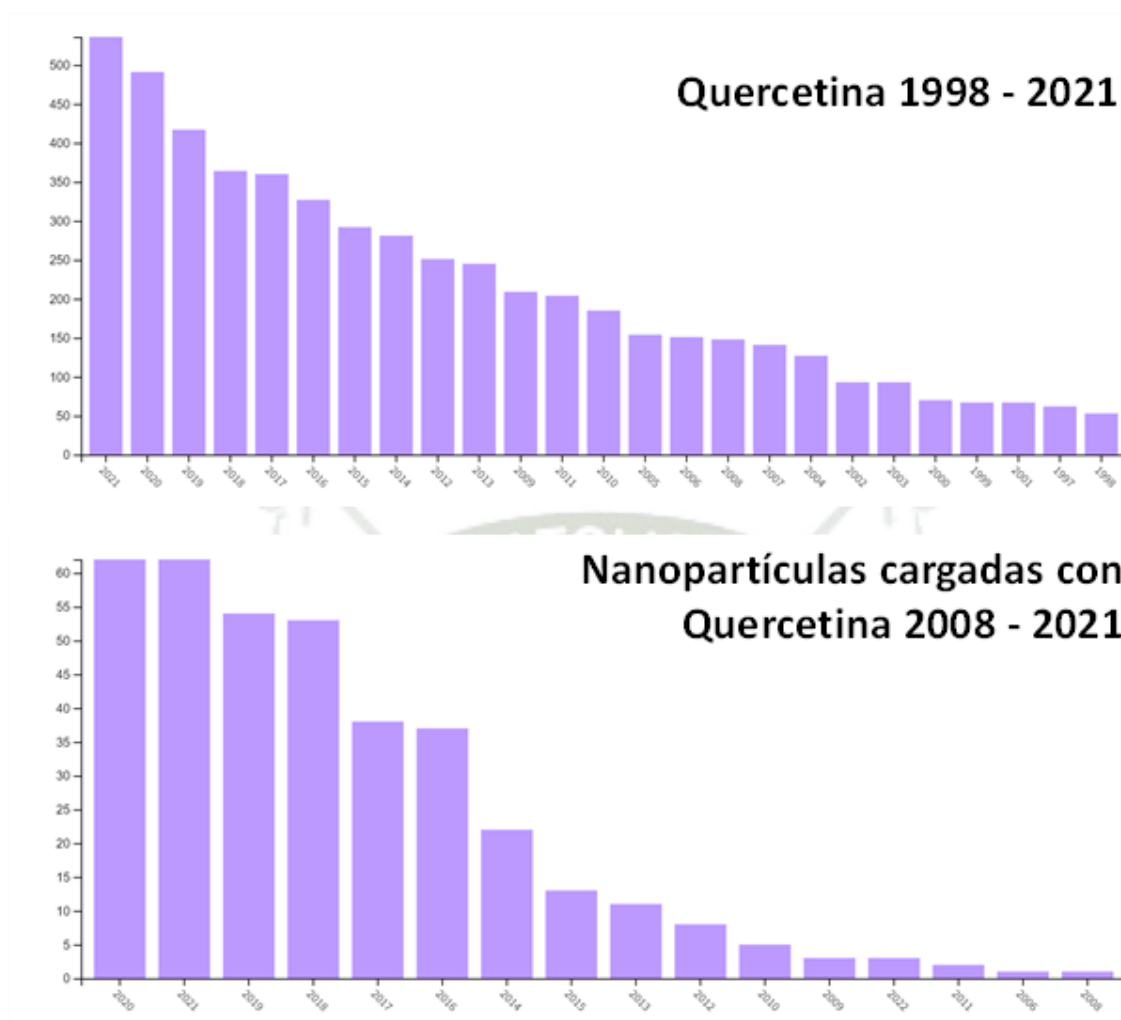


Figura 3. Análisis de datos usando la base de datos Web of Science – Clarivates, Este análisis fue recolectado el día 13/01/2022 usando los términos *CANCER*, refinado con *QUERCETIN*, refinado con *NANOPARTICLES*. Se excluyeron artículos de revisión.

Tabla 4. Importantes aplicaciones de sistemas nanoencapsulados de quercetina contra células de cáncer.

Encapsulación	Destaques de su actividad anticáncer	Ref.
Polimérica - psilio reticulado sensible al pH injertado-poli (acrilonitrilo-co-ácido acrílico)	Colon - mostró un hinchamiento máximo a pH-7 y demostró una liberación máxima de nanopartículas de QRT (93%) al pH del líquido intestinal (pH-7.4).	(151)
Vesículas de fosfatidilcolina hidrogenada de origen de soja, el contenido de 90% + veneno de escorpión + QRT	Mama – se reveló detención significativa del ciclo celular en la fase S, incremento en la expresión de ARNm de caspasa-9, Bax, Bcl-2 y p53; y reducción de la actividad de TNF- α y NF- κ B.	(152)
Emulsiones monocapa y bicapa de aislado de proteína de soja	El ensamblaje de quitosano en la emulsión puede mejorar la biodisponibilidad de la quercetina. La succinilación prolonga el tiempo de digestión de la emulsión en el intestino delgado.	(153)
Nanoemulsiones de etanol + tween 80	La nanoemulsión fue la más adecuada para la liberación de quercetina y tanto la nanoemulsión como	(154)

	el gel de emulsión exhibieron las bioaccesibilidades más altas.	
Nanocapsulas de ácido poli(d,l)-láctico-co-glicólico (PLGA)	La actividad contra las líneas celulares de cáncer de mama CAL51 y MCF7 se evaluaron mediante ensayos de fragmentación de ADN, microscopía de fluorescencia y tinciones dobles con naranja de acridina y yoduro de propidio, exhibiendo actividad apoptótica.	(155)
Nanopartículas de PLGA + éster fenetílico del ácido cafeico	Se vio un aumento en los niveles de ARNm de caspasa-3 (2.38 veces) y caspasa-9 (2 veces) y las expresiones de proteínas clave en la vía de apoptosis intrínseca en células de cáncer de colon HT-29	(156)
Nanoemulsion cargado con hidrogel de agarosa-polivinilpirrolidona-hidroxiapatita	Nanoportador sensible al pH para la liberación controlada de quercetina en célula de cáncer de mama MCF-7.	(157)
NP híbridas polímero-lipídicos + Ftalocianina de zinc (fotosensibilizador)	El efecto fotodinámico del fotosensibilizador fue sinergizado por la quercetina, aumentando la actividad anticancerígena lo que indicaría ser muy beneficiosa para el tratamiento del cáncer en el futuro y anular los efectos secundarios de la quimioterapia.	(158)

NP de alginato	Liberación de fármacos <i>in vitro</i> mostró una liberación (159) sostenible de quercetina hasta 6 días contra las células de cáncer leucémico humano U937.
NP lipídicos sólidas cargadas con Erlotinib y QRT + quitosano	Se demostró una mejora clínica significativa contra el (160) cáncer de pulmón de células no pequeñas (células A549 y NCI H460), y se evidenció un efecto sinérgico con QRT, disminuyendo los efectos adversos.
NP de CuO funcionalizadas con quitosano encapsulado en QRT	Los estudios <i>in vitro</i> demuestran potentes actividades (161) anticancerígenas contra las células MCF-7, reducción en el volumen del tumor mamario en ratas hembra inducidas por dimetilbenz(a)antraceno; indujo la apoptosis a través del aumento del gen p53 y detuvo el ciclo celular. Además, aumentó los niveles de citocromo c y caspasa-3, lo que provocó la muerte de las células del carcinoma mamario.
NP ultrasensible al pH basado en Fe ₂ O ₃ - quitosano- montmorillonita	El análisis mostró una liberación controlada y dirigida (162) de la quercetina al indicar una liberación acumulada del 43 % durante las primeras 12 h y un 65 % de muerte celular (MCF-7), lo que conduce a una disminución de los efectos secundarios y la destrucción selectiva de las células cancerosas en comparación con el fármaco no dirigido

Nanocápsulas de soja/quitosano	Al agregar quitosano se proporciona un complejo más estable, exhibe actividades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (líneas celulares de carcinoma de colon humano HCT-116 y de osteosarcoma humano U2OS). También podría agregarse a una solución que contenga agua, produciendo así una bebida que se complementa con quercetina bioactiva y soluble.	(163)
Nanoemulsión	El cisplatino es un potente agente antitumoral, ampliamente utilizado en clínica, especialmente para el tratamiento de tumores sólidos (uterino, testicular, vesical, pulmonar, de cabeza y cuello). Y se demostró que existe un efecto sinérgico de Cisplatino/QRT frente a células de cáncer de mama altamente agresivas y metastásicas (MDA-MB-231)	(164)
Micropartículas de β -ciclodextrinas	La absorción de la QRT es muy baja cuando no se usan encapsulados, en este nanosistema se utilizaron ciclodextrinas encapsuladas dentro de una matriz polimérica por secador por atomización. Fue relatada su actividad contra células de adenocarcinoma alveolar que también mejoraron potencialmente la	(165)

biodisponibilidad y su actividad por mayor tiempo y en dosis controlada.

