

Compuestos bioactivos y actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Melia azedarach* Linn (Meliaceae)

Grau L.^{1*}; Ruiz Díaz, L.¹; Guerrero, D.¹; Viera, J.¹; Acosta, A.¹

¹ Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química, San Lorenzo, Paraguay

*autor por correspondencia: letiziagrau91@gmail.com

Compuestos bioactivos y actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Melia azedarach* Linn (Meliaceae). Las hojas de Paraíso se emplean de manera tradicional en el tratamiento de la gingivitis, las quemaduras y como antiparasitarios en animales. En Paraguay, los estudios de dicha especie están enfocados en la actividad insecticida, es por ello que en este trabajo se identificaron los compuestos bioactivos y se evaluó la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas. Los fitoconstituyentes mayoritarios identificados mediante el cromatógrafo gaseoso acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS) fueron el fitol (21,27%), α -tocoferol (13,89%), β -cariofileno (6,47%) y el ácido linolénico (4,97%). Por otro lado, la capacidad antioxidante evaluada mediante la inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) fue del $42,72 \pm 4,26\%$ de inhibición a $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ del extracto, con una $\text{CI}_{50} = 662 \pm 48 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Estos resultados indican la presencia de compuestos bioactivos de interés medicinal en el extracto etanólico de las hojas de *M. azedarach*, no obstante, dicho extracto presentó baja captación de radicales DPPH.

Palabras clave: plantas medicinales, fitoquímica, antioxidantes

Bioactive compounds and *in vitro* antioxidant activity of the ethanolic extract of the leaves of *Melia azedarach* Linn (Meliaceae). Paraíso leaves are used in the treatment of gingivitis, burns and as antiparasitic in animals. In Paraguay, studies on this species are focused on its insecticidal activity. Therefore, in this study, the bioactive compounds were identified and the antioxidant activity of the ethanolic extract of the leaves was evaluated. Phytol (21.27%), α -tocopherol (13.89%), β -caryophyllene (6.47%) and linolenic acid (4.97%) were the major phytoconstituents identified by gas chromatograph-mass spectrometry (GC-MS). On the other hand, the antioxidant capacity evaluated by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) inhibition was $42.72 \pm 4.26\%$ inhibition at $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of the crude extract, with an $\text{IC}_{50} = 662 \pm 48 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. These results indicate the presence of bioactive compounds of medicinal interest in the ethanolic extract of *M. azedarach* leaves. However, the extract showed low uptake of DPPH radicals.

Keywords: medicinal plants, phytochemistry, antioxidants

INTRODUCCIÓN

Las plantas producen fitoconstituyentes en respuesta a factores externos (bióticos y abióticos), permitiendo la adaptabilidad de las especies vegetales al medio que las rodea (Shih y Morgan, 2020). Dichos compuestos son conocidos como metabolitos secundarios y son de gran importancia para las personas debido a las propiedades biológicas que presentan, siendo empleados en industrias farmacéuticas, de perfumes, cosméticos y nutraceuticas (Shih y Morgan, 2020; Carbajal *et al.*, 2022).

La familia Meliaceae posee varios grupos de metabolitos secundarios de diversidad estructural, que incluyen compuestos fenólicos, alcaloides y terpenos, por tanto, representa una fuente rica de compuestos bioactivos (Nebo *et al.*, 2014). Entre las especies de esta familia se encuentra *Melia azedarach* Linn, conocida en Paraguay como Paraíso, es un árbol caducifolio de hasta 15 m de altura que posee flores lilas y bayas amarillas que contienen 4 o 5 semillas (Khan *et al.*, 2008). Es originario del continente asiático y fue introducido primeramente en Estados Unidos y luego distribuido por América del Sur debido a su rápida adaptación a diferentes condiciones climáticas (Khan *et al.*, 2011). Las hojas se emplean para tratar la gingivitis, las quemaduras y como antiparasitarios en animales (Khan *et al.*, 2008; Milanés *et al.*, 2021).

