



VNIVERSITATIS VALÈNCIA

Doctorado en Biomedicina y Farmacia

**Estudio del uso de plantas medicinales para
los trastornos del sueño y ansiedad en la
Comunidad Valenciana**

Tesis Doctoral presentada por:

Silvia Borrás Huertas

Directores de la Tesis:

José Luis Ríos Cañavate

Rosa María Giner Pons

María Isabel Martínez Solís

Mayo 2024, Valencia



Doctorado en Biomedicina y Farmacia

D. José Luis Ríos Cañavate y Dña. Rosa María Giner Pons, Catedráticos de Farmacología de la Universitat de València, y Dña. María Isabel Martínez Solís, Profesora Titular de la Universidad CEU Cardenal Herrera de Valencia,

CERTIFICAN:

Que el trabajo presentado por la Graduada **SILVIA BORRÁS HUERTAS**, titulado *“Estudio del uso de plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad en la Comunidad Valenciana”*, para obtener el grado de Doctor, ha sido realizado bajo nuestra dirección y asesoramiento.

Concluido el trabajo experimental y bibliográfico, autorizamos la presentación de la Tesis, para que sea juzgada por el tribunal correspondiente.

Lo que firmamos en Valencia, a nueve de mayo de dos mil veinticuatro

JOSE LUIS
RIOS
CAÑAVATE
- DNI
28426965T

Firmado digitalmente por JOSE LUIS RIOS CAÑAVATE - DNI 28426965T
Fecha: 2024.05.09 17:18:14 +02'00'

José Luis Ríos Cañavate

ROSA
MARIA|
GINER|
PONS

Firmado digitalmente por ROSA MARIA|GINER|PONS
Fecha: 2024.05.09 10:44:41 +02'00'

Rosa María Giner Pons

Firmado digitalmente por:
MARTINEZ SOLIS MARIA
ISABEL - 25383183S
Fecha y hora: 09.05.2024
21:30:51

María Isabel Martínez Solís

Índice

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
II.1. Sueño.....	9
II.2. Trastornos del sueño.....	12
II.3. Ansiedad	12
II.4. Trastornos de ansiedad	13
II.5. Tratamientos para los trastornos del sueño y ansiedad	13
II.5.1. Tratamiento no farmacológico	13
II.5.2. Tratamiento farmacológico	14
II.6. Fitoterapia	15
II.6.1. Evolución del uso tradicional de las plantas medicinales	15
II.6.2. Productos fitoterápicos.....	17
A. Medicamentos a base de plantas	17
B. Complementos alimenticios	17
II.6.3. Aspectos legales de las plantas medicinales	18
II.7. Plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad.....	20
II.8. Características geográficas de la Comunidad Valenciana	20
II.9. Control de calidad.....	21
II.9.1. Factores condicionantes de la calidad.....	21
II.9.2. Buenas prácticas de fabricación.....	22
II.9.3. Farmacopea Europea.....	23
A. Identificación macroscópica y microscópica	23
B. Identificación por TLC y HPTLC	24
C. Ensayos de pureza	29
III. OBJETIVOS	31
IV. CAPÍTULO 1. Estudio descriptivo del uso de plantas medicinales para los trastornos	
del sueño y ansiedad	35
IV.1. Material y métodos	37
IV.1.1. Tamaño de la muestra	37
IV.1.2. Descripción de la muestra.....	38
IV.1.3. Cuestionario	38
IV.1.4. Entrevistas y recolección de datos	39
IV.1.5. Análisis estadístico y tratamiento de los datos.....	39
IV.2. Resultados	40
IV.2.1. Entorno geográfico.....	40

IV.2.2. Perfil del consumidor	41
A. Género y edad	41
B. Nivel de estudios	42
IV.2.3. Uso de plantas medicinales utilizadas para insomnio y ansiedad	42
A. Síntoma relacionado con la dificultad para dormir	42
B. Forma farmacéutica	43
C. Frecuencia de consumo	43
D. Inicio del consumo	43
E. Fuente de conocimiento	44
F. Razones del uso	44
IV.2.4. Plantas medicinales utilizadas para el insomnio y la ansiedad	44
A. Consumo de medicación y comunicación al médico	45
B. Lugar de obtención y percepción de la calidad	46
V. CAPÍTULO 2. Descripción de las plantas medicinales seleccionadas y muestras objeto de estudio	49
V.1. Descripción de las plantas medicinales	51
V.1.1. Amapola de California	51
V.1.2. Espino blanco	52
V.1.3. Hierbaluisa	53
V.1.4. Lavanda	54
V.1.5. Lúpulo	55
V.1.6. Manzanilla	56
V.1.7. Melisa	57
V.1.8. Naranja amarga	58
V.1.9. Pasiflora	59
V.1.10. Tila	60
V.1.11. Valeriana	61
V.2. Descripción de las muestras	63
VI. CAPÍTULO 3. Control de calidad de las muestras seleccionadas	69
VI.1. Material y métodos	71
VI.1.1. Identificación microscópica	71
A. Material de laboratorio	71
B. Muestras seleccionadas	71
C. Obtención e interpretación de las imágenes	74
VI.1.2. Identificación por HPTLC	75
A. Material de laboratorio	75
B. Muestras seleccionadas	75

a. Amapola de California, sumidad florida	78
b. Espino blanco, hoja y flor	79
c. Hierbaluisa, hoja	79
d. Lavanda, flor	80
e. Lúpulo, estróbilo	80
f. Manzanilla, flor	81
g. Melisa, hoja.....	82
h. Naranja amargo, flor.....	83
i. Pasiflora, sumidad.....	83
j. Tilo, flor.....	84
k. Valeriana, raíz	85
VI.1.3. Ensayos de pureza.....	85
VI.2. Resultados.....	86
VI.2.1. Amapola de California, sumidad florida.....	86
A. Identificación microscópica.....	86
B. Identificación por HPTLC	89
C. Ensayos de pureza	90
VI.2.2. Espino blanco, hoja y flor	91
A. Identificación microscópica.....	91
B. Identificación por HPTLC	95
C. Ensayos de pureza	96
VI.2.3. Hierbaluisa, hoja	97
A. Identificación microscópica.....	97
B. Identificación por HPTLC	99
C. Ensayos de pureza	101
VI.2.4. Lavanda, flor.....	102
A. Identificación microscópica.....	102
B. Identificación por HPTLC	104
C. Ensayos de pureza	106
VI.2.5. Lúpulo, estróbilo.....	107
A. Identificación microscópica.....	107
B. Identificación por HPTLC	109
C. Ensayos de pureza	113
VI.2.6. Manzanilla, flor.....	114
A. Identificación microscópica.....	114
B. Identificación por HPTLC	120
C. Ensayos de pureza	121

VI.2.7. Melisa, hoja.....	122
A. Identificación microscópica.....	122
B. Identificación por HPTLC	124
C. Ensayos de pureza	126
VI.2.8. Naranja amarga, flor.....	127
A. Identificación microscópica.....	127
B. Identificación por HPTLC	129
C. Ensayos de pureza	133
VI.2.9. Pasiflora, sumidad.....	134
A. Identificación microscópica.....	134
B. Identificación por HPTLC	136
C. Ensayos de pureza	137
VI.2.10. Tilo, flor.....	138
A. Identificación microscópica.....	138
B. Identificación por HPTLC	142
C. Ensayos de pureza	144
VI.2.11. Valeriana, raíz.....	145
A. Identificación microscópica.....	145
B. Identificación por HPTLC	147
C. Ensayos de pureza	148
VII. DISCUSIÓN.....	149
VIII. CONCLUSIONES	163
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	169
X. ANEXOS	187
X.1 Anexo I	189
X.2 Anexo II	217
X.3 Anexo III.....	235

Índice de figuras

Figura 1. Ciclos fisiológicos del sueño	9
Figura 2. Factores extrínsecos e intrínsecos	21
Figura 3. Ejemplo cromatograma HPTLC	27
Figura 4. Ejemplo del Knowledge Data Base de la sumidad de pasiflora (Ph. Eur.).....	28
Figura 5. Evaluación visual de los cromatogramas.....	29
Figura 6. División de los cuadrantes en el mapa de la Comunidad Valenciana.....	37
Figura 7. Distribución de la muestra por provincias	40
Figura 8. Distribución de la muestra entre el este y el oeste	40
Figura 9. Distribución de la muestra por género	41
Figura 10. Distribución de la muestra por rango de edad	41
Figura 11. Distribución de la muestra por nivel de estudios	42
Figura 12. Distribución de los síntomas para los que se utilizan estas plantas medicinales	42
Figura 13. Distribución por frecuencia de consumo	43
Figura 14. Distribución de las respuestas por razones del uso	44
Figura 15. Amapola de California.....	51
Figura 16. Espino blanco.....	52
Figura 17. Hierbaluisa	53
Figura 18. Lavanda.....	54
Figura 19. Lúpulo	55
Figura 20. Manzanilla	56
Figura 21. Melisa	57
Figura 22. Naranja amargo.....	58
Figura 23. Pasiflora	59
Figura 24. Tila.....	60
Figura 25. Valeriana.....	61
Figura 26. Inclusión en hielo y obtención de cortes.....	72
Figura 27. Microtomo de congelación	72
Figura 28. Sistema semiautomático Camag	76
Figura 29. Identificación por HPTLC	77
Figura 30. Identificación microscópica en las muestras de amapola de California	87
Figura 31. HPTLC de los extractos de amapola de California.....	89
Figura 32. Identificación microscópica en las muestras de espino blanco	93
Figura 33. HPTLC de los extractos de espino blanco.	95
Figura 34. Identificación microscópica en las muestras de hierbaluisa.	98
Figura 35. HPTLC de los extractos de hierbaluisa.	99

Figura 36. Identificación microscópica en las muestras de lavanda	103
Figura 37. HPTLC de los extractos de lavanda.	104
Figura 38. Identificación microscópica en las muestras de lavanda.	108
Figura 39. HPTLC de los extractos de lúpulo 1.	109
Figura 40. HPTLC de los extractos de lúpulo 2.....	110
Figura 41. HPTLC de los extractos de lúpulo 3.....	112
Figura 42. Identificación microscópica en las muestras de manzanilla.	118
Figura 43. HPTLC de los extractos de manzanilla	120
Figura 44. Identificación microscópica en las muestras de melisa	123
Figura 45. HPTLC de los extractos de melisa. Protocolo 1	124
Figura 46. HPTLC de los extractos de melisa. Protocolo 8.....	125
Figura 47. Identificación microscópica en las muestras de naranjo amargo.....	128
Figura 48. HPTLC de los extractos de naranjo amargo. Protocolo 1 (sin 1h).	129
Figura 49. HPTLC de los extractos de naranjo amargo. Protocolo 1 (1h).....	130
Figura 50. HPTLC de los extractos de naranjo amargo. Protocolo 2	133
Figura 51. Identificación microscópica en las muestras de pasiflora.....	135
Figura 52. HPTLC de los extractos de pasiflora.....	136
Figura 53. Identificación microscópica en las muestras de tila.	141
Figura 54. HPTLC de los extractos de tila.....	142
Figura 55. Identificación microscópica en las muestras de valeriana	146
Figura 56. HPTLC de los extractos de valeriana	147

Índice de tablas

Tabla 1. Diferencias entre TLC y HPTLC	25
Tabla 2. Cálculo del número de encuestas	38
Tabla 3. Entrevistados en función del número de habitantes en población habitual	41
Tabla 4. Formas farmacéuticas utilizadas.....	43
Tabla 5. Inicio del consumo	43
Tabla 6. Fuente de conocimiento.....	44
Tabla 7. Resultados del <i>Use value</i> en valor absoluto calculado para cada planta	45
Tabla 8. Frecuencia de consumo de plantas medicinales junto con medicación.....	46
Tabla 9. Procedencia de las plantas medicinales utilizadas.....	46
Tabla 10. Percepción sobre la peor calidad de las plantas en función del lugar de adquisición	47
Tabla 11. Descripción de las muestras seleccionadas	63
Tabla 12. Metodología HPTLC para amapola de California.....	78
Tabla 13. Metodología HPTLC para espino blanco	79
Tabla 14. Metodología HPTLC para hierbaluisa.....	79
Tabla 15. Metodología HPTLC para lavanda.....	80
Tabla 16. Metodología HPTLC para lúpulo. Protocolo 1	80
Tabla 17. Metodología HPTLC para lúpulo. Protocolo 2	81
Tabla 18. Metodología HPTLC para manzanilla.....	81
Tabla 19. Metodología HPTLC para melisa. Protocolo 1	82
Tabla 20. Metodología HPTLC para melisa. Protocolo 2	82
Tabla 21. Metodología HPTLC para naranja amargo. Protocolo 1.....	83
Tabla 22. Metodología HPTLC para naranja amargo. Protocolo 2.....	83
Tabla 23. Metodología HPTLC para pasiflora	84
Tabla 24. Metodología HPTLC para tilo.....	84
Tabla 25. Metodología HPTLC para valeriana	85
Tabla 26. Identificación microscópica en las muestras de amapola de California	86
Tabla 27. Evaluación visual del cromatograma de amapola de California según Pharmedeuropa	89
Tabla 28. Identificación microscópica en las muestras de espino blanco	91
Tabla 29. Evaluación visual del cromatograma de espino blanco según Ph. Eur.....	96
Tabla 30. Ensayos de pureza de las muestras de espino blanco.	96
Tabla 31. Identificación microscópica en las muestras de hierbaluisa	97
Tabla 32. Evaluación visual del cromatograma de hierbaluisa según Ph. Eur	99
Tabla 33. Evaluación visual del cromatograma de hierbaluisa según HPTLC Association.....	100
Tabla 34. Ensayos de pureza de las muestras de hierbaluisa.....	101
Tabla 35. Identificación microscópica en las muestras de lavanda	102

Tabla 36. Evaluación visual del cromatograma de lavanda según Ph. Eur.	104
Tabla 37. Evaluación visual del cromatograma de lavanda según HPTLC Association.....	105
Tabla 38. Ensayos de pureza de las muestras de lavanda.....	106
Tabla 39. Identificación microscópica en las muestras de lúpulo	107
Tabla 40. Evaluación visual del cromatograma de lúpulo según Ph. Eur. y Camag 1	111
Tabla 41. Evaluación visual del cromatograma de lúpulo según Ph. Eur. y Camag 2	112
Tabla 42. Ensayos de pureza de las muestras de lúpulo	113
Tabla 43. Identificación microscópica en las muestras de manzanilla.	114
Tabla 44. Ensayos de pureza de las muestras de manzanilla.....	121
Tabla 45. Identificación microscópica en las muestras de melisa.	122
Tabla 46. Evaluación visual del cromatograma de melisa según HPTLC Association.....	124
Tabla 47. Ensayos de pureza de las muestras de melisa.....	126
Tabla 48. Identificación microscópica en las muestras de naranjo amargo	127
Tabla 49. Evaluación visual según los resultados de Hänni et al. (2022) 1.....	131
Tabla 50. Evaluación visual según los resultados de Hänni et al. (2022) 2.....	131
Tabla 51. Evaluación visual del cromatograma de naranjo amargo según Ph. Eur.....	132
Tabla 52. Ensayos de pureza de las muestras de naranjo amargo.	133
Tabla 53. Identificación microscópica en las muestras de pasiflora.	134
Tabla 54. Evaluación visual del cromatograma de pasiflora según Ph. Eur.....	136
Tabla 55. Identificación microscópica en las muestras de tila.	138
Tabla 56. Evaluación visual del cromatograma de tila según Ph. Eur	143
Tabla 57. Ensayos de pureza en las muestras de tila.	144
Tabla 58. Identificación microscópica en las muestras de valeriana.....	145
Tabla 59. Evaluación visual del cromatograma de valeriana según Pharmeuropa.....	147

Índice de QR

QR1. Identificación microscópica en las muestras de amapola de California.....	86
QR2. Identificación microscópica en las muestras de espino blanco	91
QR3. Identificación microscópica de las muestras de hierbaluisa	97
QR4. Identificación microscópica en las muestras de lavanda.....	102
QR5. Identificación microscópica en las muestras de lúpulo.	107
QR6. Identificación microscópica en las muestras de manzanilla.....	117
QR7. Identificación microscópica en las muestras de melisa.....	122
QR8. Identificación microscópica en las muestras de naranjo amargo	127
QR9. Identificación microscópica en las muestras de pasiflora	134
QR10. Identificación microscópica en las muestras de tila	138
QR11. Identificación microscópica en las muestras de valeriana.....	145

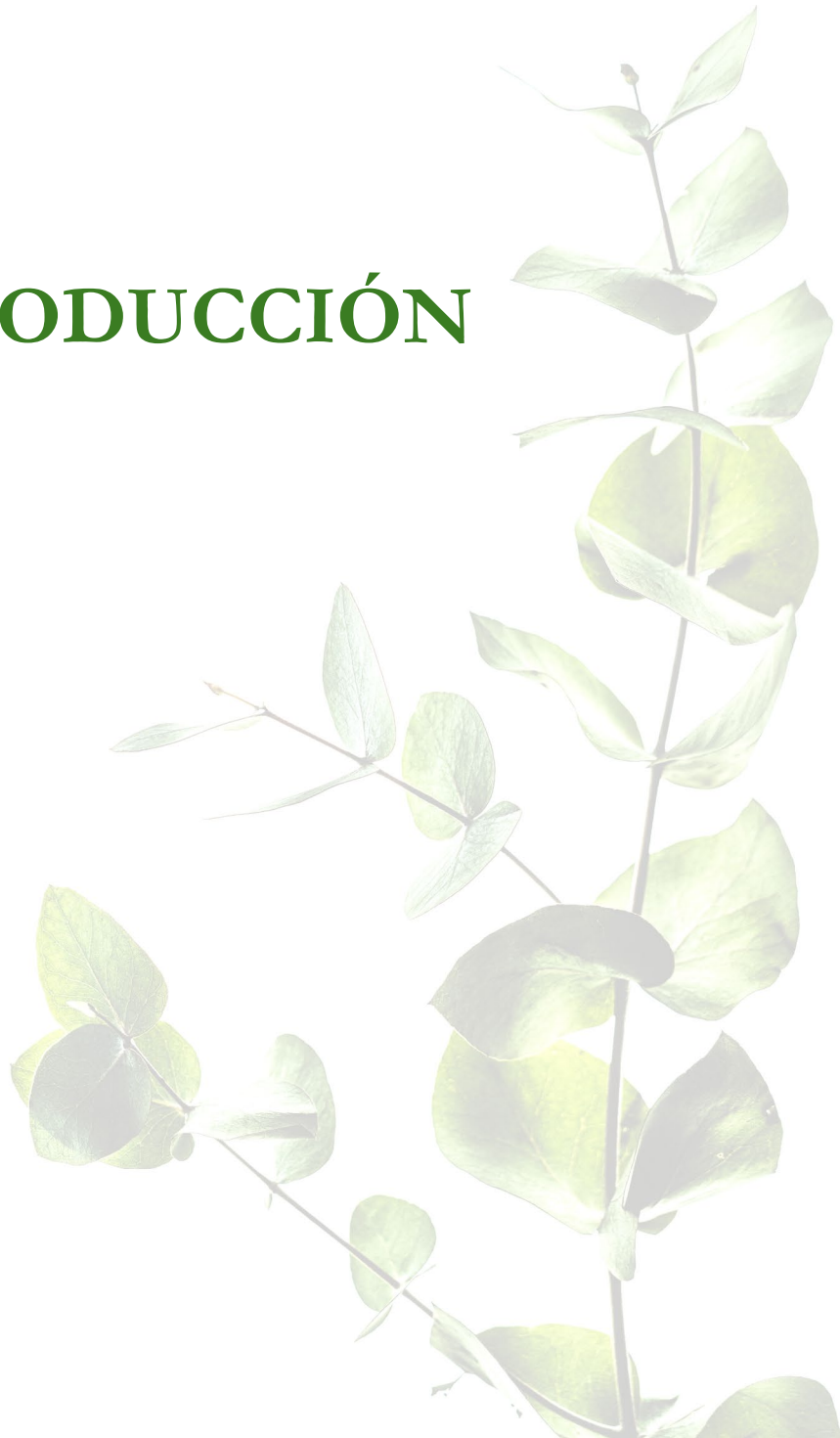
Lista de abreviaturas

ACh	Acetilcolina
ATC	Antidepresivos tricíclicos
AEMPS	Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios
AESAN	Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
BDZ	Benzodiazepinas
BOE	Boletín Oficial del Estado
C	Coefficiente de contingencia
CGPE	Consejo General de la Psicología de España
DA	Dopamina
EDQM	<i>European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare</i>
EFSA	<i>European Food Safety Security</i>
GABA	Ácido- γ -aminobutírico
GACP	<i>Good Agricultural and Collection Practice for starting materials of herbal origin</i>
GMP	<i>Good Manufacturing Practice</i>
HPTLC	<i>High performance thin-layer chromatography</i> , CCF de alta resolución
5-HT	5-hidroxitriptamina o serotonina
IMAO	Inhibidores de la monoaminooxidasa
INFITO	Centro de Investigación sobre Fitoterapia
IRSN	Inhibidores de la recaptación de 5-HT y NA
ISRS	Inhibidores selectivos de la recaptación de 5-HT
JIFE	Junta Internacional de Fiscalización de Estupefacientes
NA	Noradrenalina
NREM	<i>Non Rapid Eye Movement</i>
NPR	<i>Natural Product Reagent</i>
OCU	Organización de Consumidores y Usuarios
PEG	Polietilenglicol
Ph. Eur.	<i>European Pharmacopoeia</i> , Farmacopea Europea
REM	<i>Rapid Eye Movement</i>
SEN	Sociedad Española de Neurología
SST	<i>System suitability test</i> , prueba de idoneidad del sistema
TAG	Trastorno de ansiedad generalizada
TCC	Terapia cognitivo-conductual
TLC	<i>Thin-layer chromatography</i> , cromatografía en capa fina (CCF)
UV	Ultravioleta

Lista de muestras

AC0 – AC7	Muestras de hierbaluisa (de la muestra AC0 a la muestra AC7)
CA0 – CA4	Muestras de naranjo (de la muestra CA0 a la muestra CA4)
CM0 – CM6	Muestras de espinoso blanco (de la muestra CM0 a la muestra CM6)
EC0 – EC1	Muestras de amapola de California (muestras EC0 y EC1)
HL0 – HL4	Muestras de lúpulo (de la muestra HL0 a la muestra HL4)
LA0 – LA4	Muestras de lavanda (de la muestra LA0 a la muestra LA4)
MC0 – MC24	Muestras de manzanilla (de la muestra MC0 a la muestra MC24)
MO0 – MO8	Muestras de melisa (de la muestra MO0 a la muestra MO8)
PI0 – PI5	Muestras de pasiflora (de la muestra PI0 a la muestra PI5)
TP0 – TP21	Muestras de tila (de la muestra TP0 a la muestra TP21)
VO1 – VO6	Muestras de valeriana (de la muestra VO1 a la muestra VO6)

I. INTRODUCCIÓN



Los trastornos del sueño y la ansiedad son dos de los problemas de salud más prevalentes en la actualidad. Según un informe del Consejo General de la Psicología de España (CGPE), *el 37% de la población española presenta algún problema de salud mental, siendo los más frecuentes en las consultas de atención primaria los trastornos de ansiedad, seguidos de los problemas de sueño y la depresión, con una tendencia creciente en los últimos años. La misma tendencia se observa en el consumo de antidepresivos e hipnóticos y sedantes, que se han incrementado un 10,8% y un 6,6% respectivamente desde el año 2019 (CGPE, 2023)*

En concreto, dicho informe indica que *los problemas de salud mental más frecuentemente registrados en las historias clínicas de atención primaria son los trastornos de ansiedad (127 casos por cada 1.000 habitantes), seguidos de los trastornos del sueño y de los trastornos depresivos (79 y 47 por cada 1.000 habitantes, respectivamente), con una tendencia creciente en la serie 2016-2021. Además, destaca que la prevalencia de los trastornos de ansiedad aumenta con la edad, afectando más a las mujeres que a los hombres en todas las edades (cerca del 17% de las mujeres y del 9% de los hombres los presentan), y mostrando su mayor cifra en mujeres entre 50-54 años (CGPE, 2023).*

La Sociedad Española de Neurología (SEN) estima que más de 4 millones de españoles sufren trastornos del sueño. Se calcula que entre el 20-48% de adultos españoles y el 20-25% de la población infantil presenta dificultades al conciliar el sueño o para mantenerlo durante la noche (SEN, 2023).

La Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) publicó un informe sobre la utilización de medicamentos ansiolíticos e hipnóticos en España en el que su consumo se incrementa con los años (desde el año 2010-2021) (AEMPS, 2023). El último informe (año 2021) de la Junta Internacional de Fiscalización de Estupefacientes (JIFE), dependiente de Naciones Unidas, indica que España es el país que más benzodiazepinas *per capita* consume del mundo. Se consumieron 110 dosis diarias de benzodiazepinas por cada 1.000 habitantes (OCU, 2022). Según la Organización de Consumidores y Usuarios (OCU) *este consumo exagerado responde a la falta de una respuesta adecuada por parte de la sanidad pública a los problemas de salud mental*. Esta organización resalta que estos fármacos presentan riesgo de generar dependencia y que tienen importantes efectos adversos (OCU, 2022).

Un estudio realizado por la Fundación Manantial sobre el bienestar emocional de los jóvenes indica que el 31,5% de las más de 2.600 personas entrevistadas aseguran sufrir episodios de ansiedad con asiduidad. Sin embargo, solamente el 25,9% de los jóvenes recurre a expertos, la

mayoría solicitan apoyo en sus amigos o familiares y algunos prefieren evadirse de esas situaciones y pedir ayuda o información a través de Internet, incluyendo redes sociales. No obstante, las tecnologías de información perjudican en las conductas de los jóvenes generando ansiedad (31,3%), insomnio (28%) o falta de concentración (29,5%) (Peraita et al., 2023). En enero de 2024, la agencia de investigación 40Db llevó a cabo una encuesta en la que se demuestra que las mujeres entre 45-64 años presentan mayor dificultad para dormir que los hombres. Muestra que la calidad del sueño está relacionada con la edad, empeora con la vida laboral y mejora con la jubilación. Las mujeres entrevistadas indicaron que consumían productos para dormir: principalmente infusiones relajantes y en segundo lugar medicamentos ansiolíticos y antidepresivos (Jiménez Barca, 2024).

Las plantas medicinales y sus derivados son seguras y eficaces si se consumen correctamente, y no suelen tolerancia ni dependencia a diferencia de algunos medicamentos de síntesis. Como norma general, el Centro de Investigación sobre Fitoterapia (INFITO) destaca la importancia de las garantías de calidad, seguridad y eficacia que ofrece la oficina de farmacia cuando se adquieren las plantas o preparados medicinales a base de plantas (Andrón et al., 2007). Por tanto, como se ha comentado, es fundamental asegurar la calidad de los productos a base de plantas comercializados ya que la calidad es clave para la reproducibilidad de su seguridad y eficacia (Cañigüeral, 2013). El farmacéutico por su formación y proximidad con el paciente es el profesional sanitario clave para aconsejar cuando es recomendable el uso de medicamentos a base de plantas y en qué situaciones no es aconsejable si se trata de pacientes polimedicados. La dispensación de medicamentos a base de plantas medicinales debería realizarse desde la oficina de farmacia para que el paciente tuviera plena confianza en la calidad de estos productos (Rodríguez, 2017). Otros establecimientos como supermercados o herboristerías, en general, carecen de estos profesionales sanitarios expertos en fitoterapia.

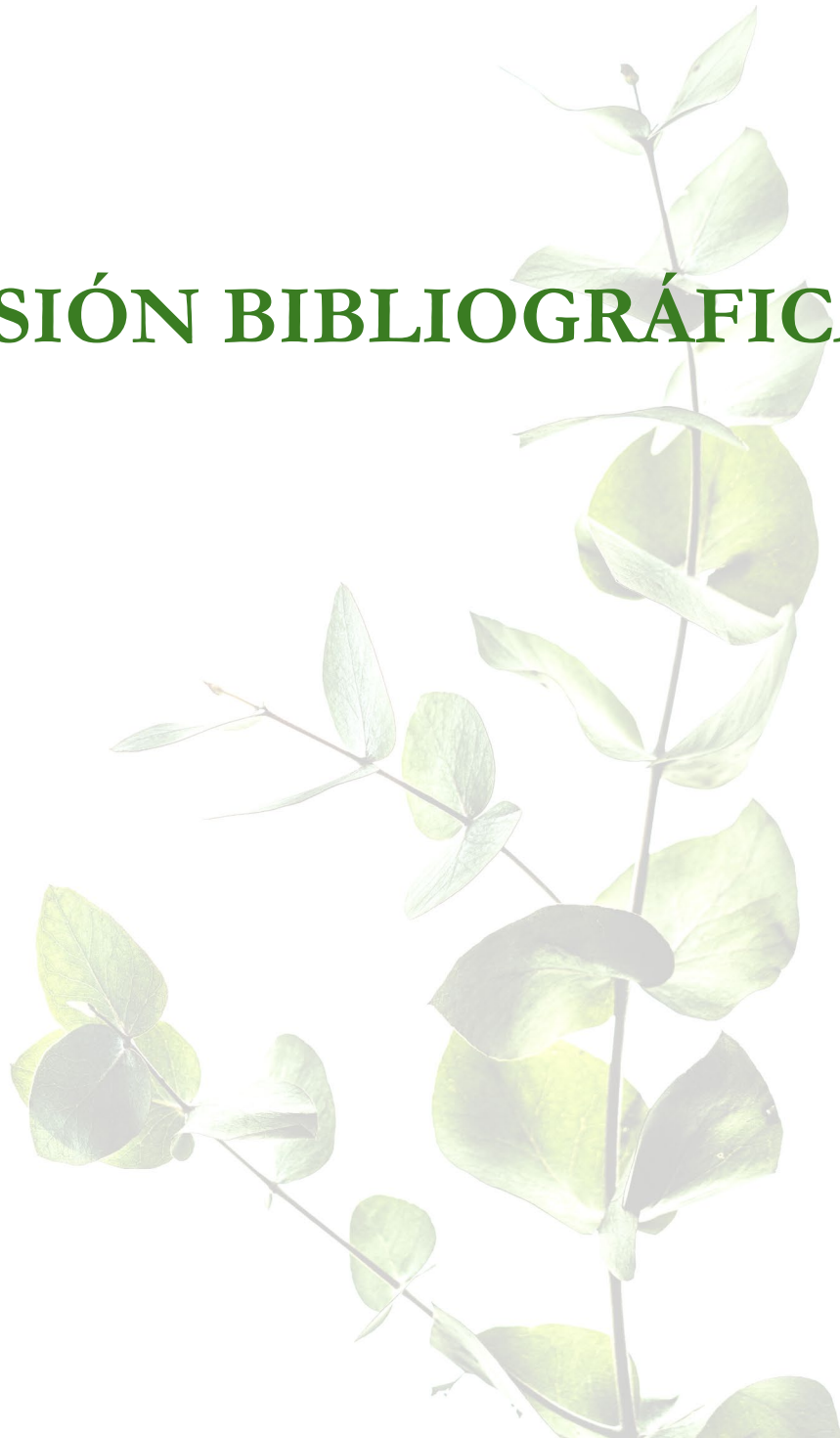
Hay estudios en los que se investiga el uso de las plantas medicinales en general (global) y, en algunos casos se centran en su empleo para patologías concretas. Entre los estudios realizados en los que se investiga el uso de plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad, destaca el de Sánchez-Ortuño et al. (2009) sobre el uso de productos naturales para dormir en Quebec (Canadá). Beniach et al. (2022) abordaron un estudio etnobotánico en Marruecos para tratar el insomnio, entre otras patologías y Hosseini et al. (2022) investigaron el uso de plantas medicinales en Sarvabad (Irán), incluyendo su uso para combatir la ansiedad. En España, un estudio llevado a cabo por INFITO en 2015 destaca la elección de la población sobre el uso de plantas medicinales para curar ciertas patologías (García Toro, 2015). Sánchez et al. (2020)

desarrollaron un estudio descriptivo transversal sobre el uso de plantas medicinales en la Comunidad Autónoma de Madrid, entre las que se encuentran las utilizadas para el tratamiento del insomnio y la ansiedad. Caro et al. (2020) realizaron un estudio sobre el uso de plantas medicinales en Sevilla, destacando aquellas de interés para el tratamiento de la ansiedad, nerviosismo y dificultad para dormir. Asimismo, un estudio realizado por INFITO (COFM, 2020) destaca el consumo de plantas medicinales durante el confinamiento, especialmente para la ansiedad, estrés e insomnio. Ascanio (2023) estudió el consumo de plantas medicinales para el insomnio y la ansiedad en las Islas Canarias. Sin embargo, en la Comunidad Valenciana, solamente se ha encontrado un estudio del INFITO realizado en 2015 (La Vanguardia, 2015), donde un 64% de valencianos afirmaron tomar plantas medicinales para prevenir o tratar trastornos como el insomnio y la ansiedad entre los usos más destacados. En 2017, Puchol realizó un estudio descriptivo de plantas medicinales para combatir la depresión y ansiedad.

Debido a que los trastornos de sueño y la ansiedad tienen una alta prevalencia en la actualidad y a que el empleo de plantas medicinales se ha incrementado, se decidió abordar este proyecto de investigación para conocer el uso de las plantas medicinales para estos trastornos en la población de la Comunidad Valenciana mediante la realización de un cuestionario. Una vez analizados los resultados, se planteará la selección de las plantas medicinales más utilizadas por los entrevistados, para a continuación realizar la identificación botánica de las drogas vegetales utilizadas mediante microscopía, analizando los caracteres de diagnóstico exigidos por la Farmacopea Europea, así como la identificación por HPTLC de las muestras a estudiar procedentes de las drogas vegetales seleccionadas. La idea final de este estudio es facilitar la elección del consumidor a la hora de escoger el producto que desee tomar o dónde debe acudir para solicitar ayuda profesional respecto al uso óptimo de las plantas medicinales, garantizando la calidad del producto a consumir.

II.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



I.1. SUEÑO

El sueño es un estado neuroconductual complejo que implica cambios generalizados en el cerebro y en la fisiología sistémica (Lim et al., 2023). El sueño comprende dos fases (Figura 1): el sueño de movimientos oculares rápidos (REM o *rapid eye movement*) y el sueño de ondas lentas y de baja frecuencia (NREM o *non rapid eye movement*). El sueño NREM presenta tres niveles graduales de profundidad: etapa N1, consiste en la transición entre vigilia y sueño; etapa N2, caracterizada por un sueño ligero; etapa N3 engloba la etapa del sueño S3 y S4 en la que el sueño es profundo (sueño de ondas lentas). El sueño REM empieza aproximadamente a los 90 min después de quedarse dormido y no se considera una etapa de sueño reparador. Las fases REM y NREM duran aproximadamente 90 min cada una y se van alternando durante la noche. Se producen de 1 a 8 ciclos por noche (Della Monica et al., 2018; Le Bon et al., 2020).

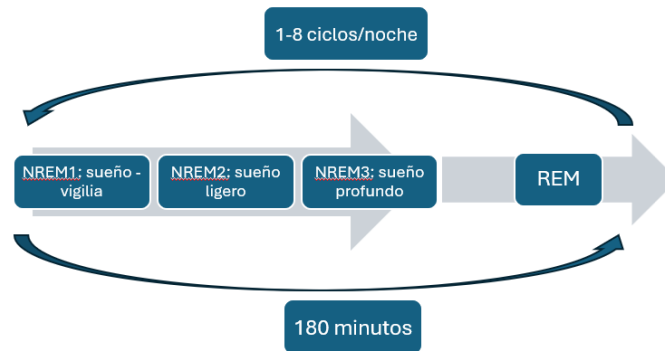


Figura 1. Ciclos fisiológicos del sueño.

