

COLORANTE ANTIOXIDANTE

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con mezclas de extractos de flores de *Hibiscus rosa-*
5 *sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Ipomoea horsfalliae*, *Thunbergia grandiflora*,
Sansevieria guineensis, y *Cananga odorata*, los cuales se caracterizan por su capacidad
antioxidante y su aplicación en el desarrollo de aditivos antioxidantes para la industria
cosmética.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Los cosméticos incorporan una gran cantidad de ingredientes, desde los pigmentos o
colorantes, pasando por vehículos, excipientes, estabilizantes, aglutinantes,
desintegrantes, antioxidantes y demás. Los compuestos antioxidantes utilizados son de
origen sintético, tales como el 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol (BHT) y el 2-*terc*-butil-4-
15 hidroxianisol (BHA), los cuales exhiben efectos toxicológicos negativos que han sido objeto
de controversia en los últimos años.

Existen estudios que determinan los efectos toxicológicos de 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol
(BHT) y 2-*terc*-butil-4-hidroxianisol (BHA) en roedores; estos indican que una concentración
alta de estos compuestos produce efectos cancerígenos. Algunas investigaciones señalan
una relación evidente entre los antioxidantes sintéticos y la carcinogénesis, e.g., Oikawa *et*
20 *al.* estudiaron el metabolismo del *terc*-butil-4-metilfenol (BHT) en roedores e indicaron que,
durante ese proceso, se generan peróxidos señalados de ser iniciadores de cáncer.

Además, los consumidores de productos que contienen estas moléculas en su formulación,
han desarrollado reacciones adversas. La búsqueda de antioxidantes naturales, para su
aplicación en las industrias de cosméticos y alimentos, se ha incrementado debido a la
25 necesidad de reducir el uso de antioxidantes sintéticos.

En el ámbito cosmético, se han desarrollado productos a partir de ingredientes de origen
natural, considerados biológicamente activos, que proporcionan un efecto biológico que va
más allá de una mejora en la apariencia física, estos productos se conocen como
cosmecéuticos. El uso de productos naturales en el diseño y formulación de esta línea de
30 cosméticos tiene como uno de sus propósitos reducir la aplicación de moléculas de origen
sintético, debido a que existen reportes sobre patologías desarrolladas por consumidores.
Además, existe una tendencia fuerte por parte de los usuarios a favorecer el uso de
cosméticos de origen natural.

Esta tendencia se ve reflejada, por ejemplo, en la solicitud de patente WO 2014/140312, la cual se incorpora en la presente solicitud, en su totalidad, como referencia, que se refiere a una composición para uso farmacéutico, nutricional o cosmético, formulada para uso oral o tópico y que posee actividad antioxidante contra radicales libres, que comprende: a) una semilla *Vitis vinifera*, o semilla y hoja, junto con un extracto de hoja de oliva, *Olea europaea*.

De igual forma, la patente FR 2829694, la cual se incorpora en la solicitud, en su totalidad, como referencia, enseña composiciones cosméticas antirradicales, caracterizadas porque contienen al menos tres activos, a saber, el extracto de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* o *Hibiscus esculentus*), el extracto de lirio blanco (*Lilium candidum*) y el extracto de jujubús (*Zizyphus jujuba*) en un excipiente o un vehículo adecuado para uso tópico.

Por último, la solicitud de patente US 2012/0276025, la cual se incorpora acá, en su totalidad, como referencia, se relaciona con composiciones para el cuidado de la piel que incluyen plantas, partes de plantas o extractos de los mismos de *Michelia magnifica*, *Xylosma japonicum*, *Prunus cerasifera*, *sinensis Nisa*, *praecox Chimonanthus*, *tzumu Sassafra*, *Helianthus-aquatica Inula*, *Capparis Bodinieri*, *Passiflora caerulea*, *Galium aparine*, *Boehmeria platyphylla*, *Colquhounia coccinea*, *Sageretia rugosa*, *Jasminum stephanense*, *Antirrhinum majus*, *Daphniphyllum oldhamii*, *Cuscuta chinensis*, *Salix variegata*, *parvifolius Osmanthus*, *Euphorbia trigona*, *haematocephala Calliandra*, *acerifolia Excoecaria*, *Dianthus chinensis*, *Myriophyllum spicatum*, *peltatum Nymphoides*, *Prunus salicina*, *coagulans Solanum*, *Elaeis guineensis*, *Moulmainense rododendro*, *Suberectus spatholobus*, *Hexapetalus artabotrys*, *Syriacus del hibisco*, *Calcarata lonicera*, *Hainanensis hydnocarpus*, *Fragilis ilex*, *Antidesma venosa*, *Acacia pennata ssp. Kerrii*, *Althaea rosea*, *Velutina millettia*, *Japonica themedea*, *Dalbergia hancei*, *Ipomoea batatas*, *Photinia conglomerado*, *Hippophae rhamnoides*, *Azadirachta indica*, *Caspica karelinia*, *Bauhinia touranensis*, *Japonicas eriobotrya*, *Contorta anaphalis*, y/o *Prunifolium cratoxylum*, o cualquier combinación de los mismos.

Sin embargo, estos documentos se enfocan en los extractos de plantas formulados para obtener composiciones para el cuidado de la piel. La presente solicitud, por su parte, se enfoca en los extractos colorantes de ciertas plantas, específicamente flores, caracterizados por tener propiedades antioxidantes y seleccionarlos para uso en la industria cosmética por su contenido de compuestos antioxidantes.