Nanohidrogel de quitosano	Nuevos nanohidrogeles con actividad antimicrobiana y anticancerígenas, que reduce significativamente los niveles de ADN metiltransferasas (DNMT), responsables de la metilación del ADN en células HepG2, además se propone que la terapia combinada en estos casos sería una excelente opción de aplicación.	(166)
---------------------------	---	-------

NP: Nanopartículas

8. PERSPECTIVAS Y AVANCES CLÍNICOS

Los flavonoides son una excelente opción para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer e en sus diferentes etapas, sin embargo, son pocos de estos compuestos que fueron llevados a un estudio y evaluación clínica (Figura 4). De tal forma, ya existen estudios que contundentes que permitirán la aprobación y administración de estos antioxidantes como tratamiento contra el cáncer.

Algunos de los estudios clínicos importantes fueron reportados por <https://ClinicalTrials.gov> como: (i) ensayo de prevención del cáncer de próstata con quercetina y genisteína (NCT01538316), (ii) ensayo de intervención de etiqueta abierta para reducir la senescencia y mejorar la fragilidad en adultos sobrevivientes de cáncer infantil

utilizando QRT + Dasatinib y Fisetina (NCT04733534), (iii) efecto de la quercetina sobre la captación de polifenoles del té verde en tejido prostático de pacientes con cáncer de próstata sometidos a cirugía (NCT01912820), (iv) Sulindaco y compuestos vegetales en la prevención del cáncer de colon (NCT00003365).

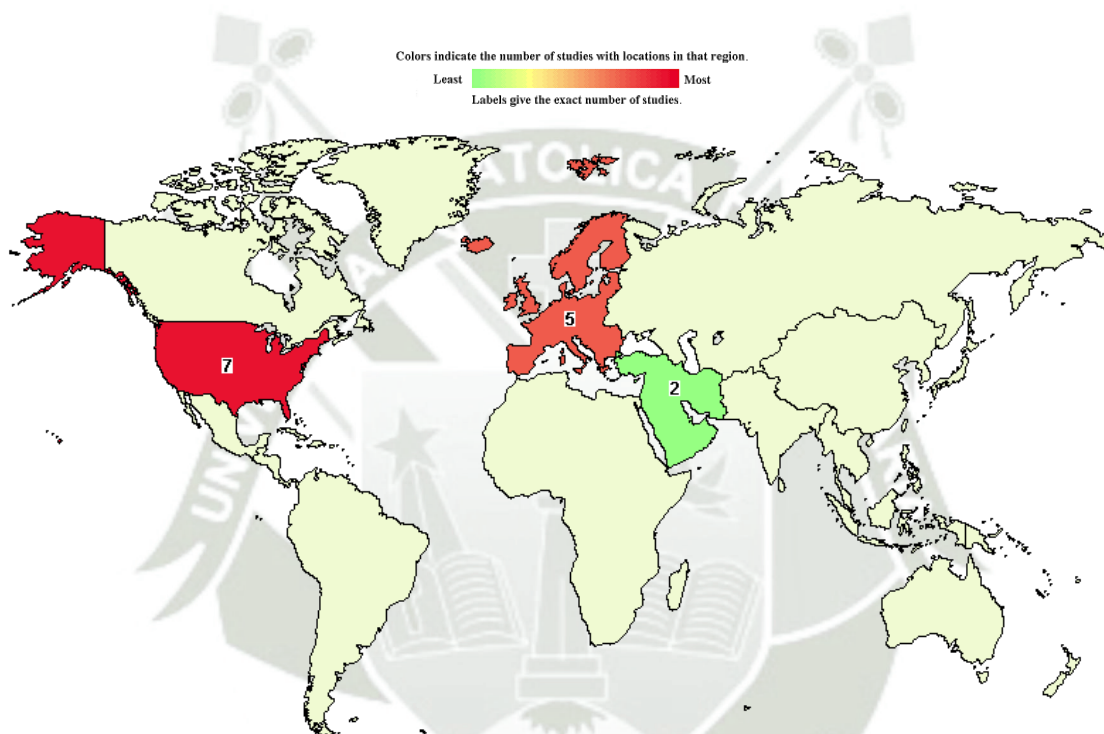


Figura 4. Análisis de estudios clínicos a nivel mundial sobre la aplicación de la quercetina contra diferentes tipos de cáncer. Fecha de acceso: 13/01/2022. Fuente: <https://ClinicalTrials.gov>

Así mismo las estrategias mostradas durante esta revisión indicaría el potencial que existen entre las nanoformulaciones y los flavonoides frente a enfermedades de difícil tratamiento como los diversos tipos de cancer estudiados. La quercetina en su forma nanoestructurada es

capaz de mejorar el direccionamiento de su actividad en células tumorales y en consecuencia muchos tratamientos exitosos pueden surgir desde esta perspectiva. El direccionamiento que algunas moléculas pueden tener mediante la conjugación de las superficies nanoestructuradas, es capaz de ampliar y acelerar la apoptosis de células dañinas, como fue evidenciado por otra investigación, quienes utilizaron anticuerpos monoclonales para un excelente direccionamiento hacia células tumorales de glioblastoma cerebral (167). Diversos sistemas de liberación controlada son reportados en la literatura, por lo que las condiciones de aplicabilidad dependerán de las condiciones a las que el compuesto bioactivo será sometido. La influencia de medios y la relación polimérica estarían involucrados en el tamaño y formación de las nanopartículas. Un cambio de pH y o de temperatura, pueden hacer que la liberación del compuesto activo sea más rápido o lento, inclusive, que la liberación no se realice.

Como sugerencia, próximas investigaciones podrían utilizar esta estrategia reemplazando los antibióticos y utilizando los flavonoides como molécula de carga y así evaluar la especificidad de los flavonoides en especial quercetina como nuevo fármaco contra cáncer.

9. CONCLUSIONES

La descripción de los avances de los últimos años basadas en flavonoides y su actividad frente a enfermedades oncológicas se realizó con la perspectiva de reconocer fuentes naturales como aditivos en formulados biotecnológicos. Los flavonoides poseen potencial actividad anticáncer demostrado lo largo de este manuscrito, y principalmente los

estudios se enfocaron hacia la QRT, quien demostró su efectividad y selectividad en estudios *in vitro*, *in vivo*, así como fase clínica. La QRT así como otros flavonoides logran reconocer y ser mas específicos a las células cancerígenas mediante un transporte dirigido por las nanopartículas, aumentandose drásticamente su biodisponibilidad, estabilidad y tiempo de vida media; por lo que se concluye que en los próximos años se tendrán nuevos fármacos (únicos o combinados) que incluirán muchos de los flavonoides para el tratamiento y prevención de varios tipos de cáncer. La nanotecnología se estudió y comparó con relación a las diferentes técnicas utilizadas para encapsular flavonoides y se concluyó que son excelentes sistemas de transporte bioactiva. Además, se diferenciaron las ventajas y desventajas de cada micro y nanosistema, concluyendo la viabilidad y su potencial actividad frente a moléculas inestables garantizando la entrega de fármacos. También se evaluaron las diferentes aplicaciones de los flavonoides que existen en los últimos años, y se realizó una profunda investigación basada en quercetina, evidenciando el potencial que esta molécula posee y los avances clínicos reportados en el mundo. Se describieron que los EROs poseen efectos negativos de los radicales libres y se propuso la eliminación de los mismos mediante el uso de antioxidantes naturales a partir de los flavonoides. Finalmente se detalló la efectividad de los flavonoides contra diferentes líneas celulares de cáncer, se propusieron estrategias de encapsulamiento y se detallaron las técnicas de análisis cuantitativo aceptados por las revistas más prestigiosas del mundo. Como perspectivas, se prevé que estudios basados en la aplicación de flavonoides pueden rediseñarse para ser aplicados de una forma sustancial, que permita la estabilidad de estos compuestos, pudiendo ser únicos o en combinación para generar diversos efectos sinérgicos o de terapia combinada para atacar los diferentes puntos de resistencia de los tipos de cáncer más resistentes al tratamiento convencional.