En los recién nacidos, la fase REM representa un 50% del sueño y durante los dos primeros años va disminuyendo hasta alcanzar el 20-25% del sueño total, permaneciendo así desde la infancia hasta la vejez (excepto en la demencia). Asimismo, los neonatos carecen de las ondas lentas características del sueño NREM y éstas van apareciendo durante los primeros dos años de vida. Desde la preadolescencia hasta el envejecimiento, las ondas lentas del sueño NREM van disminuyendo en un 40%, afectando esta disminución particularmente a los hombres (Carskadon, 2011).

Neurotransmisores implicados en el sueño

El sueño se considera esencial en la fisiología humana. En él están implicados diversos neurotransmisores como el ácido- γ -aminobutírico (GABA), glutamato y acetilcolina (ACh), en todo el sistema nervioso (Jembrek et al., 2015). Existen tres clases principales de receptores GABA: GABA_A, GABA_B y GABA_C. Estos tres tipos de receptores participan en el proceso

sueño-vigilia. La activación de los receptores GABA_A favorece el sueño mientras que la activación de los receptores GABA_B da lugar a la regulación del sueño-vigilia. Los receptores GABA_C poseen mayor sensibilidad al GABA que los receptores GABA_A y GABA_B, por lo que sus moduladores podrían ser medicamentos potenciales que actúen a dosis bajas y en consecuencia tendrían menos efectos secundarios (Arnaud et al., 2001; Gottesmann et al., 2002). El glutamato es el principal neurotransmisor excitador del cerebro. La neurotransmisión glutamatérgica excitatoria participa en los procesos talamocorticales pertenecientes a las oscilaciones características del sueño NREM (Pace-Schott et al., 2022). La ACh interactúa con el sistema GABAérgico y monoaminérgico manteniendo el sueño REM. Se centra en la regulación del sueño de la transmisión mediada por receptores colinérgicos muscarínicos (subtipos M₁ - M₅), siendo el subtipo M₂ el que posee un papel crucial en la generación del sueño REM (Watson et al., 2012). Las hipocretinas 1 y 2, también llamadas orexina A y orexina B respectivamente, son neuropéptidos hipotalámicos que presentan un papel fundamental en el mantenimiento de la vigilia. (Mieda et al., 2011; Schwartz et al., 2015). Las células histaminérgicas se encuentran en el hipotálamo posterior y ejercen un papel fundamental en el mantenimiento de la vigilia. (Shan et al., 2015). La serotonina (5-HT) y la dopamina (DA) promueven la vigilia e inhiben el sueño de ondas lentas y/o el sueño REM. (Monti et al., 2008). Las células noradrenérgicas en el *locus coeruleus* inhiben el sueño REM, promueven la vigilia y se proyectan a otras regiones cerebrales que regulan la excitación (Watson et al., 2012).

Factores implicados en el sueño

El sueño puede variar dependiendo de varios factores, como son el género, la edad, la raza y los factores ambientales. Respecto al género, las mujeres presentan una duración del sueño más corta, lo que origina un mayor número de casos de insomnio. Particularmente, en el embarazo se puede sufrir trastornos del sueño durante el primer y tercer trimestre. La menopausia también puede ocasionar estas alteraciones, así como los sofocos. En los hombres es habitual que aparezcan trastornos del sueño debido a apnea obstructiva, así como trastornos en la conducta del sueño REM y disminución de las ondas lentas en el envejecimiento (Gradner et al., 2017). En cuanto a la edad, en niños y adolescentes, el tiempo total del sueño se va reduciendo a lo largo de los años. En el sueño NREM, las ondas lentas presentan una correlación negativa significativa con la edad. El estudio de Ohayon et al. (2004) sugiere que en adultos la latencia del sueño y las fases I y II del sueño NREM van aumentando con la edad, mientras que en el sueño REM disminuye. Con la edad, se observa un decrecimiento de la secreción de melatonina, lo que podría perjudicar a los adultos de edad avanzada (Hardeland et al., 2011). La raza

también puede ser un factor condicionante del sueño. La población de raza negra se caracteriza por tener el sueño más corto, menos profundo y reparador que la raza blanca ya que presentan una reducción del sueño de ondas lentas y tienen una menor eficiencia del sueño (Gradner et al., 2017). Los factores ambientales, tales como la luz o el ruido, factores sociológicos, como las relaciones familiares o turnos de trabajo y factores socioeconómicos (una posición económica más baja se asocia con tasas más altas de alteraciones del sueño) podrían ser causas de trastornos del sueño (Gradner et al., 2017; Hulsege et al., 2019). Una mala calidad del sueño y duración insuficiente están asociados con la posibilidad de sufrir problemas de salud, como apnea del sueño e insomnio (Gradner et al., 2017). Asimismo, la falta de sueño también se puede producir por diferentes problemas de salud, tales como el estrés, la ansiedad, la depresión o las enfermedades cardiovasculares (Depner et al., 2014).

Ritmo circadiano

El ritmo circadiano es el ciclo de retroalimentación día/noche que se produce en el organismo generando cambios físicos, mentales y conductuales. Se considera esencial para las funciones fisiológicas del organismo, incluido el sueño (Sollars et al., 2015). El ritmo circadiano se puede ver alterado por el estilo de vida, como el consumo de cafeína y el horario de sueño, lo que podría ocasionar consecuencias fisiológicas negativas. La alteración del ritmo circadiano puede causar trastornos del sueño produciendo alteraciones dentro de las 24 h del día, tales como síndrome de desfase horario, trastorno del sueño por trabajo por turnos, patrón irregular de sueño-vigilia o síndrome de fase retrasada del sueño (Golem et al., 2014). El centro principal de regulación del ritmo circadiano es el núcleo supraquiasmático, que se encuentra sincronizado por la luz ambiental y regula el resto del organismo mediante la síntesis rítmica de melatonina. La melatonina es una hormona que se sintetiza en la glándula pineal y otros órganos extrapineales y no endocrinos. Su síntesis y secreción están reguladas por el núcleo supraquiasmático y simultáneamente, modula el núcleo supraquiasmático y los relojes periféricos (distribuidos por todo el organismo), lo que hace que ejerza un papel fundamental como marcador del ritmo circadiano (Poza et al., 2018). La melatonina exógena puede actuar como hipnótico en el ritmo sueño-vigilia, turnos laborales y en el *jet lag*, ya que facilita la inducción al sueño, cambios de fase en el reloj circadiano ayudando a que la fase circadiana de mayor propensión al sueño ocurra en un nuevo momento deseado e inhibe el impulso de vigilia que emana el ritmo circadiano (Zisapel et al., 2018; Vasey et al., 2021). En ocasiones, la melatonina se combina con plantas medicinales generando mejoras desde la latencia del inicio del sueño y la calidad del mismo (Lemoine et al., 2018).

II.2. TRASTORNOS DEL SUEÑO

Según la tercera edición de la Clasificación Internacional de los Trastornos del Sueño, se pueden clasificar en: insomnio, trastornos respiratorios relacionados con el sueño, trastornos centrales de hipersomnolencia, trastornos del ritmo circadiano del sueño-vigilia, trastornos del movimiento relacionados con el sueño, parasomnias y otros trastornos del sueño (Sateia, 2014).

Cabe destacar que el insomnio es uno de los trastornos predominantes en la actualidad. Se puede definir como una *queja de dificultad para iniciar o mantener el sueño que se asocia con consecuencias diurnas y no es atribuible a circunstancias ambientales ni a oportunidades inadecuadas para dormir* (APA, 2022). El insomnio agudo (a corto plazo) se caracteriza por acontecimientos precipitantes como mala salud, cambio de medicación o diversas circunstancias, como el estrés. Actúa puntualmente y después el sueño vuelve a su patrón habitual (Cunington et al., 2013). El insomnio crónico puede ser un síntoma de diferentes trastornos médicos, neurológicos y mentales, tales como la ansiedad y la depresión (Riemann et al., 2015). Se considera insomnio agudo cuando dura menos de tres meses, mientras que el insomnio crónico presenta una duración de tres meses o más y se manifiesta al menos tres veces por semana (Sateia et al., 2017).

II.3. ANSIEDAD

La ansiedad es uno de los problemas de salud mental más frecuentes a nivel mundial. Se define como *una anticipación de un daño o desgracia futuros, acompañada de un sentimiento de disforia (desagradable) y/o de síntomas somáticos de tensión*. Se puede considerar un estado emocional normal en ciertas situaciones estresantes, siendo beneficioso para alertar de potenciales peligros, ayudar a prepararse y prestar atención en caso de que éstos aparezcan. Sin embargo, la ansiedad se convierte en patológica cuando sobrepasa cierta intensidad o capacidad adaptativa de la persona, causando síntomas tanto a nivel físico como a nivel mental y conductual (GPC-SNS, 2008; APA, 2022).

Factores de riesgo

Los factores de riesgo causantes de la ansiedad pueden ser el consumo de alcohol o cannabinoides, el abuso de bebidas con cafeína, las conductas de evitación o los factores ocupacionales. Por el contrario, los factores de protección que ayudan a disminuir la ansiedad son la actividad física, la participación en deportes, el apoyo social y las habilidades de afrontamiento (Zimmermann et al., 2020). Los trastornos del sueño, especialmente el insomnio, perjudican a un 50% de la población que sufre ansiedad. La falta de sueño puede generar o

agrarar la ansiedad, así como ésta puede empeorar la calidad del sueño, lo que origina un ciclo negativo entre ambas patologías (Chellapa et al., 2022).

II.4. TRASTORNOS DE ANSIEDAD

Hay varios tipos de trastornos de ansiedad: trastorno de ansiedad por separación, mutismo selectivo, fobia específica, trastorno de ansiedad social (fobia social), trastorno de pánico, agorafobia, trastorno de ansiedad generalizada (TAG), trastorno de ansiedad inducido por sustancias/medicamentos, trastorno de ansiedad debido a otra afección médica, trastornos de ansiedad especificados como pueden ser una crisis nerviosa y otros trastornos de ansiedad no especificados, en situaciones en las que el médico no especifica el motivo de incumplimiento de los criterios de un trastorno de ansiedad específico, e incluye presentaciones en las que no hay suficiente información para hacer un diagnóstico más específico (APA, 2022).

El TAG es el trastorno de ansiedad que está relacionado con la falta de sueño. En este caso la ansiedad y la preocupación se asocian a tres o más de los seis síntomas siguientes: inquietud o sensación de estar atrapado, estar fácilmente fatigado, dificultad para concentrarse o quedarse con la mente en blanco, irritabilidad, tensión muscular y problemas de sueño (dificultad para dormirse o para continuar durmiendo, o sueño inquieto e insatisfactorio). Al menos algunos de estos síntomas están presentes más veces que ausentes durante seis meses (APA, 2022).

II.5. TRATAMIENTOS PARA LOS TRASTORNOS DEL SUEÑO Y ANSIEDAD

Para combatir los trastornos del sueño y la ansiedad se pueden utilizar tratamientos farmacológicos y/o no farmacológicos en los que no se utilicen sustancias modificadoras de la fisiología o fisiopatología del paciente. También se deben cambiar los hábitos del sueño o acudir a profesionales sanitarios que ayudarán a aplicar terapias psicológicas incluyendo la relajación y el control de los estímulos. Las plantas medicinales son muy utilizadas para el tratamiento del insomnio leve o moderado, así como para tratar la ansiedad leve y nerviosismo.

II.5.1. Tratamiento no farmacológico

Las medidas para la higiene del sueño son fundamentales en los trastornos del sueño. Concretamente en el tratamiento del insomnio, se debe evitar: acostarse sin sentir sueño, levantarse a los 15-20 min después si no está dormido, siestas largas, consumo de sustancias estimulantes, realizar ejercicio físico 4 h antes de acostarse, así como utilizar aparatos electrónicos en la cama (Bragg et al., 2019).

La terapia cognitivo-conductual (TCC) es uno de los tratamientos de elección para el insomnio y los trastornos de ansiedad, especialmente para el TAG. En el caso del insomnio, se considera un tratamiento para los factores conductuales, cognitivos y fisiológicos que perpetúan el insomnio, en los que se pretende modificar y alterar conductas desadaptativas y creencias distorsionadas sobre el sueño y el insomnio. La TCC-I consiste en realizar de cuatro a ocho sesiones semanales (50 - 90 min), individuales o en grupo, dirigidas por especialistas, y centradas en el control de estímulos, la restricción del sueño, las técnicas de relajación, la terapia cognitiva y la educación sobre la higiene del sueño (Chan et al., 2021). La TCC como tratamiento para el TAG consiste en el desarrollo de un análisis funcional, proporcionando información mediante la psicoeducación, la experimentación con nuevas conductas y emociones (exposición, relajación) y un enfoque cognitivo (Borza et al., 2017).

Otros tratamientos no farmacológicos para trastornos del sueño pueden ser de utilidad para la regulación del ritmo circadiano basándose en luz azul o brillante programada o para la apnea del sueño, se recomienda la pérdida de peso y evitar la posición supina (Pavlova et al., 2019).

II.5.2. Tratamiento farmacológico

Para los trastornos del sueño, especialmente el insomnio, uno de los grupos farmacológicos más utilizados son las benzodiazepinas (BDZ). Las BDZ y los agonistas de los receptores de BDZ se unen al receptor GABA_A, promoviendo la actividad intrínseca del GABA y mejorando las emisiones inhibitoras a los grupos celulares principales en el tronco del encéfalo e hipotálamo. Su seguridad y eficacia están restringidas por generar tolerancia y dependencia a largo plazo (Riemann et al., 2015). Los fármacos Z (zolpidem, zopiclona y zaleplón) también se utilizan para el tratamiento del insomnio. Actúan como agonistas del receptor GABA_A, uniéndose al mismo lugar que BDZ. Al despertar, estos fármacos pueden causar efectos residuales relacionados con la cognición, la memoria, la parasomnia y el comportamiento extraño (Gunja et al., 2013). Otros fármacos empleados para el insomnio son los antihistamínicos y antidepresivos tricíclicos (ATC), que tienen propiedades anticolinérgicas y antihistaminérgicas. Estos fármacos no causan adicción, sin embargo, pueden ocasionar insomnio de rebote después de la abstinencia, disfunción hepática y alteraciones del ritmo cardíaco (Riemann et al., 2015). Para otros trastornos del sueño se pueden utilizar otros grupos fármacos. Por ejemplo, para la hipersomnia se utilizan, entre otros, el armodafinilo o para el síndrome de las piernas inquietas se emplean agonistas de la dopamina o con gabapentina y el levodopa, aunque existen otros medicamentos utilizados para otras patologías (Pavlova et al., 2019).

Para los trastornos de ansiedad, los tratamientos de primera línea son los fármacos inhibidores selectivos de la recaptación de 5-HT (ISRS) e inhibidores de la recaptación de 5-HT y NA (IRSN) (Murrough et al., 2015). Estos fármacos también presentan algunos efectos secundarios, siendo los más frecuentes los trastornos gastrointestinales. A largo plazo, con los ISRS se puede manifestar disfunción sexual, aumento de peso y trastornos del sueño (Ferguson et al., 2001). Además, las BDZ también se pueden utilizar para tratamientos a corto plazo y complementarios. Los ATC y los inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAO) son eficaces, pero pueden causar problemas de tolerabilidad. En determinadas ocasiones, se pueden indicar otros tratamientos como anticonvulsivantes y antipsicóticos de segunda generación (Murrough et al., 2015).

II.6. FITOTERAPIA

La fitoterapia es una de las alternativas farmacológicas útiles para el tratamiento de los trastornos del sueño y ansiedad. Este método terapéutico se define, según Cañigual y Vila, como *la ciencia que estudia la utilización de productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya bien sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico* (Ríos, 2021). La fitoterapia se desarrolla a partir del conocimiento y aplicación de las plantas medicinales y drogas vegetales en las diferentes medicinas tradicionales (Gurib-Kamig, 2006). Las plantas medicinales se utilizan para tratar múltiples patologías, entre las que destacan los trastornos del sueño, como el insomnio, y la ansiedad (Borrás et al., 2021; Acero et al., 2022) (Anexo II y III).

II.6.1. Evolución del uso tradicional de las plantas medicinales

Las plantas medicinales se han utilizado desde los inicios de la civilización, ya que hay indicios desde hace unos 60000 años. El hombre tenía que cubrir sus necesidades con lo que le ofrecía la naturaleza. Mientras buscaba alimento con las especies vegetales, descubrió que algunas de ellas eran venenosas y otras presentan diversos efectos, como los curativos. Se cree que las plantas medicinales se comenzaron a utilizar observando para qué las utilizaban los animales. Hacia el año 2800 a.C. se encuentra el primer documento escrito que registra el uso de las plantas medicinales, aunque el primer tratado de plantas medicinales titulado *Pen Tsao* fue escrito por el emperador chino Shen Nung (reinó en el siglo XXVII a.C.) en el que se describen y clasifican 366 plantas con aplicaciones medicinales (Barquero, 2007).

Las diferentes culturas han ido desarrollando sus propias tradiciones respecto al uso de plantas medicinales. La medicina tradicional india (Ayurveda) es un tipo de medicina alternativa y complementaria, utilizada desde hace 5000 años. Consiste en el empleo de plantas medicinales,

alimentación y algunos ejercicios como la meditación para prevenir o tratar enfermedades (Muñoz et al., 2010). La medicina tradicional china es un sistema médico utilizado durante miles de años para prevenir, diagnosticar y tratar enfermedades. Se centra en terapias con plantas, dietética y acupuntura, entre otros (Patwardhan et al., 2005). En Egipto también se utilizaban las plantas con fines medicinales. Alrededor de 1550 a.C. se encontró el Papiro de Ebers que contiene una amplia lista de plantas medicinales y drogas vegetales, como el aloe y el opio (Barquero, 2007). Grecia y Roma recogen la tradición de Mesopotamia y Egipto en cuanto al empleo de plantas medicinales para prevenir y tratar enfermedades. Hipócrates (460-377 a.C.), considerado el padre de la medicina occidental, sistematizó los grupos de medicamentos y los dividió en-purgantes, narcóticos y febrífugos. Para la preparación, utilizaba vegetales y minerales simples y algunas sales de naturaleza inorgánica (Barquero, 2007). Dioscórides (40-90 d.C.) fue un médico griego que trabajaba como botánico para el ejército romano. Estudió las propiedades de más de 600 plantas y de diferentes minerales, recopilando sus conocimientos en el tratado *De Materia Medica*. Galeno (130-200 d.C.), autor de *De Simplicibus Medicinis* (indica el uso de las plantas medicinales) se consideró el fundador de la farmacia galénica. Las obras de Hipócrates, Dioscórides y Galeno entraron en la Europa medieval por las traducciones de los médicos árabes. El médico Ibn Sina (980-1037 d.C.) escribió diferentes libros sobre medicina, filosofía, matemática y astronomía (Barquero, 2007). Hacia el año 1112, el médico Abu-S-Salt Umayya escribió el *Tratado de los Medicamentos Simples*, en el que explica el uso de las plantas medicinales en los diferentes sistemas del organismo (COFA, 1999). Hildegard Von Bingen (Alemania, 1098-1179) escribió *Physica*, un texto sobre las ciencias naturales, así como el tratado médico *Causae et Curae*, donde describe el mundo animal, las rocas y destaca las propiedades curativas de las plantas, donde refiere el sueño y los trastornos del sueño (Sakalauskaitė et al., 2021).

Estas obras han descrito el uso de las plantas medicinales a lo largo de la historia. Las culturas modernas consideraron relevante que su empleo estuviera avalado científicamente, de modo que, en el siglo XIX se comienzan a aislar moléculas procedentes de plantas mediante métodos químicos, las cuáles proporcionan a las plantas las propiedades terapéuticas potenciando así las aplicaciones de la química analítica (Gurib-Kamig, 2006; Aguilar et al., 2023). Se destaca el aislamiento de compuestos químicos, como la quinina a partir de la corteza del árbol de la quina; la morfina cuando se pretendía descubrir las propiedades curativas del opio (*Papaver somniferum*) empleándose ya como analgésico; la síntesis química del ácido acetilsalicílico derivado de la salicina procedente de la corte del sauce (*Salix alba*) (Gurib-Kamig, 2006;

Aguilar et al., 2023). De ahí, la importancia de la transformación y modificación de fármacos de síntesis procedentes de las plantas en este siglo pasado (Monge, 2003; Gurib-Kamig, 2006).

II.6.2. Productos fitoterápicos

A. Medicamentos a base de plantas

La comercialización de los productos fitoterápicos requiere una autorización basada en la calidad, seguridad y eficacia. Los medicamentos a base de plantas se dividen en:

- Medicamentos a base de plantas: son medicamentos nuevos o con «uso médico bien establecido», que presentan ensayos clínicos. La autorización de comercialización la concede una agencia de medicamentos tras una evaluación exhaustiva de la calidad, seguridad y eficacia.
- Medicamentos tradicionales a base de plantas (MTP): la autorización de comercialización la otorga también una agencia de medicamentos tras una evaluación exhaustiva de los aspectos de calidad, seguridad y eficacia. Las exigencias de calidad son similares a las de los demás medicamentos. Sin embargo, por lo que se refiere a la eficacia, no se requieren ensayos clínicos y se basa en la demostración del uso farmacológico tradicional prolongado y la plausibilidad de los efectos terapéuticos. Aunque no precisan ensayos clínicos, un número significativo de ellos se apoyan en parte en estudios observacionales. Se tienen que haber utilizado durante al menos 30 años, incluidos al menos 15 años dentro de la Unión Europea (UE) (Fitoterapia.net; Bilia et al., 2021).

B. Complementos alimenticios

Los complementos alimenticios a base de plantas no constan de exigencias estrictas para su comercialización. Por ello, la calidad del producto no depende de un organismo regulador externo a la empresa comercializadora, simplemente de la autoexigencia de dicha empresa. Estos productos se pueden comercializar en cualquier establecimiento y la información transmitida al consumidor es generalmente muy limitada en comparación con la de un medicamento. Dentro de los complementos alimenticios puede ser que el fabricante esté reconocido, lo que presenta garantías sobre el productos o que se desconozca el fabricante (Fitoterapia.net).

Los productos botánicos y derivados elaborados a partir de plantas, algas, hongos o líquenes se encuentran ampliamente distribuidos en el mercado de la Unión Europea en forma de complementos alimenticios. Según la *European Food Safety Security* (EFSA): los

complementos alimenticios son fuentes concentradas de nutrientes (mineral y vitaminas) u otras sustancias con efecto nutricional o fisiológico que se comercializan en diferentes formas farmacéuticas (por ejemplo, píldoras, tabletas, cápsulas, líquidos en dosis medidas). Pueden contener una amplia gama de nutrientes y otros ingredientes, incluidos, entre otros, vitaminas, minerales, aminoácidos, ácidos grasos esenciales, fibra, diversas plantas y extractos de hierbas (EFSA, 2023). Se utilizan para corregir deficiencias nutricionales, mantener una ingesta adecuada de ciertos nutrientes o para apoyar funciones fisiológicas específicas. Se pueden adquirir en diferentes establecimientos como supermercados, tiendas especializadas (herboristerías), en oficinas de farmacias sin necesidad de receta y a través de internet.

El Reglamento (CE) nº 178/2002 establece los principios y requisitos generales de la legislación alimentaria en la UE que deben cumplir los productos botánicos y preparados derivados en los alimentos. Los productos botánicos se consideran plantas medicinales de uso tradicional y se utilizan tanto en productos medicinales como en complementos alimenticios. Hay que destacar que no son medicamentos y por tanto no pueden ejercer una acción farmacológica, inmunológica o metabólica.

II.6.3. Aspectos legales de las plantas medicinales

El Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios establece:

Artículo 51. Medicamentos de plantas medicinales.

- 1. Las plantas y sus mezclas, así como los preparados obtenidos de plantas en forma de extractos, liofilizados, destilados, tinturas, cocimientos o cualquier otra preparación galénica que se presente con utilidad terapéutica, diagnóstica o preventiva seguirán el régimen de las fórmulas magistrales, preparados oficinales o medicamentos industriales, según proceda y con las especificidades que reglamentariamente se establezcan.*
- 2. El Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad establecerá una lista de plantas cuya venta al público estará restringida o prohibida por razón de su toxicidad.*
- 3. Podrán venderse libremente al público las plantas, tradicionalmente consideradas como medicinales y que se ofrezcan sin referencia a propiedades terapéuticas, diagnósticas o preventivas, quedando prohibida su venta ambulante.*

En el Real Decreto 1345/2007, de 11 de octubre, se definen los medicamentos a base de plantas, medicamentos tradicionales a base de plantas, preparados y sustancias vegetales.

- *Medicamentos a base de plantas: el medicamento que contenga exclusivamente como principios activos, sustancias vegetales, preparados vegetales o combinaciones de éstos.*
- *Medicamento tradicional a base de plantas: el medicamento a base de plantas que cumpla las condiciones establecidas en el artículo 51.*
- *Sustancias vegetales: las plantas, principalmente enteras, fragmentadas o cortadas, las partes de plantas, algas, hongos y líquenes no tratados, normalmente en forma seca pero también frescos. Determinados exudados que no han sido sometidos a un tratamiento específico se consideran también sustancias vegetales. Las sustancias vegetales se definen precisamente por la parte de la planta utilizada y la denominación botánica de acuerdo con el sistema binomial que incluye género, especie, variedad y autor.*
- *Preparados vegetales: los que se obtienen sometiendo las sustancias vegetales a tratamientos como extracción, destilación, prensado, fraccionamiento, purificación, concentración o fermentación. Se incluyen las sustancias vegetales trituradas o pulverizadas, las tinturas, los extractos, los aceites esenciales, los zumos exprimidos y los exudados tratados.*

Como se ha comentado en el apartado anterior, existen los productos vegetales a base de plantas o complementos alimenticios: no necesitan ningún tipo de autorización sanitaria, pero no pueden incluir alegaciones terapéuticas, preventivas o diagnósticas. Al ser productos de venta libre, pueden encontrarse tanto en oficina de farmacia como en herboristerías, parafarmacias, grandes almacenes, etc. (CGCF).

El Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios: *existe una amplia gama de nutrientes y otros elementos que pueden estar presentes en los complementos alimenticios incluyendo, entre otros, las vitaminas, minerales, aminoácidos, ácidos grasos esenciales, fibra, diversas plantas y extractos de hierbas.* Este Real Decreto establece las normas específicas para las vitaminas y los minerales utilizadas como ingredientes en los complementos alimenticios, pudiendo regularse en una fase posterior, y una vez que se disponga de datos científicos adecuados, las normas específicas relativas a otros nutrientes e ingredientes utilizados como ingredientes en los complementos alimenticios, como pueden ser los aminoácidos, los ácidos grasos esenciales, la fibra y diversas plantas y elementos vegetales.

II.7. PLANTAS MEDICINALES PARA LOS TRASTORNOS DEL SUEÑO Y ANSIEDAD

Existen diversas drogas vegetales con actividad demostrada para combatir el estrés, la ansiedad y el insomnio, aunque como ocurre con los medicamentos de síntesis, es fundamental el correcto diagnóstico de las causas que provocan la alteración. También es de relevancia la adecuada selección de la droga vegetal para que el tratamiento de lugar a un adecuado resultado terapéutico. Valeriana, pasiflora y ashwagandha son las especies que mejores resultados dieron en los ensayos clínicos (Borrás et al., 2021). En el capítulo 2 de esta Tesis se describen las más utilizadas en la Comunidad Valenciana, aunque existen otras como el kava o la calderona amarilla (Borrás et al., 2021) (Anexo II).

Además, la combinación de plantas medicinales es beneficiosa, ya que su asociación produce sinergismo entre ellas, como es el caso de la combinación de valeriana con lúpulo y pasiflora (Borrás et al., 2021). También es frecuente la asociación de plantas medicinales con fármacos. No obstante, hay que tener en cuenta que las plantas medicinales pueden interaccionar con los fármacos convencionales debido a su propia actividad farmacológica (Asher et al., 2017; Déciga-Campos et al., 2022).

II.8. CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

El área de este estudio de investigación es la Comunidad Valenciana, la cual se encuentra en la parte oriental de la Península Ibérica, con 23.305 km² de superficie. Presenta 470 km de costa, que representan la cuarta parte de la costa mediterránea peninsular y un 6,2% de la española (GVA, 2019). El 56% de la superficie de la Comunidad es territorio forestal, aproximadamente 1,3 millones de hectáreas (GVA, 2022a).

El territorio de la Comunidad está afectado por el macrobioclima mediterráneo. Existen diferencias climáticas entre la zona costera y el interior, debidas principalmente a la influencia marítima. El clima litoral presenta veranos calurosos e inviernos suaves, escasez de precipitaciones y una marcada sequía estival. Sin embargo, en la zona interior, al ser un terreno montañoso y estar alejado del mar, los veranos son más calurosos y los inviernos más fríos, con heladas frecuentes. Por último, el clima de montaña, predominante al noroeste de la Comunidad Valenciana, se caracteriza por tener veranos frescos e inviernos rigurosos. Las precipitaciones son más abundantes que en las zonas de costa y que en las planicies (Costa, 1999; GVA, 2019).

La Comunidad Valenciana posee 213,45 hab/km² (GVA, 2022b). Está dividida en tres provincias: Alicante, Castellón y Valencia. La provincia de Valencia contiene 266 municipios,

mientras que Alicante y Castellón tienen 141 y 135, respectivamente. En total, hay 542 municipios en toda la Comunidad (INE, 2021).

II.9. CONTROL DE CALIDAD

II.9.1 Factores condicionantes de la calidad

Existen dos tipos de factores fundamentales en las plantas medicinales, concretamente en las drogas vegetales, a considerar para lograr un producto final de óptima calidad obtenido a partir de estas plantas, ya que pueden afectar de forma cualitativa o cuantitativa a una determinada planta o concretamente a la droga vegetal. Estos factores (Figura 2) se clasifican en:



Figura 2. Factores extrínsecos e intrínsecos.

Son de gran relevancia en los procesos de recolección y post-cosecha ya que puede afectar a la calidad de la droga vegetal y por tanto al producto final. Es por esto por lo que, particularmente la industria farmacéutica opta por la recolección de las plantas cultivadas y no silvestres, debido a que se consigue un mayor control en el proceso de producción evitando posibles adulteraciones y/o falsificaciones, así como alteraciones en la variabilidad química. Por el contrario, la recolección de plantas silvestres presenta un coste menor, pero es más propensa a posibles adulteraciones y a la heterogeneidad de las drogas vegetales recolectadas debido a su similitud en la morfología. Respecto a la postcosecha, se destaca la desecación de la droga porque puede ocasionar alteraciones en la composición química de la droga afectando así al producto a comercializar (AESAN, 2007; Gobbo-Neto et al., 2007; Cañigüeral et al., 2003; Li et al., 2020). Por ello, es de gran importancia las Buenas Prácticas Agrícolas y de Recolección de Materiales de Partida de Origen Vegetal (*Good agricultural and collection practice for starting materials of herbal origin*, GACP) las cuales refieren a las preocupaciones específicas del cultivo, la recolección y el procesamiento primario de plantas medicinales (EMA, 2006).

En el proceso de extracción hay un gran cantidad de factores que pueden influir: 1) disolvente, 2) droga vegetal, 3) método utilizado, 4) equipo (Cañigüeral, 2013). Precisamente por este motivo, existen procedimientos estandarizados en las farmacopeas para conseguir la mínima variabilidad en esta parte del proceso.

Los posibles contaminantes pueden perjudicar en la calidad de los productos y consecuentemente en la salud de los consumidores (De Sousa et al., 2020). Los contaminantes pueden ser tanto de origen químico (metales pesados, pesticidas y micotoxinas) como biológicos (como bacterias, virus, hongos, insectos) (Kosalec et al., 2009; Kneifel et al., 2022). La pureza de una droga se puede ver afectada no solo por cualquier tipo de contaminación sino también adulteraciones y/o falsificaciones, lo que puede originar una reducción o pérdida de la eficacia, perjudicando gravemente a la seguridad. Una exhaustiva trazabilidad desde el comienzo del cultivo de la planta hasta la obtención del producto final es fundamental para garantizar una correcta calidad, seguridad y eficacia (Cañigüeral, 2013).

II.9.2. Buenas prácticas de fabricación

En general se cree que los productos a base de plantas son seguros ya que se producen de forma natural; sin embargo, esto es un concepto erróneo. Actualmente, hay muchos productos a base de plantas que no se fabrican según las pautas de las Buenas Prácticas de Fabricación (*Good Manufacturing Practice*, GMP) y, por lo tanto, no se controla la calidad del producto. La calidad puede establecerse mediante la evaluación de datos sobre los niveles de cualquiera de los componentes activos o de marcadores químicos indicativos del origen del material vegetal. El análisis de los datos publicados sobre los niveles de calidad de los productos medicinales a base de plantas reveló que sólo un porcentaje del número total de productos investigados contenía los niveles de marcadores indicados en la etiqueta, y otros tenían niveles de constituyentes muy variables (Ruparel et al., 2011). Por tanto, pocos productos cumplían las normas aceptables de control de calidad. Los productos a base de plantas se recetan cada vez más para el tratamiento de dolencias menores. Los pacientes que dependen de productos a base de plantas para obtener efectos terapéuticos pueden exponerse a dosis bajas de componentes activos que causan efectos insuficientes o, alternativamente, tomar niveles más altos de lo esperado, con el mayor riesgo de toxicidad o efectos adversos, o verse afectados por la inclusión inadvertida de componentes inesperados con riesgos potenciales para la salud (Ruparel et al., 2011).

II.9.3. Farmacopea Europea

La Farmacopea Europea (Ph. Eur.), 11ª edición, suplemento 11.5, es el documento internacional con carácter legal que establece las normas de control de calidad oficiales para medicamentos y sus ingredientes tanto de uso humano como veterinario en Europa, y por tanto de obligado cumplimiento donde esté vigente, aunque se utiliza en más de 130 países. Incluye especificaciones de los métodos analíticos y los criterios de aceptación de ingredientes activos, excipientes, formas farmacéuticas y productos finales. Presenta normas generales (fundamentales antes de comenzar a utilizar monografías y otros textos), textos generales (métodos generales e información de capítulos), monografías de métodos generales (para aplicar a monografías individuales) y monografías específicas (Ph. Eur., 2023).

Las monografías de la Ph. Eur. de drogas vegetales constan de: 1) nombre científico de la especie, 2) definición de la droga, 3) producción, 4) caracteres, 5) identificación macroscópica y microscópica y perfil cromatográfico, 6) ensayos, 7) valoración, 8) conservación y 9) etiquetado.

La Dirección Europea de Calidad del Medicamento y la Asistencia Sanitaria (*European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare*, EDQM) es un organismo que está dentro del Consejo de Europa y es el responsable de la elaboración y publicación de la Ph. Eur. (CE, 2023). Trabaja para garantizar la disponibilidad y el acceso a los medicamentos, las sustancias de origen humano y los productos sanitarios de consumo, su calidad y seguridad, desde el inicio de su desarrollo hasta su uso profesional.

A. Identificación macroscópica y microscópica

La Ph. Eur. contiene dentro de cada monografía específica de las drogas vegetales un apartado de identificación macroscópica y microscópica. En este apartado se describen los caracteres botánicos de diagnóstico diferenciales establecidos por la Ph. Eur. para cada droga vegetal.

La identificación macroscópica se realiza para determinar especies u órganos vegetales, incluyendo las características organolépticas. Hay que destacar que los análisis macroscópicos hacen referencia a características fenotípicas que pueden variar según las condiciones de la planta, tales como la evolución o edad, la recolección, el procesamiento o las condiciones de almacenamiento. Las características microscópicas posibilitan el estudio de la estructura interna que puede proporcionar la suficiente información para identificar órganos o partes características de ellos como el indumento, epidermis, peridermis, meristemas, tejidos

fundamentales, tejidos glandulares, tejidos vasculares y las diferentes partes y estructuras de los órganos de la planta (Muyumba et al., 2021).