Es, por lo tanto, un primer objeto de la presente solicitud suministrar uno o más extractos florales con propiedades antioxidantes. Es un segundo objeto de la presente invención, suministrar composiciones a partir de dichos extractos florales, las cuales también tienen propiedades antioxidantes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

- La presente invención se relaciona con extractos obtenidos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Ipomoea horsfalliae*, *Thunbergia grandiflora*,
5 *Sansevieria guineensis*, y *Cananga odorata*. Estos extractos se combinan para crear diferentes composiciones que tienen propiedades antioxidantes, las cuales pueden emplearse como aditivos en la industria cosmética y tienen el propósito de conferir propiedades antioxidantes a los cosméticos, reemplazando los compuestos sintéticos que comúnmente se utilizan para este fin.
- 10 El primer objeto de la presente solicitud es extraer de las flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Ipomoea horsfalliae*, *Thunbergia grandiflora*, *Sansevieria guineensis*, y *Cananga odorata* aquellos metabolitos secundarios no volátiles que tienen una capacidad antioxidante más alta en comparación con los aditivos sintéticos de referencia, comúnmente utilizados en la industria cosmética.
- 15 El segundo objeto de la presente solicitud es diseñar y suministrar formulaciones a partir de estos extractos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Ipomoea horsfalliae*, *Thunbergia grandiflora*, *Sansevieria guineensis*, y *Cananga odorata*, las cuales se emplearán luego como aditivos en la elaboración de diversos productos cosméticos. Estas formulaciones se diseñan con el objeto de potenciar las propiedades
20 antioxidantes de los extractos individuales, al tiempo que se ofrecen diferentes composiciones con actividad antioxidante superior a la de los aditivos sintéticos comúnmente utilizados en la industria cosmética para tal fin.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 25 La Figura 1 corresponde a una gráfica comparando la absorbancia UV de las formulaciones de acuerdo con la presente invención.

La Figura 2 corresponde a una gráfica que muestra el análisis cuantitativo de extractos de flores del género *Hibiscus spp* utilizadas en la presente invención.

30 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

El cambio en la industria cosmética hacia compuestos de origen natural, busca ofrecer productos menos irritantes, y perjudiciales para la salud. La presente invención propone

composiciones antioxidantes para uso cosmético, las cual se componen sustancialmente de extractos de flores secas de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Ipomoea horsfalliae*, *Thunbergia grandiflora*, *Sansevieria guineensis*, y *Cananga odorata*.

Los extractos que se obtienen del material vegetal se caracterizan por tener propiedades antioxidantes que permiten sustituir, complementar o reemplazar en su totalidad los compuestos antioxidantes sintéticos comúnmente utilizados en la industria de fabricación de productos cosméticos.

Un primer objeto de la presente invención es obtener extractos de plantas, particularmente extractos de flores de plantas y más particularmente extractos de flores secas de plantas. Las flores se seleccionan del grupo que comprende *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*, *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora*, que se cultivaron y recolectaron en el Complejo Agroindustrial Piloto del Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales (CENIVAM), localizado en el campus principal de la Universidad Industrial de Santander (Bucaramanga-Colombia).

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, en un primer paso se hace una selección de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*, *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora*, estas flores se secan en un liofilizador de bandejas *VirTis AdVantage Plus*, suministrado por *SP Scientific* (Gardiner, New York, EE.UU.) y se almacenan a temperatura ambiente (24 °C), en ausencia de luz.

Para la obtención de los extractos, las flores secas se someten a un proceso de extracción con solvente. Se toma 1g de pétalos de flores secas, se deposita en un frasco (60 mL) color ámbar y se adiciona una solución de etanol (20 mL, 50:50, v/v, en agua Tipo I, 0.5 % de HCl). Esta suspensión se pone en un baño de ultrasonido (*Elmasonic S15H*, Singen, Alemania), de 37 kHz de frecuencia y 35 W de potencia ultrasónica efectiva, durante 30 min.

El residuo se separa por filtración (papel filtro *Whatman* N° 1) y se somete dos veces más al proceso de extracción arriba mencionado. Los extractos se secan en un liofilizador de bandejas *VirTis AdVantage Plus* (*SP Scientific*, Gardiner, New York, EE.UU.) y se almacenan a 4 °C, en ausencia de luz.

Puesto que el objeto de la presente solicitud es proporcionar una composición con propiedades antioxidantes superiores a las de los aditivos sintéticos usualmente empelados en el campo de la cosmética, los extractos obtenidos deben ser evaluados para determinar

la capacidad antioxidante individual de los mismos con el fin de poder determinar las formulaciones más adecuadas y establecer posibles efectos sinérgicos entre los mismos.

La capacidad antioxidante de los extractos de flores se determina mediante una técnica denominada ORAC, este ensayo se realizó según Ou *et al.* con algunas modificaciones. El análisis se realiza en un lector de microplacas *Modulus® II* (Turner Biosystems Inc., Sunnyvale, California, EE.UU.). 10 mg de extracto se disuelven en 1 mL de metanol y se diluye (50, 100, 250 y 500 veces) en *buffer* de fosfato (75 mM, pH 7.4).

En cada pozo de la placa se depositan 25 µL de extracto diluido y solución de fluoresceína (150 µL, 8.16×10^{-5} mM en *buffer* fosfato), se incuba a 37 °C por 20 min y se adiciona una solución de AAPH (25 µL, 153 mM, en *buffer* fosfato). La fluorescencia se mide por un tiempo de 90 min a una temperatura de 37 °C, utilizando longitudes de onda de excitación de $\lambda=490$ nm y de emisión de $\lambda=510$ nm, respectivamente.