REFERENCIAS

1. Cecchelli R, Berezowski V, Lundquist S, Culot M, Renftel M, Dehouck MP, et al. Modelling of the blood - Brain barrier in drug discovery and development [Internet]. Vol. 6, Nature Reviews Drug Discovery. Nature Publishing Group; 2007 [cited 2020 Oct 6]. p. 650–61. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrd2368>
2. Roque-borda CA, da Silva PB, Rodrigues MC, Azevedo RB, Di Filippo L, Duarte JL, et al. Challenge in the discovery of new drugs: Antimicrobial peptides against who-list of critical and high-priority bacteria. *Pharmaceutics*. 2021;13(6).
3. Chauhan G, Madou MJ, Kalra S, Chopra V, Ghosh D, Martinez-Chapa SO. Nanotechnology for COVID-19: Therapeutics and Vaccine Research. *ACS Nano*. 2020.
4. Ezzati M, Yousefi B, Velaei K, Safa A. A review on anti-cancer properties of Quercetin in breast cancer. *Life Sci*. 2020 May 1;248:117463.
5. Singh R, De S, Belkheir A. Avena sativa (Oat), A Potential Nutraceutical and Therapeutic Agent: An Overview. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2013 Jan [cited 2020 Oct 16];53(2):126–44. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2010.526725>
6. Alshehri MM, Sharifi-Rad J, Herrera-Bravo J, Jara EL, Salazar LA, Kregiel D, et al. Therapeutic Potential of Isoflavones with an Emphasis on Daidzein. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021.
7. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview [Internet]. Vol. 94,

- Archives of Toxicology. Springer; 2020 [cited 2020 Jul 9]. p. 651–715. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
8. Tsao R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutr* 2010, Vol 2, Pages 1231-1246 [Internet]. 2010 Dec 10 [cited 2021 Dec 22];2(12):1231–46. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/2/12/1231/htm>
 9. Mariaca CJ, Zapata M, Uribe P. Oxidación y antioxidantes: hechos y controversias. *Oxidation and antioxidants: facts and controversies. Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2016;24:162–73.
 10. Kopustinskiene DM, Jakstas V, Savickas A, Bernatoniene J. Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutr* 2020, Vol 12, Page 457 [Internet]. 2020 Feb 12 [cited 2021 Dec 22];12(2):457. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/2/457/htm>
 11. Esfahani K, Roudaia L, Buhlaiga N, Del Rincon SV, Papneja N, Miller WH. A Review of Cancer Immunotherapy: From the Past, to the Present, to the Future. *Curr Oncol* [Internet]. 2020 Apr 1;27(12):87–97. Available from: <https://www.mdpi.com/1718-7729/27/12/5223>
 12. NIH NI of H. What Is Cancer? - National Cancer Institute [Internet]. [cited 2022 Jan 13]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
 13. Pierce GB, Wallace C. Differentiation of Malignant to Benign Cells. *Cancer Res.* 1971;31(2).
 14. Fidler MM, Bray F, Soerjomataram I. The global cancer burden and human development: A review. *Scand J Public Health* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2022 Jan 13];46(1):27–36.

Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1403494817715400>

15. Siegel RL, Miller KD, Sauer AG, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, et al. Colorectal cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2022 Jan 13];70(3):145–64. Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21601>
16. Rad AH, Aghebati-Maleki L, Kafil HS, Abbasi A. Molecular mechanisms of postbiotics in colorectal cancer prevention and treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2021 Jun 17 [cited 2022 Jan 13];61(11):1787–803. Available from:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2020.1765310>
17. Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019 1611 [Internet]. 2019 Sep 25 [cited 2022 Jan 13];16(11):690–704. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41575-019-0209-8>
18. Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -Catenin Signaling and Disease. *Cell* [Internet]. 2012 Jun;149(6):1192–205. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867412005867>
19. Ciardiello F, Tortora G. EGFR Antagonists in Cancer Treatment. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Mar 13;358(11):1160–74. Available from:
<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra0707704>
20. Fruman DA, Meyers RE, Cantley LC. PHOSPHOINOSITIDE KINASES. *Annu Rev Biochem* [Internet]. 1998 Jun;67(1):481–507. Available from:

<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.biochem.67.1.481>

21. Hilger RA, Scheulen ME, Strumberg D. The Ras-Raf-MEK-ERK Pathway in the Treatment of Cancer. *Oncol Res Treat* [Internet]. 2002;25(6):511–8. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/68621>
22. Levine AJ, Oren M. The first 30 years of p53: growing ever more complex. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2009 Oct;9(10):749–58. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrc2723>
23. Massagué J. TGF β in Cancer. *Cell* [Internet]. 2008 Jul;134(2):215–30. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867408008787>
24. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science* (80-) [Internet]. 2009 May 22;324(5930):1029–33. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1160809>
25. Ferrara N, Adamis AP. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2016 Jun 18;15(6):385–403. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrd.2015.17>
26. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*. 2011;144(5):646–74.
27. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human Breast Cancer: Correlation of Relapse and Survival with Amplification of the HER-2/ neu Oncogene. *Science* (80-) [Internet]. 1987 Jan 9;235(4785):177–82. Available from:

<https://www.science.org/doi/10.1126/science.3798106>

28. Anderson WF, Matsuno R. Breast Cancer Heterogeneity: A Mixture of At Least Two Main Types? JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2006 Jul 19;98(14):948–51. Available from: <http://academic.oup.com/jnci/article/98/14/948/2521748/Breast-Cancer-Heterogeneity-A-Mixture-of-At-Least>
29. Momenimovahed Z, Salehiniya H. <p>Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world</p>. Breast Cancer Targets Ther [Internet]. 2019 Apr 10 [cited 2022 Jan 25];11:151–64. Available from: <https://www.dovepress.com/epidemiological-characteristics-of-and-risk-factors-for-breast-cancer--peer-reviewed-fulltext-article-BCTT>
30. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. World J Oncol [Internet]. 2019 [cited 2022 Jan 25];10(2):63. Available from: [/pmc/articles/PMC6497009/](https://pmc/articles/PMC6497009/)
31. Tuli HS, Tuorkey MJ, Thakral F, Sak K, Kumar M, Sharma AK, et al. Molecular mechanisms of action of genistein in cancer: Recent advances. Front Pharmacol. 2019;10:1336.
32. Fang D, Xiong Z, Xu J, Yin J, Luo R. Chemopreventive mechanisms of galangin against hepatocellular carcinoma: A review. Biomed Pharmacother. 2019 Jan 1;109:2054–61.
33. Israels ED, Israels LG. The Cell Cycle. Stem Cells [Internet]. 2001 Jan 1 [cited 2022 Jan 14];19(1):88–91. Available from: <https://academic.oup.com/stmcls/article/19/1/88/6391281>
34. Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. Nat Rev

- Cancer 2017 172 [Internet]. 2017 Jan 27 [cited 2022 Jan 14];17(2):93–115. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrc.2016.138>
35. Tang SM, Deng XT, Zhou J, Li QP, Ge XX, Miao L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomed Pharmacother*. 2020 Jan 1;121:109604.
 36. Farooqi AA, Naureen H, Zahid R, Youssef L, Attar R, Xu B. Cancer chemopreventive role of fisetin: Regulation of cell signaling pathways in different cancers. *Pharmacol Res*. 2021 Oct 1;172:105784.
 37. Khan N, Afaq F, Khusro FH, Mustafa Adhami V, Suh Y, Mukhtar H. Dual inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and mammalian target of rapamycin signaling in human nonsmall cell lung cancer cells by a dietary flavonoid fisetin. *Int J Cancer* [Internet]. 2012 Apr 1 [cited 2022 Jan 25];130(7):1695–705. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.26178>
 38. Ruiz-Cruz S, Chaparro-Hernández S, Ruiz KLH, Cira-Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Ortega LEG, et al. Flavonoids: Important Biocompounds in Food. In: IntechOpen, editor. *Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health* [Internet]. InTech; 2017 [cited 2021 Dec 18]. p. 353–69. Available from: <https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=1dCPDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA353&dq=flavonoids+in+food&ots=xHhXwzSSi1&sig=KSLdJhq5WgzmnLLrbP0GKjfv6g>
 39. Jiang H, Fan J, Cheng L, Hu P, Liu R. The anticancer activity of genistein is increased in estrogen receptor beta 1-positive breast cancer cells. *Onco Targets Ther* [Internet]. 2018 [cited 2021 Dec 20];11:8153. Available from: [/pmc/articles/PMC6241715/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3411715/)