Entre los metabolitos secundarios identificados en las hojas de *M. azedarach* se encuentran los compuestos fenólicos, dichos constituyentes son los mayores antioxidantes presentes en los vegetales (Sen y Batra, 2012, Cimpoi, 2006). En este sentido, los hidroxilos de dichos grupos, son dadores de protones y quelantes de metales, inhibiendo así la acción de los radicales libres en el organismo, como por ejemplo la oxidación de biomoléculas (ADN, lípidos y proteínas), previniendo principalmente el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Gimeno, 2004; Galano *et al.*, 2015).

Las investigaciones en búsqueda de antioxidantes naturales son de suma relevancia, debido a que dichos compuestos se han convertido en parte esencial en la tecnología de conservación de alimentos y en el cuidado de la salud de las personas (Seck *et al.*, 2021). Entre ellos, la quercetina, uno de los flavonoides de mayor abundancia en frutas y vegetales (Borghetti *et al.*, 2016), el cual presenta un efecto neuroprotector (Fideles *et al.*, 2023), además de las flavanonas hesperidina y naringenina, potenciales anticancerígenos, principalmente en la prevención y terapia coadyuvante del cáncer de mama (Madureira *et al.*, 2023). Por otro lado, la actividad antioxidante se encuentra entre las principales actividades de la mayoría de las especies de la familia Meliaceae (Rashmi *et al.*, 2015). Sin embargo, a pesar de que existen varias investigaciones sobre *M. azedarach* (Carpinella *et al.*, 2007; Khan *et al.*, 2011; Sen y Batra, 2012; Ervina *et al.*, 2020), la composición química de las plantas varía por regiones, de acuerdo al tipo de suelo, clima, y al estrés a las que son sometidas (Shih y Morgan, 2020), además, en Paraguay los estudios están enfocados en las actividades de interés agrícola y veterinario (Baireiro, 2008; Aquino, 2022). Es por ello que el objetivo de este trabajo fue la identificación de compuestos bioactivos y evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de dicha especie, y así agregar valor medicinal y potencial económico a esta especie tan importante en la medicina popular paraguaya.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal estudiado

Melia azedarach L.; Paraguay, Departamento Central, San Lorenzo, Campus-UNA, 25°20'09.4"S - 57°31'15.2"W, 24-X-22, J. Viera - 01, la identificación taxonómica fue realizada en el Laboratorio de Recursos Vegetales (LA-REV) de la FACEN-UNA y la muestra fue depositada en el herbario de dicha institución.

Preparación del extracto etanólico de las hojas de *M. azedarach*

Las hojas fueron deshidratadas en estufa a 37°C durante 1 día, luego trituradas con un molino manual hasta la obtención de un polvo fino. Posteriormente, 50,34 g de dicho polvo se maceró en etanol al 96% durante 7 días, luego se filtró por gravedad y se concentró en rotavapor para la obtención de 3,34 g del extracto crudo etanólico, a partir del cual se realizaron la identificación de los compuestos bioactivos presentes y la evaluación del potencial antioxidante.

Cromatografía gaseosa acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS)

La identificación de los compuestos se realizó mediante el equipo GC-MS de la marca Shimadzu Modelo QP2010 Plus, con una columna SLB-5ms (30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro, 0,25 µm de espesor de recubrimiento) y Helio como gas portador. El extracto crudo se disolvió en hexano grado HPLC y las condiciones de inyección fueron: columna a 60°C, puerta de inyección a 270°C, fuente de iones a 250°C, la rampa a 60°C x 4 minutos, que sube a 280°C a razón de 6°C x minuto y se mantiene durante 20 minutos. El tiempo total de corrida fue de 60 minutos.

El espectro de masas de los compuestos separados fue sometido a un análisis comparativo con una biblioteca del National Institute of Standards and Technology (NIST08) del Software (GC-MS solution version 2,70).

Evaluación *in vitro* de la actividad antioxidante

Para evaluar la capacidad antioxidante del extracto crudo etanólico se utilizó el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (de Torre *et al.*, 2019 y Xanthopoulou *et al.*, 2009). Para ello se prepararon soluciones del extracto crudo (1,000 a 31,25 µg.mL⁻¹), DPPH• (Merck) (0,064 µg.mL⁻¹), además del ácido ascórbico (10 a 2 µg.mL⁻¹) como control positivo, empleando metanol como disolvente y blanco del ensayo.