La protección antioxidante se determina a partir de la diferencia entre el área bajo la curva (ABC) de fluorescencia de cada muestra y el blanco (25 µL de *buffer* fosfato). Se utilizó como sustancia de referencia el Trolox®, cada medición se realizó por triplicado; los resultados se expresaron como el valor promedio $\pm$ la desviación estándar de µmol Trolox®/g de extracto seco.

Puesto que la capacidad antioxidante de los diferentes extractos individuales está dada por la presencia de ciertos metabolitos secundarios, determinar y cuantificar la concentración de los mismos en cada uno de los extractos obtenidos es importante para establecer, con mayor precisión, la razón por la cual se obtienen las propiedades antioxidantes y evaluar la posibilidad de formular las composiciones no tanto desde el punto de vista de la flor de la cual se obtienen sino de la concentración óptima de estos metabolitos secundarios deseada.

El análisis de los extractos de flores de plantas tropicales bajo estudio, se realiza en un cromatógrafo líquido de alta eficiencia, HPLC 1200 Series (AT, Palo Alto, CA, EE.UU.), equipado con un analizador de tiempo de vuelo (TOF-MS 6210 Series, AT, Palo Alto, CA, EE.UU.), con la ionización a través de una interfaz de electronebulización (ESI), operada en modo positivo, una unidad de desgasificación de solventes (G1379B), una bomba binaria (G1312A), un inyector automático (G1367B) y una unidad termostataada para la columna (G1316A).

La separación se realiza en una columna Kinetex C₁₈ (Phenomenex, Torrance, CA, EE.UU.), de 100 mm, L x 4.6 mm, D.I. x 2.6 µm de tamaño de partícula, a 35 °C. La fase móvil fue A: agua (0.2 % de ácido fórmico) y B: acetonitrilo (0.2 % de ácido fórmico). El flujo fue de 0.2 mL/min y el volumen de inyección de 4 µL. Se usó nitrógeno (Generador N₂

PEAK, Scientific, Billerica, MA, EE.UU.) como gas secante (350 °C, 7 mL/min) y gas nebulizador (40 psi); para maximizar la respuesta se utilizó voltaje de capilar de 4 kV y de fragmentador de 250 V. Los datos obtenidos se procesaron con el software *Mass Hunter WorkStation*, Versión B.02.00-SP3.

- 5 La identificación de los compuestos se realiza usando la corriente iónica extraída (EIC, por sus siglas en inglés) del fragmentograma, para las masas exactas de los compuestos buscados y de patrones certificados, e.g., ácido gálico, epicatequina, catequina, entre otros.
- Finalmente, se realizó la mezcla de extractos de flores que contienen una actividad antioxidante más alta en comparación con las sustancias de referencia. En la presente
- 10 invención, las formulaciones contienen entre 0% y 25% de cada uno de los extractos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*, *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora*. Además, de cada formulación se determinó la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), según el procedimiento descrito anteriormente.
- 15 Las formulaciones de la presente solicitud muestran consistentemente un desempeño superior al del Trolox®, que es un compuesto antioxidante sintético usado comúnmente en los cosméticos. Sin querer ceñirse a ninguna teoría científica en particular, el solicitante considera que este efecto sorprendente se logra por interacciones sinérgicas entre los diferentes extractos y sus composiciones de metabolitos secundarios.
- 20 Esta sinergia entre los diferentes extractos permite desarrollar formulaciones con propiedades antioxidantes específicas, diseñadas para ajustarse a las necesidades particulares de diversas composiciones cosméticas. Es incluso posible que las composiciones de la presente solicitud puedan emplearse como aditivos antioxidantes en otras industrias como la de alimentos o la farmacéutica.

25

EJEMPLO 1

Determinación de presencia de antocianinas en extractos de flores de *Ipomoea horsfalliae* y *Thunbergia grandiflora*

- Se hizo un análisis de los compuestos antioxidantes, específicamente antocianinas,
- 30 presentes en extractos de flores de *Ipomoea horsfalliae* y *Thunbergia grandiflora*. Los extractos secos fueron disueltos en alcohol y analizados mediante una técnica de LC-ESI+-TOF-MS . La Tabla 1 a continuación, muestra el resultado de este análisis.

Tabla 1. Medición de antocianinas presentes en extractos hidro-alcohólicos de flores de *Ipomoea horsfalliae* y *Thunbergia grandiflora*. [500 ppb].

5

Compuesto	Fórmula	Masa		Δ ppm
		Exacta	Experimental	
Cianidina-3,5-diglucósido ^{a)}	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	611.1607	611.1607	2.35
Cianidina-3-glucósido ^{a)b)}	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449.1078	449.1078	1.17
Cianidina ^{b)}	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	287.0555	287.0554	6.53
Pelargonidina ^{a)b)}	C ₁₅ H ₁₁ O ₅	271.0606	271.0601	0.32
Pelargonidina-3-glucósido ^{a)b)}	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	433.1134	433.1129	6.78

a) Antocianina identificada por LC-ESI+-TOF-MS en el extracto con solvente (EtOH) de flores de *Ipomoea horsfalliae*.

b) Antocianina identificada por LC-ESI+-TOF-MS en el extracto con solvente (EtOH) de flores de *Thunbergia grandiflora*

EJEMPLO 2

10 Análisis de los extractos de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla) para determinar la presencia y cantidad de antocianinas

Se analizaron los extractos obtenidos de las diferentes especies de flores del género *Hibiscus* utilizadas en la presente invención, con el fin de determinar el contenido de antocianinas presentes en las mismas. Como en el ejemplo anterior, los extractos secos
15 fueron disueltos en alcohol antes de su análisis. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Identificación por LC-ESI+-TOF-MS de antocianinas presentes en extractos hidro-alcohólicos de flores del género *Hibiscus spp.*