40. Shafiee G, Saidijam M, Tayebinia H, Khodadadi I. Beneficial effects of genistein in suppression of proliferation, inhibition of metastasis, and induction of apoptosis in PC3 prostate cancer cells. <https://doi.org/10.1080/1381345520201717541> [Internet]. 2020 [cited 2021 Dec 20]; Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13813455.2020.1717541>
41. Zhou P, Wang C, Hu Z, Chen W, Qi W, Li A. Genistein induces apoptosis of colon cancer cells by reversal of epithelial-to-mesenchymal via a Notch1/NF-KB/sluc/E-cadherin pathway. BMC Cancer [Internet]. 2017 Dec 4 [cited 2021 Dec 20];17(1):1–10. Available from: <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-017-3829-9>
42. Pintova S, Dharmupari S, Moshier E, Zubizarreta N, Ang C, Holcombe RF. Genistein combined with FOLFOX or FOLFOX–Bevacizumab for the treatment of metastatic colorectal cancer: phase I/II pilot study. Cancer Chemother Pharmacol 2019 843 [Internet]. 2019 Jun 15 [cited 2021 Dec 20];84(3):591–8. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00280-019-03886-3>
43. Sundaram MK, Ansari MZ, Al Mutery A, Ashraf M, Nasab R, Rai S, et al. Genistein Induces Alterations of Epigenetic Modulatory Signatures in Human Cervical Cancer Cells. Anticancer Agents Med Chem. 2018 Jun 11;18(3):412–21.
44. Gossner G, Choi M, Tan L, Fogoros S, Griffith KA, Kuenker M, et al. Genistein-induced apoptosis and autophagocytosis in ovarian cancer cells. Gynecol Oncol. 2007 Apr 1;105(1):23–30.
45. Lian F, Li Y, Bhuiyan M, Sarkar FH. p53-Independent Apoptosis Induced by Genistein in Lung Cancer Cells. <http://dx.doi.org/10.1207/S15327914NC330202> [Internet]. 2009 [cited

- 2021 Dec 20];33(2):125–31. Available from:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1207/S15327914NC330202>
46. Hsiao YC, Peng SF, Lai KC, Liao CL, Huang YP, Lin CC, et al. Genistein induces apoptosis in vitro and has antitumor activity against human leukemia HL-60 cancer cell xenograft growth in vivo. *Environ Toxicol* [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2021 Dec 20];34(4):443–56. Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/tox.22698>
47. Bi Y liang, Min M, Shen W, Liu Y. Genistein induced anticancer effects on pancreatic cancer cell lines involves mitochondrial apoptosis, G0/G1cell cycle arrest and regulation of STAT3 signalling pathway. *Phytomedicine*. 2018 Jan 15;39:10–6.
48. Imai-Sumida M, Dasgupta P, Kulkarni P, Shiina M, Hashimoto Y, Shahryari V, et al. Genistein represses HOTAIR/chromatin remodeling pathways to suppress kidney cancer. *Cell Physiol Biochem* [Internet]. 2020 [cited 2021 Dec 20];54(1):53. Available from:
[/pmc/articles/PMC7382546/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3382546/)
49. Park C, Cha HJ, Lee H, Hwang-Bo H, Ji SY, Kim MY, et al. Induction of G2/M Cell Cycle Arrest and Apoptosis by Genistein in Human Bladder Cancer T24 Cells through Inhibition of the ROS-Dependent PI3k/Akt Signal Transduction Pathway. *Antioxidants* 2019, Vol 8, Page 327 [Internet]. 2019 Aug 21 [cited 2021 Dec 20];8(9):327. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/8/9/327/htm>
50. Poschner S, Maier-Salamon A, Zehl M, Wackerlig J, Dobusch D, Pachmann B, et al. The Impacts of Genistein and Daidzein on Estrogen Conjugations in Human Breast Cancer Cells: A targeted metabolomics approach. *Front Pharmacol*. 2017 Oct 5;8(OCT):699.

51. Wang B, Xu H, Hu X, Ma W, Zhang J, Li Y, et al. Synergetic inhibition of daidzein and regular exercise on breast cancer in bearing-4T1 mice by regulating NK cells and apoptosis pathway. *Life Sci.* 2020 Mar 15;245:117387.
52. Gundogdu G, Dodurga Y, Cetin M, Secme M, Cicek B. The cytotoxic and genotoxic effects of daidzein on MIA PaCa-2 human pancreatic carcinoma cells and HT-29 human colon cancer cells. <https://doi.org/10.1080/0148054520181527849> [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2021 Dec 20];43(6):581–7. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01480545.2018.1527849>
53. Salama AAA, Allam RM. Promising targets of chrysin and daidzein in colorectal cancer: Amphiregulin, CXCL1, and MMP-9. *Eur J Pharmacol.* 2021 Feb 5;892:173763.
54. Hua F, Li CH, Chen XG, Liu XP. Daidzein exerts anticancer activity towards SKOV3 human ovarian cancer cells by inducing apoptosis and cell cycle arrest, and inhibiting the Raf/MEK/ERK cascade. *Int J Mol Med* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2021 Dec 20];41(6):3485–92. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijmm.2018.3531/abstract>
55. Guo S, Wang Y, Li Y, Li Y, Feng C, Li Z. Daidzein-rich isoflavones aglycone inhibits lung cancer growth through inhibition of NF- κ B signaling pathway. *Immunol Lett.* 2020 Jun 1;222:67–72.
56. Zarebczan B, Pinchot SN, Kunnimalaiyaan M, Chen H. Hesperetin, a potential therapy for carcinoid cancer. *Am J Surg.* 2011 Mar 1;201(3):329–33.
57. Ferreira de Oliveira JMP, Santos C, Fernandes E. Therapeutic potential of hesperidin and

- its aglycone hesperetin: Cell cycle regulation and apoptosis induction in cancer models. *Phytomedicine*. 2020 Jul 15;73:152887.
58. Wang R, Wang J, Dong T, Shen J, Gao X, Zhou J. Naringenin has a chemoprotective effect in MDA-MB-231 breast cancer cells via inhibition of caspase-3 and -9 activities. *Oncol Lett* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2021 Dec 20];17(1):1217–22. Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2018.9704/abstract>
59. Memariani Z, Abbas SQ, ul Hassan SS, Ahmadi A, Chabra A. Naringin and naringenin as anticancer agents and adjuvants in cancer combination therapy: Efficacy and molecular mechanisms of action, a comprehensive narrative review. *Pharmacol Res*. 2021 Sep 1;171:105264.
60. Lee J, Kim DH, Kim JH. Combined administration of naringenin and hesperetin with optimal ratio maximizes the anti-cancer effect in human pancreatic cancer via down regulation of FAK and p38 signaling pathway. *Phytomedicine*. 2019 May 1;58:152762.
61. Chen L, Guo Y, Wu Z, Zhao S, Zhang Z, Zheng F, et al. Epicatechin gallate prevents the de novo synthesis of fatty acid and the migration of prostate cancer cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* [Internet]. 2021 Dec 8 [cited 2021 Dec 22];53(12):1662–9. Available from: <https://academic.oup.com/abbs/article/53/12/1662/6414502>
62. Mashhadi Akbar Boojar M. A study on the targeting of ceramide metabolism by (-)-epicatechin gallate, catechin and quercetin in A-549 lung cancer cell line. *Nov Biol Reper* [Internet]. 2019 Oct 1;6(3):275–83. Available from: <http://nbr.khu.ac.ir/article-1-2764-en.html>