La reacción se realizó en microplaca de 96 pocillos que fue incubada a 37 °C durante 1 h, luego la absorbancia se midió a 492 nm con un lector de microplaca y el % de inhibición fue calculado con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Inhibición} = \frac{\text{abs blanco} - \text{abs muestra}}{\text{abs blanco}} \times 100$$

Dónde: abs blanco= absorbancia del metanol + DPPH
abs muestra= absorbancia de la muestra + DPPH

El valor de la concentración inhibitoria media (CI₅₀) se calculó por medio de la ecuación de la recta (y= mx + b) y se presentó como la media de los análisis realizados por triplicado ± desviación estándar (± SD).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis GC-MS

Mediante el análisis del cromatograma del extracto etanólico de las hojas de *M. azedarach* se detectó la presencia de 42 compuestos, de los cuales se destacan principalmente: el ácido linolénico (ácido graso), los sesquiterpenos elixeno, β-elemeno, β-cariofileno y espatulenol, el triterpeno acíclico escualeno, el compuesto fenólico 2,5-di-terc-butilfenol, las vitaminas liposolubles E (α-tocoferol) y K1 (Filoquinona), el fitoesterol γ-sitosterol y, por último, el alcohol diterpeno acíclico Fitol, que presentó el 21,27% de área, siendo así el compuesto mayoritario del extracto (Figura 1, Tabla 1).

Los mismos presentan antecedentes de actividades biológicas de interés medicinal, por ejemplo, el ácido linolénico reportado también en los frutos de *M. azedarach* (Carpinella, *et al.*, 2007), favorece a la reducción de procesos inflamatorios asociados a las enfermedades cardiovasculares (Galano *et al.*, 2015; Yin *et al.*, 2023). En general, los ácidos grasos de origen vegetal esenciales para el ser humano deben ser incorporado a partir de la dieta debido a sus funciones metabólicas como el suministro de energía y regulación de la expresión génica (Rincón-Cervera *et al.*, 2016).

Por otro lado, la filoquinona o vitamina k1, un compuesto liposoluble que consta de un anillo de naftoquinona y una cadena lateral isoprenoide, posee una función esencial en el proceso de la coagulación sanguínea (Wen, Bi y Jeyakumar, 2022; Acosta, 2021). También existen otros grupos de metabolitos que poseen unidades de isoprenos en su estructura como los sesquiterpenos, los mismos se encuentran principalmente en los aceites esenciales de plantas y son reconocidos por su aplicación en diversos campos como la perfumería, la química de alimentos e industrias farmacéuticas, debido a la variedad de propiedades biológicas que presentan (Alihosseini, 2016, González, Quiñones y Rincón, 2016). Entre ellos el elixeno y β -cariofileno, que presentaron actividad antimicrobiana frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* y también potencial antioxidante (Gorlin-Toledo *et al.*, 2020).

Otros compuestos identificados en este trabajo que poseen antecedentes como antioxidante son el 2,5-di-terc-butilfenol (El-Shahir *et al.*, 2022), además del fitol, escualeno y tocoferol (de Menezes *et al.*, 2013; Huang, Lin y Fang, 2009; Jiang *et al.*, 2022), que también fueron reportados en el extracto metanólico de las hojas de *M. azedarach* (Sen y Batra, 2012).

Actividad antioxidante

El extracto crudo etanólico de las hojas de Paraíso presentó un $42,72 \pm 4,26\%$ de inhibición del radical DPPH• a $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, y el patrón ácido ascórbico $47,15 \pm 5,92\%$ a $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Por otro lado, a partir del análisis de regresión lineal que mostró un buen coeficiente de regresión ($r^2 > 0,99$), se obtuvo una $\text{CI}_{50} = 662 \pm 48 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, esta actividad puede estar relacionada a la presencia de los compuestos mayoritarios fitol (21,27%) y α -tocoferol (13,89%), sin embargo, dichos constituyentes son lipofílicos y los mismos poseen menor capacidad donadora de protones disminuyendo la inhibición del radical DPPH (Batalhão, 2014), por lo que se deberían emplear también otros métodos para la evaluación de la actividad antioxidante, por ejemplo: ORAC (Capacidad de absorción de radicales de oxígeno), ABTS (2,2-azinobis-[3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico]) o TRAP (potencial total de atrapamiento de radicales peróxido) (Fernández *et al.*, 2006).