Compuesto	Fórmula	Masa exacta	Masa experimental	Δ ppm	Variedades de <i>Hibiscus rosa-sinensis</i>			
					Roja	Rosada	Naranja	Amarilla
Cianidina-3,5-glucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	611,1607	611,1600	1,22	+	+		
Cianidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449,1078	449,1080	0,37	+	+		
Cianidina-rutinósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595,1657	595,1652	1,03	+			
Pelargonidina-soforósido	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	565,1552	565,1549	0,57	+	+	+	
Dihidroquercetina	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	305,0656	305,0658	0,59	+	+		
Quercetina-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465,1028	465,1030	0,63	+	+	+	+
Quercetina-diglucósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₈	641,1348	641,1432	1,00	+	+	+	+

Quercetina-glucósido-glucorónido	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₇	627,1556	627,1566	1,69				+
Kaempferol-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449,1078	449,1082	0,82		+	+	+
Kaempferol-ramnósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433,1129	433,1126	0,69		+	+	+
Kaempferol-rutinósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	595,1657	595,1656	0,24		+	+	+
Kaempferol-diglucósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	611,1607	611,1600	1,15		+	+	+
Kaempferol-glucósido-glucorónido	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₇	625,1399	625,1411	1,92		+	+	+
Naringenina-glucorónido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449,1078	449,1079	0,19	+	+	+	+
Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	291,0863	291,0858	1,92	+			
Epicatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	291,0863	291,0861	0,72	+			

EJEMPLO 3

Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos individuales.

Se analizó la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*,
5 *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora*. La Tabla 3, a continuación, muestra los resultados de estos análisis.

Tabla 3. Capacidad antioxidante [$\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$ /g muestra seca] de extractos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*, *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora*.

Muestra		ORAC [$\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$ /g muestra seca] valor medio $\pm$ SD ($n=3$)
<i>Hibiscus</i> roja	<i>rosa-sinensis</i> ,	3490 $\pm$ 84
<i>Hibiscus</i> rosada	<i>rosa-sinensis</i> ,	2800 $\pm$ 80
<i>Hibiscus</i> naranja	<i>rosa-sinensis</i> ,	3000 $\pm$ 77
<i>Hibiscus</i> amarilla	<i>rosa-sinensis</i> ,	2280 $\pm$ 69
<i>Cananga odorata</i>		880 $\pm$ 41
<i>Sansevieria guineensis</i>		500 $\pm$ 21
<i>Ipomoea horsfalliae</i>		1380 $\pm$ 38
<i>Thunbergia grandiflora</i>		1120 $\pm$ 20
BHT		520 $\pm$ 12
α -Tocoferol		430 $\pm$ 5

Los resultados permiten apreciar la capacidad antioxidante superior de los extractos obtenidos mediante el método de la presente solicitud es superior a la de

compuestos utilizados comúnmente como antioxidantes en la industria cosmética, tal como el BHT o el α -Tocoferol.

EJEMPLO 4

Se analizó la capacidad antioxidante de formulaciones de mezclas antioxidantes elaboradas a partir de extractos obtenidos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*, *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora*. La Tabla 4, a continuación, muestra los resultados de estos análisis.

Tabla 4. Formulación de mezclas antioxidantes a partir de extractos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*, *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora*.

Extracto		Formulación [%]			
		1	2	3	4
<i>Hibiscus</i>	<i>rosa-sinensis</i> , roja	11.1	20	-	25
<i>Hibiscus</i>	<i>rosa-sinensis</i> , rosada	11.1	20	-	25
<i>Hibiscus</i>	<i>rosa-sinensis</i> , naranja	11.1	20	-	25
<i>Hibiscus</i>	<i>rosa-sinensis</i> , amarilla	11.1	20	-	25
<i>Cananga odorata</i>		11.1	-	20	-
<i>Sansevieria guineensis</i>		11.1	-	20	-
<i>I. horsfalliae</i>		11.1	20	20	-
<i>Thunbergia grandiflora</i>		11.1	-	20	-
ORAC [μ mol Trolox®/g muestra seca] valor medio $\pm$ SD (n=3)		1830 $\pm$ 70	1800 $\pm$ 160	1960 $\pm$ 1	2010 $\pm$ 50

El resultado anterior nos permite apreciar que la formulación No. 4, que comprende extractos obtenidos de la flor de *Hibiscus rosa-sinensis* roja, rosada, naranja y amarilla tiene una capacidad antioxidante superior al Trolox®, compuesto sintético comúnmente empleado como antioxidante en la industria cosmética.

5

EJEMPLO 5

Análisis de capacidad antioxidante de las formulaciones de acuerdo con la presente solicitud

10 Las formulaciones desarrolladas de acuerdo con la presente solicitud, mostradas en la tabla 4, fueron analizadas mediante espectroscopía UV-VIS. Esta técnica espectroscópica mide la presencia de flavonoides, los cuales son compuestos antioxidantes y su presencia indica el nivel de actividad antioxidante de un compuesto o composición.

15 Los flavonoides presentan dos señales características, una en 230-280 nm y la otra en 300-390 nm. Las antocianinas exhiben una señal a 200 nm y otra a 490-500 nm. Las señales características se producen debido a la presencia de los anillos aromáticos que conforman la estructura de los compuestos fenólicos.

20 Las formulaciones 1-4, presentan bandas de absorción características para antocianinas 490-550 nm y flavonoides 450-540 nm. El nivel de absorbancia en estas bandas indica la actividad antioxidante de las formulaciones. La Figura 1 presenta las curvas y permite concluir que las mezclas 3 y 4 tienen un mayor contenido de componentes antioxidantes que las formulaciones 1 y 2.