La anatomía vegetal es una herramienta fundamental que permite estudiar en profundidad los elementos y tejidos de una planta, lo que facilitará la comprensión de las distintas adaptaciones de la planta según las condiciones ambientales. Concretamente, la anatomía se centra en la variabilidad y estructura de los tejidos que forman el cuerpo de una planta (Fahn, 1982; AAV, 2022). Por tanto, permite identificar y clasificar especies, reconocer plantas medicinales, posibles adulteraciones y contaminación de alimentos y hábito alimenticio de animales.

B. Identificación por TLC y HPTLC

La cromatografía de capa fina (*Thin-layer chromatography*, TLC) y la cromatografía de capa fina de alta resolución (*High performance thin-layer chromatography*, HPTLC) son dos técnicas que tienen los mismos principios básicos implicados en la separación, que resulta de la interacción de los constituyentes de la muestra con una fase estacionaria, fase móvil y fase gaseosa producida en la cámara cromatográfica.

La TLC es una técnica rápida, sensible, de bajo coste y muy versátil para realizar análisis cualitativos y cuantitativos. Es un método de afinidad que se puede utilizar para separar y determinar los compuestos de una mezcla, comprobar la identidad y la pureza de un producto, controlar el progreso de una reacción, determinar la composición del disolvente para la separación de los componentes de una mezcla y analizar las fracciones obtenidas mediante cromatografía en columna (Cai, 2018).

La HPTLC es una técnica cromatográfica planar obtenida por la evolución de la TLC clásica y cada vez más utilizada para controlar la calidad de los productos de origen vegetal (USP, 2015). Entre los objetivos de la HPTLC destacan la reproducibilidad y el poder de separación utilizando métodos bien definidos y parámetros optimizados y estandarizados. Las muestras se someten a un proceso de validación y se obtienen resultados analíticos fiables con una buena reproducibilidad intra e interlaboratorios. La técnica HPTLC presenta resultados visuales y rápidos, permitiendo el análisis de una amplia variedad de muestras, el uso único de una placa y la flexibilidad y posibilidad de detección múltiple. La instrumentación para la HPTLC puede ser desde sencilla hasta sofisticada y permite obtener imágenes digitales trazables y un análisis más profundo de los datos analíticos. Además, la HPTLC es compatible con las GMP. Esta técnica es muy útil para detectar posibles adulteraciones o falsificaciones en las muestras a analizar (Reich et al., 2007; Cañigüeral et al., 2018; Kumar et al., 2018).

El proceso consiste en la correcta preparación de la muestra de acuerdo con un procedimiento bien descrito, disposición de la placa y un volumen de aplicación establecido, así como unas condiciones cromatográficas y un sistema o sistemas de detección plenamente especificados, la composición de la fase móvil, la humedad relativa, el uso de una cámara saturada, no saturada o preacondicionada y la distancia y tiempo de inmersión en el detector (Reich et al., 2007; Cañigüeral et al., 2018).

A continuación, en la tabla 1 se encuentran los principales parámetros diferenciales entre la TLC y HPTLC.

Tabla 1. Diferencias entre TLC y HPTLC.

	TLC	HPTLC
Placas (tipo de soporte)	Aluminio (20 × 20 cm)	Vidrio (20 × 10 cm)
Fase estacionaria: silicagel	5-40 µm	2-10 µm
Tamaño medio de partícula	10-15 µm	5-7 µm
Distribución granulométrica	amplia	estrecha
Espesor de la capa	250 µm	100-200 µm
Volumen de aplicación	10-20 µL	1-5 µL
Número de muestras/placa	Máximo 12	Máximo 15
Distancia de desarrollo	15 cm	6,2 cm
Duración del desarrollo	30-200 min	3-20 min
Consumo de disolvente	50 mL	5-10 mL
Límite de detección: absorbancia	100-1000 ng	10-100 ng
Límite de detección: fluorescencia	1-100 ng	0,1-10 ng

La aplicación en TLC se realiza manualmente y en HPTLC es de forma automática. La cámara de desarrollo en HPTLC también está automatizada, así como inmersión o pulverización para la derivatización. Finalmente, con TLC se utiliza una lámpara UV mientras con HPTLC existen cámaras automatizadas que constan de una lámpara incorporada a diferentes λ . Todo ello, está conectado a un ordenador con un software que nos permite registrar las imágenes que se deseen.

La Ph. Eur. presenta un capítulo general (2.8.25) (01/2020:20825) para la identificación por HPTLC, que se encuentra en la monografía general de los métodos de farmacognosia (2.8) (01/2008:20801). En este capítulo (2.8.25) se detalla cómo se debe realizar la identificación por HPTLC.

1) Material:

- Placas de vidrio (20 × 10 cm).
- Dispositivos adecuados para la aplicación de volúmenes establecidos de las disoluciones en los diferentes carriles permitiendo así controlar las dimensiones y la localización de aplicación en placa.

- Dispositivo para acondicionar la fase estacionaria a la humedad relativa prescrita.
- Depósito cromatográfico.
- Dispositivos adecuados para la detección y activación térmica (proceso de derivatización).
- Dispositivo para el secado reproducible de la placa derivatizada.
- Sistema adecuado para la documentación electrónica de cromatogramas con luz ultravioleta (UV) de 254 nm, UV de 366 nm y luz blanca.

2) Preparación de las disoluciones problema: se detallan en cada monografía individual.

3) Preparación de las disoluciones de referencia: se describen en cada una de las monografías específicas.

- Disolución R: normalmente preparada con 1 mg/mL.
- Disolución R $\frac{1}{4}$: 1 volumen la disolución R y 3 volúmenes del mismo disolvente.

Ambas disoluciones se utilizan como marcadores de intensidad.

4) Marcadores de intensidad: una o varias de las sustancias de la disolución de referencia y en la disolución de referencia se utilizan como marcador(es) de intensidad para la evaluar el cromatograma (Ph. Eur., 2023).

5) Preparación de la prueba de idoneidad del sistema (*System Suitability Test*, SST) (Figura 3). Está basada en la separación de dos sustancias que tienen valores R_F (distancia recorrida por una sustancia frente a la distancia recorrida por el frente de la fase móvil) similares, pero son escasamente separables en las condiciones cromatográficas especificadas. Los resultados de la fase de desarrollo de la placa cromatográfica sólo son válidos cuando en la disolución SST se logra la separación de las dos sustancias presentes en ella, de acuerdo con la monografía individual. Es específica para cada fase móvil y permite comparar los análisis realizados en diferentes placas. Se aplica normalmente en el primer carril o *track* (Ph. Eur.; Reich et al., 2007; Cañigual et al., 2018).

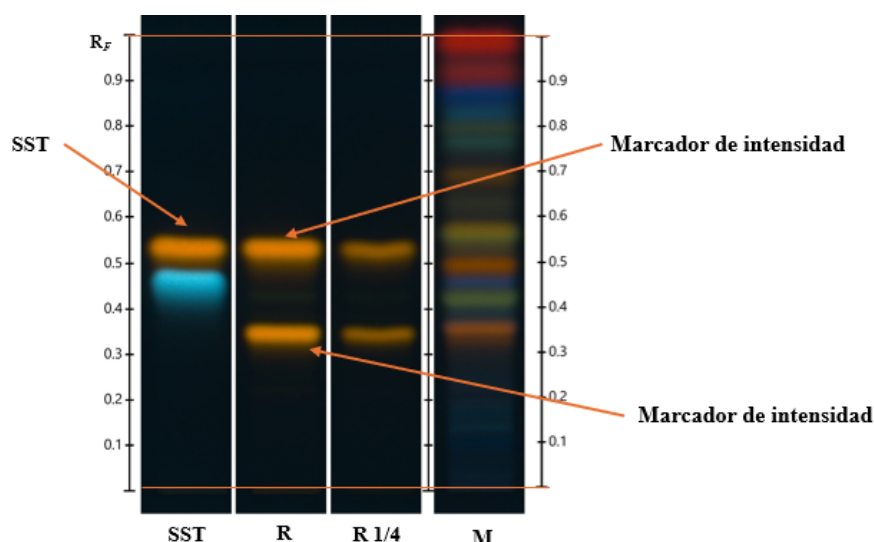


Figura 3. Ejemplo cromatograma HPTLC. Contiene disolución SST, disoluciones de referencia (R y R 1/4), marcadores de intensidad y muestra problema. (M).

6) Aplicación de la muestra y disposición de la placa. Las muestras suelen aplicarse como bandas estrechas de 8 mm de ancho a una distancia de 8 mm desde el borde inferior de la placa.

7) Acondicionamiento de la placa. Una vez aplicada la muestra y se expone la placa al aire con una humedad relativa (33%) obtenida mediante una disolución saturada de cloruro de magnesio R, lo que permite controlar el R_F de cada una de las sustancias a evaluar.

8) Preparación de la cámara de desarrollo o depósito. Habitualmente, la separación cromatográfica se realiza en un cámara saturada. Cuando se utiliza una cámara de doble cubeta, se coloca un papel de filtro en la cubeta posterior. Previamente se introduce la fase móvil en los depósitos indicados. Con la tapa cerrada, sufre un proceso de saturación (20 min) y cuando la fase móvil ha logrado alcanzar la distancia de desarrollo (normalmente 70 mm del borde inferior de la placa), se retira la placa y se seca en posición vertical en una corriente de aire a temperatura ambiente.

9) Reactivos de derivatización:

- Pulverización: 3,5 mL de disolución de reactivo se pulverizan homogéneamente sobre una placa de tamaño 20×10 cm.
- Inmersión: se sumerge la placa en la disolución de reactivo reactivo, normalmente a una velocidad de 5 cm/s durante 1 s.

10) Observación de los cromatogramas: luz UV de 254 nm, luz UV de 366 nm o luz blanca R o RT antes y/o después de la derivatización.

11) Evaluación visual. Los cromatogramas obtenidos de las muestras de drogas vegetales identificadas se comparan con las descripciones de cada monografía individual (adaptada al capítulo 2.8.25), focalizándose en la posición, color de la banda y la intensidad respecto a la disolución de referencia (marcadores de intensidad). Además, estas monografías presentan base de conocimiento de datos (*Knowledge Data Base*) (Figura 4), proporcionando cromatogramas y descripciones de las muestras estudiadas que facilitan la interpretación de los resultados a obtener y evaluar las muestras estudiadas.

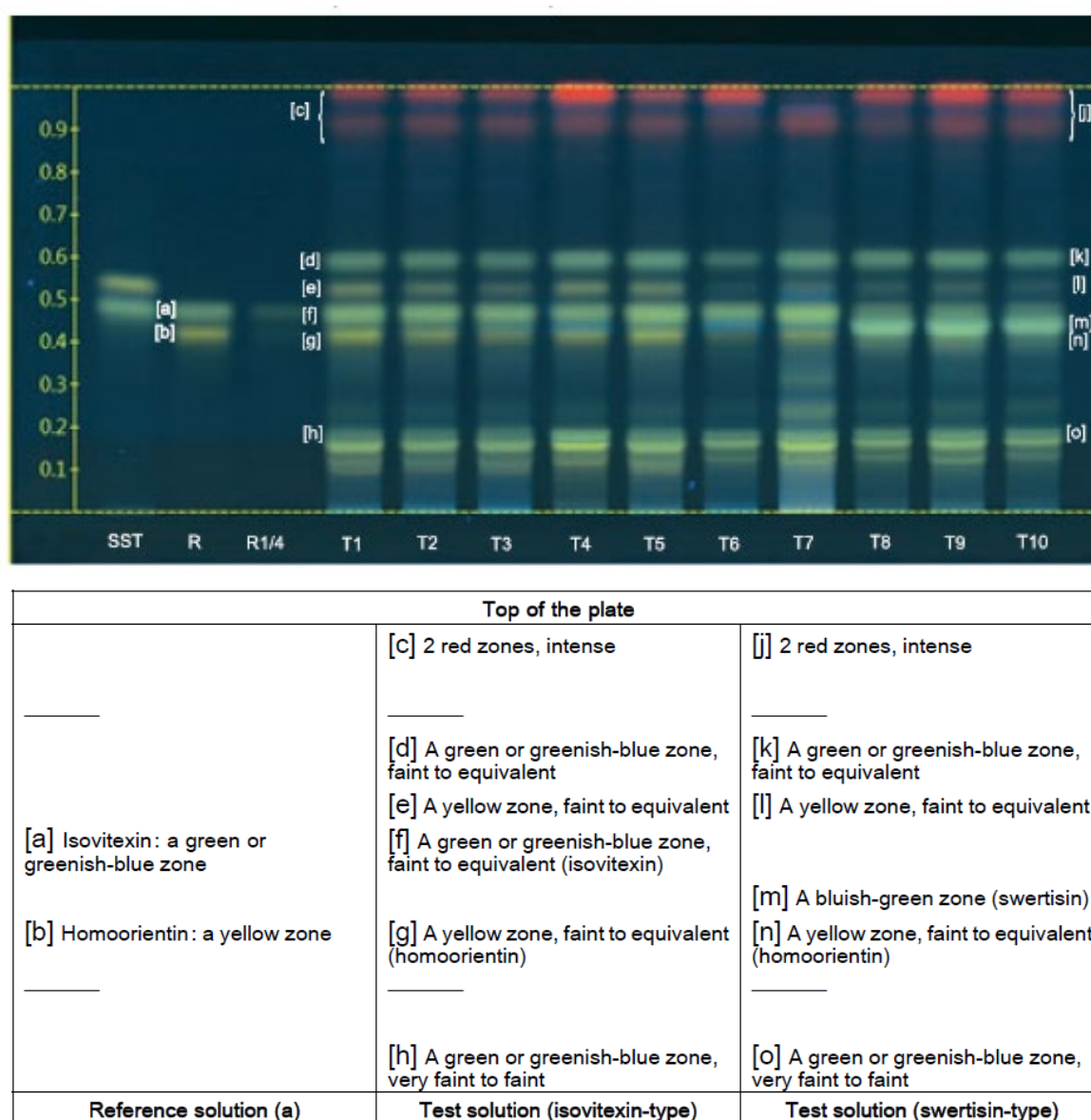


Figura 4. Ejemplo del *Knowledge Data Base* de la sumidad de pasiflora (Ph. Eur.).

La evaluación visual (Figura 5) de la intensidad de las zonas es la siguiente:

- Las zonas de las disoluciones problema descritas como "equivalentes" (*equivalent*) o que carecen de indicación de intensidad tienen intensidades similares a la zona del marcador de intensidad de la disolución de referencia (R).
- Las zonas "intensas" (*intense*) presentan una intensidad superior a la zona del marcador de intensidad de la disolución de referencia (R).
- Las zonas "tenues" (*faint*) poseen menor intensidad que la disolución R, pero iguales o más intensas que la zona del marcador de intensidad de la disolución R $\frac{1}{4}$.
- Las zonas "muy tenues" (*very faint*) tienen una intensidad menor que la que contiene la disolución R $\frac{1}{4}$.

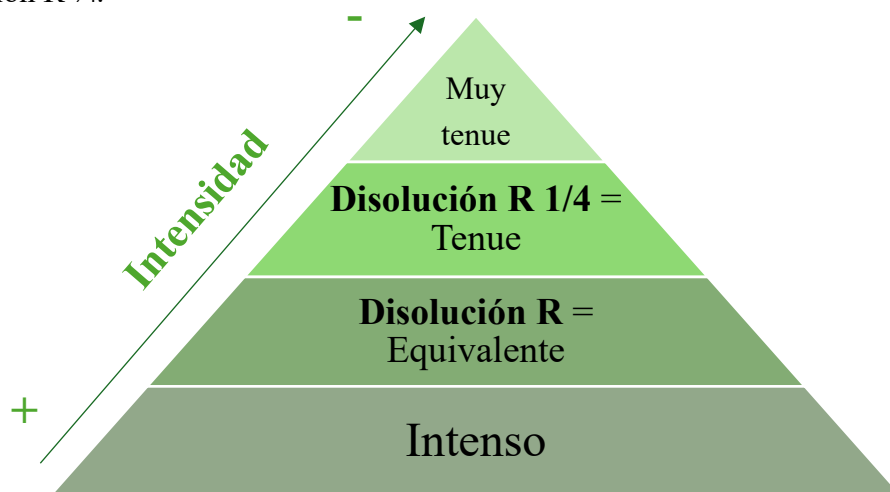


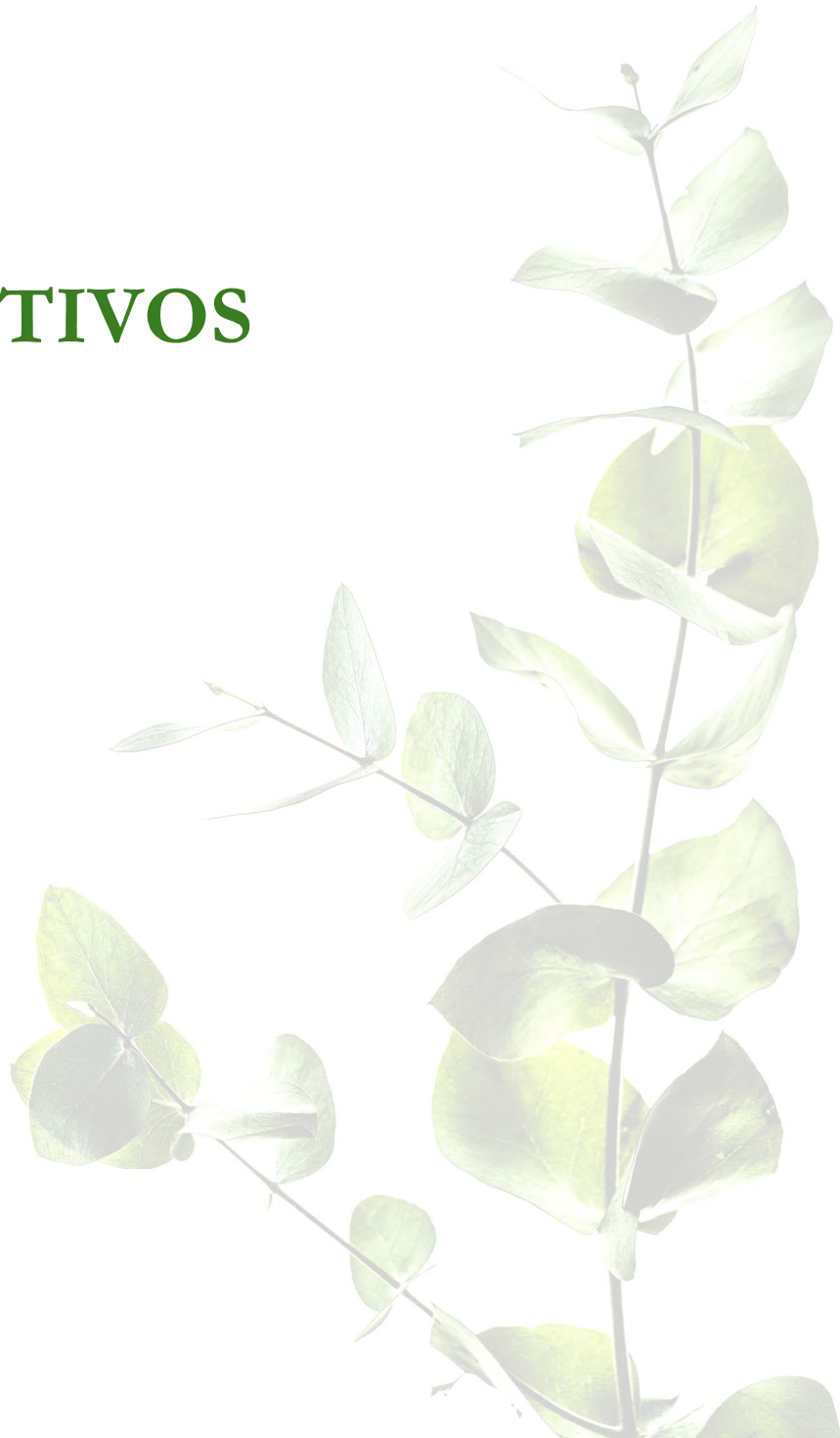
Figura 5. Evaluación visual de los cromatogramas.

C. Ensayos de pureza

La pureza se considera esencial para garantizar la calidad de un producto y que pueda ser considerado como medicamento. Los ensayos de pureza (presencia de elementos extraños, la detección de metales pesados, constantes físicas, disolventes residuales, residuos de plaguicidas, aflatoxinas, radiactividad, pérdida por desecación, contaminación microbiológica, pesticidas y micotoxinas) se realizan de acuerdo con las monografías generales de drogas vegetales de la Ph. Eur. aunque algunos dependen de cada monografía específica (Cañigüeral et al., 2003). Los ensayos de pureza aplicados dependerán del tipo de producto como por ejemplo medicamento a base de plantas, aceite esencial o extracto seco.

III.

OBJETIVOS



Objetivos

El objetivo principal de la tesis doctoral es realizar un estudio sobre el consumo de plantas medicinales para combatir los trastornos del sueño y ansiedad en la Comunidad Valenciana, de forma que, tras la selección de las drogas vegetales utilizadas por los entrevistados para estos trastornos, se realice una identificación de los caracteres microscópicos y HPTLC de las muestras objeto de estudio, que permitan establecer conclusiones sobre su calidad. Los objetivos específicos son:

1. Describir las características sociodemográficas de los usuarios de plantas medicinales para los trastornos del sueño y la ansiedad.
2. Especificar qué plantas medicinales se utilizan para estos trastornos, así como su forma farmacéutica, el lugar de obtención y la percepción de la calidad de los usuarios.
3. Detectar la frecuencia de consumo de plantas medicinales para estas alteraciones, así como su uso concomitante con medicamentos.
4. Identificar los caracteres de diagnóstico microscópicos de las drogas vegetales en las muestras seleccionadas.
5. Establecer el perfil cromatográfico mediante la identificación por HPTLC de las drogas vegetales de las muestras seleccionadas según los criterios de aceptación de la Ph. Eur. o de la normativa del material de referencia utilizado.
6. Determinación cualitativa de elementos extraños y contaminación animal y/o fúngica.

Por tanto, este estudio se ha planteado en tres capítulos:

Capítulo 1. Estudio descriptivo del uso de plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad en la Comunidad Valenciana.

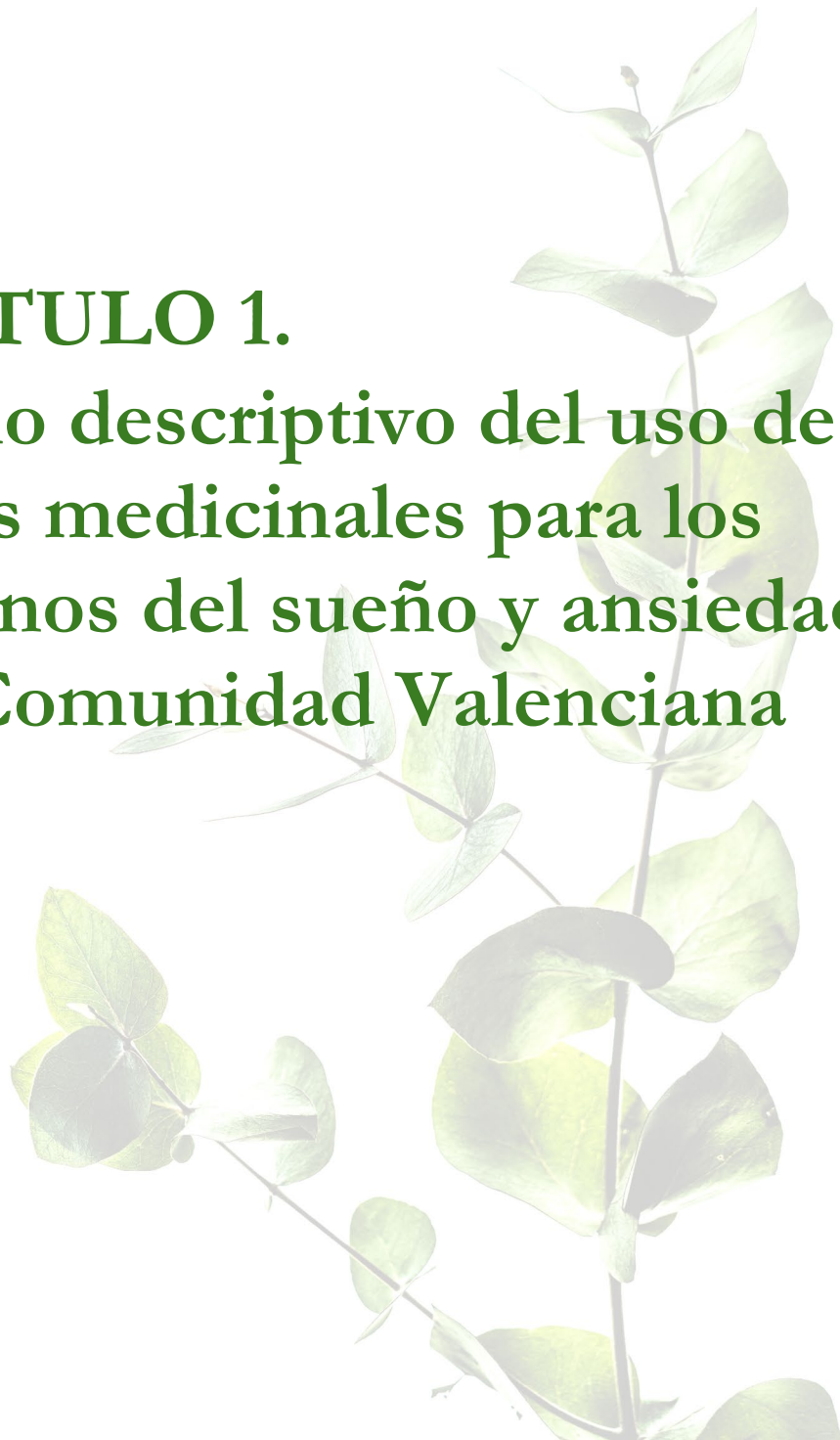
Capítulo 2. Descripción de las plantas medicinales seleccionadas y de las muestras objeto de estudio.

Capítulo 3. Control de calidad de las muestras.

IV.

CAPÍTULO 1.

Estudio descriptivo del uso de plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad en la Comunidad Valenciana



IV.1. MATERIAL Y MÉTODOS

IV.1.1. Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se determinó a partir de los habitantes de doce porciones previamente definidas en el territorio de la Comunidad Valenciana, a partir de los datos de población (INE, 2018). En este estudio, se han dividido las tres provincias en cuatro cuadrantes (Figura 6).

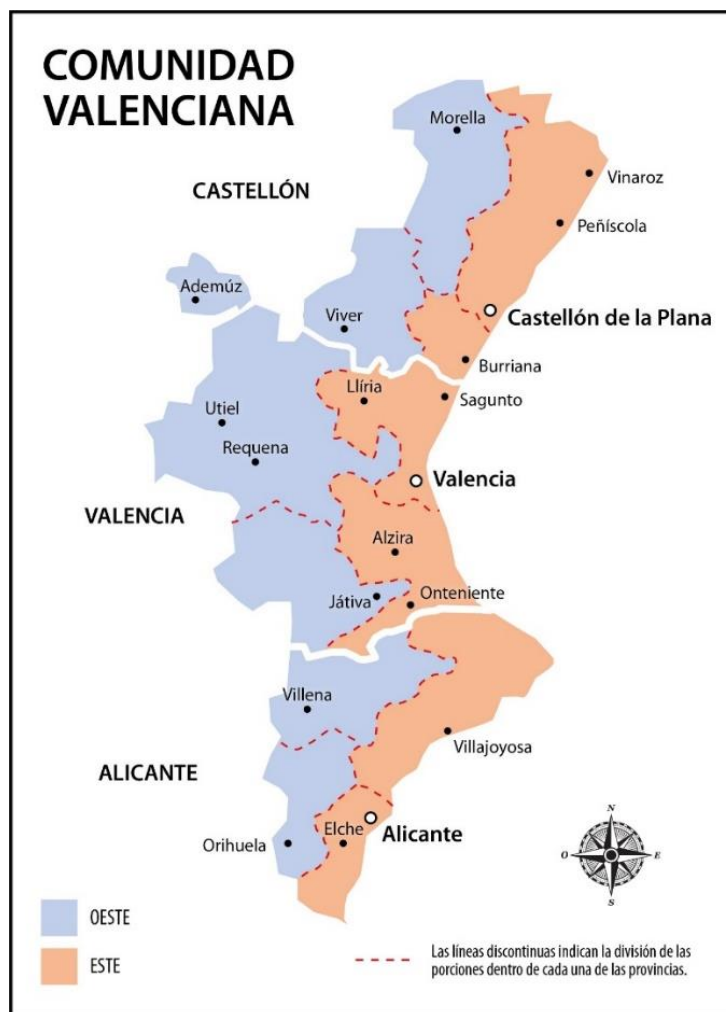


Figura 6. División de los cuadrantes en el mapa de la Comunidad Valenciana.

En función del número de habitantes, asumiendo que la zona litoral está mucho más poblada que el interior (Tabla 2) se ha calculado el tamaño de la muestra, partiendo de una población finita y considerándose un margen de error del 5% (Flight et al., 2016). Considerando el padrón municipal 2018 de cada uno de los municipios, se calculó el número de encuestas y posterior redondeo, obteniéndose así el número mínimo definitivo de encuestas a realizar en cada cuadrante (Tabla 2). En la Tabla T.1 (Anexo I) se encuentran detalladas las encuestas realizadas en cada municipio.

Tabla 2. Cálculo del número del encuestas.

Provincia	Cuadrante	Número de habitantes	Número teórico de encuestas	Número de encuestas realizadas
Alicante	Noreste	507.188	383,71	421
	Noroeste	189.241	383,22	411
	Sureste	836.258	383,82	398
	Suroeste	306.132	383,52	399
Castellón	Noreste	306.493	383,52	408
	Noroeste	26.775	378,57	399
	Sureste	216.143	383,32	399
	Suroeste	27.487	378,71	406
Valencia	Noreste	1.444.756	383,89	424
	Noroeste	448.617	383,67	418
	Sureste	557.635	383,73	449
	Suroeste	96.978	382,49	406
Total		4.963.703	4592,17	4938

IV.1.2. Descripción de la muestra

La muestra estuvo compuesta por 4.938 personas residentes en la Comunidad Valenciana equilibradas en cuanto a su distribución por género y con edades comprendidas entre 18 y más de 85 años. Las características sociodemográficas se muestran en la Tabla T.2 (Anexo I).

IV.1.3. Cuestionario

El cuestionario se diseñó basándose en un trabajo realizado previamente, que estudiaba el uso de las plantas medicinales para la depresión (Puchol, 2017). Este cuestionario fue adaptado y posteriormente validado para este estudio. La validación es un punto fundamental antes de comenzar el trabajo de campo para detectar si los individuos presentan alguna duda y/o dificultad respecto al entendimiento del cuestionario. El entrevistador debe intervenir mínimamente al realizar la encuesta, asegurándose de la comprensión absoluta del entrevistado. El cuestionario (Puchol, 2017) se aplicó a una muestra piloto de 50 personas y con la información obtenida, se realizaron algunas modificaciones para optimizarla. Esta encuesta se realizó a otras 100 personas en un segundo estudio piloto. El grupo de individuos que participaron en la validación presenta características similares a la población de estudio (edad, sexo, nacionalidad y número de habitantes de la población). Con todo esto, teniendo en cuenta nuestros objetivos, se obtuvo la versión final del cuestionario.

El cuestionario permitía realizar una entrevista con preguntas mayoritariamente cerradas. Para participar en el estudio, se requería que el participante superara la mayoría de edad, respondiera a las preguntas de forma independiente y residiera en la Comunidad Valenciana. El cuestionario constaba principalmente de dos partes: la primera de ellas se basaba en el perfil del entrevistado y la segunda se centraba en el uso de plantas medicinales, especialmente para el insomnio y la

ansiedad (Ver anexo). Como puede observarse en la encuesta, en la pregunta 7 existe un filtro de forma que solo continuaron respondiendo aquellos que utilizaban plantas medicinales. Adicionalmente, en la pregunta 9, se cuestiona para qué dolencia las utilizan, siendo una de las opciones la dificultad para dormir (tranquilizante). Precisamente, en los participantes que eligieron esa categoría es en los que se focaliza este estudio.

IV.1.4. Entrevistas y recolección de datos

Se diseñó un estudio descriptivo transversal que fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Universitat de València (Número: 1253281) (Anexo I). El trabajo de campo se realizó entre julio de 2020 y noviembre de 2021 en los municipios de la Comunidad Valenciana. Durante el periodo de recogida de datos, se entrevistó a 4.938 individuos, realizando una entrevista a pie de calle, en castellano. Los participantes fueron voluntarios, a los que se les informaba previamente sobre el estudio. Dieron su consentimiento verbal para ser entrevistados y, por consiguiente, poder utilizar dicha información en el presente estudio.

IV.1.5. Análisis estadístico y tratamiento de datos

Los datos se registraron en la base de datos RotatorSurvey Modelador Profesional de Estudios® Versión 31.5 (Enterprise Edition). El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 26. El efecto de la influencia de los factores estudiados se llevó a cabo calculando el chi-cuadrado (χ^2), la prueba *t* de Student y el coeficiente de contingencia (C) (Ubillos, 2019).

El *Use Value* se calculó para determinar la importancia relativa de una especie conocida localmente, utilizando la siguiente fórmula: $UV = \Sigma U/N$; donde UV es el valor de uso de una especie; U es el número de citas por especie, y N es el número de informantes (Zenderland et al., 2019). En este trabajo, el *Use Value* se adaptó al tipo de estudio, en el que se analizan qué plantas medicinales se utilizan, ya sean autóctonas o foráneas.

IV.2. RESULTADOS

Este estudio se centra en los entrevistados que consumen plantas medicinales para insomnio y ansiedad. De la muestra total (4.938 individuos), 703 manifestaron consumir plantas medicinales para este fin, de modo que, en adelante únicamente se analizarán las respuestas de estas personas. Se describen los apartados del cuestionario en cuatro partes, relativos a entorno geográfico, perfil del consumidor, uso de plantas medicinales para el insomnio y la ansiedad y plantas medicinales utilizadas para el insomnio y la ansiedad.

IV.2.1. Entorno geográfico

La provincia con mayor número de individuos consumidores de plantas medicinales para estos trastornos es Valencia (305). Alicante (204) y Castellón (194) poseen resultados similares (Figura 7).

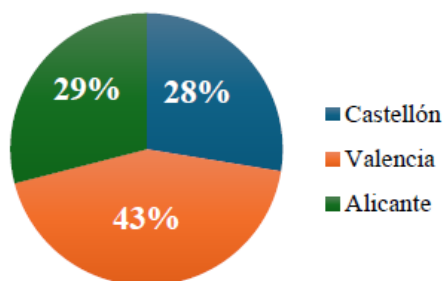


Figura 7. Distribución de la muestra por provincias.

Como se puede observar en la figura 8, el número de consumidores de plantas medicinales para estos trastornos es ligeramente mayor en el este que en el oeste de la Comunidad Valenciana.

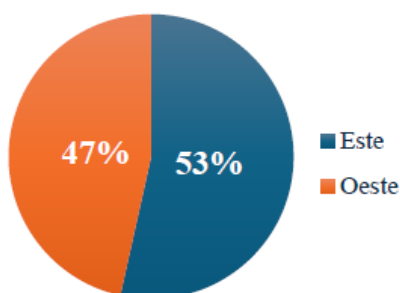


Figura 8. Distribución de la muestra entre el este y el oeste.

Además, se preguntó el municipio de residencia para conocer la población habitual del entrevistado y poder obtener el número de encuestas requerido o mínimo en cada uno de los municipios de la Comunidad Valenciana.