Por otro lado, también se reportó actividad antioxidante en *Melia azedarach* en otras regiones (Hossain *et al.*, 2013 y Ahmed *et al.*, 2012), y a su vez, en otras especies como *Azadirachta indica* A. Juss, y *Trichilia monadelpha* (Thonn) (Datta *et al.*, 2019 y Ben *et al.*, 2013), indicando así un valor medicinal muy importante de la familia Meliaceae.

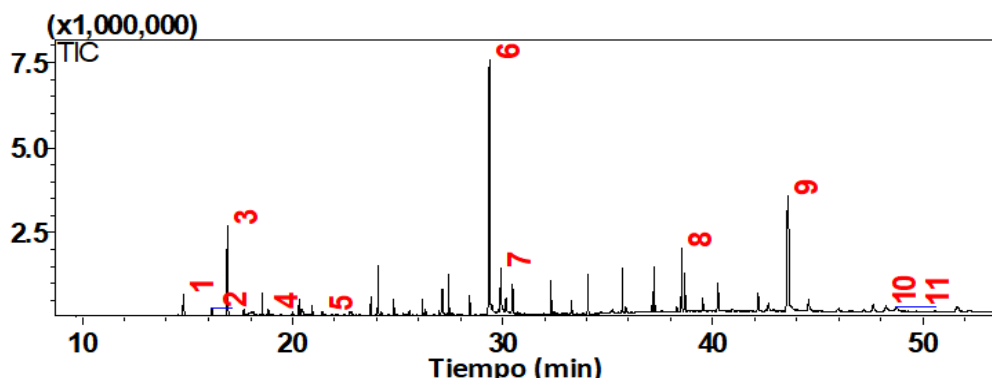
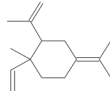
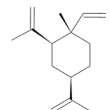
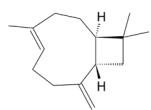
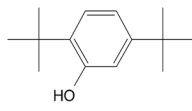
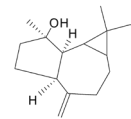
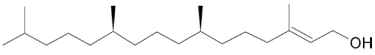
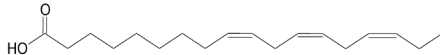
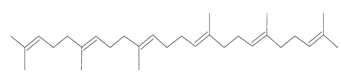
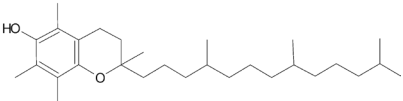
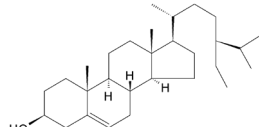
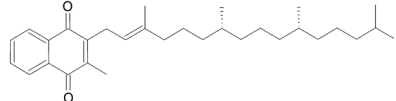


Figura 1. Cromatograma obtenido por GC-MS del extracto etanólico de las hojas de *M. azedarach*

Tabla 1. Compuestos bioactivos identificados mediante GC-MS por el extracto etanólico de las hojas de *M. azedarach*

N° de pico	tr (min)	% de área	Compuesto	Estructura
1	14,804	1,64	Elixeno	
2	16,158	0,54	β -elemeno	
3	16,896	6,47	β -cariofileno	
4	18,852	0,32	2,5-di-terc-butilfenol	
5	21,423	0,15	Espatulenol	
6	29,365	21,27	Fitol	
7	29,923	4,97	Ácido linolénico	
8	38,530	3,57	Escualeno	
9	43,582	13,89	α -tocoferol	
10	48,255	0,95	γ -sitosterol	
11	48,741	0,59	Filoquinona	

CONCLUSIONES

En el extracto crudo etanólico de las hojas de *M. azedarach* se identificaron principalmente terpenos y compuestos fenólicos, los mismos presentan antecedentes de actividades biológicas de interés, entre ellos potencial antioxidante. Estos hallazgos contribuyen al conocimiento fitoquímico y medicinal de las plantas empleadas tradicionalmente en Paraguay.