EJEMPLO 6

Análisis por UHPLC-ESI+-Orbitrap-MS de extractos de flores

25 El análisis de los extractos obtenidos por extracción con solvente de flores se realizó en un cromatógrafo líquido de ultra alta eficiencia, UHPLC *Dionex Ultimate 3000* (*Thermo Fisher Scientific*, Sunnyvale, CA, EE.UU.), equipado con un analizador y detector de masas *Orbitrap* (*Exactive Plus*, *Thermo Fisher Scientific*, Sunnyvale, CA, EE.UU.), con la ionización en una interfaz de electronebulización (ESI), operada en
30 modo positivo o negativo, una bomba binaria (HPG3400RS), un inyector automático (WPS300TRS) y una unidad termostatada para la columna (TCC3000). La separación se realizó en una columna *Hypersil GOLD Aq* (*Thermo Fisher Scientific*, Sunnyvale, CA, EE.UU.), de 100 mm, L x 2.1 mm, D.I. x 1.9 µm de tamaño de partícula, a 30 °C. La fase móvil fue A: agua (0.2 % de ácido fórmico) y B: acetonitrilo
35 o metanol (0.2 % de ácido fórmico). El flujo fue de 0.3 mL/min y el volumen de inyección de 1 µL. Se usó nitrógeno como gas secante; voltaje de capilar (1 a 5 kV)

y celda de colisión de energía alta (10 a 50 V) (HCD, por sus siglas en inglés). Los datos obtenidos se procesaron con el *software Thermo Xcalibur™ Roadmap*, Versión 3.1.66.10. La identificación de los compuestos se realizó usando la corriente iónica extraída (EIC, por sus siglas en inglés) del fragmentograma, para las masas exactas de los compuestos buscados y con base en patrones certificados, e.g.,
5 ácido gálico, epicatequina, catequina, entre otros.

Tabla 5. Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en extractos de flores de *Cananga odorata* Hook. F. & Thomson.

		Masa teórica		<i>Cananga odorata</i>			
Compuesto	Fórmula	[M ⁺]	[M+H]	Área	t _R [min]	Masa _{exp}	Δ ppm
Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	N.A.	273,07629	620538	5,77	273,07583	0,293
Apigenina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	N.A.	271,06064	201070	5,85	271,06012	0,074
Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	N.A.	611,16120	150097	4,36	611,16145	0,789
Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	N.A.	287,05556	36413759	5,92	287,0550	0,025
Kaempferol-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	449,10839	551159	4,75	449,10832	0,482

N.A. No aplica

Tabla 6. Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en extractos de flores de *Ipomoea horsfalliae* Hook.

		Masa teórica		<i>Ipomoea horsfalliae</i>			
Compuesto	Fórmula	[M ⁺]	[M+H]	Área	t _R [min]	Masa _{exp}	Δ ppm
Cianidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	287,05556	N.A	11696049	4,58	287,0551	0,298
Cianidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449,10838	N.A	1603667	3,81	449,10788	0,094
Cianidina-3-rutinósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595,165747	N.A	53539315	3,81	595,16623	0,812
Pelargonidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₅	271,06064	N.A	1,00E+08	4,69	271,0600	0,812

Pelargonidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	433,11347	N.A	167419089	3,95	433,11318	0,593
Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	291,08686	1140228	3,85	291,08602	1,012
Epicatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	291,08686	679652	4,04	291,08618	0,463
Epigallocatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	N.A.	307,08177	1179768	3,69	307,0812	0,095
Pinocembrina	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	N.A.	257,08138	662290	6,69	257,08062	0,838
Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	N.A.	273,07629	1072469	5,77	273,07571	0,146
Quercitrina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	449,10839	3958267	4,75	449,10795	0,25

N.A. No aplica

Tabla 7. Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en extractos de flores de *Sansevieria guineensis* L. Willd.

Compuesto	Fórmula	Masa teórica		Sansevieria guineensis			
		[M ⁺]	[M+H]	Área	t _R [min]	Masa _{exp}	Δ ppm
Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	291,08686	2385951	3,75	291,0870	2,458
Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	N.A.	273,07629	2531941	5,76	273,07604	1,062
Apigenina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	N.A.	271,06064	693876	5,86	271,06011	0,037

Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	N.A.	287,05556	6420512	5,92	287,0551	0,298
Kaempferol-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	449,10839	399050	4,75	449,10873	1,987

N.A. No aplica

Tabla 8. Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en extractos de flores de *Thunbergia grandiflora* Roxb.

Compuesto	Fórmula	Masa teórica		Sansevieria guineensis			
		[M ⁺]	[M+H]	Área	t _R [min]	Masa _{exp}	Δ ppm
Apigenina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	N.A.	271,06064	434522857	5,91	271,06009	-0,037
Luteolina	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	N.A.	287,05556	431627744	5,49	287,05498	-0,12

N.A. No aplica

5 **Tabla 9.** Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en extractos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla).