Respecto al número de habitantes de la población habitual del entrevistado, la mitad de los individuos encuestados que consumen plantas medicinales para el insomnio y la ansiedad residen en municipios de entre 5.001-50.000 habitantes. La siguiente franja más representativa es la de los municipios con más de 50.000 habitantes (Tabla 3).

Tabla 3. Entrevistados en función del número de habitantes en población habitual.

Nº habitantes en población habitual	Frecuencia	Porcentaje
Menos de 1.000	61	8,7
1.000-5.000	98	14,0
5.001-50.000	363	51,6
Más de 50.000	181	25,7
Total	703	100,0

IV.2.2. Perfil del consumidor

A. Género y edad

El número de individuos consumidores de plantas medicinales para el insomnio y la ansiedad es de 703 individuos, 239 corresponden al género masculino y 464 al femenino (Figura 9).

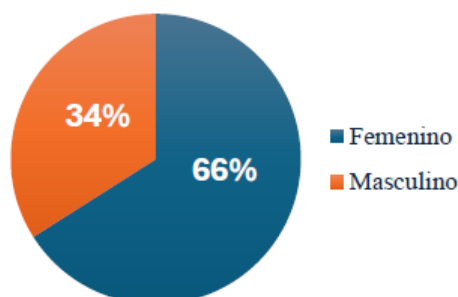


Figura 9. Distribución de la muestra por género.

El rango de edad que prevalece es de 41-55 años, seguido de 25-40 y 56-70 (Figura 10).

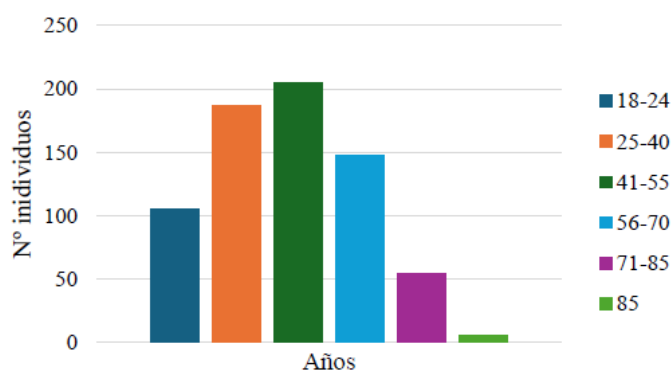


Figura 10. Distribución de la muestra por rango de edad.

En la gráfica se observa que en las bandas centrales de edad se produce el mayor uso, tanto en hombres como mujeres, no obteniendo diferencias significativas entre ellos ($\chi^2 = 6,58$; $p = 0,160$; $C = 0,097$).

B. Nivel de estudios

Los universitarios (30,6%) son los mayores consumidores de plantas medicinales para el insomnio y la ansiedad. A continuación, le sigue Educación Secundaria y Formación Profesional, 27,5% y 19,2% respectivamente (Figura 11).

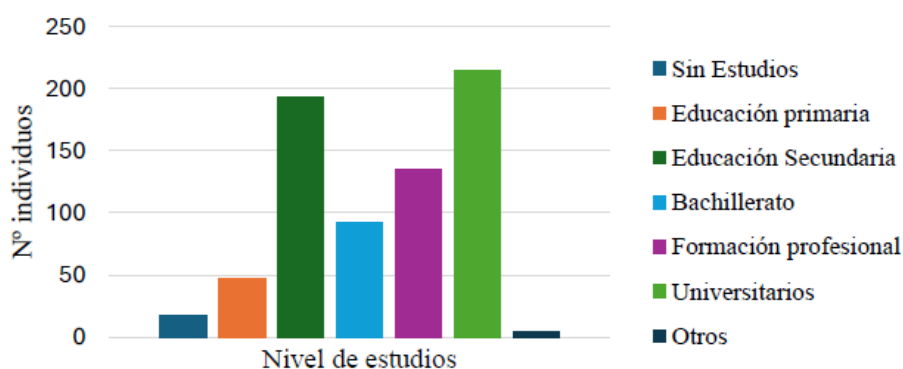


Figura 11. Distribución de la muestra por nivel de estudios.

IV.2.3. Uso de plantas medicinales para insomnio y ansiedad

A. Síntoma relacionado con la dificultad para dormir

Focalizando en la categoría "Dificultad para dormir, ansiedad, depresión o fatiga", la mayoría de los encuestados respondieron que utilizan plantas medicinales para la ansiedad (39,2%), seguido del insomnio (37,1%), y algunos informaron de ambos usos (19,1%). Además, hay unos pocos participantes que utilizan plantas medicinales para el insomnio, la ansiedad y otros trastornos como el agotamiento y la depresión (4,6%) (Figura 12).

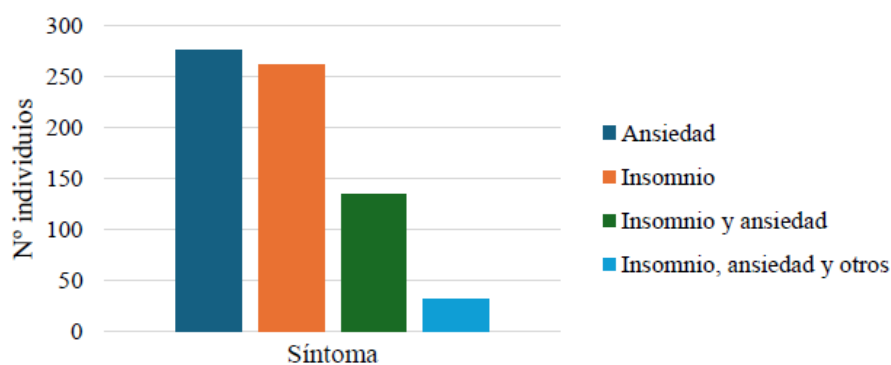


Figura 12. Distribución de los síntomas para los que se utilizan estas plantas medicinales.

B. Forma farmacéutica

Las infusiones son la principal forma farmacéutica utilizada. Algunos usuarios respondieron que también las utilizaban en comprimidos. Otros entrevistados también las consumían en otros formatos como aceites y comprimidos. Siete personas no contestaron a esta pregunta (Tabla 4).

Tabla 4. Formas farmacéuticas utilizadas.

	Frecuencia	Porcentaje
Infusiones	491	70,0
Comprimidos/cápsulas	68	9,7
Infusiones y comprimidos/cápsulas	110	15,7
Infusiones, comprimidos/cápsulas y aceites	27	3,9
Total	696	99,3

C. Frecuencia de consumo

La mayoría de los entrevistados señalaron que consumían las plantas medicinales ocasionalmente mientras que algunos respondieron que las utilizaba diariamente. Varias veces a la semana y varias veces al mes fueron las opciones menos señaladas (Figura 13).

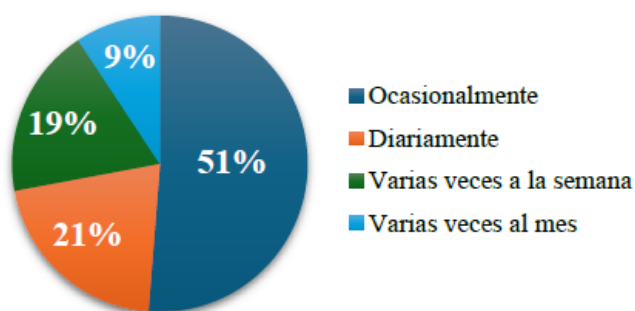


Figura 13. Distribución por frecuencia de consumo.

D. Inicio del consumo

La opción más elegida fue el consumo desde hace más de un año (76,9%). No obstante, hubo entrevistados que indicaron que las utilizaban desde niño. Algunos usuarios marcaron que las usaban desde hace varios meses y muy poco entrevistados respondieron hace menos de un mes (Tabla 5). No contestaron esta pregunta cuatro entrevistados.

Tabla 5. Inicio del consumo.

	Frecuencia	Porcentaje
Desde niño	113	16,1
Hace más de un año	540	76,9
Hace menos de 1 mes	5	0,7
Hace varios meses	41	5,9
Total	699	99,6

E. Fuente de conocimiento

Existen numerosos medios de información por los que se puede tener o ampliar los conocimientos sobre las plantas medicinales. En esta pregunta de respuesta múltiple, la contestación más representativa fue por 'costumbre en mi familia'. El “consejo de un conocido”, “consejo farmacéutico” y “consejo médico u otro profesional de la salud” también fueron las respuestas más señaladas (Tabla 6).

Tabla 6. Fuente de conocimiento.

	Frecuencia
Costumbre en mi familia	368
Tradición en la localidad	52
Consejo conocido	116
Consejo farmacéutico	76
Consejo médico u otro profesional de la salud	70
Terapia basada en remedios naturales	18
Internet	23
Publicidad por otros medios	59
Recomendación en una herboristería	34
Conocimiento por mi profesión	21
Otros	31

F. Razones del uso

El principal motivo por el que la población entrevistada utiliza las plantas medicinales para el insomnio y la ansiedad fue “porque me relajan” (53,8%), seguido de un 25,2% que afirmaron que “las utilizan porque las conocen y son buenas para ellos” (Figura 14).

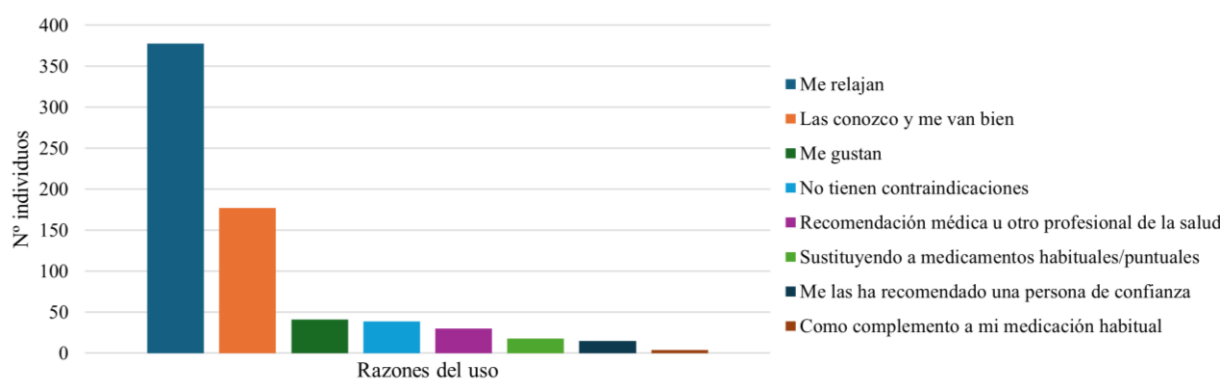


Figura 14. Distribución de las respuestas por razones del uso.

IV.2.4. Plantas medicinales utilizadas para el insomnio y la ansiedad

Los participantes señalaron las plantas medicinales que utilizaban para el insomnio y la ansiedad en una lista de plantas para estos trastornos. Además, había una casilla en la que podían añadir otras plantas que utilizaban. Los entrevistados incluyeron la hierbaluisa y el naranjo amargo. Algunos individuos contestaron que consumían una sola planta, pero la mayoría

señalaron que utilizaban varias. En la tabla 7 se muestran los resultados del *Use Value* en valor absoluto, calculados para las distintas plantas:

Tabla 7. Resultados del *Use value* en valor absoluto calculado para cada planta.

Planta	Frecuencia	Use Value
Valeriana	385	0,547
Tila	309	0,439
Manzanilla	239	0,339
Melisa	205	0,291
Pasiflora	195	0,277
Hierbaluisa	51	0,072
Naranja amargo	48	0,068
Amapola de California	39	0,055
Espino blanco	38	0,054
Lavanda	28	0,039
Lúpulo	27	0,038

La valeriana era la planta predominante utilizada, pero los individuos la usaban normalmente combinada con pasiflora y melisa (28 individuos). Otros usuarios (37) respondieron que empleaban estas tres plantas junto con hierbaluisa y naranja amargo. Otros entrevistados (52) indicaron que utilizaban otras plantas tales como manzanilla y tila y 38 participantes informaron que utilizan valeriana y tila. Además, 60 participantes (8,5%) decidieron no señalar qué planta utilizaban.

A. Consumo de medicación y comunicación al médico

Se comprobó si existía asociación entre el consumo de medicación y la comunicación al médico de que se tomaban plantas medicinales. Se obtuvo asociación entre ambas variables ($\chi^2 = 65,708$, $p = 0,000$, y $C = 0,292$), de modo que la proporción de personas que toman plantas para cualquier dolencia y se lo comunica al médico es mayor que la de los que no lo comunican.

Las personas que toman medicación para cualquier dolencia fueron 302, de las que 99 tomaban la medicación para el insomnio y la ansiedad y 203 (Tabla 8) tomaban medicación para otras alteraciones. Centrándonos en ellas (302 individuos), se comprobó si existía asociación entre la comunicación al médico o no del consumo de plantas y específicamente si se utilizaban las plantas para la misma dolencia que la medicación. La asociación fue significativa ($\chi^2 = 4,185$, $p = 0,041$, y $C = 0,117$), siendo mayor el porcentaje de personas que utilizan plantas para lo mismo que la medicación y se lo dice al médico (66%) que el de personas que, tomando medicación para otras dolencias, consumen plantas y lo comunican (53%).

Además, se consideró la frecuencia con la que estos entrevistados (302) consumen plantas medicinales. En la tabla se muestra dicha frecuencia para las personas que toman medicación

en función de si esta medicación es para lo mismo que las plantas medicinales o no. No se obtuvo relación entre los individuos que consumen plantas medicinales y medicación para cualquier patología ($\chi^2 = 4,38$, $p = 0,223$, y $C = 0,12$).

Tabla 8. Frecuencia de consumo de plantas medicinales junto con medicación.

			A diario	Ocasionalmente	Varias veces/ semana	Varias veces/ mes
302	Cualquier dolencia	203	46	98	39	20
	Insomnio y ansiedad	99	33	38	19	9

B. Lugar de obtención y percepción de la calidad

En esta pregunta de respuesta múltiple, la mayoría de los participantes indicaron que compraban las plantas medicinales en el supermercado. Sin embargo, algunos participantes informaron que las adquirirían en otros establecimientos tales como oficinas de farmacia y herboristerías, así como en el mercadillo. Un individuo no contestó esta pregunta (Tabla 9).

Tabla 9. Procedencia de las plantas medicinales utilizadas.

	Frecuencia	Porcentaje
Supermercado	257	36,6
Farmacia	85	12,1
Herboristería	74	10,5
Campo	26	3,7
Supermercado / Herboristería	102	14,5
Supermercado / Farmacia	40	5,7
Supermercado/ otros	72	10,2
Herboristería / Farmacia / Campo / Mercadillo	46	6,6
Total	702	99,9

Respecto a la percepción de la calidad de las plantas medicinales, 652 usuarios (92,7%) indicaron que confiaban en su calidad, mientras que 29 entrevistados (4,1%) señalaron que desconfiaban. No contestaron esta pregunta 22 encuestados (3,1%).

Otra pregunta solicitaba información sobre la calidad de las plantas medicinales en función del lugar de su adquisición. Un total de 230 entrevistados indicó que sí observaron diferencias en la calidad, mientras que 471 no notaron diferencias. Hubo 2 participantes que no respondieron esta pregunta. Se puede observar en la Tabla 10 que el supermercado fue la opción más señalada donde adquieren las plantas medicinales de menor calidad.

Tabla 10. Percepción sobre la peor calidad de las plantas en función del lugar de adquisición.

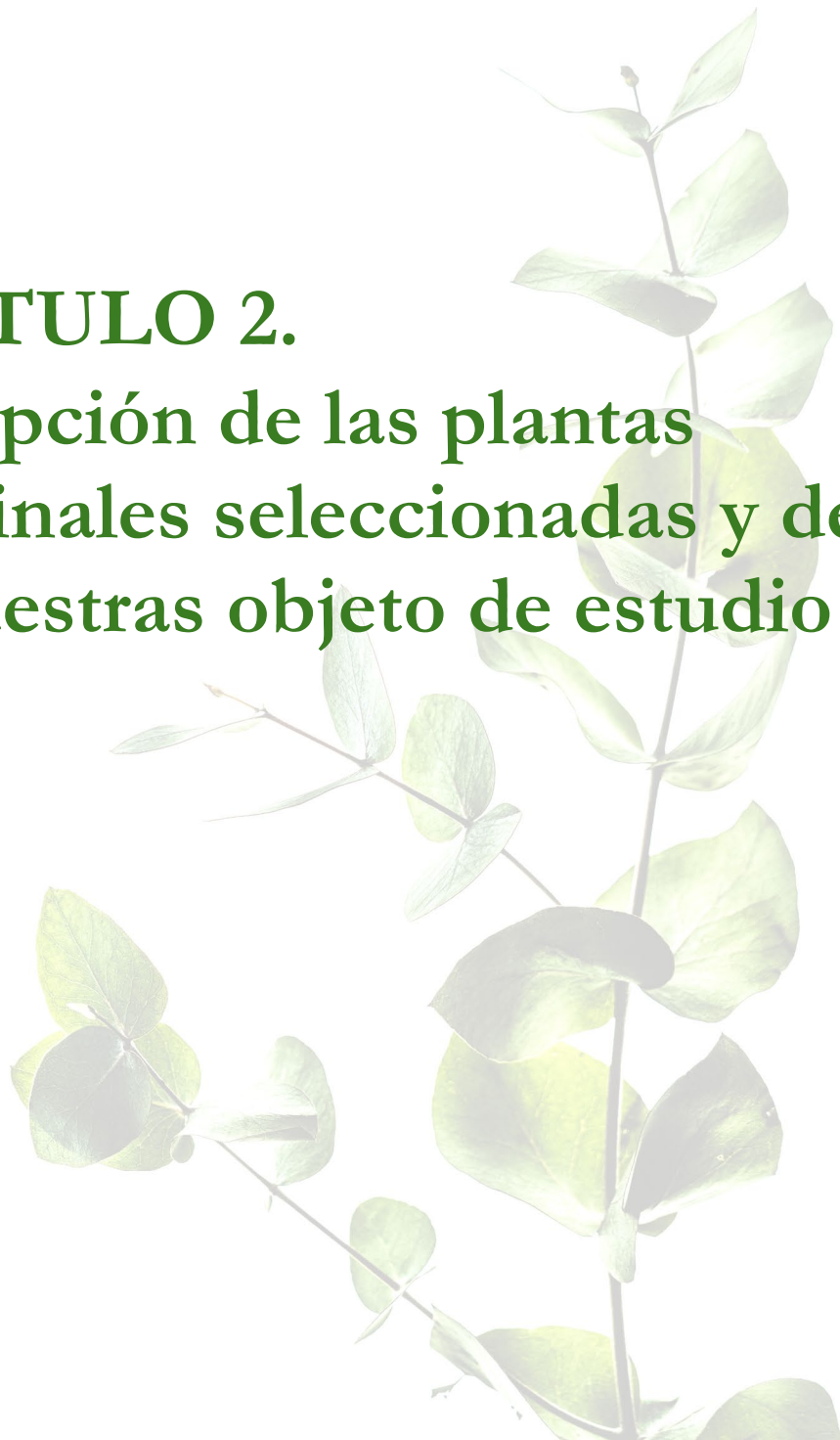
	Frecuencia	Porcentaje
Supermercado	201	87,4
Mercadillo	10	4,3
Farmacia	9	3,9
Herboristería	6	2,6
Otros	2	0,9
Total	228	99,1

De los entrevistados que consideraban diferencias en la calidad de las plantas en función del lugar de adquisición (230 individuos), 201 indicaron que las de peor calidad se encuentran en los supermercados. Hubo 2 usuarios que no contestaron. El estudio demostró una asociación entre el lugar de adquisición de las plantas medicinales por parte de los usuarios y la percepción de la peor calidad ($\chi^2 = 79,564$; $p = 0,000$ y $C = 0,508$).

V.

CAPÍTULO 2.

**Descripción de las plantas
medicinales seleccionadas y de
las muestras objeto de estudio**



V.1. DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS MEDICINALES SELECCIONADAS

V.1.1. Amapola de California

Nombre común: amapola de California, dedal de oro (Figura 15).

Familia: Papaveraceae.

Especie: *Eschscholzia californica* Cham.

Droga: partes aéreas floridas, secas, enteras o fragmentadas, de *Eschscholzia californica* Cham. (Pharmeuropa 35.2).

Descripción botánica. Planta anual o perenne, de entre 30-60 cm, caulescente, glabra y a menudo glauca. El fruto (no forma parte de la droga) es una cápsula recta y glabra y las semillas que contiene son globosas, reticuladas o punteadas (Castroviejo, 1986-2012).



Figura 15. Amapola de California.

Descripción de la droga. *El tallo es ramificado, acanalado, hueco y de color verde o azulado. Las hojas son pecioladas, pinnatífidas y de color verde. Los segmentos son lineares-oblongos, con 3 lóbulos terminales (lóbulo central ancho y corto). El ápice de cada lóbulo es brevemente acuminado. Las flores son solitarias sobre largos pedicelos. El cáliz (color verde pálido) tiene 2 sépalos fusionados que forman un capuchón cónico agudo que se cae cuando la flor abre. Cuando se cae el cáliz, persiste un grueso borde anular en la base de la corola. La corola es regular (4 pétalos libres y opuestos), de color amarillo anaranjado. Los estambres (más de 12) son libres. El ovario unilocular consta de 2 carpelos fusionados con placentación parietal, conteniendo numerosos óvulos. El estilo es corto y lleva 4 estigmas* (Pharmeuropa 35.2).

Composición química. Contiene alcaloides como californidina, escholtzina, protopina y pavina, siendo mayoritarios en las raíces. Las partes aéreas contienen flavonoles 3-*O*-glicósidos, principalmente de quercetina e isorhamnetina (Beck et al., 1999; Fedurco et al., 2015; Al-Snafi et al., 2017). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC son isorhamnetina-3-*O*-rutinósido y el rutósido (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Sedante, ansiolítica, antiespasmódica y analgésica. Los alcaloides actúan sobre los receptores GABA_A, que se expresan ampliamente en el cerebro, principalmente en las interneuronas inhibitoras (Fedurco et al., 2015) y pueden potenciar las interacciones con fármacos metabolizados por el citocromo P₄₅₀ (Manda et al., 2016).

Indicaciones terapéuticas. Tradicionalmente se usa para los síntomas de ansiedad y el sueño (EMA, 2017).

V.1.2. Espino blanco

Nombre común: espino blanco, espino albar (Figura 16).

Familia: Rosaceae.

Especie: *Crataegus monogyna* Jacq.

Droga: ramas enteras o fragmentadas, secas y con flores, de *Crataegus monogyna* Jacq. (Lindm.), *C. laevigata* (Poir.) DC., más raramente, *C. pentagyna* Waldst. et Kit. ex Willd. o *C. azarolus* L. o sus híbridos (Ph. Eur. N° 1432).



Figura 16. Espino blanco.

Descripción botánica. Arbusto de 5-10 m de altura. Tallos jóvenes glabros o provistos de largos pelos, con espinas que miden 2,5 cm. Hojas pecioladas. Inflorescencias entre 4-11 flores, pediceladas. Corola con cinco pétalos blancos. Fruto carnoso, en pomo subgloboso o cilíndrico, rojo (Castroviejo, 1986-2012).

Descripción de la droga. *Los tallos son de color marrón oscuro, leñosos, de 1-2,5 mm de diámetro, hoja caduca, pecioladas, con estípulas pequeñas, a menudo pequeñas e inflorescencias con numerosas flores blancas. Las hojas tienen lóbulos más o menos profundos con márgenes algo serrados o casi enteros. Las hojas son pinnatisectas con 3, 5 o 7 lóbulos agudos y márgenes enteros o irregularmente serrados, más o menos glabras o con algunos tricomas. Las flores tienen un cáliz tubular de color verde pardoáceo compuesto de 5 sépalos libres y reflejados, de color blanco amarillento o pardoáceo, redondeados u ovalados y brevemente unguiculados y numerosos estambres. El hipanto y el cáliz son glabros o con pocos tricomas. El ovario está fusionado con el cáliz y consta de un carpelo* (Ph. Eur. N° 1432).

Composición química. Las hojas, flores y frutos contienen flavonoides (hiperósido, isoquercitrina y vitexina), procianidinas y sus monómeros (epicatequina), lignanos y otros compuestos fenólicos (ácido clorogénico), ácidos triterpénicos y saponósidos (Martinelli et al., 2021). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC en este estudio son ácido clorogénico, hiperósido y vitexina-2"-O-rhamnósido (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Existen diferentes estudios *in vivo* e *in vitro* en los que se demuestran distintas propiedades, pero ninguna relacionada con el SNC (Cui et al., 2024).

Indicaciones terapéuticas. Según la Agencia Europea del Medicamento (EMA), está aprobado su uso tradicional para los síntomas de ansiedad y para conciliar el sueño (EMA, 2016).

V.1.3. Hierbaluisa

Nombre común: hierbaluisa, marialuisa, cedrón (Figura 17).

Familia: Verbenaceae.

Especie: *Aloysia citrodora* Paláu.

Droga: hojas secas o fragmentadas de *Aloysia citrodora* Paláu, *Lippia citrodora* Kunth, *Verbena triphylla* L'Her, *Aloysia triphylla* (L'Her.) Kuntze (Ph. Eur. N° 1834).



Figura 17. Hierbaluisa.

Descripción botánica. Arbusto de hoja caduca o semiperennifolia. Tallos erectos, cuadrangulares cuando jóvenes.

Hojas entre 4-10 cm de longitud, verticiladas, pecioladas, lanceoladas, brillantes y lustrosas. Inflorescencias en panículas terminales de hasta 30 cm. Flores pentámeras. Cáliz tubular. Corola hipocrateriforme. Fruto seco, obovoide u oblongo (Castroviejo, 1986-2012).

Descripción de la droga. Las hojas son simples con pecíolos cortos. Son estrechas, lanceoladas y unas 4 veces más largas que anchas. Los márgenes, enteros y ligeramente ondulados, están curvados hacia el haz. La superficie superior es verde oscura y áspera al tacto; la superficie inferior es verde más pálido y presenta un nervio central prominente con venas secundarias hacia los márgenes (Ph. Eur. N° 1834).

Composición química. Las hojas contienen flavonoides y aceite esencial compuesto por monoterpenos y sesquiterpenos, así como algunos alcoholes grasos (Bahramsoltani et al., 2018). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC en este estudio son el arbutósido y rutósido (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. El efecto ansiolítico podría ser debido a las interacciones de los ácidos grasos y esteroides sobre las transmisiones GABAérgicas y serotoninérgicas (Jiménez-Ferrer et al., 2017). No se ha descrito interacciones farmacológicas.

Indicaciones terapéuticas. Según la (EMA, 2019), se utiliza tradicionalmente para los trastornos del sueño y síntomas leves de ansiedad, así como por sus propiedades eupépticas y carminativas.

V.1.4. Lavanda

Nombre común: lavanda, espliego (Figura 18).

Familia: Lamiaceae.

Especie: *Lavandula angustifolia* Mill.

Droga: flor seca de *Lavandula angustifolia* Mill. (*L. officinalis* Chaix) (Ph. Eur. N° 1534).



Figura 18. Lavanda.

Descripción botánica. Arbusto que puede medir hasta un metro de altura. Presenta tallos redondeados, gruesos y leñosos, a veces con estrías, que pueden llegar hasta mitad de las caras. Las hojas miden $23-57 \times 2,2-4,5(6)$ mm, lanceoladas y opuestas y decusadas, simples, enteras y pinnatífidas. Las flores son bilabiadas, de color azul-violáceo. Fruto en tetranúcula (Castroviejo, 1986-2012).

Descripción de la droga. *La flor tiene un pedúnculo corto y consiste en un cáliz tubular gris azulado dividido distalmente en 4 dientes muy cortos y un pequeño lóbulo redondeado. Presenta una corola azul bilabial con el labio superior bifido y el inferior trilobado y 4 estambres didínamos con anteras ovoides* (Ph. Eur. N° 1534).

Composición química. Los principales compuestos biológicamente activos de la lavanda son: el aceite esencial, flavonoides (luteolina y apigenina-*O*-glucósido), cumarinas (umbeliferona y herniarina), triterpenos (ácido ursólico, ácido oleanólico y ácido mictomérico) y esteroides (campesterol, estigmasterol y sitosterol) (Dobros et al., 2022). Los componentes mayoritarios identificados en el aceite esencial son acetato de linalilo y linalool, seguidos de cariofileno, (*E*)-3,7-dimetilocta-1,3,6-trieno, 4-terpineol, acetato de lavandulilo, borneol y 1,8-cineol o eucaliptol (Chen et al., 2020). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC en este estudio son acetato de linalilo, linalool y 1,8-cineol (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Tiene propiedades sedantes y ansiolíticas. López et al. (2017) demuestran *in vivo* que los efectos ansiolíticos y antidepresivos del aceite esencial de lavanda pueden deberse a un antagonismo en el receptor N-metil-D-aspartato y a la inhibición de la serotonina.

Indicaciones terapéuticas. La flor y el aceite esencial se emplean para síntomas leves de estrés mental, fatiga o agotamiento y para facilitar el sueño (EMA, 2012). Además, está aprobado su uso para alteraciones del humor tales como inquietud, agitación e insomnio y en casos de molestias abdominales funcionales (Vanaclocha y Cañigual, 2019).

V.1.5. Lúpulo

Nombre común: lúpulo, betiguera (Figura 19).

Familia: Cannabaceae.

Especie: *Humulus lupulus* L.

Droga: inflorescencia femenina seca, generalmente entera, de *Humulus lupulus* L. (Ph. Eur. N° 1222).



Figura 19. Lúpulo.

Descripción botánica. Planta dioica, perenne, rizomatosa, pero con los tallos aéreos anuales, volubles de entre 5-10 m. Hojas opuestas, pecioladas y cordadas en la base, 17,5 × 18,5 cm. Inflorescencias masculinas en panículas axilares, bracteadas y las inflorescencias femeninas son estrobiliformes (Castroviejo, 1986-2012).

Descripción de la droga. *Los estróbilos del lúpulo suelen estar aislados, peciolados, ovoides, formados por muchas brácteas ovales, de color amarillo verdoso, sésiles, membranosos y superpuestos. Las brácteas externas son aplanadas y simétricas. Las brácteas internas son largas y asimétricas en la base debido a un pliegue que generalmente rodea un fruto induviado (aquenio). El ovario o raramente el fruto, la base de las brácteas y el pliegue induvial están cubiertos de pequeñas glándulas de color amarillo anaranjado* (Ph. Eur. N° 1222).

Composición química. La droga contiene flavonoides, destacando chalconas como xantohumol, flavanonas como isoxantohumol, flavonoles, taninos y algunos derivados glicósidos. Los derivados de floroglucinol (ácidos amargos) se clasifican en dos categorías: los α -ácidos, derivados de la humulona, y los β -ácidos, derivados de la lupulona. (Bocquet et al., 2018). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC en este estudio son curcumina, dimetilaminobenzaldehído y naranja de Sudán I (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Actividad sedante y estrogénica (Zanoli et al., 2008). Los efectos sedantes/hipnóticos se atribuyen a la humulona que actúa como un modulador alostérico positivo de los receptores GABA_A. Los flavonoides del lúpulo como isoxantohumol y 6-prenilnaringenina pueden potenciar los efectos de la humulona mediante mecanismos aditivos en los receptores GABA_A (Benkherouf et al., 2020). No se han descrito interacciones farmacológicas.

Indicaciones terapéuticas. La ESCOP y la EMA aprueban su uso tradicional para aliviar los síntomas de estrés mental y para facilitar el sueño. Se suele utilizar en combinación con otras drogas vegetales para facilitar el sueño (Vanaclocha y Cañigüeral, 2019).

V.1.6. Manzanilla

Nombre común: manzanilla común o dulce y camomilla (Figura 20).

Familia: Asteraceae.

Especie: *Matricaria chamomilla* L.

Droga: capítulos desecados de *Matricaria recutita* L. (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert) (Ph. Eur. N° 0404).

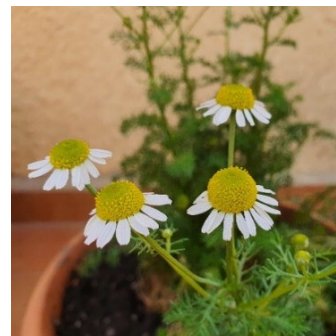


Figura 20. Manzanilla.

Descripción botánica. Planta anual, con tallos erectos, ramificados desde la base o en la mitad superior. Hojas de morfología variable.

Capítulos con flores tubulares y liguladas. Pedúnculo ligeramente ensanchado en la parte superior. Involucro subglabro. Brácteas con margen escarioso negruzco. Receptáculo cónico, liso. Fruto en aquenio (Castroviejo, 1986-2012).

Descripción de la droga. Los capítulos cuando están extendidos forman un involucro con numerosas brácteas dispuestas en 1-3 filas; un receptáculo alargado-cónico, a veces semiesférico; 12-20 flores liguladas marginales con una ligula blanca; varias docenas de flores tubulares centrales amarillas. Las brácteas del involucro son ovadas o lanceoladas, con un margen escarioso. El receptáculo es hueco y sin paleas. La corola de las flores liguladas tiene un tubo amarillo parduzco en la base que se prolonga para formar una ligula blanca, alargada y ovalada. El ovario inferior es de color marrón oscuro, ovoide o esférico, tiene un estilo largo y un estigma bifido. Las flores tubulares son amarillas y tienen un tubo de corola, 5 dientes, 5 estambres epipétalos y un gineceo similar al de las flores liguladas (Ph. Eur. N° 0404).

Composición química. Tiene aproximadamente 120 metabolitos secundarios, entre los que se encuentran 28 terpenoides y 36 flavonoides. Su aceite esencial contiene el sesquiterpeno α -bisabolol y sus óxidos, camazuleno y derivados acetilénicos. Contiene flavonoides como la apigenina y cumarinas como la umbeliferona y mucílagos (Srivastava et al., 2010). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC en este estudio son apigenina y apigenina-7-O-glucósido (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Estudios *in vivo* demuestran efectos ansiolíticos. La apigenina presenta actividad hipnótica al activar el receptor GABA_A (McKay et al., 2006; Bruni et al., 2021). Posible interacción con la warfarina (Segal et al., 2006).

Indicaciones terapéuticas. Se utiliza para trastornos gastrointestinales, afecciones respiratorias y cutáneas. También para la ansiedad, insomnio y depresiones leves, así como dolores del síndrome premenstrual, incluida la mastalgia (Vanaclocha y Cañigual, 2019).

V.1.7. Melisa

Nombre común: melisa, toronjil (Figura 21).

Familia: Lamiaceae.

Especie: *Melissa officinalis* L.

Droga: hojas secas de *Melissa officinalis* L. (Ph. Eur. N° 1447).

Descripción botánica. Tallos con cantos redondeados y un indumento rico en tricomas. Las hojas miden $3,1-13,5(15) \times 1,8-8$ cm. Inflorescencia formada por verticilastros de flores, densos y separados, con 2-12 flores cada uno. Brácteas de menor tamaño que las hojas y bractéolas elípticas y agudas. Cáliz con sépalos de (7)7,5-10 mm, con 13 nervios. Corola bilabiada, con pétalos blanquecinos de (9)12-13 mm. El fruto está constituido por cuatro núculas, de color marrón (Castroviejo, 1986-2012).



Figura 21. Melisa.

Descripción de la droga. Las hojas tienen un peciolo de longitud variable. La lámina es ampliamente ovalada, de hasta unos 8 cm de largo y 5 cm de ancho, aguda en el ápice y de forma redondeada a acorazonada en la base. Los márgenes van de crenados a dentados. La superficie superior es de color verde intenso y la inferior es verde más pálido. Presenta un nervio central y una venación reticulada en relieve, pelos dispersos en la superficie superior y a lo largo de las venas de la cara inferior, que también está finamente puntuada (Ph. Eur. N° 1447).