Se recomienda continuar con la investigación utilizando un método para antioxidantes lipofílicos, además de aislar los metabolitos secundarios para su elucidación estructural mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

AGRADECIMIENTOS

A la Lic. Fátima Piris da Motta por la identificación taxonómica de la especie vegetal.

APORTES DE LOS AUTORES

GL y RDL han realizado la conceptualización y estuvieron a cargo de la administración del proyecto, la curación de datos así como la redacción, revisión y edición del manuscrito estuvo a cargo de GL, GD, VJ, RDL, AA, el análisis formal por GL, GD y VJ, la investigación por GL, GD, VJ y AA, la metodología por GL, AA y la redacción del borrador por GL, GD, VJ.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran en su carta compromiso no poseer conflicto de interés alguno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta, M. I. (2021). Modulación de la microbiota intestinal del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) bajo un esquema de alimentación suplementado con vitamina k1 (Filoquinona) [Tesis de maestría, Centro de Investigaciones

Biológicas del Noroeste, S.C.]. Repositorio CIBNOR

Ahmed, M. F., Rao, A. S., Ahemad, S. R., & Ibrahim, M. (2012). Phytochemical studies and antioxidant activity of *Melia azedarach* Linn leaves by DPPH scavenging assay. *Int J Pharm Appl*, 3(1), 271-276

Alihosseini, F. (2016). Plant-based compounds for antimicrobial textiles. En Gang Sun (ed), *Antimicrobial Textiles* (pp. 155-195). Elsevier Ltd

Aquino-Orué, M.M. (2022). Efecto del extracto de raíz de paraíso (*Melia Azedarach*) en diferentes concentraciones sobre la mortalidad de *Rhipicephalus sanguineus* de caninos evaluados *in vitro*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de Asunción]. Biblioteca de la Facultad de Ciencias Veterinarias

Bareiro-Bogarín, C.I. (2008). Efecto de extractos acuosos de paraíso (*Melia azedarach* L.), ortiga (*Urtica dioica* Sm) y tártago (*Ricinus communis* L.), sobre la palomilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidóptera; Gelechiidae). [Tesis de grado, Universidad Nacional de Asunción]. Biblioteca de la Facultad de Ciencias Agrarias

Batalhão, J. R. (2014). Estudio fitoquímico de *Eugenia myrcianthes*: busca de substâncias bioativas. [Tesis de maestría, Universidad Federal de San Carlos] Repositorio Institucional UFSCar

Ben, I. O., Woode, E., Abotsi, W. K. M., & Boakye-Gyasi, E. (2013). Preliminary phytochemical screening and *in vitro* antioxidant properties of *Trichilia monadelpha* (Thonn.) JJ De Wilde (Meliaceae). *Journal of Medical and Biomedical Sciences*, 2(2), 6-15

Borghi, S.M., Pinho-Ribeiro, F.A.; Fattori, V.; Bussmann, A.J.; Vignoli, J.A.; Camilios-Neto, D.; Casagrande, R.; Verri, W.A., Jr. (2016). Quercetin Inhibits Peripheral and Spinal Cord Nociceptive Mechanisms to Reduce Intense Acute Swimming-Induced Muscle Pain in Mice. *PLoS ONE*, 11, e0162267