Compuesto	Fórmula	Masa exacta	Δ ppm	Variedades de <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> doble			
				Roja	Rosada	Naranja	Amarilla
Cianidina-3,5glucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	611.16066	1.07	116236819	5072122	3611655	
Cianidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449.10784	0.5	60323018	7842366	10426514	
Cianidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	287.05508	0.24	38167531	1777404		

Cianidina-3-rutinósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595.16575	0.55	5236692			
Quercetina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂	465.10275	0.001	3199380	2497025		3139931
Quercetina-diglucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₇	627.15595	0.61	70283	25877	16036	18297
Naringenina-glucorónido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449.10784	0.51	21788124	6904574	2286028	6617591
Dihidroquercetina	C ₁₅ H ₁₃ O ₇	305.06558	0.01		8263037	915353	
Kaempferol-3-rutinósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595.16632	0.96		3288388	217678	
Pelargonidina-sambubiósido	C ₂₆ H ₂₉ O ₁₄	565.1557	0.91		10099451	11259150	
Kaempferol-ramnósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	433.11292	0.4		7195397	4338576	23259770
Kaempferol-diglucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	611.16066	0.87			1104805	
Kaempferol-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449.10784	0.5			109808	1220185
Kaempferol-glucósido-glucorónido	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₇	625.13992	0.14			1969329	

EJEMPLO 7

Suguiendo la metodología del Ejemplo 6, se analizó el contenido de metabolitos secundarios presentes en las formulaciones de acuerdo con la presente invención. Los resultados se muestran a continuación, en las tablas 11 a 13.

Tabla 10. Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en la formulación 1.

Compuesto	Fórmula	Masa teórica		Área	Δ ppm
		[M ⁺]	[M+H]		
Cianidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	28,705,556	N.A	51640983.33	-0,399
Cianidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	44,910,838	N.A	80195566	0,517
Cianidina-3,5-glucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	61,116,120	N.A	124920596	1.07
Cianidina-3-rutinósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595,165,747	N.A	58776006.67	1,064
Pelargonidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₅	27,106,064	N.A	100222600	0
Pelargonidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	43,311,347	N.A	167419089	1,216
Pelargonidina-sambubiósido	C ₂₆ H ₂₉ O ₁₄	565.1557	N.A	21358601.33	0.91
Delfinidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂	46,510,330	N.A	6250	0,898
Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	29,108,686	4000889	-0,325
Epicatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	29,108,686	679652	-0,428
Epigallocatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	N.A.	30,708,177	1179768	0,556
Pinocembrina	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	N.A.	25,708,138	662290	0,135
Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	N.A.	27,307,629	4224948	-0,256
Naringenina-glucorónido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	N.A.	449.10784	37596317	0.51
Apigenina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	N.A.	27,106,064	435417803	-0,037
Luteolina	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	N.A.	28,705,556	431627744	-0,12
Quercitrina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	44,910,839	3958267	0,25
Dihidroquercetina	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	N.A.	305.06558	9178389.667	0.01

Quercetina-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	N.A.	465.10275	8836336	0.001
Quercetina-diglucósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₈	N.A.	627.15595	130492.3333	0.61
Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	N.A.	61,116,120	150097	0,505
Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	N.A.	28,705,556	83203646	1,900
Kaempferol-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	44,910,839	4865245.333	2,187
Kaempferol-ramnósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	N.A.	433.11292	34793743	0.4
Kaempferol-rutinósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	N.A.	595.16632	3506066	0.96
Kaempferol-diglucósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	N.A.	611.16066	1104805	0.87
Kaempferol-glucósido-glucorónido	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₇	N.A.	625.13992	1969329.333	0.14

N.A. No aplica

Tabla 11. Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en la formulación 2.

Compuesto	Fórmula	Masa teórica		Área	Δ ppm
		[M ⁺]	[M+H]		
Cianidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	287.05556	N.A	51640983.33	-0,399
Cianidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449.10838	N.A	80195566	0,517
Cianidina-3,5-glucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	611.16120	N.A	124920596	1.07
Cianidina-3-rutinósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595.165747	N.A	58776006.67	1,064
Pelargonidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₅	271.06064	N.A	100222600	0
Pelargonidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	433.11347	N.A	167419089	1,216
Pelargonidina-sambubiósido	C ₂₆ H ₂₉ O ₁₄	565.1557	N.A	21358601.33	0.91
Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	291.08686	1140228	-0,325

Epicatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	291.08686	679652	-0,428
Epigallocatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	N.A.	307.08177	1179768	0,556
Pinocembrina	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	N.A.	257.08138	662290	0,135
Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	N.A.	273.07629	1072469	-0,256
Naringenina-glucorónido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	N.A.	449.10784	37596317	0.51
Quercitrina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	449.10839	3958267	0,25
Dihidroquercetina	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	N.A.	305.06558	9178389.667	0.01
Quercetina-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	N.A.	465.10275	8836336	0.001
Quercetina-diglucósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₈	N.A.	627.15595	130492.3333	0.61
Kaempferol-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	449.10839	1329993.333	2,187
Kaempferol-ramnósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	N.A.	433.11292	34793743	0.4
Kaempferol-rutinósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	N.A.	595.16632	3506066	0.96
Kaempferol-diglucósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	N.A.	611.16066	1104805	0.87
Kaempferol-glucósido-glucorónido	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₇	N.A.	625.13992	1969329.333	0.14

N.A. No aplica

Tabla 12. Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en la formulación 3.

Compuesto	Fórmula	Masa teórica		Área	Δ ppm
		[M ⁺]	[M+H]		
Cianidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	287,05556	N.A	11696049	-0,399

Cianidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449,10838	N.A	1603667	0,517
Cianidina-3,5-glucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	611,16120	N.A		
Cianidina-3-rutinósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595,165747	N.A	53539315	1,064
Pelargonidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₅	271,06064	N.A	100222600	0
Pelargonidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	433,11347	N.A	167419089	1,216
Delfinidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂	465,10330	N.A	6250	0,898
Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	291,08686	4000889	-0,325
Epicatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	N.A.	291,08686	679652	-0,428
Epigallocatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	N.A.	307,08177	1179768	0,556
Pinocembrina	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	N.A.	257,08138	662290	0,135
Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	N.A.	273,07629	4224948	-0,256
Apigenina	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	N.A.	271,06064	435417803	-0,037
Luteolina	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	N.A.	287,05556	431627744	-0,12
Quercitrina	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	449,10839	3958267	0,25

Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	N.A.	611,16120	150097	0,505
Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	N.A.	287,05556	83203646	1,900
Kaempferol-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	N.A.	449,10839	3535252	2,187

N.A. No aplica

Tabla 13. Compuestos fenólicos identificados por UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS en la formulación 4.