63. Kuban-Jankowska A, Kostrzewa T, Musial C, Barone G, Lo-Bosco G, Lo-Celso F, et al. Green Tea Catechins Induce Inhibition of PTP1B Phosphatase in Breast Cancer Cells with Potent Anti-Cancer Properties: In Vitro Assay, Molecular Docking, and Dynamics Studies. *Antioxidants* 2020, Vol 9, Page 1208 [Internet]. 2020 Nov 30 [cited 2021 Dec 22];9(12):1208. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/12/1208/htm>
64. Sinha D, Biswas J, Nabavi SM, Bishayee A. Tea phytochemicals for breast cancer prevention and intervention: From bench to bedside and beyond. *Semin Cancer Biol.* 2017 Oct 1;46:33–54.
65. Aggarwal V, Tuli HS, Tania M, Srivastava S, Ritzer EE, Pandey A, et al. Molecular mechanisms of action of epigallocatechin gallate in cancer: Recent trends and advancement. *Semin Cancer Biol.* 2020 May 24;
66. Sporn MB, Liby KT. NRF2 and cancer: the good, the bad and the importance of context. *Nat Rev Cancer* 2012 128 [Internet]. 2012 Jul 19 [cited 2021 Dec 22];12(8):564–71. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrc3278>
67. Zimta AA, Cenariu D, Irimie A, Magdo L, Nabavi SM, Atanasov AG, et al. The Role of Nrf2 Activity in Cancer Development and Progression. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2021 Dec 22];11(11). Available from: [/pmc/articles/PMC6896028/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3406028/)
68. Vleugel MM, Greijer AE, Bos R, van der Wall E, van Diest PJ. c-Jun activation is associated with proliferation and angiogenesis in invasive breast cancer. *Hum Pathol.* 2006 Jun 1;37(6):668–74.
69. Schulman H. *Intracellular Signaling. Fundam Neurosci* Fourth Ed. 2013 Jan 1;189–209.

70. Roque-Borda CA, Schneider A, Deladino L. Assessment of antioxidant activity and total polyphenol in avena sativa from arequipa city. *VÉRITAS*. 2017;16(2015):79–82.
71. Shafabakhsh R, Asemi Z. Quercetin: A natural compound for ovarian cancer treatment. *J Ovarian Res* [Internet]. 2019 Jun 15 [cited 2021 Dec 22];12(1):1–9. Available from: <https://link.springer.com/articles/10.1186/s13048-019-0530-4>
72. Han X, Liu CF, Gao N, Zhao J, Xu J. Kaempferol suppresses proliferation but increases apoptosis and autophagy by up-regulating microRNA-340 in human lung cancer cells. *Biomed Pharmacother*. 2018 Dec 1;108:809–16.
73. Da J, Xu M, Wang Y, Li W, Lu M, Wang Z. Kaempferol promotes apoptosis while inhibiting cell proliferation via androgen-dependent pathway and suppressing vasculogenic mimicry and invasion in prostate cancer. *Anal Cell Pathol*. 2019;2019.
74. Wu P, Meng X, Zheng H, Zeng Q, Chen T, Wang W, et al. Kaempferol Attenuates ROS-Induced Hemolysis and the Molecular Mechanism of Its Induction of Apoptosis on Bladder Cancer. *Mol* 2018, Vol 23, Page 2592 [Internet]. 2018 Oct 10 [cited 2021 Dec 22];23(10):2592. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/10/2592/htm>
75. Kim TW, Lee SY, Kim M, Cheon C, Ko SG. Kaempferol induces autophagic cell death via IRE1-JNK-CHOP pathway and inhibition of G9a in gastric cancer cells. *Cell Death Dis* 2018 99 [Internet]. 2018 Aug 29 [cited 2021 Dec 22];9(9):1–14. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41419-018-0930-1>
76. Wang X, Yang Y, An Y, Fang G. The mechanism of anticancer action and potential clinical use of kaempferol in the treatment of breast cancer. *Biomed Pharmacother*. 2019

Sep 1;117:109086.

77. Budisan L, Gulei D, Jurj A, Braicu C, Zanoaga O, Cojocneanu R, et al. Inhibitory Effect of CAPE and Kaempferol in Colon Cancer Cell Lines—Possible Implications in New Therapeutic Strategies. *Int J Mol Sci* 2019, Vol 20, Page 1199 [Internet]. 2019 Mar 9 [cited 2021 Dec 22];20(5):1199. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/5/1199/htm>
78. Crocetto F, Di Zazzo E, Buonerba C, Aveta A, Pandolfo SD, Barone B, et al. Kaempferol, Myricetin and Fisetin in Prostate and Bladder Cancer: A Systematic Review of the Literature. *Nutr* 2021, Vol 13, Page 3750 [Internet]. 2021 Oct 23 [cited 2021 Dec 22];13(11):3750. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/11/3750/htm>
79. Ci Y, Zhang Y, Liu Y, Lu S, Cao J, Li H, et al. Myricetin suppresses breast cancer metastasis through down-regulating the activity of matrix metalloproteinase (MMP)-2/9. *Phyther Res* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2022 Jan 8];32(7):1373–81. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ptr.6071>
80. Knickle A, Fernando W, Greenshields AL, Rupasinghe HPV, Hoskin DW. Myricetin-induced apoptosis of triple-negative breast cancer cells is mediated by the iron-dependent generation of reactive oxygen species from hydrogen peroxide. *Food Chem Toxicol*. 2018 Aug 1;118:154–67.
81. Ye C, Zhang C, Huang H, Yang B, Xiao G, Kong D, et al. The Natural Compound Myricetin Effectively Represses the Malignant Progression of Prostate Cancer by Inhibiting PIM1 and Disrupting the PIM1/CXCR4 Interaction. *Cell Physiol Biochem* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2022 Jan 8];48(3):1230–44. Available from:

<https://www.karger.com/Article/FullText/492009>

82. Ma L, Cao X, Wang H, Lu K, Wang Y, Tu C, et al. Discovery of Myricetin as a Potent Inhibitor of Human Flap Endonuclease 1, Which Potentially Can Be Used as Sensitizing Agent against HT-29 Human Colon Cancer Cells. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2019 [cited 2022 Jan 8]; Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.8b05447>
83. Hu J, Zhang Y, Jiang X, Zhang H, Gao Z, Li Y, et al. ROS-mediated activation and mitochondrial translocation of CaMKII contributes to Drp1-dependent mitochondrial fission and apoptosis in triple-negative breast cancer cells by isorhamnetin and chloroquine. *J Exp Clin Cancer Res* [Internet]. 2019 May 28 [cited 2022 Jan 8];38(1):1–16. Available from: <https://link.springer.com/articles/10.1186/s13046-019-1201-4>
84. Wang JL, Quan Q, Ji R, Guo XY, Zhang JM, Li X, et al. Isorhamnetin suppresses PANC-1 pancreatic cancer cell proliferation through S phase arrest. *Biomed Pharmacother*. 2018 Dec 1;108:925–33.
85. Park C, Cha HJ, Choi EO, Lee H, Hwang-Bo H, Ji SY, et al. Isorhamnetin Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis Via Reactive Oxygen Species-Mediated AMP-Activated Protein Kinase Signaling Pathway Activation in Human Bladder Cancer Cells. *Cancers* 2019, Vol 11, Page 1494 [Internet]. 2019 Oct 4 [cited 2022 Jan 8];11(10):1494. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/10/1494/htm>
86. Antunes-Ricardo M, Hernández-Reyes A, Uscanga-Palomeque AC, Rodríguez-Padilla C, Martínez-Torres AC, Gutiérrez-Urbe JA. Isorhamnetin glycoside isolated from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill induces apoptosis in human colon cancer cells through mitochondrial damage. *Chem Biol Interact*. 2019 Sep 1;310:108734.