- Carbajal, I., Marina, N., Hernandez, A., Gutierrez, D., Jimenez, A., Angelica, A., Rico, E. (2022). Biological macromolecules as nutraceuticals. En A. Nayak, A Dhara, D. Pal (Ed.), *Biol. Macromol*, 97 - 138
- Carpinella, M.C., Miranda, M., Almiron, W. R., Ferrayoli, C. G., Ludueña-Almeida, F., Palacios, S.M. (2007). In vitro pediculicidal and ovicidal activity of an extract and oil from fruits of *Melia azedarach* L. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 56(2), 250-256
- Cimpoiou, C. (2006). Analysis of some natural antioxidants by thin-layer chromatography and high performance thin-layer chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 29(7), 1125-1142
- Diatta, K., Diatta, W., Fall, A. D., Dieng, S. I. M., Mbaye, A. I., Akpoto-Koughlenou, A. A. J., & Bassène, E. (2019). Contribution to the study of leaves: *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae): Evaluation of the antioxidant activity. *Asian Journal of Research in Botany*, 2(4), 1-8
- de Menezes, C., Stiebbe-Salvadori, M., Gomes-Mota, V., Muratori-Costa, L., Cardoso de Almeida, A., Lopes de Oliveira, G., Pereira-Costa, J., Pergentino de Sousa, D., Mendes de Freitas, R., Nóbrega de Almeida, R. (2013). Antinociceptive and Antioxidant Activities of Phytol *in vivo* and *in vitro* models. *Neurosci J*, 2013: 1 – 9
- de Torre, M. P., Cavero, R. Y., Calvo, M. I., Vizmanos, J. L. W. (2019). A simple and a reliable method to quantify antioxidant activity in vivo. *Antioxidants*, 8(5), 1 - 11
- El-Shahir, A. A., El-Wakil, D. A., Abdel Latef, A. A. H., & Youssef, N. H. (2022). Bioactive Compounds and Antifungal Activity of Leaves and Fruits Methanolic Extracts of *Ziziphus spina-christi* L. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(6), 746
- Ervina, M., Poerwono, H., Widyowati, R., Matsunami, K., & Sukardiman. (2020). Bio-selective hormonal breast cancer cytotoxic and antioxidant potencies of *Melia azedarach* L. wild type leaves. *Biotechnology Reports*, 25, e00437. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00437>
- Fernández-Pachón, M. S., Villaño, D., Troncoso, A. M., García-Parrilla, M. C. (2006). Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino y valoración de sus efectos *in vivo*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56(2), 110-122
- Fideles, S. O. M., de Cássia Ortiz, A., Buchaim, D. V., de Souza Bastos Mazuqueli Pereira, E., Parreira, M. J. B. M., de Oliveira Rossi, J., ... & Buchaim, R. L. (2023). Influence of the neuroprotective properties of quercetin on regeneration and functional recovery of the nervous system., *Antioxidants* 12(1), 149. <https://doi.org/10.3390/antiox12010149>
- Galano, J. M., Lee, J. C. Y., Gladine, C., Comte, B., Le Guennec, J. Y., Oger, C., & Durand, T. (2015). Non-enzymatic cyclic oxygenated metabolites of adrenic, docosahexaenoic, eicosapentaenoic and α -linolenic acids; Bioactivities and potential use as biomarkers. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851(4), 446–455
- Gimeno-Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito Farmacéutico Nutrición*, 23(6), 80-84
- González-López, Á. M., Quiñones-Aguilar, E. E., y Rincón-Enriquez, G. (2016). Actividad biológica de los terpenos en el área agroalimentaria. Los compuestos bioactivos y tecnologías de extracción. *NanoBio*, 33–44
- Gorlin-Toledo, A., Gomes de Lara de Souza, J., Borges da Silva, J.P., Jann- Favreto, W.A., Ferreira da Costa, W., da Silva Pinto, F.G. (2020). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of leaves of *Eugenia involucrata* DC. *Bioscience Journal*, 36(2), 568-577
- Hossain, M. S., Saed, A., Karmakar, U. K., & Hossain, M. A. (2013). Assessment of Phyto-

● ● ● **Grau L. et al, “Compuestos bioactivos y actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Melia azedarach* Linn (Meliaceae)”**