Compuesto	Fórmula	Masa teórica		Área	Δ ppm
		[M ⁺]	[M+H]		
Cianidina-3,5glucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	611.16066	N.A	124920596	1.07
Cianidina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	449.10784	N.A	78591899	0.5
Cianidina	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	287.05508	N.A	39944934	0.24
Cianidina-3-rutinósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	595.16575	N.A	5236692	0.55
Quercetina-3-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₂	N.A.	465.10275	8836336	0.001
Quercetina-diglucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₇	N.A.	627.15595	130492	0.61

Naringenina-glucorónido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	N.A.	449.10784	37596317	0.51
Dihidroquercetina	C ₁₅ H ₁₃ O ₇	N.A.	305.06558	9178390	0.01
Kaempferol-3-rutinósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅	N.A.	595.16632	3506066	0.96
Pelargonidina-sambubiósido	C ₂₆ H ₂₉ O ₁₄	565.1557	N.A	21358601	0.91
Kaempferol-ramnósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₀	N.A	433.11292	34793743	0.4
Kaempferol-diglucósido	C ₂₇ H ₃₁ O ₁₆	N.A	611.16066	1104805	0.87
Kaempferol-glucósido	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	N.A	449.10784	1329993	0.5
Kaempferol-glucósido-glucorónido	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₇	N.A	625.13992	1969329	0.14

N.A. No aplica

Referencias

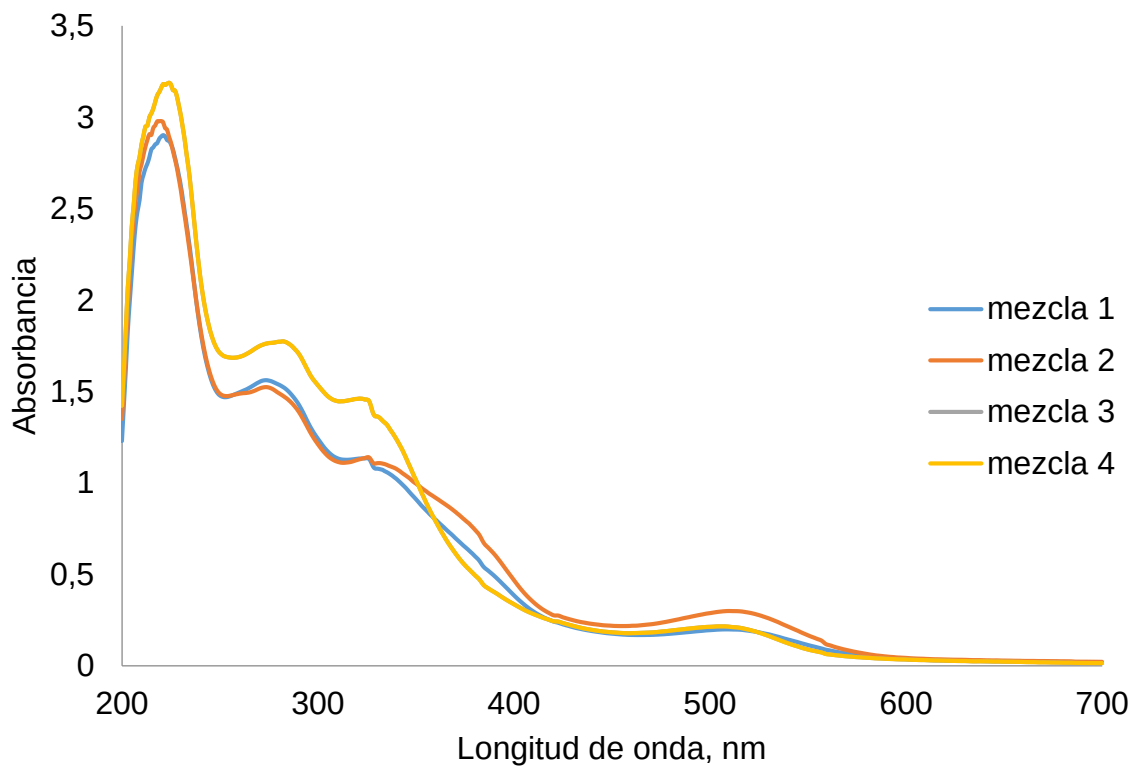
- [1] SHAHIDI, F. Handbook of antioxidants for food preservation. 1a Ed., Elsevier Science Limited, Oxford, UK, Inglaterra. 2015, 1-474.
- [2] OIKAWA, S.; NISHINO, K.; OIKAWA, S.; INOUE, S.; MIZUTANI, T. y
5 KAWANISHI, S. Oxidative DNA damage and apoptosis induced by metabolites of butylated hydroxytoluene. Biochem. Pharmacol. 1998, 56, 361-370.
- [3] MILLIKAN, L. Cosmetology, cosmetics, cosmeceuticals: definitions and regulations. Clin. Dermatol. 2001, 19, 371-374.
- [4] KLIGMAN, A. A dermatologist looks to the future: promises and problems.
10 Dermatol. Clin. 2000, 18, 699-709.
- [5] LINTNER, K.; MAS-CHAMBERLIN, C.; MONDON, P.; PESCHARD, O. y LAMY, L. Cosmeceuticals and active ingredients. Clin. Dermatol. 2009, 27, 461-468.
- [6] DRAELOS, Z. Cosmeceuticals: undefined, unclassified, and unregulated. Clin. Dermatol. 2009, 27, 431-434.
- 15 [7] LARSEN, W.; JACKSON, E.; BARKER, M.; BEDNARZ, R.; ENGASSER, P.; O'DONOGHUE, M. y STRAUSS, J. A primer on cosmetics. J. Am. Acad. Dermatol. 1992, 27, 469-484.
- [8] OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M. y PRIOR, L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the
20 fluorescent probe. J. Agric. Food. Chem. 2001, 49, 4619-4626.
- [9] ARIAS, G. Estudio de la composición química y la actividad antioxidante de aceites esenciales y extractos aislados de *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* y *Lippia citriodora*, cultivadas en el municipio de Sucre (Santander). Tesis de Maestría en Química, Escuela de Química, Universidad Industrial de
25 Santander. 2012, 66-70.