87. Suh Y, Afaq F, Khan N, Johnson JJ, Khusro FH, Mukhtar H. Fisetin induces autophagic cell death through suppression of mTOR signaling pathway in prostate cancer cells. *Carcinogenesis* [Internet]. 2010 Aug 1 [cited 2022 Jan 25];31(8):1424–33. Available from: <https://academic.oup.com/carcin/article/31/8/1424/2477316>
88. Lall RK, Adhami VM, Mukhtar H. Dietary flavonoid fisetin for cancer prevention and treatment. *Mol Nutr Food Res* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2022 Apr 28];60(6):1396–405. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mnfr.201600025>
89. Gwak J, Oh J, Cho M, Bae SK, Song IS, Liu KH, et al. Galangin Suppresses the Proliferation of β -Catenin Response Transcription-Positive Cancer Cells by Promoting Adenomatous Polyposis Coli/Axin/Glycogen Synthase Kinase-3 β -Independent β -Catenin Degradation. *Mol Pharmacol* [Internet]. 2011 Jun 1 [cited 2022 May 3];79(6):1014–22. Available from: <https://molpharm.aspetjournals.org/content/79/6/1014>
90. Ahmed SA, Parama D, Daimari E, Girisa S, Banik K, Harsha C, et al. Rationalizing the therapeutic potential of apigenin against cancer. *Life Sci* [Internet]. 2021 Feb;267:118814. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320520315678>
91. Zhong X, Liu D, Jiang Z, Li C, Chen L, Xia Y, et al. Chrysin Induced Cell Apoptosis and Inhibited Invasion Through Regulation of TET1 Expression in Gastric Cancer Cells. *Onco Targets Ther* [Internet]. 2020 Apr;Volume 13:3277–87. Available from: <https://www.dovepress.com/chrysin-induced-cell-apoptosis-and-inhibited-invasion-through-regulati-peer-reviewed-article-OTT>
92. Iida K, Naiki T, Naiki-Ito A, Suzuki S, Kato H, Nozaki S, et al. Luteolin suppresses bladder cancer growth via regulation of mechanistic target of rapamycin pathway. *Cancer*

- Sci [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 May 6];111(4):1165–79. Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cas.14334>
93. Raza W, Luqman S, Meena A. Prospects of tangeretin as a modulator of cancer targets/pathways. *Pharmacol Res* [Internet]. 2020 Nov;161:105202. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661820315103>
94. Chen PN, Chu SC, Chiou HL, Kuo WH, Chiang CL, Hsieh YS. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. *Cancer Lett* [Internet]. 2006 Apr;235(2):248–59. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304383505004647>
95. Cvorovic J, Tramer F, Granzotto M, Candussio L, Decorti G, Passamonti S. Oxidative stress-based cytotoxicity of delphinidin and cyanidin in colon cancer cells. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2010 Sep;501(1):151–7. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003986110001864>
96. Kamenickova A, Anzenbacherova E, Pavek P, Soshilov AA, Denison MS, Anzenbacher P, et al. Pelargonidin activates the AhR and induces CYP1A1 in primary human hepatocytes and human cancer cell lines HepG2 and LS174T. *Toxicol Lett* [Internet]. 2013 Apr;218(3):253–9. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427413000428>
97. Vaiyapuri M, Thimmarayan S, Dhupal M, Rallabandi HR, Mekapogu M, Vasamsetti BMK, et al. Pelargonidin, a Dietary Anthocyanidin in the Prevention of Colorectal Cancer and Its Chemoprotective Mechanisms. In: *Plant-derived Bioactives* [Internet]. Singapore:

- Springer Singapore; 2020. p. 119–35. Available from:
http://link.springer.com/10.1007/978-981-15-2361-8_6
98. Ho ML, Chen PN, Chu SC, Kuo DY, Kuo WH, Chen JY, et al. Peonidin 3-Glucoside Inhibits Lung Cancer Metastasis by Downregulation of Proteinases Activities and MAPK Pathway. *Nutr Cancer* [Internet]. 2010 Apr 28;62(4):505–16. Available from:
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01635580903441261>
99. Li L, Adams LS, Chen S, Killian C, Ahmed A, Seeram NP. inclusion Breast Cancer but Not Non-Tumorigenic Breast Cells. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2009 Feb 11;57(3):826–31. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf803407q>
100. Park MY, Kim JM, Kim JS, Choung MG, Sung MK. Chemopreventive Action of Anthocyanin-rich Black Soybean Fraction in APC Min/ + Intestinal Polyposis Model. *J Cancer Prev* [Internet]. 2015 Sep 30;20(3):193–201. Available from:
<http://www.jcpjournal.org/journal/view.html?doi=10.15430/JCP.2015.20.3.193>
101. Oliveira RN, Mancini MC, de Oliveira FCS, Passos TM, Quilty B, Thiré RM da SM, et al. Análise por FTIR e quantificação de fenóis e flavonóides de cinco produtos naturais disponíveis comercialmente utilizados no tratamento de feridas. *Rev Mater* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2020 Oct 21];21(3):767–79. Available from:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-70762016000300767&lng=en&nrm=iso&tlng=en
102. Borda CAR, Medina CKA, Silveira RF, Mac-Lean PAB, Souza AV de, Putti FF, et al. COMPARATIVE ACTIVITY OF TOTAL POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT

COMPOUNDS FROM UNCARIA TOMENTOSA ENHANCED WITH CITRIC ACID.

Rev Bras Eng Biosistemas [Internet]. 2021 Apr 20 [cited 2022 Jan 25];15(1):69–89.

Available from: <https://seer.tupa.unesp.br/index.php/BIOENG/article/view/986>

103. Sirivibulkovit K, Nouanthavong S, Sameenoi Y. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. Anal Sci. 2018 Jul 10;34(7):795–800.
104. Romulo A. The Principle of Some In vitro Antioxidant Activity Methods: Review. IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2022 Jan 25];426(1):012177. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/426/1/012177>
105. Habu JB, Ibeh BO. In vitro antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of active metabolite constituents of Newbouldia laevis ethanolic leaf extract. Biol Res [Internet]. 2015 [cited 2022 Jan 25];48:1–10. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-97602015000100016&lng=es&nrm=iso&tlng=en
106. Nenadis N, Wang LF, Tsimidou M, Zhang HY. Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS •+ Assay. J Agric Food Chem [Internet]. 2004 Jul 1;52(15):4669–74. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0400056>
107. Granato D, Shahidi F, Wrolstad R, Kilmartin P, Melton LD, Hidalgo FJ, et al. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? Food Chem. 2018 Oct 30;264:471–5.
108. Dang J, Chen C, Ma J, Dawa YZ, Wang Q, Tao Y, et al. Preparative isolation of highly polar free radical inhibitor from Floccularia luteovirens using hydrophilic interaction

- chromatography directed by on-line HPLC-DPPH assay. J Chromatogr B. 2020 Apr 1;1142:122043.
109. Orsini F, Vovk I, Glavnik V, Jug U, Corradini D. HPTLC, HPTLC-MS/MS and HPTLC-DPPH methods for analyses of flavonoids and their antioxidant activity in *Cyclanthera pedata* leaves, fruits and dietary supplement.
<https://doi.org/101080/1082607620191585630> [Internet]. 2019 Jun 15 [cited 2022 Jan 25];42(9–10):290–301. Available from:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10826076.2019.1585630>
 110. Kassim NK, Lim PC, Ismail A, Awang K. Isolation of antioxidative compounds from *Micromelum minutum* guided by preparative thin layer chromatography-2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (PTLC-DPPH) bioautography method. Food Chem. 2019 Jan 30;272:185–91.
 111. Qin Y, Chen L, Jin J, Huang J, Li J, Zhou Q, et al. Screening and Identification of Antioxidants from *Ophiocordyceps xuefengensis* (Ascomycetes) by Using DPPH-HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS. Int J Med Mushrooms [Internet]. 2018 [cited 2022 Jan 25];20(9):887–99. Available from:
<https://www.dl.begellhouse.com/journals/708ae68d64b17c52,3684fa5d17d87660,26b39ad2663b1301.html>
 112. Sinan KI, Mahomoodally MF, Eyupoglu OE, Etienne OK, Sadeer NB, Ak G, et al. HPLC-FRAP methodology and biological activities of different stem bark extracts of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. J Pharm Biomed Anal. 2021 Jan 5;192:113678.
 113. Qian ZM, Fang BW, Chen HM, Li CH, Huang Q, Chen L, et al. Online Liquid