Composición química. Contiene ácidos fenólicos (cafeico, protocatéquico y rosmarínico), flavonoides (quercetina, rutósido, rhamnocitrina y luteolina), taninos, triterpenos (ácidos ursólico y oleanólico), terpenoides, polifenoles y aceite esencial (citral A, citral B, citronelal y geraniol) (Shakeri et al., 2016). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC en este estudio son ácido rosmarínico, luteolina-7-O-glucósido y rutósido (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Sedante. Modifica el metabolismo de GABA, incrementando así los niveles de GABA (Yoo et al., 2011). El extracto acuoso puede inhibir la TSH exógena y endógena actuando sobre la glándula tiroides (Aufmkolk et al., 1985).

Indicaciones terapéuticas. Según la EMA, está indicado por su uso tradicional para los trastornos del sueño, como el insomnio temporal, también para el estrés mental y trastornos del estado de ánimo. También se emplea para los trastornos gastrointestinales (EMA, 2013).

V.1.8. Naranja amarga

Nombre común: naranja amarga, flor de azahar (Figura 22).

Familia: Rutaceae.

Especie: *Citrus × aurantium* L.

Droga: flor entera seca cerrada de *C. aurantium* L. ssp. *aurantium* (*C. aurantium* L. ssp. *amara* Engl.) (Ph. Eur. N° 1810).



Figura 22. Naranja amarga.

Descripción botánica. Hibridación entre *C. maxima* y *C. reticulata*. Mide entre 4 y 6 m de altura. Copa redondeada con ramas glabras verdes, con o sin espinas, especialmente en los brotes jóvenes. Sus hojas son de color verde oscuro por el haz y algo más pálidas por el envés, con forma elíptico-ovalada, de textura gruesa, presentan pecíolo alado. Las flores son aromáticas y normalmente bisexuales. Fruto esférico (hesperidio), pulpa rugosa, anaranjada, ácida y amarga (Castroviejo, 1986-2012).

Descripción de la droga. Las yemas florales son blancas o blanco-amarillentas y pueden alcanzar los 25 mm de longitud. La corola dialipétala está compuesta por 5 pétalos gruesos, oblongos y cóncavos, con glándulas oleosas visibles con lupa. El cáliz, gamosépalo, corto, verde amarillento y persistente, con 5 sépalos extendidos, conectados en la base y forman una estructura estrellada unida al pedúnculo verde amarillento, de unos 5-10 mm de longitud. Las yemas florales contienen al menos 20 estambres con anteras amarillas y con filamentos fusionados en la base en grupos de 4 o 5. El ovario es súpero, de color marrón-negro y esférico, consta de 8-10 lóculos multiovulares y está rodeado en la base por un disco hipógeno anular y granuloso; el estilo cilíndrico termina en un estigma capitado (Ph. Eur. N° 1810).

Composición química. Contiene compuestos fenólicos y terpenoides. Entre los flavonoides destacan las flavanonas hesperetina y naringenina, y sus glicósidos, hesperidina y neohesperidina y naringina y narirutina, respectivamente (Suntar et al., 2018). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC en este estudio son hesperidina, naringina y ácido cafeico (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Los compuestos fenólicos son los principales responsables de su actividad farmacológica. Sedante suave. Puede dar reacciones de hipersensibilidad.

Indicaciones terapéuticas. Se usa tradicionalmente como tranquilizante. Se emplea para el tratamiento del insomnio (Vanaclocha y Cañigüeral, 2019).

V.1.9. Pasiflora

Nombre común: pasiflora, flor de la pasión, pasionaria (Figura 23).

Familia: Passifloraceae.

Especie: *Passiflora incarnata* L.

Droga: partes aéreas fragmentadas o cortadas y desecadas de *Passiflora incarnata* L. del quimiotipo swertisina, isovitexina o una mezcla de ambos. Puede contener flores y/o frutos (Ph. Eur. N° 1459).

Descripción botánica. Hojas (con pecíolo pubescente, lámina ovoide, poco pubescente y con 3 lóbulos de elípticos a lanceolados. Flores solitarias axilares, de color rosa pálido. Sépalos (5) oblongos. Pétalos (5) oblongos y lanceolados, agudos. Corola multiseriada. Estambres 5. Ovario con forma de esfera. Fruto oblongo-ovoide (WFO, 2024).



Figura 23. Pasiflora.

Descripción de la droga. Tallo de color verde, gris verdoso o parduzco, leñoso, hueco, estriado longitudinalmente, glabro o ligeramente pubescente y con un diámetro generalmente inferior a 8 mm. Las hojas son verdes o marrón verdosas, alternas, finamente dentadas y pubescentes, divididas en 3 lóbulos agudos. El nervio central es mucho más prominente en el envés. El pecíolo es pubescente y lleva 2 nectarios oscuros cerca de la lámina. Los zarcillos son numerosos, nacen de las axilas de las hojas y terminan en espirales cilíndricas. Las flores radiadas tienen 3 pequeñas brácteas y una corola formada por pétalos blancos con varias filas de apéndices filiformes y petaloides. El fruto es verdoso o parduzco, aplanado y ovalado, con varias semillas aplanadas, de color amarillo parduzco y sin hueso (Ph. Eur. N° 1459).

Composición química. Las partes aéreas contienen flavonoides (vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina), maltol, glucósidos cianogenéticos y alcaloides indólicos (harmano, harmalina). Presenta ácidos fenólicos, ácidos grasos, cumarinas y fitosteroles (Miroddi et al., 2013). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC son homoorientina, isovitexina y orientina (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Ansiolítica, tranquilizante y espasmolítica. Sus efectos farmacológicos están mediados por la modulación del GABA modificando la afinidad por los receptores GABA_A y GABA_B (Grundmann et al., 2008; Appel et al., 2010).

Indicaciones terapéuticas. Se utiliza para insomnio temporal, estrés mental y trastornos del estado de ánimo. No utilizar con benzodiazepinas, excepto bajo control médico (Vanaclocha y Cañigual, 2019).

V.1.10. Tila

Nombre común: tilo (Figura 24).

Familia: Malvaceae.

Especie: *Tilia platyphyllos* Scop.

Droga: inflorescencia entera y desecada de *Tilia cordata* Mill, de *T. platyphyllos* Scop., de *Tilia* × *europaea* L. o sus híbridos (Ph. Eur N° 0957).

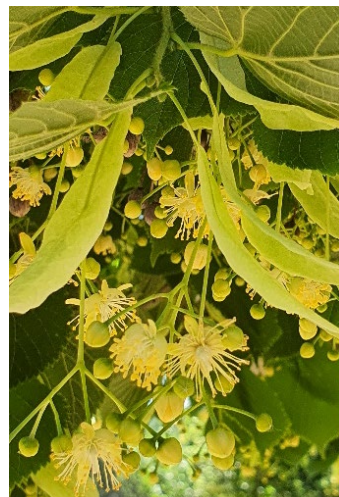


Figura 24. Tila.

Descripción botánica. Árbol caducifolio de hasta 30 m de copa amplia y regular y corteza grisácea. Ramas jóvenes pubescentes. Hojas de base algo asimétrica, con pelos simples, dispuestos en las axilas de los nervios y sobre éstos; pecíolos pelosos. Inflorescencia largamente pedunculadas, y con bráctea oblonga, obtusa, soldada hasta la mitad al eje de la inflorescencia. Flores amarillentas. Fruto seco, de globoso a piriforme (Castroviejo, 1986-2012).

Descripción de la droga. *La inflorescencia es de color verde amarillento. El eje principal de la inflorescencia lleva una bráctea linguiforme, membranosa, de color verde amarillento, prácticamente glabra. El nervio central está unido al pedúnculo hasta la mitad de su longitud. La inflorescencia suele estar formada por 2-7 flores, ocasionalmente hasta 16. Los sépalos se desprenden fácilmente del perianto; su superficie abaxial suele ser glabra y su superficie adaxial con bordes fuertemente pubescentes. Los 5 pétalos espatulados y finos son de color blanco amarillento. Los numerosos estambres son libres y suelen constituir 5 grupos. El ovario superior tiene un pistilo con un estigma con apariencia de 5 lóbulos* (Ph. Eur N° 0957).

Composición química. Las inflorescencias contienen flavonoides, concretamente glicósidos de kaempferol y de quercetina (isoquercitrina, rutósido e hiperósido) (Toker et al., 2001). Contienen cumarinas, proantocianidinas oligoméricas, ácidos orgánicos (clorogénico, *p*-cumárico y cafeico) y mucílagos (Szücs et al., 2019). Las sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC son ácido clorogénico, hiperósido y rutósido (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Sedantes suaves y demulcentes (fitoterapia.net). *Tilia americana* puede disminuir los efectos de fármacos analgésicos (Quinto-Ortiz et al. 2022).

Indicación terapéutica. Su uso está aprobado tradicionalmente como tranquilizante suave, para calmar la tos y para resfriados (síndrome gripal) (Vanaclocha y Cañigüeral, 2019).

V.1.11. Valeriana

Nombre común: valeriana, hierba de los gatos (Figura 25).

Familia: Caprifoliaceae.

Especie: *Valeriana officinalis* L.

Droga: partes subterráneas secas y cortadas de *Valeriana officinalis* L. incluidos el rizoma, las raíces y los estolones (Pharmeuropa 34.1).



Figura 25. Valeriana.

Descripción botánica. Planta herbácea perenne monocaule, estolonífera o no, con rizoma simple. Tallos erectos solamente con ramificaciones en la inflorescencia. Hojas pecioladas, opuestas y pinnatisectas. Inflorescencias corimbiformes, con brácteas lanceoladas o linear-lanceoladas. Flores hermafroditas o funcionalmente femeninas (ginodioica). Corola que presenta un color rosa pálido o blanquecino, con un tubo que consta de una gibosidad basal y se abre en forma distal, en 5 lóbulos. Androceo formado por 3 estambres fusionados al tubo de la corola y gineceo contiene 3 carpelos. Ovario ínfero. El fruto es un aquenio ovado-oblongo (Castroviejo, 1986-2012).

Descripción de la droga. *El rizoma es de color gris amarillento o gris parduzco pálido, cilíndrico o con forma de cono invertido, de hasta unos 50 mm de largo y 30 mm de diámetro; la base es alargada o comprimida. Suele estar totalmente cubierto por numerosas raíces. El ápice suele presentar una cicatriz en forma de copa procedente de las partes aéreas; las bases de los tallos raramente están presentes. Cuando se corta longitudinalmente, la médula presenta una cavidad central atravesada por septos. Las raíces son numerosas, casi cilíndricas, del mismo color que el rizoma, de 1-3 mm de diámetro y a veces de más de 100 mm de longitud. Algunas raíces secundarias frágiles y filiformes están presentes. Los estolones presentan nudos prominentes separados por entrenudos estriados longitudinalmente, cada uno de 20-50 mm de longitud, con una fractura fibrosa (Ph.Eur. N° 0453).*

Composición química. En los órganos subterráneos de la valeriana se han identificado entre 150-200 metabolitos secundarios. Contiene principalmente dos grupos de constituyentes: los iridoides denominados genéricamente valepotriatos (valtrato, dihidrovaltrato, acevaltrato e isovaleroxihidrovaltrato) y los sesquiterpenos, presentes en el aceite esencial (ácidos valerénico y acetoxivalerénico, valeranona, valeranal). También posee flavonoides, lignanos, triterpenos y alcaloides (Boyadzhiev et al., 2004; Nandhini et al., 2018; Shi et al., 2023). Las

sustancias de referencia utilizadas para la identificación por HPTLC son ácido valerénico y ácido acetoxivalerénico (Tabla T.3, anexo I).

Propiedades farmacológicas. Posee propiedades sedantes y ansiolíticas. Existen estudios *in vitro* e *in vivo* que sugieren que los componentes presentes en el extracto de valeriana (ácido valerénico y ácido acetoxivalerénico) poseen propiedades agonistas del GABA_A dependiente de la dosis (Khom et al., 2007). En individuos sanos, son poco probables las interacciones clínicamente significativas con drogas metabolizadas por las enzimas CYP1A2, CYP3A4/5, CYP2D6 o CYP2E1 del citocromo P₄₅₀ (Vanaclocha y Cañigüeral, 2019).

Indicaciones terapéuticas. Según la ESCOP, se utiliza para disminuir alteraciones nerviosas leves y para facilitar la conciliación del sueño. La EMA acepta esta indicación con uso médico bien establecido para el extracto seco RDE 3-7,4:1 (etanol 40-70%). Además, para estas mismas alteraciones, está aceptado el uso tradicional de la droga, tintura, extracto seco, aceite esencial y zumo de raíz fresca (Vanaclocha y Cañigüeral, 2019).

V.2. DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

En la tabla 11 se describen las muestras (un total de 100) que se han elegido para realizar la identificación microscópica y por HPTLC. Además, se indica el estado en el que se encontraban, el lugar de adquisición, el estatus regulatorio y la descripción del envase.

Tabla 11. Descripción de las muestras seleccionadas.

N° muestra	Forma farmacéutica	Envase del producto	Estado del producto	Lugar de adquisición	Estatus regulatorio	Descripción del envase
AC0	Muestra recolectada					
AC1	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Lippia citrodora</i> , hoja
AC2	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Lippia citrodora</i>
AC3	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
AC4	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	<i>Lippia triphylla</i>
AC5	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	No consta
AC6	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Hierbaluisa 100%
AC7	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Lippia citrodora</i> , hojas
CA0	Muestra recolectada					
CA1	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
CA2	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Citrus × aurantium</i>
CA3	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Azahar
CA4	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Citrus × aurantium</i>
CM0	Muestra recolectada					

Capítulo 2

CM1	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Crataegus oxyacantha</i>
CM2	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
CM3	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Crataegus monogyna</i>
CM4	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Crataegus oxyacantha</i> Auct. Sumidades floridas
CM5	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas Fabricante reconocido	<i>Crataegus oxyacantha</i> Sumidad florida
CM6	Cápsulas	Cápsulas	Pulverizada	Oficina de farmacia	Medicamento tradicional a base de plantas	Sumidades floridas criomolidas de <i>Crataegus monogyna</i> Jacq. (Lidm) y <i>C. laevigata</i> (Poiret) D.C. (<i>C. oxyacanthoides</i> Thuill.) (Espino albar)
EC0	Muestra recolectada					
EC1	Cápsulas	Cápsulas	Droga seca pulverizada	Oficina de farmacia	Medicamento tradicional a base de plantas	Polvo criomolido de partes aéreas floridas de <i>Eschscholtzia californica</i> Cham. (Amapola de California)
HL0	Muestra recolectada					
HL1	Infusión	Envasada / sobre grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Humulus lupulus</i> L.
HL2	Infusión	Envasada / sobre grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	No consta
HL3	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
HL4	Infusión	Envasada / sobre grande	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Humulus lupulus</i> Inflorescencias
LA0	Muestra recolectada					
LA1	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Lavandula spica</i>
LA2	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
LA3	Infusión	Envasada / sobre grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	No consta
LA4	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	<i>Lavandula angustifolia</i>

MC0	Muestra recolectada					
MC1	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla 100%
MC2	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla 100% flor
MC3	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla 100 % flores (<i>Matricaria chamomilla</i> , flor)
MC4	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla
MC5	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	100 % Manzanilla. <i>Matricaria chamomilla</i> . Planta y flor
MC6	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla
MC7	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla 100%
MC8	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla 100%. Agricultura ecológica
MC9	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	100 % Manzanilla (<i>Matricaria chamomilla</i> , planta y flor)
MC10	Bolsa individual	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla (100%). Procedente de agricultura ecológica
MC11	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
MC12	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Matricaria chamomilla</i> Ecológica
MC13	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	No consta
MC14	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla dulce
MC15	Infusión a granel	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
MC16	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Matricaria chamomilla</i>
MC17	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla 100%
MC18	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Matricaria chamomilla</i> L (Capítulos florales)

Capítulo 2

MC19	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	100 % manzanilla (<i>Matricaria chamomilla</i> L. - capítulos florales)
MC20	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla (<i>Matricaria chamomilla</i>)
MC21	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Matricaria chamomilla</i> . Planta y flor
MC22	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla (<i>Matricaria chamomilla</i> L.) 100%
MC23	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Matricaria chamomilla</i> L. Compuestas. Capítulos florales
MC24	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Manzanilla Flor
MO0	Muestra recolectada					
MO1	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Melissa officinalis</i>
MO2	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
MO3	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Melissa officinalis</i> L. Sumidades floridas
MO4	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Melissa officinalis</i>
MO5	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
MO6	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Melissa officinalis</i> L. Labiadas Hojas
MO7	Infusión a granel preparada	Envase grande	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Melissa officinalis</i> Planta y hojas
MO8	Cápsulas	Cápsulas	Droga pulverizada	Oficina de farmacia	Medicamento tradicional a base de plantas	Polvo de hoja de melisa (<i>Melissa officinalis</i> L.)
PI0	Muestra recolectada					
PI1	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Passiflora incarnata</i>
PI2	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
PI3	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta

PI4	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Passiflora caerulea</i>
PI5	Cápsulas	Cápsulas	Droga seca pulverizada	Oficina de farmacia	Medicamento tradicional a base de plantas	Partes aéreas criomolidas de <i>Passiflora incarnata</i> L. (Pasiflora)
TP0	Muestra recolectada					
TP1	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Tila 100%
TP2	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Tila (100%)
TP3	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Flores y brácteas de Tila
TP4	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Flores de tila 70 % (<i>Tilia argentum</i>), Hojas de tila 30 % (<i>Tilia</i> sps.)
TP5	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Tila
TP6	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	100% Tila (<i>Tilia</i> spp., flor y bráctea)
TP7	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	100% Tila (<i>Tilia</i> spp., flor y bráctea)
TP8	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	100% Tila (<i>Tilia</i> spp.)
TP9	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Supermercado	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	100% Tila (<i>Tilia</i> spp., flores y brácteas)
TP10	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Tila (100%). Agricultura ecológica
TP11	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Tilia tomentosa</i> de agricultura ecológica
TP12	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Tilia platyphyllos</i> Scop. (Inflorescencias/flowers)
TP13	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
TP14	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
TP15	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Tilia argentea</i>
TP16	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Tilia officinalis</i>

Capítulo 2

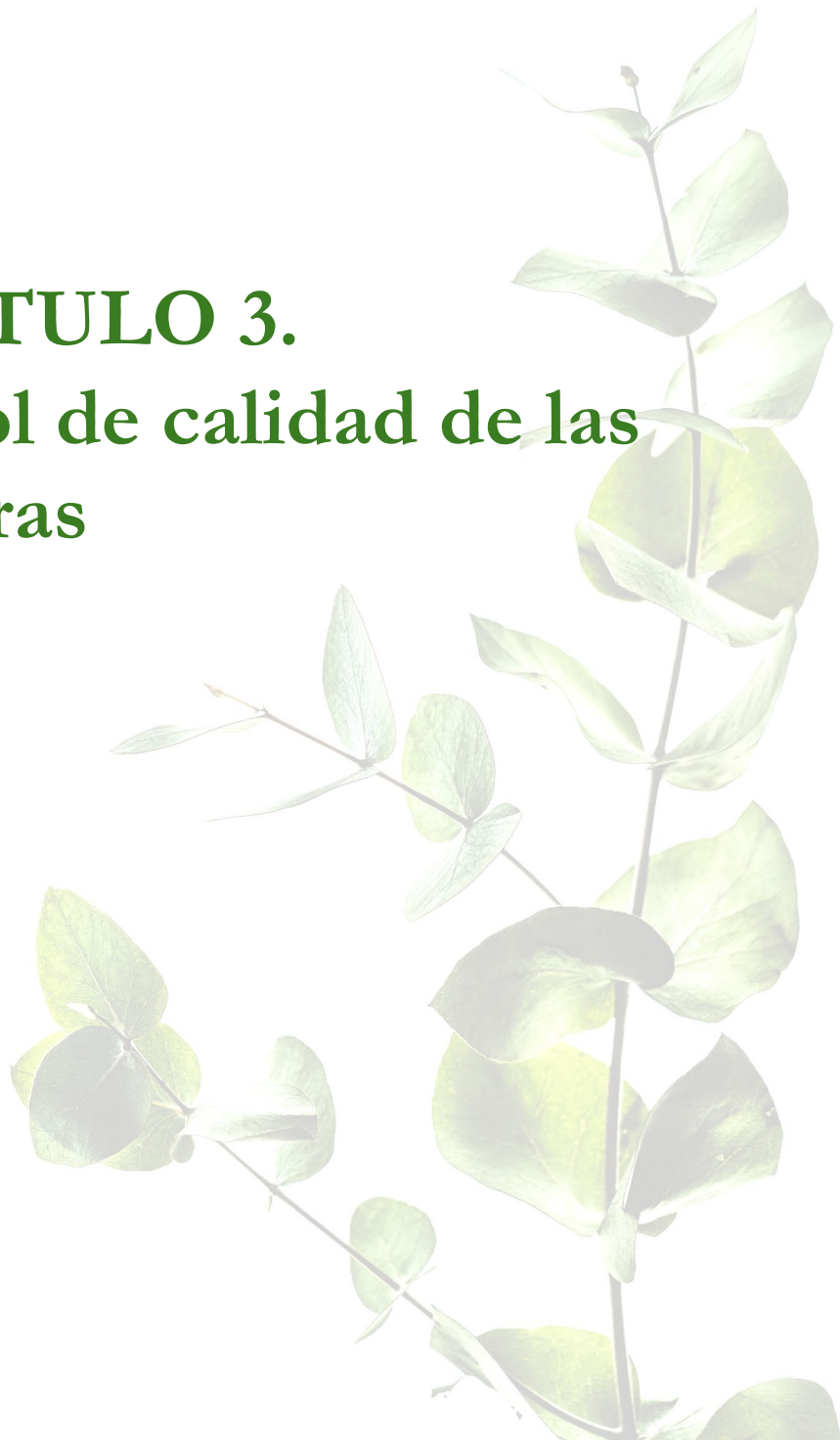
TP17	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Tilia officinalis</i>
TP18	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Tila (<i>Tilia cordata</i>)
TP19	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Tila
TP20	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	100% flores de tila (<i>Tilia argenteum</i> = <i>Tilia tomentosa</i> Moench.). Flores, procedentes de agricultura ecológica
TP21	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Tilia argenteum</i> y <i>T. officinalis</i> Flor y bráctea
VO1	Infusión	Envase grande	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	<i>Valeriana officinalis</i>
VO2	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
VO3	Infusión	A granel	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante no reconocido	No consta
VO4	Infusión	Sobre individual envasado	Planta seca fragmentada	Herboristería	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Valeriana
VO5	Cápsulas	Cápsulas	Droga seca pulverizada	Oficina de farmacia	Medicamento tradicional a base de plantas	Raíces criomolidas de <i>Valeriana officinalis</i> L. (Valeriana)
VO6	Cápsulas	Cápsulas	Droga seca pulverizada	Oficina de farmacia	Complemento alimenticio a base de plantas. Fabricante reconocido	Polvo de raíz de valeriana (<i>Valeriana officinalis</i> L.)

AC0-AC6: muestras 1-6 de hierbaluisa; **CA0-CA4:** muestras 1-4 de naranjo amargo; **CM0-CM6:** muestras 1-6 de espino blanco; **EC0-EC1:** muestras de amapola de California; **HL0-HL4:** muestras de lúpulo; **LA0-LA4:** muestras 1-4 de lavanda; **MC0-MC24:** muestras 1-24 de manzanilla; **MO0-MO8:** muestras 1-8 de melisa; **PI0-PI5:** muestras 1-5 de pasiflora; **TP0-TP21:** muestras 1-21 de tila; **VO1-VO6:** muestras 1-6 de valeriana.

VI.

CAPÍTULO 3.

Control de calidad de las muestras



VI.1. MATERIAL Y MÉTODOS

VI.1.1. Identificación microscópica

A. Material de laboratorio

En las tablas T.4, T.5 y T.6 (Anexo I) se recopila el material de laboratorio, colorantes, reactivos y otros productos empleados, así como su preparación.

B. Muestras seleccionadas

Preparación del material

En función de la muestra a identificar se realizan los siguientes procedimientos:

- En el caso de que la muestra se acabe de recolectar, se deposita en agua para evitar la desecación y que no se altere el aspecto tisular.
- Si la droga se recolecta y se mantiene en etanol 70° hasta empezar a trabajarla, se procede a una hidratación previa durante 12 h, cambiando el agua 2-3 veces antes de comenzar el proceso, para así eliminar todo el etanol retenido en los tejidos.
- Cuando se trata de muestras comercializadas, también se deben hidratar previamente antes de proceder a trabajarlas debido su sequedad. En concreto, si la muestra se trata de una droga fragmentada, se hidratará entre 4-12 h. Si la muestra es una droga pulverizada, solo se necesita que permanezca 1 o 2 h hidratándose antes de comenzar a trabajarla.

Técnicas de obtención de cortes

• Inclusión en hielo

Las muestras deben estar completamente hidratadas y presentar un tamaño entre 5-8 mm, previo al corte. A continuación, en la platina del microtomo de deslizamiento (Figura 26 y Figura 27), se coloca un papel de filtro mojado y cortado adecuado a su medida y se inicia la congelación de la muestra regulando con el microtomo a una temperatura entre -45 y -50 °C. Se ubica la muestra perpendicular a la cuchilla, con la orientación adecuada, de tal forma que se evite el cizallamiento. Se depositan lentamente gotas de agua sobre la muestra hasta que quede totalmente incluida en hielo. Posteriormente, se sube la temperatura entre -25 y -30 °C, se regula la escala graduada con el espesor que se desee cortar y se coloca la cuchilla previamente asentada.

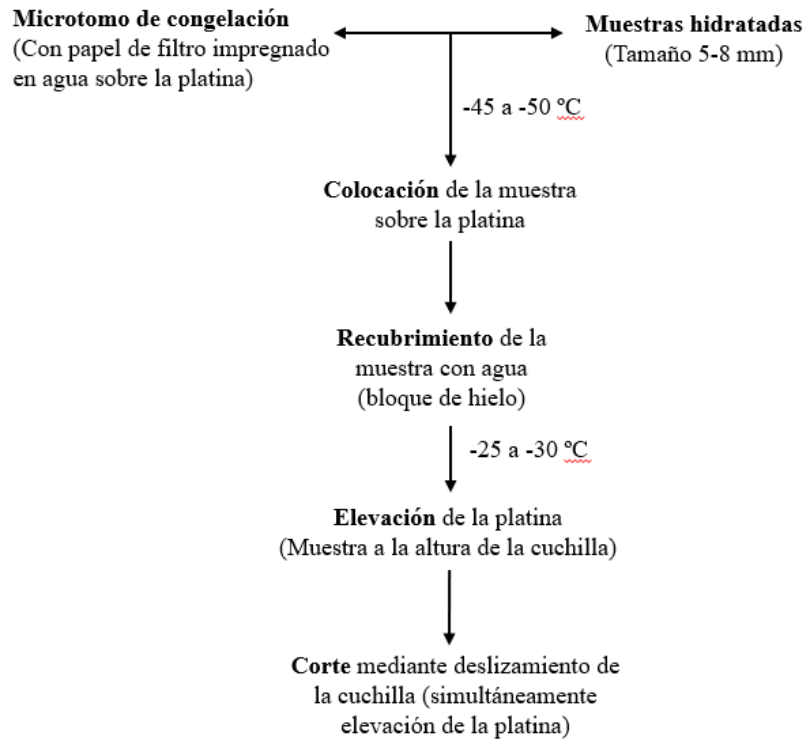


Figura 26. Inclusión en hielo y obtención de cortes.

Es fundamental considerar la dureza de los órganos a cortar, ya que habrá que ajustar la temperatura, inclinación de la cuchilla y orientación de la muestra en el microtomo de congelación (Figura 27). Mediante el tornillo de elevación, se ubica el bloque congelado a la altura de la cuchilla para iniciar el proceso. Se empieza a cortar con la cuchilla y las secciones obtenidas se colocan dentro de una placa Petri (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Posteriormente, cuando se desea obtener imágenes en fresco (sin tinción), se colocan los cortes en un portaobjetos con unas gotas de agua y encima un cubreobjetos.

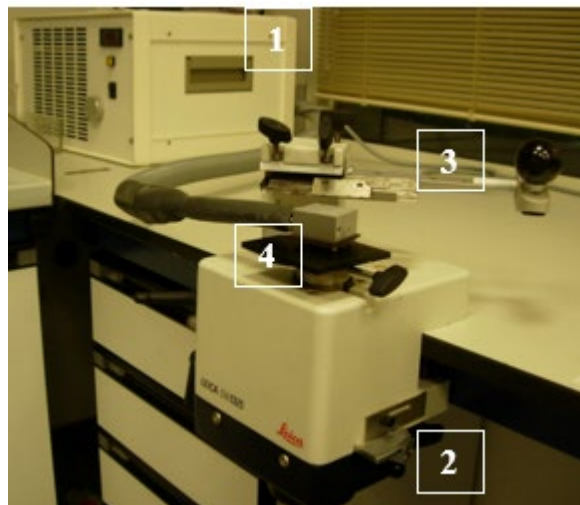


Figura 27. Microtomo de congelación. Microtomo (1); tornillo de elevación (2); cuchilla (3); platina (4).

La muestra recolectada se somete a un proceso de diafanización que consiste en colocar los cortes en una placa Petri con aproximadamente 1,5 cm de altura de hipoclorito sódico durante 10-20 min, en función del órgano que se esté estudiando. Este proceso se lleva a cabo para eliminar todo el contenido celular de las muestras (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). A continuación, se enjuagan las muestras con abundante agua para eliminar todos los residuos de lejía y se pasan a una placa Petri con agua. Para poder seleccionar los cortes que se deseen, se observan y se separan bajo la lupa.

En la muestra recolectada se ha realizado la tinción diferencial safranina-verde rápido y posterior montaje. El portaobjetos con el corte encima se coloca sobre un cristalizador y se procede a la coloración. El proceso consiste en teñir primero con 1-2 gotas de safranina durante 1-2 min y lavar con unas gotas de etanol 96° para teñir con 1 gota de verde rápido durante 30-60 s. Se deshidrata mediante lavados con etanol de graduación creciente (unas gotas de etanol 96° y posteriormente etanol 100°) para eliminar los restos de agua. Se añaden unas gotas de xileno y se tapa la muestra con el cubreobjetos, previamente impregnado con el medio de montaje Eukitt® (D'Ambrogio de Argüeso, 1986).

- **Inclusión en parafina**

Esta técnica se ha empleado cuando la muestra se recolecta y la droga vegetal consta de varias piezas como la flor o inflorescencias, que podrían disgregarse al incluirlas en hielo. Incluye varias fases descritas a continuación:

- 1) Deshidratación. Se realiza con etanol de diferente graduación en orden creciente (70°, 96° y 100°), realizando dos cambios de 30 min. Cuando las muestras se hunden totalmente, se cambia al alcohol de grado superior y ese proceso de deshidratación habrá finalizado.
- 2) Clarificación. Las muestras se sumergen en dos baños sucesivos de xileno en los que el tiempo también depende de la especie, el órgano y su madurez. Se considera que la muestra está clarificada cuando se hunde totalmente en el xileno.
- 3) Infiltración e inclusión. Con la estufa a 60 °C, se introduce la muestra en parafina y se deja 8-20 min en función de la muestra con la que se esté trabajando. Se pasa a otro frasco de parafina, para eliminar los residuos de xileno.
- 4) Formación de los bloques. Se forma un bloque de 2,0 × 1,5 × 1,5 cm aproximadamente en unos soportes de plástico cuadrados, se vierte la parafina con la muestra, formando un bloque con ayuda de una espátula calentada con el mechero Bunsen. Se deja solidificar entre 24-48 h, en función de la muestra.

- 5) Tallado del bloque. Se descubre la muestra eliminando la parafina sobrante, facilitando así el corte.
- 6) Obtención de los cortes. Se cortan con un grosor de 10 μm aproximadamente y se depositan en el baño de agua caliente a 35-40 °C. Se colocan en un portaobjetos previamente untado con albúmina de Mayer para que se adhiera la parafina con las secciones al portaobjetos. Una vez secos, se calientan en la estufa a 60 °C durante 10-15 min.
- 7) Desparafinado e hidratación de la muestra. Consiste en dos baños de xileno sucesivos de 20-30 min. Posteriormente, se colocan las muestras en dos baños con etanol de graduación decreciente (100° y 96°). Finalmente se sumergen en agua.
- 8) Tinción safranina-verde rápido. La muestra se somete al proceso explicado anteriormente para realizar esta tinción.

Estudio de la epidermis

Tanto para las muestras comercializadas como para la muestra recolectada, este proceso se realiza para observar los estomas o el indumento (vista superficial) de los caracteres microscópicos de diagnóstico de las drogas vegetales. Consiste en levantar las improntas epidérmicas aplicando un esmalte de uñas transparente (gel brillo seca rápido) sobre las mismas y se deja secar aproximadamente 10-15 min. Transcurrido este tiempo, con unas pinzas de punta fina, se levanta la impronta epidérmica y se deposita sobre un portaobjetos, al que previamente se le ha añadido unas gotas de glicerol al 60%. En el cubreobjetos, también se recomienda poner una gota de glicerol y se monta (Roselló et al., 2020).

En algunos casos, para estudiar la epidermis principalmente de las drogas fragmentadas con una sequedad elevada, se ha diafanizado la muestra con lejía durante 10 min, se lavan con abundante agua para eliminar toda la lejía residual, se añaden unas gotas de alcohol de 70° y se tiñen con safranina. Se colocan en un portaobjetos con impregnado con Eukitt® y se observa al microscopio.

C. Obtención de las imágenes e interpretación de los resultados

Para la identificación de los caracteres microscópicos de diagnóstico de las muestras seleccionadas se ha utilizado el microscopio Olympus BX40 con la cámara Olympus CCD XC30. Las imágenes se han registrado mediante el software de adquisición de imágenes Olympus CellSens. Tras la obtención de las imágenes, se ha determinado cualitativamente la presencia de los caracteres microscópicos que la Ph. Eur. describe para la identificación de cada una de las drogas.

VI.1.2. Identificación por HPTLC

A. Material de laboratorio

En las tablas T.7 y T.8 (Anexo I) se recoge el material de laboratorio utilizado, disolventes, reactivos de derivatización y sustancias de referencia empleadas para las diferentes drogas vegetales estudiadas.

B. Muestras seleccionadas

Las muestras objeto de estudio (de las drogas vegetales seleccionadas) se han pulverizado y tamizado con el tamaño de partícula determinado para proceder a la extracción (capítulo 2.9.12, Ph. Eur.). Las muestras recolectadas se han secado en una sala con control de humedad relativa (20% humedad y 20 °C) en el Banco de Germoplasma del Jardí Botànic de la Universitat de València (mínimo 3 días) y posteriormente se han pulverizado de la misma forma que las muestras comercializadas.

La identificación por HPTLC de las muestras de las drogas vegetales estudiadas se ha realizado de acuerdo con las monografías específicas. Algunas de ellas están adaptadas al capítulo general 2.8.25 de la Ph. Eur., sin embargo, otras aún no están adaptadas y hasta el momento solo incluyen identificación por TLC. En estos casos se ha recurrido a otras fuentes bibliográficas que tengan HPTLC o se ha adaptado el sistema TLC a HPTLC, como son la HPTLC Association, HPTLC Identification Methods of Camag Laboratory y la comunicación de Hänni et al. (2022). Los principales parámetros y dispositivos para la identificación por HPTLC con el sistema semiautomático utilizado son los siguientes:

- Fase estacionaria: HPTLC silicagel 60 F₂₅₄ (Merck) (5-7 µm) de 20 × 10 cm.
- Aplicador: Camag Automatic TLC Sampler 4 (Figura 28).
- Distribución en la placa cromatográfica: test o ensayo de adecuación del sistema (System Suitability test, SST), disolución de referencia (R), disolución de referencia ¼ (disolución de referencia diluida al 25%) y extractos de las disoluciones problema.
- Cámara de desarrollo: Camag ADC2 Automatic Developing Chamber (Figura 28).
- Desarrollo: saturación (20 min) con papel de filtro (20 × 10 cm, gramaje: 320 g/m²), acondicionamiento (10 min, 33% de humedad relativa con disolución saturada de MgCl₂), 62 mm de distancia desde el punto de aplicación, temperatura ambiente (22 °C).
- Proceso de detección (Figura 28):
 - 1) Derivatización. Se han utilizado los siguientes reactivos de derivatización:
 - Reactivo de productos naturales (*Natural Product Reagent*, NPR): pesar 1 g de difenilborinato de 2-aminoetilo y disolver en 200 mL de acetato de etilo.