REIVINDICACIONES

- 1- Composición química antioxidante, caracterizada porque comprende 1mg extractos obtenidos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*, *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora* disueltos en 1 mL metanol incorporado (0, 2, 4 o 5 ppm) de la formulación.
- 2- Composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los extractos están en forma de polvo seco.
- 3- Composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende desde 0 a 25% de extractos de flores.
- 4- Composición de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizada porque los extractos es incorporado (0, 2, 4 o 5 ppm) en una formulación con alcohol.
- 5- Proceso para obtener una química antioxidante caracterizada porque los extractos se obtienen mediante un proceso que comprende los pasos de:
- seleccionar flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Cananga odorata*, *Sansevieria guineensis*, *Ipomoea horsfalliae* o *Thunbergia grandiflora*;
 - secar las flores seleccionadas en un liofilizador de bandejas y almacenarlas a temperatura ambiente (24 °C), en ausencia de luz,
 - someter las flores secas a un proceso de extracción que comprende los pasos de:
 - o pesar una cantidad preestablecida de 500g pétalos de flores secas;
 - o depositar los pétalos pesados en un frasco color ámbar y adicionar una solución de etanol (20 mL);
 - o poner la suspensión en un baño de ultrasonido durante 30 min.
 - o Separar el residuo por filtración y se someterlo dos veces más al proceso de extracción arriba mencionado.
 - o secar los extractos en un liofilizador de bandejas; y
 - o almacenarlos a 4 °C, en ausencia de luz.

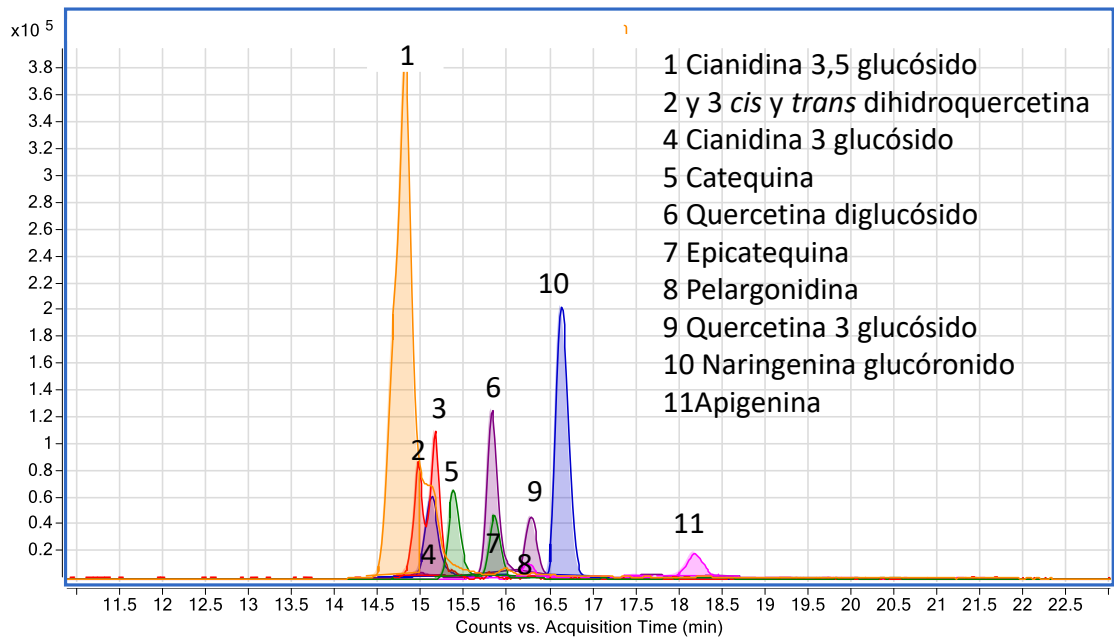
RESUMEN

La presente invención se relaciona con extractos obtenidos de flores de *Hibiscus rosa-sinensis* (roja, rosada, naranja, amarilla), *Ipomoea horsfalliae*, *Thunbergia*
5 *grandiflora*, *Sansevieria guineensis*, y *Cananga odorata*. Estos extractos se combinan para crear diferentes composiciones que tienen propiedades antioxidantes, las cuales pueden emplearse como aditivos en la industria cosmética y tienen el propósito de conferir propiedades antioxidantes a los cosméticos, reemplazando los compuestos sintéticos que comúnmente se utilizan para este fin.



Espectro UV-VIS de las formulaciones 1-4. λ= 200-700 nm.

FIG. 1



5

Corrientes iónicas extraídas, por LC-ESI⁺-TOF-MS, de moléculas cargadas o protonadas presentes en extractos de flores del género *Hibiscus spp.*

FIG. 2