- Microextraction Coupled with HPLC-ABTS for Rapid Screening of Natural Antioxidants: Case Study of Three Different Teas. *J Chromatogr Sci* [Internet]. 2020 Sep 29 [cited 2022 Jan 25];58(9):875–9. Available from: <https://academic.oup.com/chromsci/article/58/9/875/5891973>
114. Samak YO, Santhanes D, El-Massik MA, Coombes AGA. Formulation strategies for achieving high delivery efficiency of thymoquinone-containing *Nigella sativa* extract to the colon based on oral alginate microcapsules for treatment of inflammatory bowel disease. *J Microencapsul* [Internet]. 2019 Feb 17 [cited 2020 Nov 26];36(2):204–14. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02652048.2019.1620356>
 115. Roque-Borda CA, Silva HRL, Crusca Junior E, Serafim JA, Meneguín AB, Chorilli M, et al. Alginate-based microparticles coated with HPMCP/AS cellulose-derivatives enable the Ctx(Ile21)-Ha antimicrobial peptide application as a feed additive. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2021 Jul;183:1236–47. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.03.16.435719v1>
 116. Bagheri R, Ariaii P, Motamedzadegan A. Characterization, antioxidant and antibacterial activities of chitosan nanoparticles loaded with nettle essential oil. *J Food Meas Charact* 2020 152 [Internet]. 2020 Nov 12 [cited 2022 Jan 11];15(2):1395–402. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11694-020-00738-0>
 117. Roque-Borda C, Saraiva M de MS, Macedo WC, Montesinos JM, Meneguín A, Almeida A de, et al. Development of an oral feed additive against intestinal infections based on microparticles; systems loaded with Ctx(Ile21)-Ha peptide coated with HPMCAS/Chitosan. *Proc 7th Int Electron Conf Med Chem* [Internet]. 2021 Nov 3 [cited

- 2022 Jan 25];11574. Available from: <https://sciforum.net/paper/view/11574>
118. Borrmann D, Pierucci APTR, Leite SGF, Leão MHMDR. Microencapsulation of passion fruit (*Passiflora*) juice with n-octenylsuccinate-derivatised starch using spray-drying. *Food Bioprod Process*. 2013 Jan 1;91(1):23–7.
119. Arshady R. Microcapsules for food. *J Microencapsul* [Internet]. 1993 [cited 2021 Jan 24];10(4):413–35. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/02652049309015320>
120. Zhang H. Thin-film hydration followed by extrusion method for liposome preparation. In: *Methods in Molecular Biology*. 2017.
121. Felix da Silva Barbosa R, Gabrieli de Souza A, Rangari V, Rosa D dos S. The influence of PBAT content in the nanocapsules preparation and its effect in essential oils release. *Food Chem*. 2021 May 15;344:128611.
122. Jyothi NVN, Prasanna PM, Sakarkar SN, Prabha KS, Ramaiah PS, Srawan GY. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency [Internet]. Vol. 27, *Journal of Microencapsulation*. Taylor & Francis; 2010 [cited 2020 Oct 21]. p. 187–97. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/02652040903131301>
123. de Vos P, Faas MM, Spasojevic M, Sikkema J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *Int Dairy J*. 2010 Apr 1;20(4):292–302.
124. Roque-Borda CA, Pereira LP, Guastalli EAL, Soares NM, Mac-Lean PAB, Salgado DD,

- et al. HPMCP-Coated Microcapsules Containing the Ctx(Ile21)-Ha Antimicrobial Peptide Reduce the Mortality Rate Caused by Resistant Salmonella Enteritidis in Laying Hens. Antibiotics [Internet]. 2021 May 21 [cited 2021 Jun 12];10(6):616. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/6/616>
125. Roque-Borda CA, Souza Saraiva M de M, Monte DFM, Rodrigues Alves LB, de Almeida AM, Ferreira TS, et al. HPMCAS-Coated Alginate Microparticles Loaded with Ctx(Ile 21)-Ha as a Promising Antimicrobial Agent against Salmonella Enteritidis in a Chicken Infection Model. ACS Infect Dis [Internet]. 2022 Mar 11 [cited 2022 Mar 4];8(3):472–81. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsinfecdis.1c00264>
 126. Aree T. β -Cyclodextrin encapsulation of nortriptyline HCl and amitriptyline HCl: Molecular insights from single-crystal X-ray diffraction and DFT calculation. Int J Pharm. 2020 Feb 15;575:118899.
 127. Jeong D, Kang C, Jung E, Yoo D, Wu D, Lee D. Porous antioxidant polymer microparticles as therapeutic systems for the airway inflammatory diseases. J Control Release [Internet]. 2016 Jul;233:72–80. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016836591630253X>
 128. Basanta MF, Marin A, De Leo SA, Gerschenson LN, Erlejman AG, Tomás-Barberán FA, et al. Antioxidant Japanese plum (*Prunus salicina*) microparticles with potential for food preservation. J Funct Foods [Internet]. 2016 Jun;24:287–96. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464616300706>
 129. Savic Gajic IM, Savic IM, Skrba M, Dosić A, Vujadinovic D. Food additive based on the encapsulated pot marigold (*Calendula officinalis* L.) flowers extract in calcium alginate

- microparticles. *J Food Process Preserv* [Internet]. 2022 Oct 2;46(10). Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.15792>
130. Paulo F, Tavares L, Santos L. Olive Mill Pomace Extract Loaded Ethylcellulose Microparticles as a Delivery System to Improve Olive Oils Oxidative Stability. *Resources* [Internet]. 2023 Jan 3;12(1):6. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-9276/12/1/6>
 131. de Souza HKS, Fagundes-Klen MR, Fiorese ML, Triques CC, da Silva LC, Canan C, et al. Microencapsulation of Porcine Liver Hydrolysate by Spray Drying and Freeze-Drying with Different Carrier Agents. *Waste and Biomass Valorization* [Internet]. 2023 Nov 1; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s12649-023-02304-3>
 132. Huang X, Dai Y, Cai J, Zhong N, Xiao H, McClements DJ, et al. Resveratrol encapsulation in core-shell biopolymer nanoparticles: Impact on antioxidant and anticancer activities. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2017 Mar;64:157–65. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X16306178>
 133. Shetta A, Kegere J, Mamdouh W. Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2019 Apr;126:731–42. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014181301832782X>
 134. Pontes-Quero GM, Benito-Garzón L, Pérez Cano J, Aguilar MR, Vázquez-Lasa B. Amphiphilic polymeric nanoparticles encapsulating curcumin: Antioxidant, anti-inflammatory and biocompatibility studies. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2021 Feb;121:111793. Available from:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493120337127>

135. Zhang F, Khan MA, Cheng H, Liang L. Co-encapsulation of α -tocopherol and resveratrol within zein nanoparticles: Impact on antioxidant activity and stability. J Food Eng [Internet]. 2019 Apr;247:9–18. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026087741830503X>
136. Oliveira ÉR, Fernandes RVB, Botrel DA, Carmo EL, Borges S V., Queiroz F. Study of Different Wall Matrix Biopolymers on the Properties of Spray-Dried Pequi Oil and on the Stability of Bioactive Compounds. Food Bioprocess Technol [Internet]. 2018 Mar 16;11(3):660–79. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11947-017-2027-8>
137. Rezaei A, Nasirpour A. Encapsulation of curcumin using electrospun almond gum nanofibers: fabrication and characterization. Int J Food Prop [Internet]. 2018 Jan 1;21(1):1608–18. Available from:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2018.1503300>
138. Pereira MC, Oliveira DA, Hill LE, Zambiasi RC, Borges CD, Vizzotto M, et al. Effect of nanoencapsulation using PLGA on antioxidant and antimicrobial activities of guabiroba fruit phenolic extract. Food Chem [Internet]. 2018 Feb;240:396–404. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617312992>
139. Stănciuc N, Turturică M, Oancea AM, Barbu V, Ioniță E, Aprodu I, et al. Microencapsulation of Anthocyanins from Grape Skins by Whey Protein Isolates and Different Polymers. Food Bioprocess Technol [Internet]. 2017 Sep 20;10(9):1715–26. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11947-017-1938-8>

140. Huang J, Wang Q, Li T, Xia N, Xia Q. Nanostructured lipid carrier (NLC) as a strategy for encapsulation of quercetin and linseed oil: Preparation and in vitro characterization studies. *J Food Eng* [Internet]. 2017 Dec;215:1–12. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877417302856>