- Polietilenglicol (PEG) 400: pesar 10 g de PEG 400 y mezclar con 200 mL de diclorometano.
 - Reactivo de anisaldehído R: mezclar (en el siguiente orden): 0,5 mL de anisaldehído R, 10 mL ácido acético glacial R, 85 mL de metanol R y 5 mL de ácido sulfúrico R.
- 2) Inmersión (dispositivo de inmersión cromatográfica, Camag Chromatogram Immersion Device III) (Figura 28): tiempo de inmersión (1 s) y velocidad de inmersión (5 cm/s).
 - 3) Activación térmica (placa calefactora, Placa Camag TLC Plate Heater) (Figura 28): antes o después de reactivo de derivatización.
 - 4) Visualización (Camag TLC Visualizer): luz blanca R (reflexión), RT (reflexión-transmisión) o T (transmisión), UV 254 nm y UV 366 nm, antes y después de derivatizar según indique el protocolo aplicado.
- Documentación: registro de las imágenes electrónicas con visión CATS. Camag HPTLC Software. Versión 3.2 SP 2 (Figura 28).
 - Evaluación visual: base de datos de conocimiento o material de referencia utilizado.



Figura 28. Sistema semiautomático Camag. Aplicador (1); cámara de desarrollo (2); dispositivo automatizado de inmersión (3); placa calefactora (4); sistema visualizador (5); documentación (*Software*) (6).

El proceso (Figura 29) para realizar un análisis por HPTLC consta de varios pasos:

1. Crear el método y el análisis en el programa visión CATS para que ordene a los distintos aparatos su correcto funcionamiento, introduciendo el esquema anterior en el *Software* según lo que se quiera analizar en cada identificación.
2. Preparación de la placa. Marcar con lápiz en la placa con una regla 8 mm desde el borde inferior y 7 cm también desde el borde inferior.
3. Comprobación y registro del blanco de la placa.
4. Aplicación: introducir las disoluciones de referencia y los extractos de las disoluciones problema en el aplicador y la placa cromatográfica de silicagel (fase estacionaria) en el lugar

indicado. Este dispositivo aplica el volumen establecido en cada carril correspondiente de la placa cromatográfica.

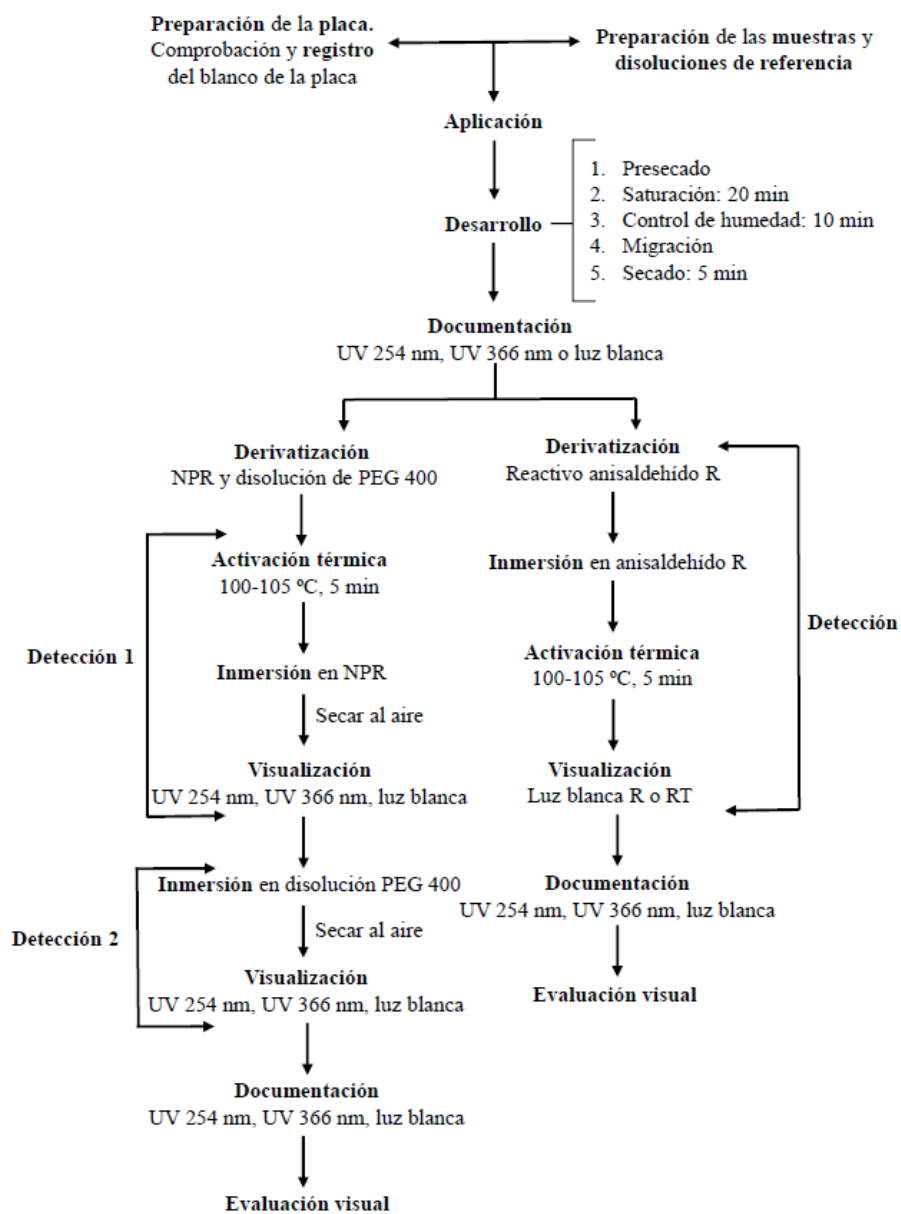


Figura 29. Identificación por HPTLC.

5. Desarrollo: la placa cromatográfica se coloca en la cámara de desarrollo en la que se ha introducido la fase móvil correspondiente y el papel de filtro. Después del presecado, la saturación y el control de la humedad, la fase móvil se desliza por capilaridad a través de la fase estacionaria (adsorbente), aplicada como una capa fina y uniforme presente en la placa de vidrio, proceso denominado migración. Por último, la placa se seca para finalizar esta fase del análisis.
6. Documentación: UV 254 nm, UV 366 nm y luz blanca R o RT.

7. Detección 1 y 2: el proceso de derivatización se realiza con los reactivos de derivatización indicados según el protocolo que se esté haciendo. Los reactivos utilizados en este estudio son NPR y disolución de PEG 400 o anisaldehído R.

- NPR y disolución de PEG 400. La placa que se va a derivatizar tiene que estar caliente, por lo que previamente se coloca en la placa calefactora (activación térmica) a 100-105 °C entre 3-5 min, se sumerge en NPR y se seca al aire. Se procede a la visualización. Todo este proceso corresponde a la detección 1. A continuación, se derivatiza con la disolución de PEG 400 (sin calentar), se seca al aire y se visualiza (detección 2).
- Si el reactivo de derivatización seleccionado es el reactivo de anisaldehído R, al finalizar el proceso en la cámara de desarrollo, la placa se sumerge en anisaldehído R. Posteriormente, la placa tiene que estar totalmente seca (al aire) para colocarse encima de la placa calefactora a 100-105 °C durante 5 min. Se visualiza a luz blanca R o RT (detección).

8. Documentación: registrar las imágenes a las diferentes absorbancias en el *Software*.

9. Evaluación visual: interpretación de los cromatogramas según el material de referencia utilizado.

A continuación, para cada una de las drogas vegetales, se detalla el método específico de la preparación de las muestras, disolución SST, disoluciones de referencia y fases móviles, así como los procedimientos individuales para la identificación por HPTLC.

a) Amapola de California, sumidad florida

La identificación por HPTLC de las muestras de amapola de California se han realizado según la revista PharmEuropa (Pharmeuropa 35.2). Contiene disolución SST, marcadores de intensidad y algunos cromatogramas que ayudan a la identificación de las muestras, lo que facilitará la interpretación del cromatograma. En la tabla 12 se detallan los parámetros utilizados para la identificación por HPTLC.

Tabla 12. Metodología HPTLC para amapola de California.

Disolución problema	A 1 g de droga pulverizada (2.9.12) se le añaden 10 mL de metanol. Calentar al baño a 60 °C con agitación durante 10 min. Utilizar el filtrado
Disolución SST y disolución de referencia (R)	Disolver 5 mg de trihidrato de rutósido R y 1,5 mg de isoramnetina-3-O-rutinósido R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R 1/4)	Diluir 2,5 mL de la disolución R hasta 10 mL con metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 2 µL de las disoluciones de referencia y disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido acético glacial R/ácido fórmico anhidro R/agua R/acetato de etilo R (11:11:26:100)
Detección 1	1) Activación térmica: 100 °C, 5 min; 2) NPR; 3) Visualización a 366 nm
Detección 2	4) Disolución PEG 400; 5) Visualización: UV 366 nm
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm después de derivatizar
Evaluación visual	Marcadores de intensidad: trihidrato de rutósido e isoramnetina-3-O-rutinósido

b) Espino blanco, hoja y flor

Esta identificación se ha realizado de acuerdo con la monografía (1/2021:1432) que ya está adaptada al capítulo general 2.8.25. Presenta disolución SST y marcadores de intensidad. Además, presenta base de datos de conocimiento (Knowledge Data Base) lo que facilitará la interpretación del cromatograma. Los parámetros empleados para la identificación de las muestras de espinillo blanco se encuentran descritos en la siguiente tabla (Tabla 13):

Tabla 13. Metodología HPTLC para espinillo blanco.

Disolución problema	A 0,5 g de droga pulverizada (2.9.12) se le añaden 5 mL de metanol. Ultrasonidos durante 15 min. Enfriar y filtrar
Disolución SST	Disolver 2,5 mg de hiperósido R y 3 mg de ácido clorogénico R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R)	Disolver 2,5 mg de hiperósido R y 4 mg de vitexina-2"-O-ramnósido R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R 1/4)	Diluir 2,5 mL de la disolución R hasta 10 mL de metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 4 µL de las disoluciones SST, de referencia y problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido fórmico anhidro R/agua R/etilmetilcetona R/acetato de etilo R (10:10:30:50)
Detección 1	1) Activación térmica: 100 °C, 5 min; 2) NPR; 3) Visualización a 366 nm
Detección 2	4) Disolución PEG 400; 5) Visualización: UV 366 nm
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm después de derivatizar
Evaluación visual	Marcadores de intensidad: hiperósido (zonas fluorescentes amarillas, naranjas y rojas) y vitexina-2"-O-ramnósido (verde, azul verdoso y azul)

c) Hierbaluisa, hoja

La monografía específica de la hoja de hierbaluisa (1/2012:1834) de la Ph. Eur. ha sido el documento de elección para llevar a cabo la identificación de las muestras, aunque únicamente presenta TLC hasta el momento (se está adaptando a la metodología por HPTLC). Los parámetros utilizados para la identificación de las muestras por HPTLC son los siguientes (Tabla 14):

Tabla 14. Metodología HPTLC para hierbaluisa.

Disolución problema	A 0,5 g de droga pulverizada (2.9.12) se le añaden 5 mL de metanol. Calentar a baño maría a 60 °C durante 10 min. Enfriar y filtrar
Disolución SST	Disolver 5 mg de trihidrato de rutósido R y 1,5 mg de isoramnetina-3-O-rutinósido R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia	Disolver 10 mg de arbutósido R y 10 mg de trihidrato de rutósido R en 10 mL de metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 5 µL de las disoluciones SST, de referencia y problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido fórmico anhidro R/ácido acético glacial R/agua R/acetato de etilo R (11:11:27:100)
Detección	1) Reactivo de anisaldehído R; 2) activación térmica: 100-105 °C, 5 min; 3) visualización: luz blanca R o RT
Documentación	Registro de imágenes: luz blanca R
Evaluación visual	Disolución de referencia: arbutósido R y rutósido R

d) Lavanda, flor

La identificación por HPTLC de las muestras de flor de lavanda se ha llevado a cabo según la monografía (07/2018:1534) pero la descripción de resultados no está adaptada al capítulo 2.8.25 debido a que falta la disolución SST y marcadores de intensidad. Se ha utilizado la metodología descrita por Do et al. (2021) para establecer la disolución SST y el volumen de aplicación de ésta, porque presenta la misma fase móvil que utilizan estos autores. En la tabla 15 se detallan los parámetros aplicados:

Tabla 15. Metodología HPTLC para lavanda.

Disolución problema	A 0,5 g de muestra pulverizada (2.9.12) se le añaden 5 mL de tolueno R. Ultrasonidos 5 min y filtrar. Utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	Disolver 2,5 µL de isoeugenol y 5 mg de acetato de isoeugenilo en 10 mL de tolueno
Disolución de referencia (R)	Disolver 10 µL de cineol R, 5 µL de linalool R y 5 µL de acetato de linalilo R en 10 mL de tolueno
Volumen de aplicación	Aplicar 2 µL de la disolución SST y 4 µL de las disoluciones de referencia y disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Acetato de etilo R/tolueno R (5:95)
Detección	1) Reactivo de anisaldehído R; 2) activación térmica: 100-105 °C, 5 min; 3) visualización: luz blanca R o RT
Documentación	Registro de imágenes: luz blanca RT
Evaluación visual	Disolución de referencia: cineol, linalool y acetato de isoeugenilo

e) Lúpulo, estróbilo

Se han realizado dos identificaciones para el perfil cromatográfico del estróbilo de lúpulo:

Identificación 1: la metodología procede de HPTLC Identification Methods de Camag Laboratory. En la siguiente tabla (Tabla 16), se detallan los parámetros utilizados para la identificación por HPTLC aplicando la monografía de HPTLC Identification Methods of Camag Laboratory:

Tabla 16. Metodología HPTLC para lúpulo. Protocolo 1.

Disolución problema	A 0,5 g (2.9.12) de muestra se le añaden 5 mL de metanol. Aplicar ultrasonidos durante 10 min. Utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST y disolución de referencia (R)	Disolver 1 mg de naranja de Sudán R (naranja Sudán I) y 1 mg de curcumina R en 10 mL de metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 2 µL de la disolución de referencia y 4 µL de las disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido acético glacial/acetato de etilo/ciclohexano (2:38:60)
Detección	1) Reactivo de anisaldehído R; 2) activación térmica: 100°C durante 4 min; 3) visualización: UV 366 nm antes de derivatizar y luz blanca RT después de derivatizar
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm antes de derivatizar y luz blanca RT después de derivatizar
Evaluación visual	Disolución de referencia: naranja de Sudán I y curcumina

Identificación 2: combinación del método Camag con Ph. Eur. El proceso de preparación de las muestras pertenece a la Ph. Eur., mientras que el volumen de aplicación y reactivo de derivatización proceden de Camag. En cuanto a la visualización (documentación), en la Ph. Eur. se observa a la luz UV 254 nm y 366 nm antes de derivatizar y Camag a 366 nm antes de derivatizar y luz blanca RT después de derivatizar. En la siguiente tabla 17 se describen los parámetros detallados para este método:

Tabla 17. Metodología HPTLC para lúpulo. Protocolo 2.

Disolución problema	A 1 g de droga recién pulverizada se le añaden 10 mL de metanol y agua (7:3, v/v). Agitar durante 15 min y filtrar. Utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución de referencia (R)	Disolver 1 mg de naranja de Sudán R (naranja de Sudán I), 2 mg de curcumina R y 2 mg de dimetilbenzaldehído R en 20 mL de metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 2 µL de la disolución de referencia y 4 µL de las disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido acético glacial R/acetato de etilo R/ciclohexano R (2:38:60)
Detección	1) Reactivo de anisaldehído R; 2) activación térmica: 100 °C durante 4 min; 3) visualización: UV 254 y UV 366 nm antes de derivatizar y luz visible RT después de derivatizar
Documentación	Registro de imágenes: UV 254 y UV 366 nm antes de derivatizar y luz blanca RT después de derivatizar
Evaluación visual	Disolución de referencia: naranja de Sudán I, curcumina y dimetilbenzaldehído

f) Manzanilla, flor

La HPTLC Association presenta un procedimiento de preparación de las muestras y su identificación para HPTLC con todos los parámetros establecidos, mientras que la Ph. Eur. hasta el momento solo incluye un perfil cromatográfico (TLC) para la obtención del aceite esencial. Los parámetros utilizados para la identificación por HPTLC son los siguientes (Tabla 18):

Tabla 18. Metodología HPTLC para manzanilla.

Disolución problema	A 1 g de muestra pulverizada se le añaden 10 mL de metanol. Ultrasonidos 10 min. Filtrar y utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	Mezclar 3 mg de ácido clorogénico y 2,5 mg de hiperósido en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R)	Disolver 1 mg de apigenina y 1 mg de apigenina-7- <i>O</i> -glucósido en 1 mL de metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 2 µL de las disoluciones de referencia y disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Acetato de etilo/ácido fórmico/agua (80:10:10)
Detección 1	1) Activación térmica, 100 °C durante 3 min; 2) NPR; 3) visualización: UV 366 nm
Detección 2	4) Disolución de PEG 400; 5) visualización: UV 366 nm
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm después de derivatizar
Evaluación visual	Disolución de referencia: apigenina y apigenina-7- <i>O</i> -glucósido

g) Melisa, hoja

Se han realizado dos identificaciones para el perfil cromatográfico de la hoja de melisa:

Identificación 1: según la metodología de la HPTLC Association, puesto que tiene un protocolo establecido para este tipo de identificación. Los parámetros utilizados (Tabla 19) se detallan a continuación:

Tabla 19. Metodología HPTLC para melisa. Protocolo 1.

Disolución problema	A 1 g de muestra pulverizada se le añaden 10 mL de metanol. Aplicar ultrasonidos 5 min. Filtrar y utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	Disolver 5 mg de trihidrato de rutósido y 5 mg de isoramnetina-3- <i>O</i> -rutinósido en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R)	Disolver 2 mg de rutósido, 2 mg de luteolina-7- <i>O</i> -glucósido y 5 mg de ácido rosmarínico en 10 mL de metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 2 µL de la disolución de referencia y 4 µL de las disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Acetato de etilo/ agua/ ácido fórmico anhidro/ ácido acético glacial (100:27:11:11)
Detección 1	1) Activación térmica, 100 °C durante 3 min; 2) NPR; 3) visualización: UV 366 nm
Detección 2	4) Disolución de PEG 400; 5) visualización: UV 366 nm
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm después de derivatizar
Evaluación visual	Disolución de referencia: rutósido, luteolina-7- <i>O</i> -glucósido y ácido rosmarínico

Identificación 2: la metodología de la Ph. Eur. presenta TLC para la obtención del aceite esencial y del extracto seco de la hoja de melisa (01/2010;2524). De la monografía del extracto seco se ha utilizado la fase móvil y las sustancias de referencia excepto las disoluciones SST. El método de extracción aplicado proviene de la HPTLC Association así como el volumen de aplicación y los reactivos y procedimiento de derivatización. Los parámetros utilizados (Tabla 20) se detallan a continuación:

Tabla 20. Metodología HPTLC para melisa. Protocolo 2.

Disolución problema	A 1 g de muestra pulverizada se le añaden 10 mL de metanol. Aplicar ultrasonidos 5 min. Filtrar y utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	2 mg de ácido rosmarínico, 2 mg de ácido cafeico, 3 mg ácido clorogénico y 2,5 mg de hiperósido en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R)	Disolver 1 mg de hiperósido R, 1 mg de trihidrato de rutósido y 5 mg de ácido rosmarínico en 10 mL de metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 2 µL de la disolución de referencia y 4 µL de las disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido fórmico anhidro R/agua R/acetato de etilo R (6:6:90)
Detección 1	1. Activación térmica, 100 °C durante 3 min; 2) NPR; 3) visualización: UV 366 nm
Detección 2	4) Disolución de PEG 400; 5) visualización: UV 366 nm
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm después de derivatizar
Evaluación visual	Disolución de referencia: rutósido, luteolina-7- <i>O</i> -glucósido y ácido rosmarínico

h) Naranja amargo, flor

La identificación por HPTLC para las muestras de naranja amargo se ha realizado según comunicación de Hänni et al. (2022), ya que su procedimiento presenta los parámetros necesarios la identificación por HPTLC. El método de preparación de las muestras ha sido el de la Ph. Eur. (01/2012:1810) para el naranja amargo, aunque todavía no incluye identificación por HPTLC. Los parámetros (Tabla 21) utilizados para el análisis de estas muestras son:

Tabla 21. Metodología HPTLC para naranja amargo. Protocolo 1.

Disolución problema	A 0,5 g de droga pulverizada (2.9.12) se le añaden 5 mL de metanol. Calentar con agitación a 40° C durante 10 min. Filtrar y utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	Disolver 3 mg de ácido clorogénico R y 2,5 mg de hiperósido R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R)	Disolver 3 mg de naringina (naranja amargo) o hesperidina (naranja dulce) en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R 1/4)	Diluir 2,5 mL de la disolución R hasta 10 mL con metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 4 µL de la disolución SST y disoluciones de referencia, y 2 µL de las disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido fórmico anhidro/agua/acetato de etilo (15:20:65)
Detección 1	1) Activación térmica: 100 °C, 3 min; 2) NPR; 3) visualización a UV 366 nm
Detección 2	4) Disolución de PEG 400; 5) visualización a UV 366 nm y luz blanca RT dejando pasar al menos 1 h
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm
Evaluación visual	Disolución de referencia: naringina y hesperidina

En las muestras CA1-CA4 se realizó también el procedimiento de extracción determinado por los autores Hänni et al. (2022). La metodología aplicada (Tabla 22) es la siguiente:

Tabla 22. Metodología HPTLC para naranja amargo. Protocolo 2.

Disolución problema (para naranja amargo)	A 0,1 g de la droga pulverizada añadir 25 mL de metanol R: agua R (1:1 v/v). Ultrasonidos durante 10 min. Filtrar y utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución problema (para naranja dulce)	A 0,5 g de la droga pulverizada añadir 10 mL de metanol R: agua R (1:1 v/v). Ultrasonidos durante 10 min. Filtrar y utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	Disolver 3 mg de ácido clorogénico R y 2,5 mg de hiperósido R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R)	Disolver 3 mg de naringina (naranja amargo) o hesperidina (naranja dulce) en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R 1/4)	Diluir 2,5 mL de la disolución R hasta 10 mL con metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 4 µL de la disolución SST y disoluciones de referencia, y 2 µL de las disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido fórmico anhidro/agua/acetato de etilo (15:20:65)
Detección 1	1) Activación térmica: 100 °C, 3 min; 2) NPR; 3) visualización a UV 366 nm
Detección 2	4) Disolución de PEG 400; 5) visualización a UV 366 nm y luz blanca RT dejando pasar al menos 1 h
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm
Evaluación visual	Disolución de referencia: naringina y hesperidina

i) Pasiflora, sumidad

La identificación para el análisis por HPTLC de las muestras de la sumidad de pasiflora, se ha realizado según con la monografía (1/2021:1459) que se encuentra adaptada al capítulo general

2.8.25. Incluye disolución SST, marcadores de intensidad y base de datos de conocimiento (Knowledge Data Base) lo que facilitará la interpretación del cromatograma. Las especificaciones de esta identificación se describen en la tabla 23:

Tabla 23. Metodología HPTLC para pasiflora.

Disolución problema	A 0,5 g de droga pulverizada (2.9.12) se le añaden 5 mL de metanol. Aplicar ultrasonidos durante 15 min. Enfriar y filtrar. Utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	Disolver 1,5 mg de isovitexina R y 1,5 mg de orientina R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R)	Disolver 1,5 mg de homoorientina R y 1,5 mg de isovitexina R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R 1/4)	Diluir 2,5 mL de la disolución R en metanol hasta 10 mL
Volumen de aplicación	Aplicar 4 µL de las disoluciones de referencia y disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido fórmico anhidro R/agua R/etilmetilcetona R/acetato de etilo R (10:10:30:50)
Detección 1	1) Activación térmica: 100-105 °C, 5 min; 2) NPR; 3) visualización: UV 366 nm
Detección 2	4) Disolución de PEG 400; 5) visualización: UV 366 nm
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm después de derivatizar
Evaluación visual	Marcadores de intensidad: homoorientina (zonas amarillas fluorescentes) e isovitexina (zonas azul o azul verdosas fluorescentes)

j) Tilo, flor

Con la monografía (1/2021:0957) de la flor del tilo que se encuentra adaptada al capítulo general 2.8.25, se ha realizado la identificación por HPTLC de las muestras de tila (Tabla 24). Esta monografía incluye disolución SST, marcadores de intensidad y base de datos de conocimiento (Knowledge Data Base) lo que facilitará la interpretación del cromatograma. Las especificaciones son las siguientes:

Tabla 24. Metodología HPTLC para tilo.

Disolución problema	A 0,5 g de droga pulverizada (2.9.12) se le añaden 5 mL de metanol. Aplicar ultrasonidos durante 15 min. Enfriar y filtrar. Utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	Disolver 5 mg de hiperósido R y 2 mg de ácido clorogénico R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R)	Disolver 5 mg de hiperósido R y 5 mg de trihidrato de rutósido R en 10 mL de metanol
Disolución de referencia (R 1/4)	Diluir 2,5 mL de la disolución R en metanol hasta 10 mL
Volumen de aplicación	Aplicar 4 µL de las disoluciones de referencia y disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido fórmico anhidro R/agua R/etilmetilcetona R/acetato de etilo R (10:10:30:50)
Detección 1	1) Activación térmica: 100-105 °C, 5 min; 2) NPR; 3) visualización: UV 366 nm
Detección 2	4) Disolución de PEG 400; 5) visualización: UV 366 nm
Documentación	Registro de imágenes: UV 366 nm después de derivatizar
Evaluación visual	Marcadores de intensidad: hiperósido (colores amarillo y naranja en el medio de la placa) y rutósido (colores amarillo y naranja en la parte superior e inferior de la placa)

k) Valeriana, raíz

La identificación por HPTLC de las muestras de raíz de valeriana (Tabla 25) se han realizado según la revista PharmEuropa (Pharmeuropa 34.1). Contiene disolución SST, marcadores de intensidad y algunos cromatogramas que ayudan a la identificación de las muestras, lo que facilitará la interpretación del cromatograma.

Tabla 25. Metodología HPTLC para valeriana.

Disolución problema	A 0,5 g de muestra pulverizada (2.9.12) se le añaden 5 mL de metanol. Aplicar ultrasonidos 10 min y filtrar. Utilizar el filtrado o sobrenadante
Disolución SST	Diluir 10 µL de citronelol en 40 mL de metanol (disolución A). Disolver 4 mg de ácido valerénico en la disolución A y diluir hasta 20 mL de esa misma disolución
Disolución de referencia (R)	Disolver 2,5 mg de ácido acetoxivalerénico R y 4 mg de ácido valerénico R en 20 mL de metanol R.
Disolución de referencia (R 1/4)	Diluir 2,5 mL de las disoluciones R hasta 10 mL de metanol
Volumen de aplicación	Aplicar 2 µL de disolución SST y disoluciones de referencia y 5 µL de las disoluciones problema
Fase de desarrollo (fase móvil)	Ácido acético R/acetato de etilo R/tolueno R (0,5:30:70)
Detección	1) Reactivo de anisaldehído R; 2) activación térmica: 100-105 °C, 5 min
Documentación	Luz blanca R o RT
Evaluación visual	Marcadores de intensidad: ácido valerénico y ácido acetoxivalerénico

VI.1.3. Ensayos de pureza

Las características analizadas dentro de los ensayos de pureza han sido la determinación cualitativa de ausencia o presencia de elementos extraños y contaminación animal y/o fúngica. En los casos en los que la muestra se encuentra fragmentada pero que su tamaño de partícula permite separar sus órganos, se ha pesado aproximadamente 1 g y se han separado los elementos extraños, tanto las partes como materias extrañas. Cuando la droga presenta un mayor grado de fragmentación y no se pueden separar los elementos extraños, se han observado la presencia de estos elementos sin poder recurrir a pesar.

VI.2. RESULTADOS

VI.2.1. Amapola de California, sumidad florida

A. Identificación microscópica

En la tabla 26 se indica si se han encontrado (+) o no (–) los caracteres microscópicos citados por la Ph. Eur. para la sumidad florida de amapola de California en las muestras estudiadas. En la figura 30 y en QR1 se muestran estos caracteres.

Tabla 26. Identificación microscópica en las muestras de amapola de California.

	Caracteres de identidad	EC0			EC1		
		a	b	c	a	b	c
1	Fragmentos de la epidermis superior de la hoja compuesta por células alargadas de paredes finas (a) y estomas anomocíticos (b), acompañados de parénquima en empalizada (c) (hoja)	+	+	+	–	–	–
2	Fragmentos de la epidermis inferior de la hoja compuestos por células ligeramente onduladas, células de paredes finas (a) y estomas anomocíticos (b)	a	b		a	b	
		+	+		+	+ ¹	
3	Fragmentos del margen de la lámina con células asimétricas abovedadas cubiertas de una fina cutícula	+			–		
4	Numerosos haces vasculares que comprenden vasos espiralados, escalariformes, reticulados y punteados	+			+		
5	Floema formado por células finas, alargadas y a menudo aplanadas	+			+		
6	Fibras pericíclicas con paredes engrosadas y un lumen reducido (a), acompañadas de células rectangulares alargadas del parénquima con paredes regulares, ligeramente engrosadas y con punteaduras (b)	a	b		a	b	
		+	+		–	–	
7	Fragmentos de epidermis de los pétalos con células alargadas de paredes finas	+			+		
8	Numerosos granos de polen con una exina reticulada y 6 surcos (estefanocolpados)	+			+		
9	Fragmentos de antera constituidos por la epidermis cubierta por una cutícula fina y el endotelio que presenta células con paredes anticlinales engrosadas	+			–		
10	Fragmentos de la epidermis de los tallos con células alargadas (a) y numerosos estomas anomocíticos (b)	a	b		a	b	
		+	+		–	–	
11	Células de parénquima, individuales o en pequeños grupos, con paredes ligeras y regularmente engrosadas y con punteaduras	+			–		

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma.

QR1. Identificación microscópica en las muestras de amapola de California.
(Para acceder: pulse sobre el QR1 o capture con el móvil).



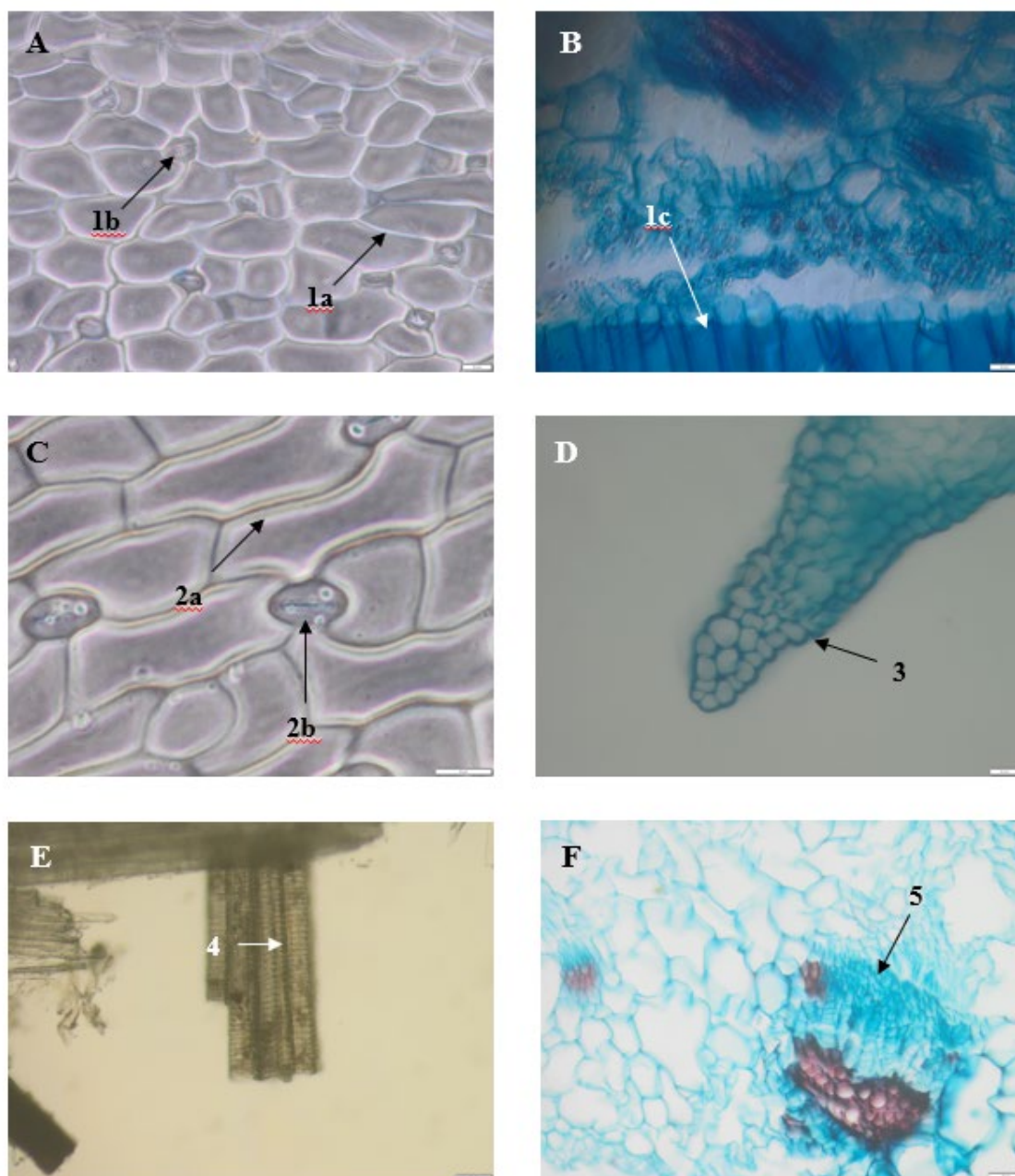


Figura 30. Identificación microscópica en las muestras de amapola de California. **A y B.** Muestra EC0. Fragmentos de la epidermis superior de la hoja compuesta por células alargadas de paredes finas (1a) y estomas anomocíticos (1b), acompañados de parénquima en empalizada (hoja) (1c). **C.** Muestra EC0. Fragmentos de la epidermis inferior de la hoja compuestos por células ligeramente onduladas, de paredes finas (2a) y estomas anomocíticos (2b). **D.** Muestra EC0. Fragmentos del margen de la lámina con células asimétricas abovedadas cubiertas de una fina cutícula (3). **E.** Muestra EC1. Numerosos haces vasculares que comprenden vasos espiralados, escalariformes, reticulados y punteados (4). **F.** Muestra EC0. Floema formado por células finas, alargadas y a menudo aplanadas (5). **Valor de escala en imágenes A-D y F:** 20 μm ; **E:** 50 μm .