- chemical, Analgesic and Antioxidant Profile of *Melia azedarach* L.[Leaves](Family-Meliaceae). *The Pharma Innovation*, 2(7)
- Huang, Z.R., Lin, Y.K., Fang, J.Y. (2009). Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: Potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules*, 14(1): 540–554
- Jiang, Q., Im, S., Wagner, J.G., Hernandez, M.L., Peden, D.B. (2022). Gamma-tocopherol, a major form of vitamin E in diets: Insights into antioxidant and anti-inflammatory effects, mechanisms, and roles in disease management. *Free Radic Biol Med*, 178: 347–359
- Khan, A.V., Khan, A.A., Shukla, I. (2008). In vitro antibacterial potential of *Melia azedarach* crude leaf extracts against some human pathogenic bacterial strains. *Ethnobot Leaflet*, 12, 39–45
- Khan, A.V., Ahmed, Q.U., Mir, M.R., Shukla, I., Khan, A.A. (2011). Antibacterial efficacy of the seed extracts of *Melia azedarach* against some hospital isolated human pathogenic bacterial strains. *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(6), 452-5
- Madureira. M.B., Concato, V.M., Cruz, E.M.S., Bitencourt de Moraes, J.M., Inoue, F.S.R., Concimo-Santos, N., Gonçalves, M.D., Cremer de Souza, M., Basso-Scandolara, T., Fontana-Mezoni, M., et al. (2023). Naringenin and Hesperidin as Promising Alternatives for Prevention and Co-Adjuvant Therapy for Breast Cancer. *Antioxidantes*, 12(3):586. <https://doi.org/10.3390/antiox12030586>
- Milanés-Vega, I., Camps-Ramírez, A.M., Chilupa-Chissendo, A., Bonell-Mora, I., Hong-León, D. (2021). Estudio etnobotánico de plantas medicinales. Su empleo en enfermedades de los animales en Angola. *Revista Veterinaria Argentina*, XXXVIII(400)
- Nebo, L., Varela, R. M., Molinillo, J. M. G., Sampaio, O. M., Severino, V. G. P., Cazal, C. M., Fernandes, M. F. D. G., Fernandes, J. B., & Macías, F. A. (2014). Phytotoxicity of alkaloids, coumarins and flavonoids isolated from 11 species belonging to the Rutaceae and Meliaceae families. *Phytochemistry Letters*, 8(1), 226–232
- Rashmi Yadav, Akshada Pednekar, Amruta Avalaskar, Madhuri Rathi, & Yogesh Rewachandani. (2015). A comprehensive review on Meliaceae family. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(8), 1572–1577
- Rincón-Cervera, M. Á., Valenzuela, R., Hernández-Rodas, M. C., Barrera, C., Espinosa, A., Marambio, M., & Valenzuela, A. (2016). Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 111, 25–35
- Seck, I., Hosu, A., Cimpoi, C., Ndoye, S. F., Ba, L. A., Sall, C., & Seck, M. (2021). Phytochemicals content, screening and antioxidant/pro-oxidant activities of *Carapa procera* (barks) (Meliaceae). *South African Journal of Botany*, 137, 369–376
- Sen, A., & Batra, A. (2012). Chemical composition of methanol extract of the leaves of *Melia azedarach* L. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(3), 42–45
- Shih, M. L., Morgan, J. A. (2020). Metabolic flux analysis of secondary metabolism in plants. *Metab. Eng. Commun.*, 10, e00123
- Wen Lee, H., Bi, X., & Jeyakumar Henry, C. (2022). Carotenoids, tocopherols and phyloquinone content of 26 green leafy vegetables commonly consumed in Southeast Asia. *Food Chemistry*, 385, 132729
- Xanthopoulou, M. N., Nomikos, T., Fragopoulou, E., Antonopoulou, S. (2009). Antioxidant and lipoxigenase inhibitory activities of pumpkin seed extracts. *Food Res. Int.*, 42(5–6), 641–646
- Yin, S., Xu, H., Xia, J., Lu, Y., Xu, D., Sun, J., Wang, Y., Liao, W., & Sun, G. (2023). Effect

of Alpha-Linolenic Acid Supplementation on Cardiovascular Disease Risk Profile in Individuals with Obesity or Overweight: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Advances in Nutrition*, August. <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.09.010>