141. Hao J, Guo B, Yu S, Zhang W, Zhang D, Wang J, et al. Encapsulation of the flavonoid quercetin with chitosan-coated nano-liposomes. *LWT - Food Sci Technol* [Internet]. 2017 Nov;85:37–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643817304528>

142. Pinto F, de Barros DPC, Fonseca LP. Design of multifunctional nanostructured lipid carriers enriched with α -tocopherol using vegetable oils. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2018 Aug;118:149–59. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669018302656>

143. Wu G, Li J, Yue J, Zhang S, Yunusi K. Liposome encapsulated luteolin showed enhanced antitumor efficacy to colorectal carcinoma. *Mol Med Rep* [Internet]. 2017 Nov 29; Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2017.8185>

144. Kyriakoudi A, Tsimidou MZ. Properties of encapsulated saffron extracts in maltodextrin using the Büchi B-90 nano spray-dryer. *Food Chem* [Internet]. 2018 Nov;266:458–65. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814618310094>

145. Coelho SC, Giron A, Rocha F, Estevinho BN. Electrosprayed B-complex vitamins/zein microparticles for drug sustained release and antioxidant applications. *J Chem Technol Biotechnol* [Internet]. 2023 Oct 27; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jctb.7526>

146. Cassano R, Curcio F, Sole R, Trombino S. Transdermal Delivery of Phloretin by Gallic Acid Microparticles. *Gels* [Internet]. 2023 Mar 15;9(3):226. Available from: <https://www.mdpi.com/2310-2861/9/3/226>
147. Ye Q, Georges N, Selomulya C. Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. Vol. 78, *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd; 2018. p. 167–79.
148. Shishir MRI, Xie L, Sun C, Zheng X, Chen W. Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2020 Dec 9];78:34–60. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092422441730777X>
149. Bratovcic A, Suljagic J. Micro- and nano-encapsulation in food industry. *Croat J food Sci Technol*. 2019 May 31;11(1):113–21.
150. Wang Z, Ma Y, Jiang Y, Zhou F, Wu Y, Jiang H, et al. Encapsulating quercetin in cyclodextrin-metal-organic frameworks improved its solubility and bioavailability. *J Sci Food Agric* [Internet]. 2021 Dec 24 [cited 2022 Jan 13]; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.11738>
151. Kumar D, Gautam A, Kundu PP. Synthesis of pH-sensitive grafted psyllium: Encapsulation of quercetin for colon cancer treatment. *J Appl Polym Sci* [Internet]. 2022 Jan 20 [cited 2022 Jan 8];139(4):51552. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/app.51552>
152. Alhakamy NA, Fahmy UA, Eldin SMB, Ahmed OAA, Aldawsari HM, Okbazghi SZ, et

- al. Scorpion Venom-Functionalized Quercetin Phytosomes for Breast Cancer Management: In Vitro Response Surface Optimization and Anticancer Activity against MCF-7 Cells. *Polym* 2022, Vol 14, Page 93 [Internet]. 2021 Dec 27 [cited 2022 Jan 8];14(1):93. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/1/93/html>
153. Liu G, Hu M, Du X, Yan S, Liao Y, Zhang S, et al. Effects of succinylation and chitosan assembly at the interface layer on the stability and digestion characteristics of soy protein isolate-stabilized quercetin emulsions. *LWT*. 2022 Jan 15;154:112812.
154. Du X, Hu M, Liu G, Qi B, Zhou S, Lu K, et al. Development and evaluation of delivery systems for quercetin: A comparative study between coarse emulsion, nano-emulsion, high internal phase emulsion, and emulsion gel. *J Food Eng*. 2022 Feb 1;314:110784.
155. Mohammed HA, Sulaiman GM, Anwar SS, Tawfeeq AT, Khan RA, Mohammed SAA, et al. Quercetin against MCF7 and CAL51 breast cancer cell lines: apoptosis, gene expression and cytotoxicity of nano-quercetin. <https://doi.org/10.2217/nnm-2021-0070> [Internet]. 2021 Aug 25 [cited 2022 Jan 12];16(22):1937–61. Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/nnm-2021-0070>
156. Colpan RD, Erdemir A. Co-delivery of quercetin and caffeic-acid phenethyl ester by polymeric nanoparticles for improved antitumor efficacy in colon cancer cells. <https://doi.org/10.1080/0265204820211948623> [Internet]. 2021 [cited 2022 Jan 12];38(6):381–93. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02652048.2021.1948623>
157. Samadi A, Pourmadadi M, Yazdian F, Rashedi H, Navaei-Nigjeh M, Eufrazio-da-silva T. Ameliorating quercetin constraints in cancer therapy with pH-responsive agarose-

- polyvinylpyrrolidone -hydroxyapatite nanocomposite encapsulated in double nanoemulsion. *Int J Biol Macromol.* 2021 Jul 1;182:11–25.
158. Thakur NS, Mandal N, Patel G, Kirar S, Reddy YN, Kushwah V, et al. Co-administration of zinc phthalocyanine and quercetin via hybrid nanoparticles for augmented photodynamic therapy. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med.* 2021 Apr 1;33:102368.
 159. Selvaraj S, Shanmugasundaram S, Maruthamuthu M, Venkidasamy B, Shanmugasundaram S. Facile Synthesis and Characterization of Quercetin-Loaded Alginate Nanoparticles for Enhanced In Vitro Anticancer Effect Against Human Leukemic Cancer U937 Cells. *J Clust Sci* 2020 326 [Internet]. 2020 Oct 19 [cited 2022 Jan 12];32(6):1507–18. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10876-020-01913-5>
 160. Ganthala PD, Alavala S, Chella N, Andugulapati SB, Bathini NB, Sistla R. Co-encapsulated nanoparticles of Erlotinib and Quercetin for targeting lung cancer through nuclear EGFR and PI3K/AKT inhibition. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2022 Jan 12];211:112305. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776521007517>
 161. Elsayed AM, Sherif NM, Hassan NS, Althobaiti F, Hanafy NAN, Sahyon HA. Novel quercetin encapsulated chitosan functionalized copper oxide nanoparticles as anti-breast cancer agent via regulating p53 in rat model. *Int J Biol Macromol.* 2021 Aug 31;185:134–52.
 162. Ahmadi M, Pourmadadi M, Ghorbanian SA, Yazdian F, Rashedi H. Ultra pH-sensitive nanocarrier based on Fe₂O₃/chitosan/montmorillonite for quercetin delivery. *Int J Biol*

- Macromol. 2021 Nov 30;191:738–45.
163. Moon H, Lertpatipanpong P, Hong Y, Kim CT, Baek SJ. Nano-encapsulated quercetin by soluble soybean polysaccharide/chitosan enhances anti-cancer, anti-inflammation, and anti-oxidant activities. *J Funct Foods*. 2021 Dec 1;87:104756.
 164. Ceramella J, Groo AC, Iacopetta D, Séguy L, Mariconda A, Puoci F, et al. A winning strategy to improve the anticancer properties of Cisplatin and Quercetin based on the nanoemulsions formulation. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021 Dec 1;66:102907.
 165. Vaghasiya K, Ray E, Sharma A, Singh R, Jadhav K, Khan R, et al. Systematic development and optimization of spray-dried Quercetin-HP- β -cyclodextrin microparticles for DPI-based therapy of lung cancer. *J Mater Sci [Internet]*. 2021 Sep 10;56(26):14700–16. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s10853-021-06205-5>
 166. Abbaszadeh S, Rashidipour M, Khosravi P, Shahryarhesami S, Ashrafi B, Kaviani M, et al. Biocompatibility, Cytotoxicity, Antimicrobial and Epigenetic Effects of Novel Chitosan-Based Quercetin Nanohydrogel in Human Cancer Cells. *Int J Nanomedicine [Internet]*. 2020 Aug;Volume 15:5963–75. Available from: <https://www.dovepress.com/biocompatibility-cytotoxicity-antimicrobial-and-epigenetic-effects-of--peer-reviewed-article-IJN>
 167. Di Filippo LD, Lobato Duarte J, Hofstätter Azambuja J, Isler Mancuso R, Tavares Luiz M, Hugo Sousa Araújo V, et al. Glioblastoma multiforme targeted delivery of docetaxel using bevacizumab-modified nanostructured lipid carriers impair in vitro cell growth and in vivo tumor progression. *Int J Pharm [Internet]*. 2022 Apr;618:121682. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037851732200237X>