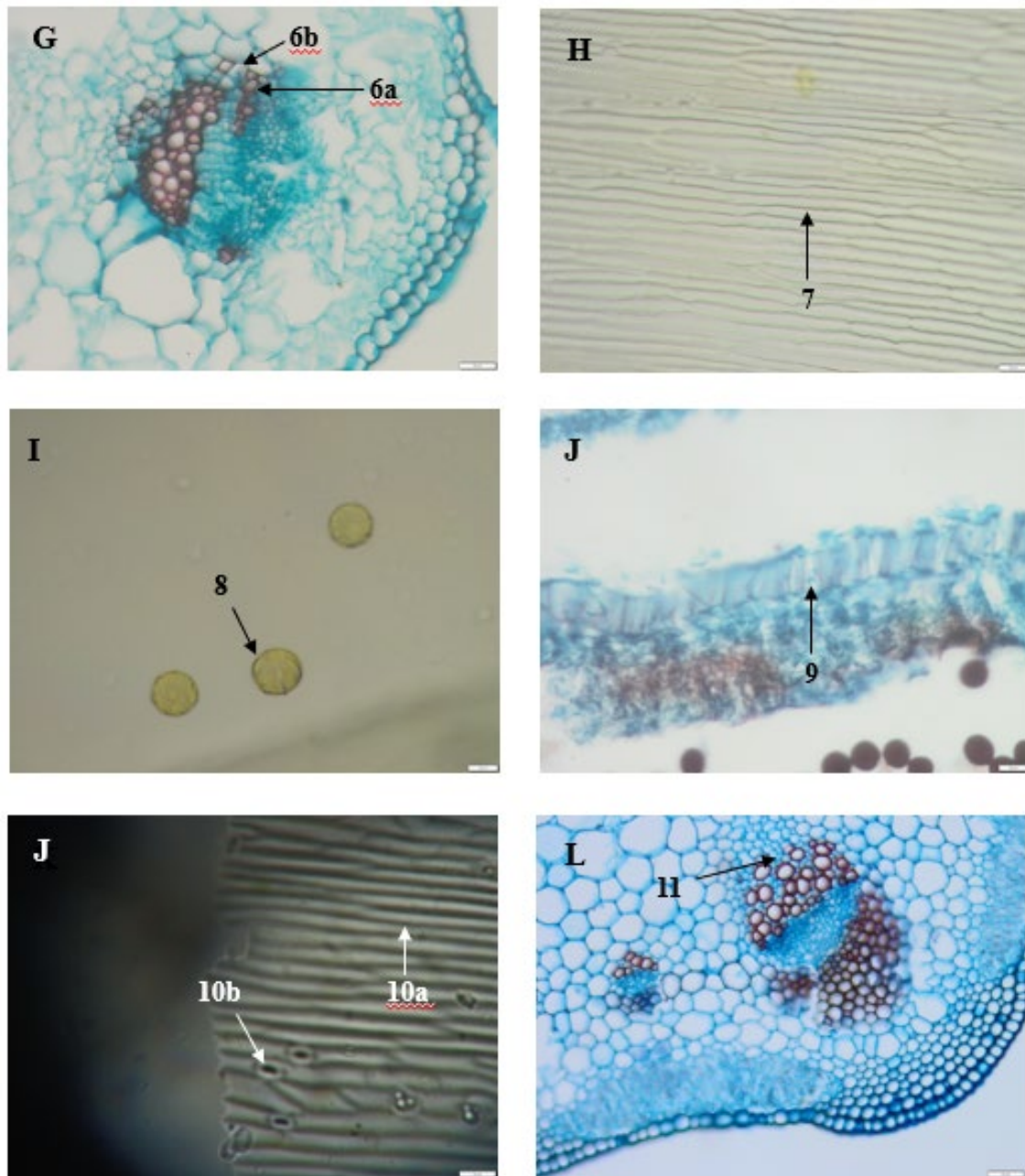
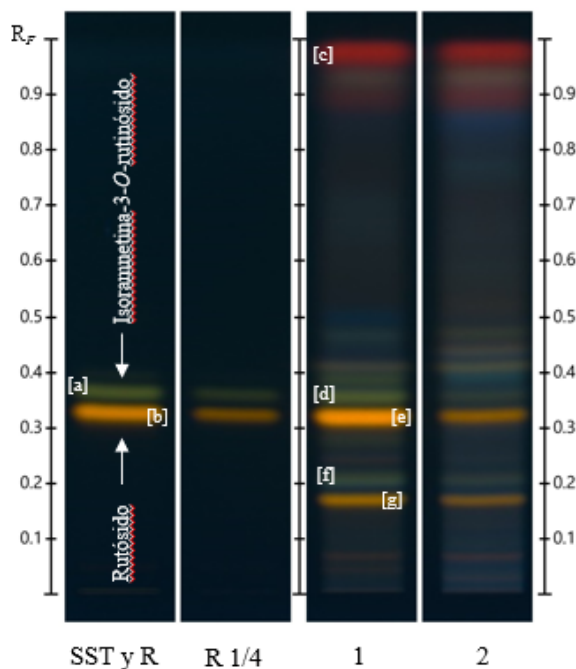


Figura 30, continuación. Identificación microscópica en las muestras de amapola de California. **G.** Muestra EC0. Floema formado por células finas, alargadas y a menudo aplanadas (5). Fibras pericíclicas con paredes engrosadas y un lumen reducido (6a), acompañadas de células rectangulares alargadas del parénquima con paredes regulares y ligeramente engrosadas y con punteaduras (6b). **H.** Muestra EC0. Fragmentos de epidermis de los pétalos con células alargadas de paredes finas (7). **I.** Muestra EC0. Numerosos granos de polen con una exina reticulada y 6 surcos (estefanocolpados) (8). **J.** Muestra EC0. Fragmentos de antera constituidos por la epidermis cubierta por una cutícula fina y el endotelio que presenta células con paredes anticlinales engrosadas (9). **K.** Muestra EC0. Fragmentos de la epidermis de los tallos con células alargadas (10a) y numerosos estomas anomocíticos (10b). **L.** Muestra EC0. Células de parénquima, individuales o en pequeños grupos, con paredes ligera y regularmente engrosadas y con punteaduras (11). **Valor de escala en imágenes G, K y L:** 50 µm; **H-J:** 20 µm.

B. Identificación por HPTLC

A continuación, se presenta el cromatograma obtenido con las dos muestras de amapola de California (Figura 31):



Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST y R	Isorhamnetina-3- <i>O</i> -rutinosido y rutósido	1	EC0
R ¼	Dilución ¼ de R	2	EC1

Figura 31. HPTLC de los extractos de amapola de California. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC con UV a 366 nm de las disoluciones problema de amapola de California después de derivatizar con NPR y disolución de PEG 400, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

Tabla 27. Evaluación visual del cromatograma de amapola de California según Pharmeducopa.

Top of the plate	
[a] Isorhamnetin-3-<i>O</i>-rutinoside: a greenish-yellow zone [b] Rutoside: a brown, orange or yellow zone	[c] 1 or 2 red zones, very faint to intense
	[d] A greenish-yellow zone, faint to equivalent (isorhamnetin-3-<i>O</i>-rutinoside) [e] A brown, orange or yellow zone, faint to equivalent (rutoside) [f] A greenish-yellow, greenish-blue or blue zone, faint to equivalent [g] A brown or orange zone, faint to equivalent
Reference solution (a)	Test solution

Como se puede ver en el cromatograma obtenido (Figura 31) y de acuerdo con la tabla 27, ambas muestras cumplen con los resultados citados por Pharmedropa, ya que presentan las zonas [c], [d], [e], [f] y [g] con la intensidad correspondiente según la tabla 27.

C. Ensayos de pureza

En ninguna de las dos muestras problema (EC0 y EC1) se han determinado elementos extraños ni contaminación animal y/o fúngica.

VI.2.2. Espino blanco, hoja y flor

A. Identificación microscópica

En la tabla 28, se indica con un (+) si se han determinado los diferentes caracteres de identidad para la hoja y flor de espino blanco y con un (–) si no se han determinado en las diferentes muestras estudiadas. En la figura 32 y QR2 se puede observar estos caracteres.

Tabla 28. Identificación microscópica en las muestras de espino blanco.

	Caracteres de identidad	CM0					CM1					CM2					CM3				
1	Tricomas tectores unicelulares, casi rectos a ligeramente curvados, punteados, aislados o unidos a la epidermis de las hojas por una roseta de células	+					+					+					+				
2	Fragmentos de pétalos con células epidérmicas poligonales redondeadas, fuertemente papilosas, de pared gruesa y cuya cutícula presenta estrías onduladas	+					+					+					+				
3	Fragmentos de la epidermis foliar con estomas anomocíticos rodeados por 4-7 células anejas	+					+					+					+				
4	Fragmentos del endotecio de las anteras	+					+					+					+				
5	Fragmentos de los tallos que contienen vasos punteados (a) y grupos de fibras lignificadas con lumen estrecho (b) asociadas a vainas/cristales prismáticos de oxalato cálcico (c), esclereidas (d) y a veces células de la médula con paredes gruesas y con punteaduras (e)	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Tricomas unicelulares de recubrimiento de los sépalos, con paredes sinuosas	+					+					+					+				
7	Fragmentos del mesofilo de la hoja con células parenquimatosas que contienen maclas de oxalato cálcico (a). En los nervios de la hoja, fibras adheridas (b) rodeadas por una envoltura de cristales oxalato cálcico (c)	a	b		c	a	b		c	a	b		c	a	b		c	a	b		c
		+	+		+	+	+		+	+	+		+	+	+		+	+	+		+
8	Cristales en racimos o aislados	+					+					+					+				
9	Granos de polen esféricos a elípticos o triangulares, con 3 poros germinales y una exina finamente granulosa	+					+					+					+				

QR2. Identificación microscópica en las muestras de espino blanco.
(Para acceder: pulse sobre el QR2 o capture con el móvil).



Tabla 28, continuación. Identificación microscópica en las muestras de espino blanco.

	Caracteres de identidad	CM4					CM5					CM6				
1	Tricomas tectores unicelulares, casi rectos a ligeramente curvados, punteados, aislados o unidos a la epidermis de las hojas por una roseta de células	–					+					+				
2	Fragmentos de pétalos con células epidérmicas poligonales redondeadas, fuertemente papilosas, de pared gruesa y cuya cutícula presenta estrías onduladas	+					+					–				
3	Fragmentos de epidermis foliar con estomas anomocíticos rodeados por 4-7 células anejas	+ ¹					+ ¹					+ ¹				
4	Fragmentos del endotecio de las anteras	+					+					+				
5	Fragmentos de los tallos que contienen vasos punteados (a) y grupos de fibras lignificadas con lumen estrecho (b) asociadas a vainas/cristales prismáticos de oxalato cálcico (c), esclereidas (d) y a veces células de la médula con paredes gruesas y con punteaduras (e)	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e	a	b	c	d	e
		+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	+
6	Tricomas unicelulares de recubrimiento de los sépalos, con paredes sinuosas	+					–					+				
7	Fragmentos del mesofilo de la hoja con células parenquimatosas que contienen maclas de oxalato cálcico (a). En los nervios de la hoja, fibras adheridas (b) rodeadas por una envoltura de cristales oxalato cálcico (c)	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
8	Cristales en racimos o aislados	+					+					+				
9	Granos de polen esféricos a elípticos o triangulares, con 3 poros germinales y una exina finamente granulosa	–					+					+				

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma.

Según la Ph. Eur., en función de las epidermis observadas en cada una de las muestras, incluyendo los estomas, se determina que la muestras estudiadas corresponden a las especies *Crataegus monogyna*, *C. laevigata* o *C. azarolus* o híbridos entre ellas. En ninguna de las muestras, se ha podido determinar la cutícula con exactitud, lo que ocasiona que no se puedan diferenciar con precisión, ya que en *C. monogyna*, la cutícula es estriada en ambas epidermis, en *C. laevigata* la cutícula es lisa y en *C. azarolus* la cutícula es lisa en la epidermis inferior y estriada fina en la epidermis superior. Sin embargo, sí que se puede decir que todas las muestras pertenecen a algunas de estas especies oficinales o son híbridos entre ellas, aunque en la muestra CM0 y CM1 se han visto tricomas ligeramente enrollados lo que correspondería a *C. azarolus* y *C. pentagyna* o híbridos entre ellas. En algunos casos, como se muestra en la tabla 28, tampoco se ha podido determinar el tipo de estoma.

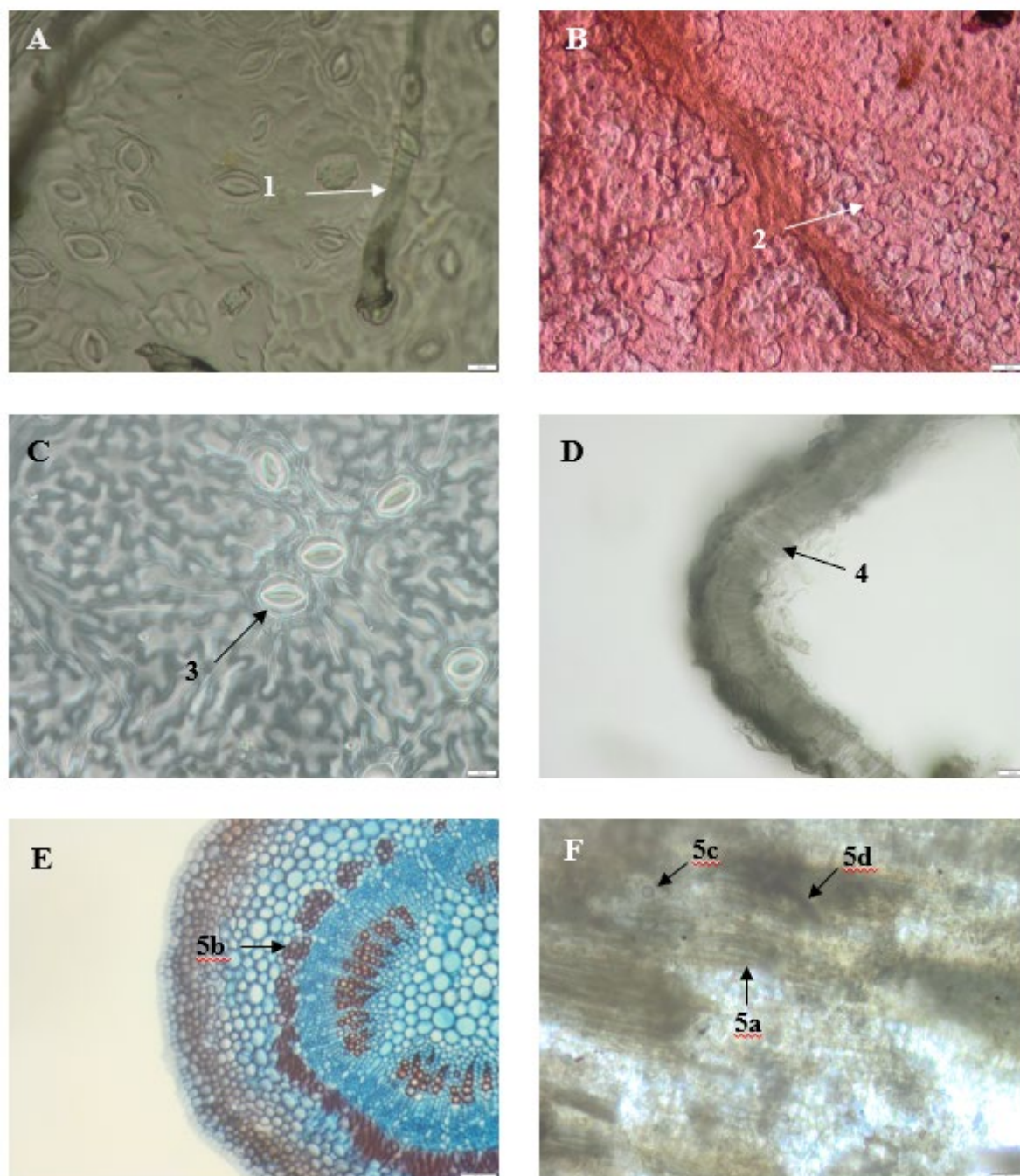


Figura 32. Identificación microscópica en las muestras de espino blanco. **A.** Muestra CM1. Tricomas tectores unicelulares, de rectos a ligeramente curvados, punteados, aislados o en epidermis de hojas, unidos por roseta de células (1). **B.** Muestra CM5. Pétalos con células epidérmicas poligonales redondeadas, papilosas, de pared gruesa y cutícula con estrías onduladas (2). **C.** Muestra CM0. Epidermis foliar con estomas anomocíticos rodeados por 4-7 células anejas (3). **D.** Muestra CM2. Fragmentos del endotecio de las anteras (4). **E y F.** Muestra CM0. Fragmentos de los tallos que contienen vasos punteado y grupos de fibras lignificadas con lumen estrecho (5b) asociados a vainas/cristales prismáticos de oxalato cálcico, esclereidas y a veces células de la médula con paredes gruesas y con punteaduras. **F.** Muestra CM0. Fragmentos de los tallos que contienen vasos punteados (5a) y grupos de fibras lignificadas con lumen estrecho asociadas a vainas/cristales prismáticos de oxalato cálcico (5c), esclereidas (5d) y a veces células de la médula con paredes gruesas y con punteaduras. **Valor de escala en imágenes A, C y D:** 20 μm ; **B, E y F:** 50 μm .

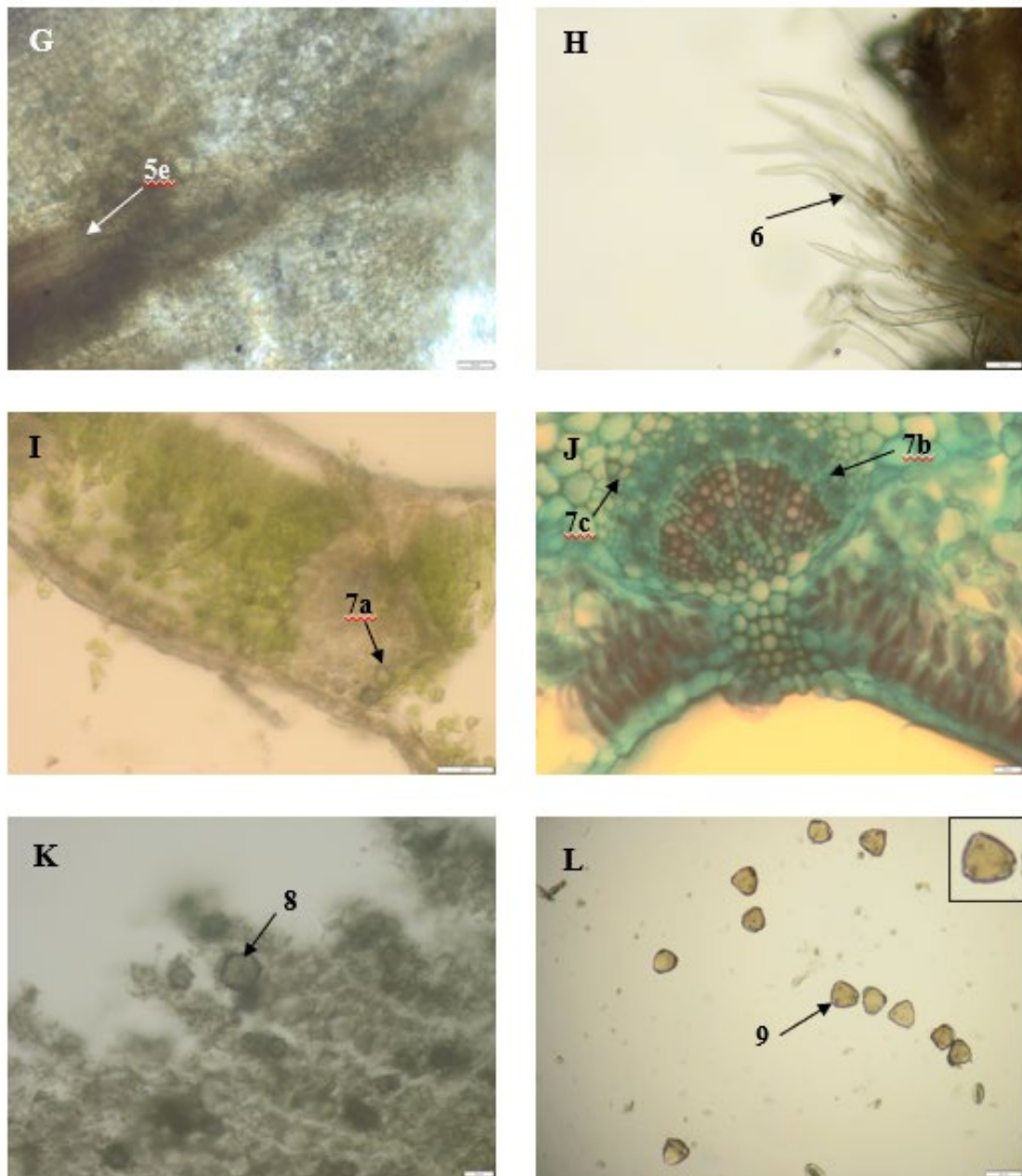
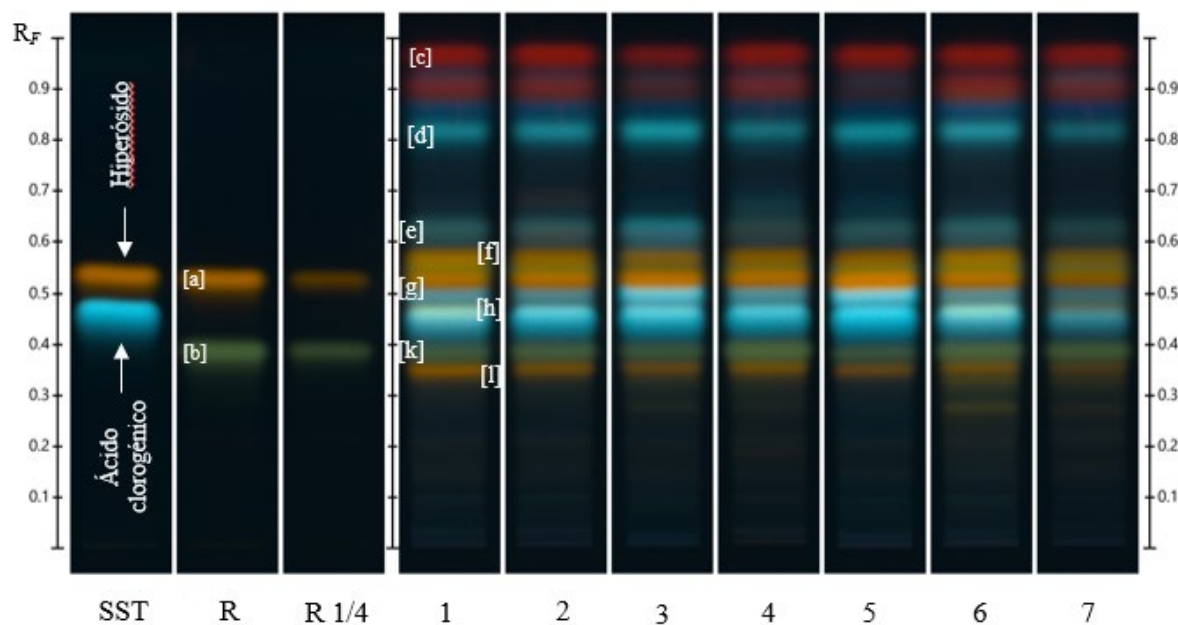


Figura 32, continuación. Identificación microscópica en las muestras de espino blanco. **G.** Muestra CM0. Fragmentos de los tallos que contienen vasos punteados y grupos de fibras lignificadas con lumen estrecho asociadas a vainas/cristales prismáticos de oxalato cálcico, esclereidas y a veces células de la médula con paredes gruesas y con punteaduras (5e). **H.** Muestra CM6. Tricomas unicelulares de recubrimiento de los sépalos, con paredes sinuosas (6). **I.** Mesofilo de la hoja con células parenquimatosas que contienen maclas de oxalato cálcico (7a). **J.** En los nervios de la hoja, fibras adheridas (7b) rodeados por una envoltura de cristales de oxalato cálcico (7c). **K.** Cristales en racimos o aislados (8). **L.** Numerosos granos de polen esféricos a elípticos o triangulares, con 3 poros germinales y una exina finamente granulosa (9). **Valor de escala en imágenes H y L:** 50 µm; **I - K:** 20 µm.

B. Identificación por HPTLC

El cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC de las diferentes muestras de espino blanco es el siguiente:



Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Hiperósido y ácido clorogénico	3	CM4
R	Hiperósido y vitexina-2''-O-ramnósido	4	CM6
R ¼	Dilución ¼ de R	5	CM0
1	CM1	6	CM3
2	CM2	7	CM5

Figura 33. HPTLC de los extractos de espino blanco. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC a la luz UV 366 nm de las disoluciones problema de espino blanco después de derivatizar con NPR y disolución de PEG 400, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

En la Ph. Eur. se distinguen dos tipos de test (Tabla 29) en función de las zonas que se determinen en el cromatograma. Se puede distinguir la especie a la que corresponda la disolución problema: *Crataegus monogyna*, *C. laevigata* o *C. azarolus* y *C. pentagyna* o mezcla de todas las especies permitidas. Tal como se observa en la figura 33, todas las disoluciones problema tienen las zonas [c], [d], [e], [f], [g], [h], [k] y [l] con el color y la intensidad citados en la tabla 29. La Ph. Eur. permite que aparezcan otras zonas débiles o muy débiles de color azul, azul verdoso, marrón, amarillo o naranja fluorescentes, como aparece una de ellas en el carril 6, de color naranja e intensidad débil ($R_F = 0,28$). Los marcadores de intensidad son el hiperósido para las zonas amarillas, naranjas o rojas y la vitexina-2''-O-ramnósido para las zonas verdes, azul-verdosas o azules. Por tanto, todas las muestras cumplen con los criterios de

aceptación establecidos por la Ph. Eur. para la hoja y flor de espino blanco para el test de *C. monogyna*, *C. laevigata* o *C. azarolus*, ya que no presentan la banda [j] del test de *C. pentagyna* o mezcla de todas las especies permitidas.

Tabla 29. Evaluación visual del cromatograma de espino blanco según Ph. Eur. (Knowledge Data Base).

Top of the plate		
[a] Hyperoside: a yellow or orange zone [b] Vitexin-2''-O-rhamnoside: a green or greenish-blue zone	[c] 1 or 2 red zones, very faint to equivalent [d] 1 or 2 light blue zones, very faint to equivalent	[c] 1 or 2 red zones, very faint to equivalent [d] 1 or 2 light blue zones, very faint to equivalent
	[e] A light blue zone, very faint to equivalent [f] A yellow or orange zone, very faint to equivalent [g] A yellow or orange zone, faint to intense [h] A light blue zone, very faint to intense (chlorogenic acid)	[e] A light blue zone, very faint to equivalent [f] A yellow or orange zone, faint to intense [g] A yellow or orange zone, very faint to intense [h] A light blue zone, faint to intense (chlorogenic acid) [j] A yellow zone, faint to equivalent
Reference solution (a)	Test solution (<i>C. monogyna</i> , <i>C. laevigata</i> , <i>C. azarolus</i>)	Test solution (<i>C. pentagyna</i> and mixtures with other allowed species)

C. Ensayos de pureza

Se ha determinado cualitativamente (Tabla 30) la ausencia o presencia de contaminación fúngica y/o animal y elementos extraños en las diferentes muestras estudiadas, entre los que se destacan las ramas lignificadas.

Tabla 30. Ensayos de pureza de las muestras de espino blanco.

Muestra	Observaciones
CM0	Buen estado
CM1	Elementos extraños y contaminación fúngica
CM2	Elementos extraños y contaminación fúngica
CM3	Buen estado
CM4	Elementos extraños y contaminación fúngica
CM5	Buen estado
CM6	Buen estado

VI.2.3. Hierbaluisa, hoja

A. Identificación microscópica

En la tabla 31 se marca si se han encontrado (+) o no (-) los caracteres de diagnóstico microscópicos citados por la Ph. Eur. para la hoja de hierbaluisa en las distintas muestras que se han elegido para este estudio. En la figura 34 y QR3 se pueden observar estos caracteres.

Tabla 31. Identificación microscópica en las muestras de hierbaluisa.

Caracteres de identidad		AC0			AC1			AC2			AC3			AC4			AC5			AC6			AC7		
1	Fragmentos de la epidermis superior del limbo con células poligonales (a), tricomas cistolíticos rodeados por células dispuestas en roseta (b) y con concreciones cálcicas (c)	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Tricomas secretores en la epidermis superior	+			+			+			+			+			+			-			+		
3	Estos fragmentos (carácter 2) están acompañados normalmente por parénquima en empalizada	+			+			+			+			+			+			+			+		
4	Epidermis inferior del limbo con cutícula estriada y células irregulares con contorno algo sinuoso (a) y estomas anomocíticos (b)	a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b	
		+	+		+	+ ¹		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+ ¹		+	+ ¹	
5	Fragmentos de la epidermis inferior con tricomas secretores y/o sus cicatrices	+			+			+			+			+			+			+			+		
6	Fragmentos del limbo con dos capas de parénquima en empalizada y parénquima esponjoso	+			+			+			+			+			+			+			+		
7	Tejido lignificado de los nervios	+			+			+			+			+			+			+			+		

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma.

QR3. Identificación microscópica en las muestras de hierbaluisa.
(Para acceder: pulse sobre el QR3 o capture con el móvil)



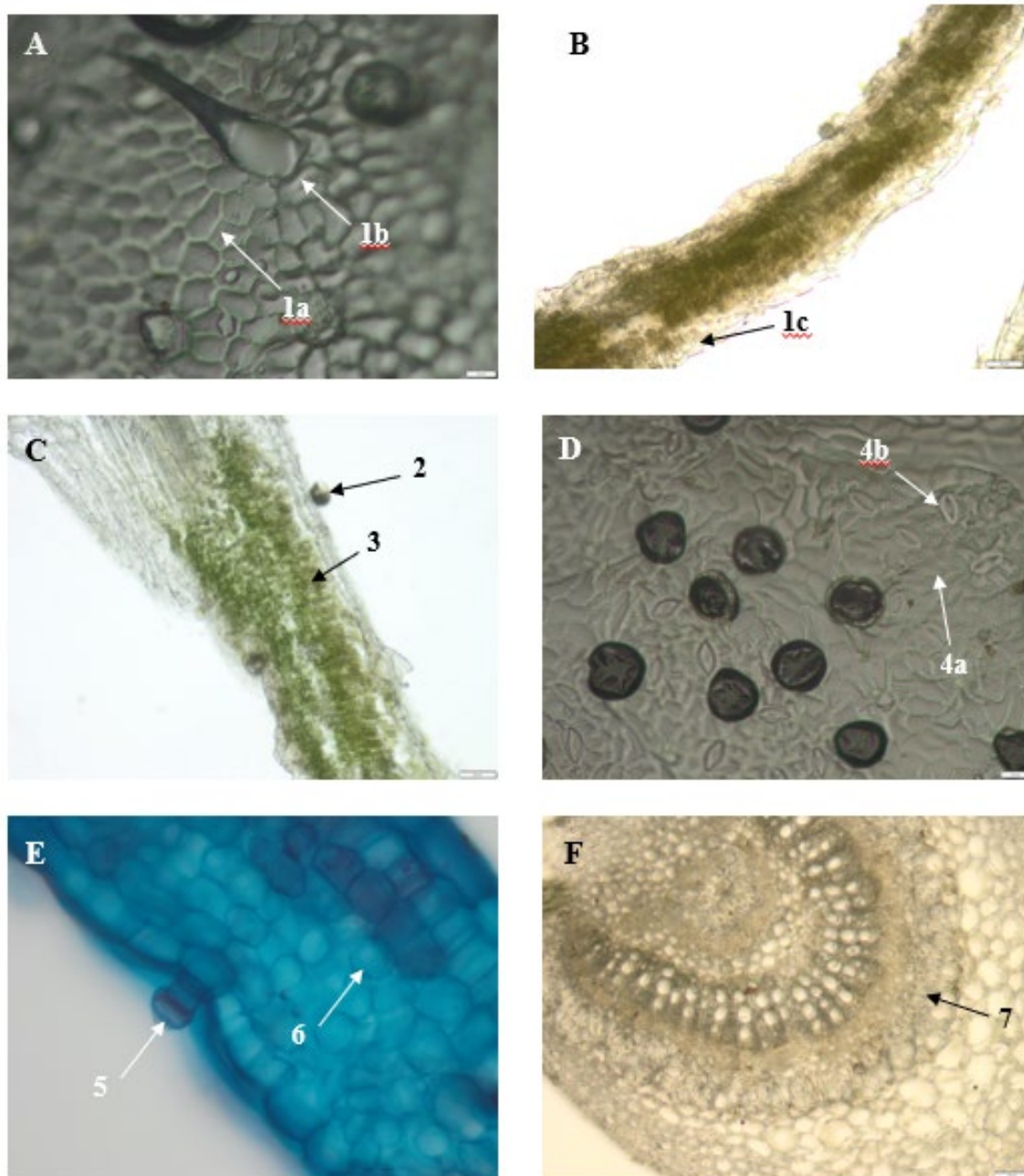


Figura 34. Identificación microscópica en las muestras de hierbaluisa. **A.** Muestra AC7. Epidermis superior con células poligonales (1a), tricomas cystolíticos rodeados por células en roseta (1b) con concreciones cálcicas. **B.** Muestra AC4. Epidermis superior con células poligonales, tricomas cystolíticos rodeados por células en roseta con concreciones cálcicas (1c). **C.** Muestra AC7. Tricomas secretores en epidermis superior (2). Estos fragmentos (carácter 2) están acompañados normalmente por parénquima en empalizada (3). **D.** Muestra AC5. Epidermis inferior con cutícula estriada y células irregulares con contorno algo sinuoso (4a) y estomas anomocíticos (4b). **E.** Muestra AC0. Fragmentos de la epidermis inferior con tricomas secretores y/o sus cicatrices (5). Fragmentos del limbo con dos capas de parénquima en empalizada y parénquima esponjoso (6). **F.** Muestra AC4. Tejido lignificado de los nervios (7). **Valor de escala en imágenes A, D y E:** 20 μm ; **B, C y F:** 50 μm .

B. Identificación por HPTLC

El cromatograma para la identificación por HPTLC de las diferentes muestras de la hoja de hierbaluisa se muestra a continuación:

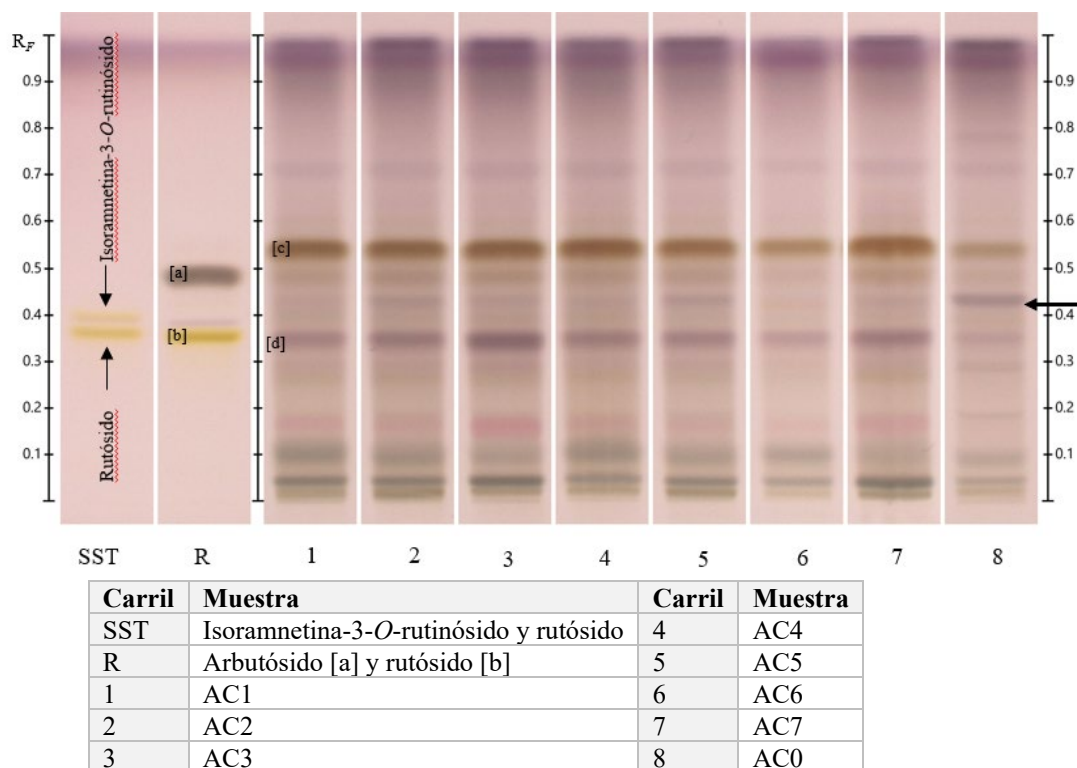


Figura 35. HPTLC de los extractos de hierbaluisa. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC a la luz blanca R de disoluciones problemas de hierbaluisa después de derivatizar con anisaldehído R, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

Tabla 32. Evaluación visual del cromatograma de hierbaluisa según Ph. Eur.

Top of the plate	
Arbutin: a blue or brown zone [a]	An intense greyish-green zone [c]
Rutoside: a dark brownish-yellow zone [b]	A blue or violet zone [d]
Reference solution	Test solution

Como se observa en el cromatograma (Figura 35) y en la tabla 32, todas las muestras presentan la zona [c] aunque no es de color verde-grisáceo sino marrón. La banda [d] la contienen todas las muestras. La Ph. Eur. indica que no debe aparecer una zona gris-parduzca entre el arbutósido y rutósido ya que sería una adulteración (*Verbena officinalis*). En todas estas disoluciones

problema se observan en esta zona pero con una intensidad muy tenue (débil) de color aparentemente morado-grisáceo ($R_F = 0,43$) y teniendo en cuenta que esta metodología aún no está adaptada a HTPLC, no se puede asegurar que la intensidad de las zonas que se ven sean igual que con TLC. La muestra AC0 (carril 8) presenta esta zona morado-grisáceo ($R_F = 0,43$) con mayor intensidad. Por tanto, según esta monografía, todas las muestras cumplen con los criterios de aceptación establecidos por la Ph. Eur. para esta droga vegetal, excepto la muestra AC0.

Para la interpretación del cromatograma obtenido (Figura 35), también se puede utilizar la HPTLC Association para la hoja de *A. citrodora*, ya que utiliza el mismo volumen de aplicación, la misma fase móvil, el mismo reactivo de derivatización y las mismas sustancias de referencia. En la tabla 33 se indica las zonas que establece la HPTLC Association, la cual señala que no deben aparecer zonas en el cromatograma con $R_F = 0,40$, pero en otras zonas sí que pueden haber zonas débiles adicionales.

Tabla 33. Evaluación visual del cromatograma de hierbaluisa según HPTLC Association.

Parte superior de la placa	
<u>Arbutósido</u> [a] $R_F = 0,46$ <u>Rutósido</u> [b] $R_F = 0,34$	Zonas gris-parduzca [c] $R_F = 0,53$ Zona doble violeta grisáceo $R_F = 0,30$ [d]
Disolución de referencia	Disolución problema

Según lo descrito por la HPTLC Association (Tabla 33) y observando el cromatograma obtenido (Figura 35), todas las muestras cumplen con lo establecido. Los carriles 1-7 tienen una zona de color violeta pero la intensidad es muy débil ($R_F = 0,40 - 0,45$). Sin embargo, en la muestra AC0 sí que destaca claramente una zona morada con intensidad moderada ($R_F = 0,44$).

C. Ensayos de pureza

En la tabla 34 se indica si se han encontrado en las muestras estudiadas presencia de elementos extraños y/o contaminación animal o fúngica.

Tabla 34. Ensayos de pureza de las muestras de hierbaluisa.

Muestra	Observaciones
AC0	Buen estado
AC1	Presencia de tallos y otros elementos extraños no identificables
AC2	Presencia de elementos extraños
AC3	Presencia de elementos extraños
AC4	Buen estado
AC5	Presencia de elementos extraños
AC6	Presencia de tallos y otros elementos extraños no identificables
AC7	Presencia de elementos extraños

VI.2.4. Lavanda, flor

A. Identificación microscópica

En la tabla 35 se indica si se han encontrado (+) o no (–) los caracteres de diagnóstico para la flor de lavanda en las diferentes muestras, citados por la Ph. Eur. Estos caracteres se pueden observar en la figura 36 y QR4.

Tabla 35. Identificación microscópica en las muestras de lavanda.

	Caracteres de identidad	LA0		LA1		LA2		LA3		LA4	
1	Tricomas tectores bifurcados en uno o más niveles	+		+		+		+		+	
2	Fragmentos de la epidermis papilosa de la cara interna de los pétalos	+		+		+		+		+	
3	Tricomas secretores de pie corto y cabeza octocelular del tipo Lamiaceae	+		+		+		+		+	
4	Tricomas glandulares de pie unicelular o multicelular y cabeza unicelular	+		+		+		+		+	
5	Tricomas glandulares de pie largo irregular y cabeza unicelular (a), separados del pie por una célula intermedia con cutícula lisa, algunos de estos pelos presentan una corona de pequeñas protuberancias esferoidales justo por debajo del punto de inserción de la célula intermedia en el pie (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+ ¹	–	+ ¹	–	+	+	+ ¹	+
6	Fragmentos de la epidermis del cáliz con células de pared sinuosa (a) que contienen cristales prismáticos de oxalato cálcico (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	–	+	+	+	+	+	+
7	Granos de polen esféricos con exina que tiene 6 poros germinativos en forma de hendidura y 6 aristas en forma de cinta, que salen radialmente de los polos	+		+		+		+		+	

¹ Se ha observado el tricoma con el pie largo irregular pero no se ha podido determinar la cabeza unicelular.

QR4. Identificación microscópica en las muestras de lavanda.
(Para acceder: pulse sobre el QR4 o capture con el móvil).



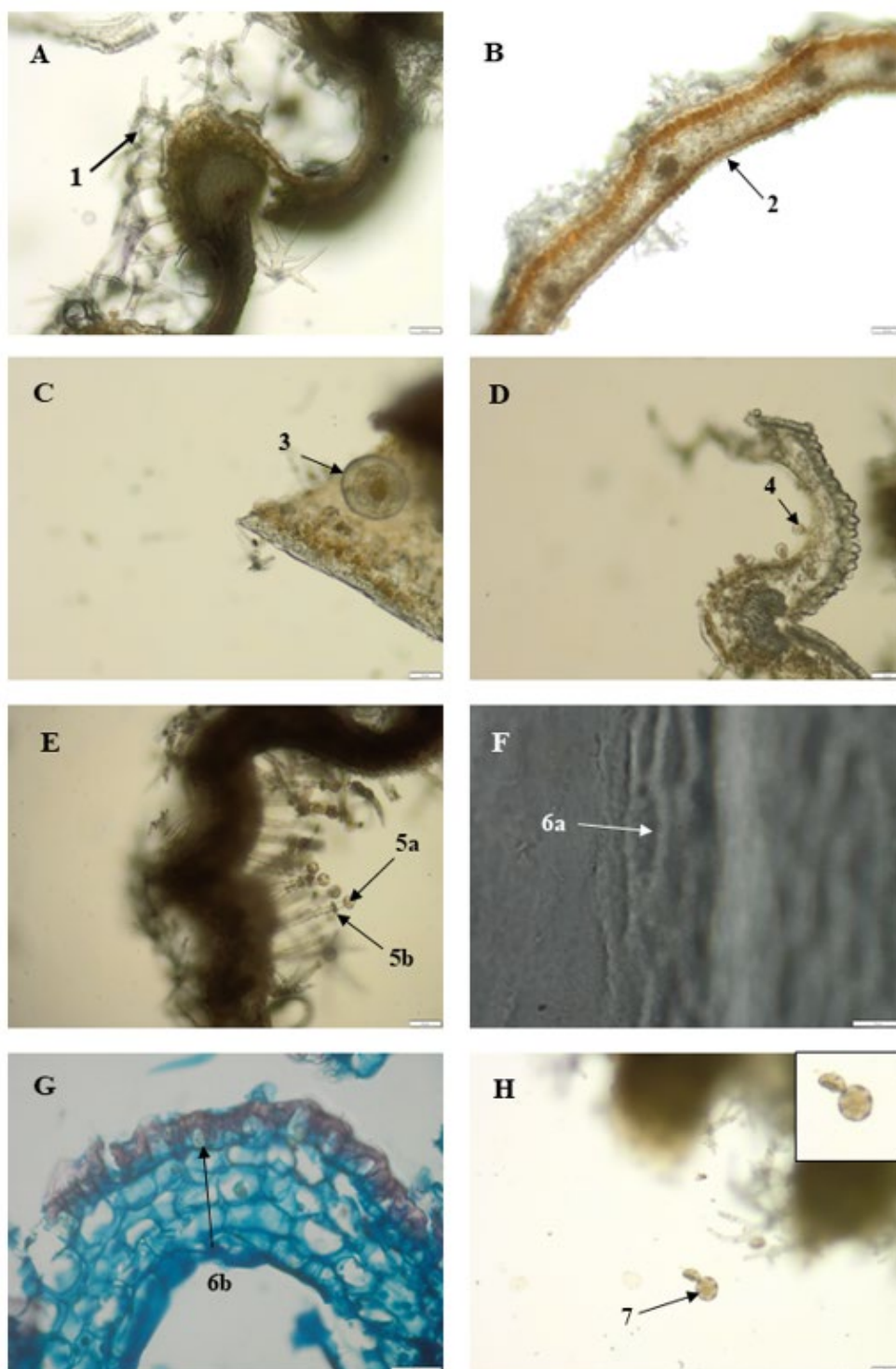
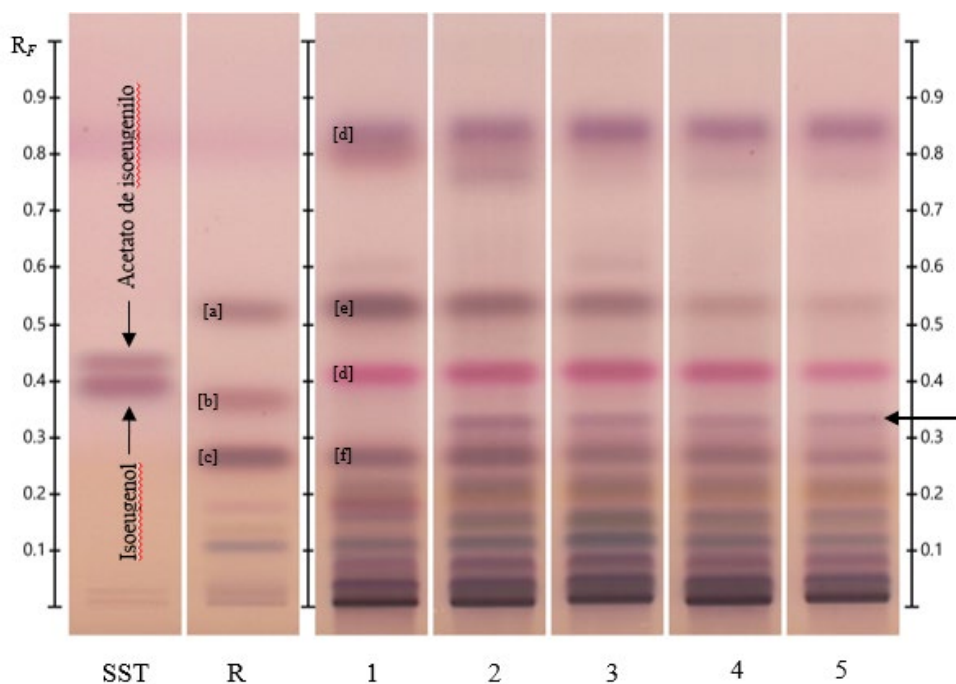


Figura 36. Identificación microscópica en las muestras de lavanda. **A.** Muestra LA2. Tricomas tectores bifurcados en uno o más niveles (1). **B.** Muestra LA3. Fragmentos de la epidermis papilosa de la cara interna de los pétalos (2). **C.** Muestra LA4. Tricomas secretores de pie corto y cabeza octocelular del tipo Lamiaceae (3). **D.** Muestra LA3. Tricoma glandular de pie unicelular o multicelular y cabeza unicelular (4). **E.** Muestra LA3. Tricomas glandulares de pie largo irregular y cabeza unicelular (5a), separados del pie por una célula intermedia con cutícula lisa (5b). **F y G.** Muestra LA0. Fragmentos de la epidermis del cáliz con células de pared sinuosa (6a) y cristales de oxalato cálcico (6b). **H.** Muestra LA1. Granos de polen esféricos con 6 poros germinativos y 6 aristas en forma de cinta (7). **Valor de escala en imágenes A-E y H:** 50 μm ; **F-G:** 20 μm .

B. Identificación por HPTLC

El cromatograma obtenido (Figura 37) por la identificación con HPTLC es el siguiente:



Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Acetato de isoeugenilo [a] e isoeugenol [b]	3	LA3
R	Acetato de linalilo [c], 1,8-cineol [d] y linalool [e]	4	LA2
1	LA0	5	LA4
2	LA1		

Figura 37. HPTLC de los extractos de lavanda. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC de disoluciones problema bajo luz blanca RT tras la derivatización con reactivo anisaldehído R, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

La Ph. Eur. indica que el cromatograma obtenido debe contener las siguientes zonas (Tabla 36):

Tabla 36. Evaluación visual del cromatograma de lavanda según Ph. Eur.

Top of the plate	
	A violet zone [d]
Linalyl acetate: a violet zone [a]	A violet zone [e] A pink zone [f]
1,8-Cineole: a violet or brown zone [b]	
Linalol: a violet zone [c]	A violet zone (linalol) [g]
Reference solution	Test solution

Como se puede observar en el cromatograma (Figura 37), todas las disoluciones problema (LA0-LA4) contienen las bandas ([d], [e], [f], [g]) que indica la Ph. Eur. Además, la Ph. Eur. permite que en las disoluciones problema aparezcan otras zonas exceptuando que no debe existir ninguna zona presente entre el 1,8-cineol y el linalol (Tabla 36). En este cromatograma, en los carriles 2,3,4 y 5 aparece una banda grisácea (señalada con una flecha negra) de intensidad moderada y con un $R_F = 0,33$. Si aparece esta zona, la Ph. Eur. indica que no corresponde a la flor de la lavanda (*L. angustifolia*) sino al híbrido *Lavandin flower* (*Lavandula* $\times$ *intermedia* Emeric ex Loisel). Por tanto, la única muestra que cumple los criterios de aceptación de la Ph. Eur. es la muestra LA0.

Asimismo, estos resultados obtenidos (Figura 37) coinciden con lo citado por la HPTLC Association (Tabla 37). Esta metodología es similar, aunque se diferencia en que no utiliza el 1,8-cineol como sustancia de referencia. No indican la zona morada en la parte superior de la placa [d] y, sin embargo, marcan una zona gris con $R_F = 0,66$, presente en las muestras LA0 y LA2. Además, describen que puede haber más zonas débiles presentes en el cromatograma, pero no debe existir ninguna grisácea con $R_F = 0,33$, ya que en ese caso correspondería a lavandin (*Lavandula* $\times$ *intermedia*), tal como se observa en todas las muestras excepto la muestra LA0 (Figura 37). En la tabla 37 se muestran las zonas indicadas por la HPTLC Association.

Tabla 37. Evaluación visual del cromatograma de lavanda según HPTLC Association.

Parte superior de la placa	
Acetato de <u>linalilo</u> : zona violeta ($R_F = 0,57$) [a] <u>Linalool</u> : zona violeta ($R_F = 0,27$) [c]	Zona gris ($R_F = 0,66$)
	Zona violeta ($R_F = 0,57$) [e] Zona violeta-rojiza ($R_F = 0,42$) [f]
	Zona violeta ($R_F = 0,27$) [g]
Disolución de referencia	Disolución problema

C. Ensayos de pureza

En cuanto a la determinación cualitativa de elementos extraños y contaminación animal y/o fúngica (Tabla 38), todas las muestras estudiadas, excepto la muestra recolectada (muestra LA0), contienen tallos, hojas, otros elementos extraños no identificados y contaminación fúngica.

Tabla 38. Ensayos pureza de las muestras de lavanda.

Muestra	Observaciones
LA0	Buen estado
LA1	Presencia de elementos extraños y contaminación fúngica
LA2	Presencia de elementos extraños y contaminación fúngica
LA3	Presencia de elementos extraños y contaminación fúngica
LA4	Presencia de elementos extraños y contaminación fúngica

VI.2.5. Lúpulo, estróbilo

A. Identificación microscópica

Se han identificado todos los caracteres microscópicos de diagnóstico (Figura 38 y QR5) citados por la Ph. Eur. para la flor del lúpulo en las diferentes muestras estudiadas (Tabla 39), salvo alguna de las muestras en las que no se ha conseguido determinar el tipo de estoma.

Tabla 39. Identificación microscópica en las muestras de lúpulo.

	Caracteres de identidad	HL0	HL1	HL2	HL3	HL4
1	Fragmentos de brácteas y bractéolas recubiertas con células epidérmicas poligonales, irregulares, de paredes onduladas	+	+	+	+	+
2	Tricomas tectores unicelulares, cónicos, rectos o curvados, de paredes delgadas y lisas, fragmentados o sobre la epidermis	+	+	+	+	+
3	Escasos estomas anomocíticos	+	+	+ ¹	+	+ ¹
4	Tricomas glandulares, generalmente sueltos, con pie bicelular y biseriado y cabeza compuesta por 8 células pequeñas, raramente sobre la epidermis	+	+	+	+	+
5	Fragmentos de mesofilo que contienen pequeñas maclas de oxalato cálcico	+	+	+	+	+
6	Abundantes tricomas glandulares característicos de color amarillo-anaranjado con pie corto, bicelular y biseriado, que presentan una parte ensanchada en forma de copa, formada por una capa hemiesférica de células secretoras, con una cutícula que se ha separado e hinchado por la acumulación de secreciones oleorresinosas	+	+	+	+	+

¹No se ha podido determinar el tipo de estoma.

QR5. Identificación microscópica en las muestras de lúpulo.
(Para acceder: pulse sobre el QR5 o capture con el móvil).



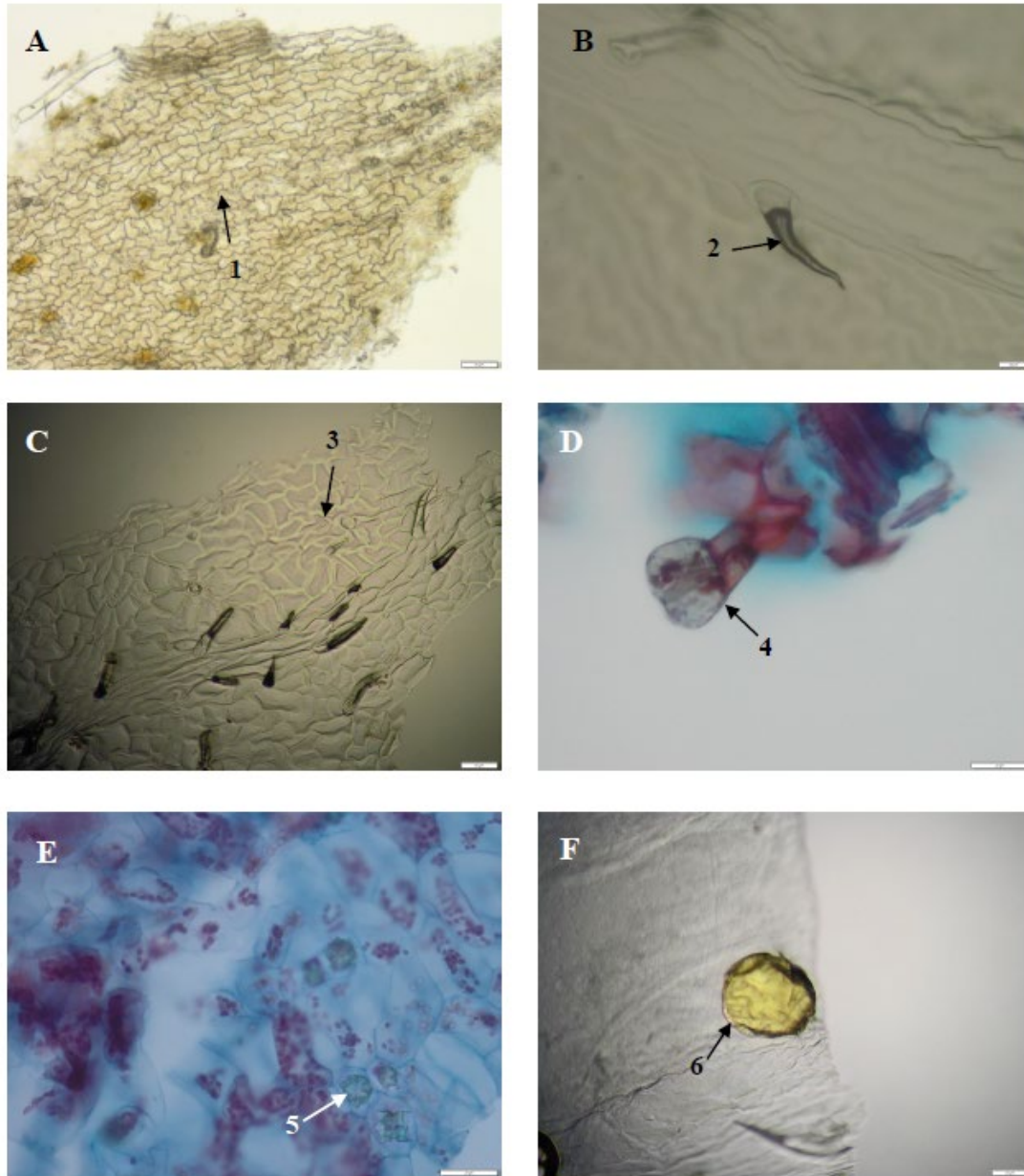


Figura 38. Identificación microscópica en las muestras de lúpulo. **A.** Muestra HL1. Fragmentos de brácteas y bractéolas con células epidérmicas poligonales, irregulares, de paredes onduladas (1). **B.** Muestra HL2. Tricomas tectores unicelulares, cónicos, rectos o curvados, paredes delgadas y lisas, fragmentados o en epidermis (2). **C.** Muestra HL3. Estomas anomocíticos escasos (3). **D.** Muestra HL0. Tricomas glandulares, pie bicelular y biseriado y cabeza con 8 células pequeñas, raramente sobre la epidermis (4). **E.** Muestra HL0. Fragmentos de mesofilo que contienen pequeñas macas de oxalato cálcico (5). **F.** Muestra HL0. Tricomas glandulares característicos de color amarillo-anaranjado con pie corto, bicelular y biseriado, que presenta una parte ensanchada en forma de copa (6). **Valor de escala en imágenes A, C y F:** 50 μm ; **B, D y E:** 20 μm .

B. Identificación por HPTLC

La identificación por HPTLC de las diferentes muestras de la flor del lúpulo ha dado lugar a los siguientes cromatogramas:

a) 254 nm

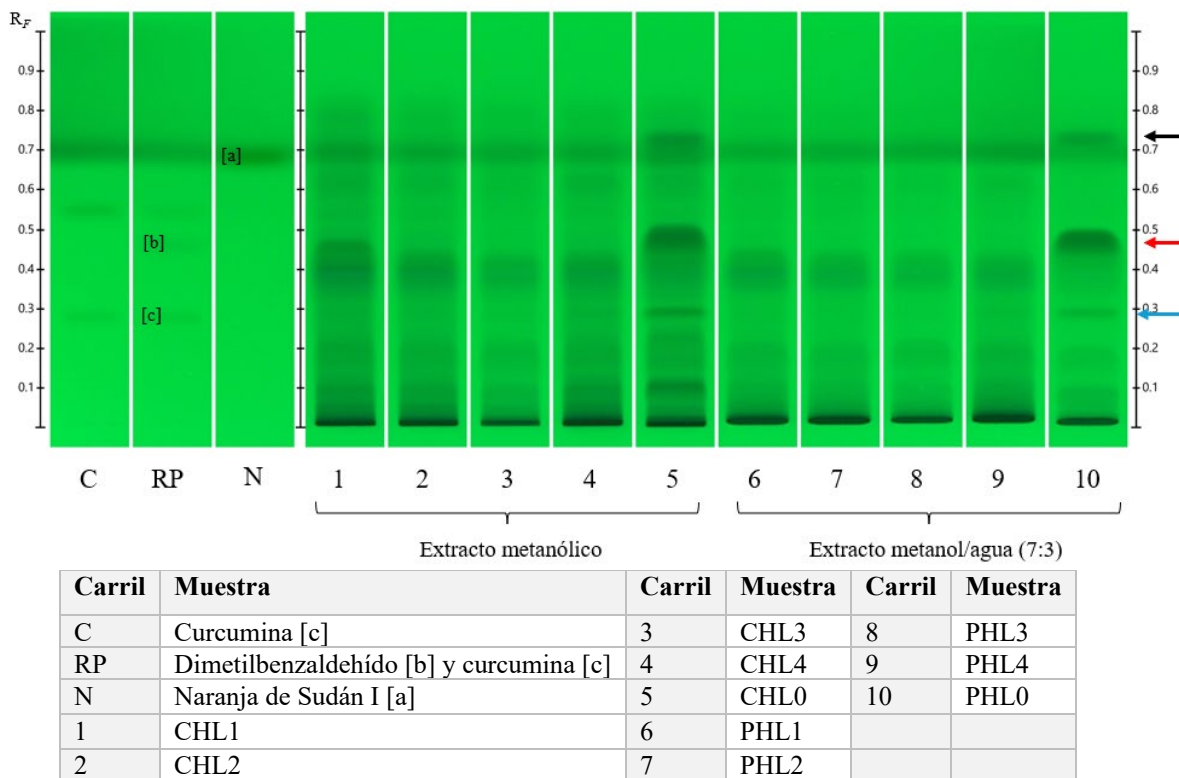
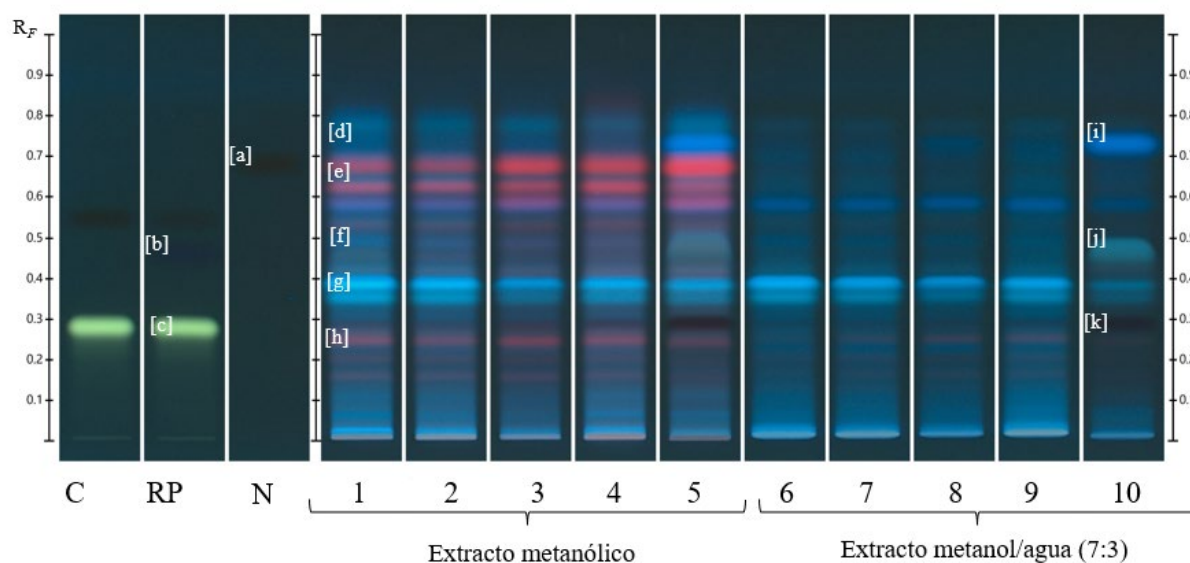


Figura 39. HPTLC de los extractos de lúpulo 1. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC de disoluciones problema de flor de lúpulo a UV 254 nm antes de derivatizar, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

A la luz UV 254 nm, se toma como material de referencia la Ph. Eur. teniendo en cuenta que presenta la monografía para identificación por TLC. Hay que centrarse en los carriles RP, N y del 6 al 10 (Figura 39). La Ph. Eur. indica que debe haber una zona referente a las lupulonas en la zona del naranja de Sudán I [a] con $R_F = 0,68$, presente en las disoluciones problema entre las que destaca la muestra PHL0 (flecha negra), siendo el $R_F = 0,73$. Con $R_F = 0,46$ (zona del dimetilbenzaldehído [b]) debe presentar una zona en las disoluciones problema debido a las humulonas (flecha roja), siendo predominante en el carril 10 y prácticamente ausente en el resto de las muestras. La zona de la curcumina [c] ($R_F = 0,26$) debe contener en las disoluciones problema una banda debida al xanthohumol (flecha azul) y en el cromatograma obtenido solo se aprecia en la muestra PHL0. Por tanto, la única muestra que presenta todas las zonas indicadas por la Ph. Eur. es la muestra PHL0.

b) 366 nm



Carril	Muestra	Carril	Muestra	Carril	Muestra
C	Curcumina [c]	3	CHL3	8	PHL3
RP	Dimetilbenzaldehído [b] y curcumina [c]	4	CHL4	9	PHL4
N	Naranja de Sudán I [a]	5	CHL0	10	PHL0
1	CHL1	6	PHL1		
2	CHL2	7	PHL2		

Figura 40. HPTLC de los extractos de lúpulo 2. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC de disoluciones problema de flor de lúpulo a la luz UV 366 nm antes de derivatizar, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

En cuanto a la interpretación del cromatograma (Tabla 40, metodología Camag) de las disoluciones problema obtenidas según HPTLC Identification Methods of Camag (carriles C, N y del 1 al 5) (Figura 40) a 366 nm, todas las muestras tienen las zonas citadas, aunque las dos bandas azules [d] en la parte superior de la placa ($R_F = 0,74$ y $R_F = 0,78$) tienen una intensidad débil en las muestras CHL1, CHL2, CHL3 y CHL4 mientras que la banda de la CHL0 es intensa. Esta identificación permite que haya zonas débiles adicionales. Se observa una banda oscura ($R_F = 0,3$) de intensidad moderada en la CHL0 y más leve en las muestras CH1, CHL2, CHL3 y CHL4. Por tanto, todas las muestras presentan las zonas indicadas por la HPTLC Identification Methods of Camag.

Respecto a las disoluciones problema realizadas con el extracto según Ph. Eur. a 366 nm y teniendo en cuenta que presenta metodología para TLC, se observa principalmente la zona de las lupulonas [i], de color azul fluorescente ($R_F = 0,73$) en la muestra PHL0, a diferencia del resto de disoluciones (carriles del 6 al 9) en la que se puede determinar, pero con una intensidad más leve. La banda característica de las humulonas [j] se ve de color azul claro e intensidad

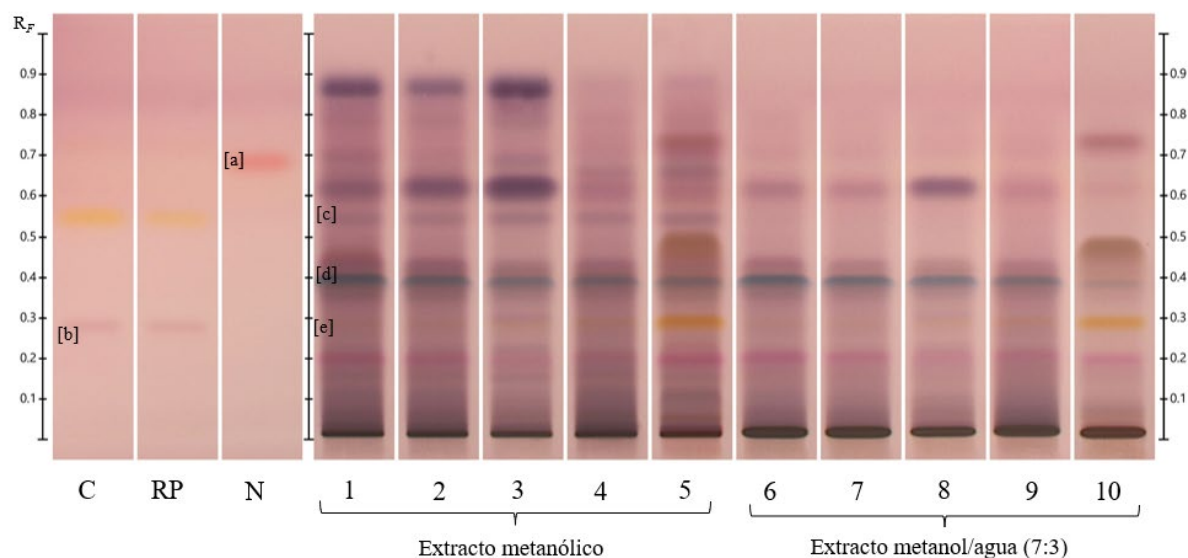
moderada ($R_F = 0,47$), a diferencia de la Ph. Eur. que señala que es de color marrón fluorescente. La zona del xanthohumol [k] ($R_F = 0,28$) se detecta en la muestra PHL0, mientras que en el resto de las muestras (carriles del 6 al 9) se aprecia, pero muy levemente, exceptuando la muestra PHL4 en la que se determina un poco más intensa. Por tanto, todas las muestras cumplen, aunque, en general, las zonas se observan poco intensas en esta detección, excepto la muestra PHL0 (carril 10).

Tabla 40. Evaluación visual del cromatograma de lúpulo según Ph. Eur y Camag 1. UV 366nm.

Parte superior de la placa		Parte superior de la placa	
	Dos zonas azules [d]		Dos zonas azules [d]
Naranja Sudán I [a]: zona violeta ($R_F = 0,66$)	Tres zonas rojas [e] ($R_F = 0,55-0,70$) Diversas zonas azules fluorescentes [f] ($R_F = 0,54$) Dos zonas azules [g] ($R_F = 0,30-0,35$)	Naranja Sudán I [a]	Lupulonas: zonas azules fluorescentes [i]
Curcumina [c]: zona verde ($R_F = 0,24$)	Zona débil roja [h] ($R_F = 0,21$)	<u>Dimetilbenzaldehído</u> [b]	Humulonas: zonas marrones fluorescentes [j]
Curcumina [c]		Curcumina [c]	Xanthohumol: zonas oscuras marrones fluorescentes [k]
Disolución de referencia	Disolución problema	Disolución de referencia	Disolución problema
Metodología <u>Camag</u>		Metodología <u>Ph. Eur.</u>	

c) Luz blanca RT

Atendiendo a las disoluciones problema según Camag (CHL0 a CHL4) y disoluciones de referencia (C y N), como se puede observar en el cromatograma obtenido y en la tabla 41, todas las muestras (Figura 41) contienen las zonas citadas por HPTLC Identification Methods of Camag destacando que la banda amarilla [e] con $R_F = 0,28$ de la muestra CHL0 presenta una intensidad más elevada. Todas las disoluciones problema cumplen con los criterios establecidos por este laboratorio. La Ph. Eur. no se puede utilizar como material de referencia a la luz blanca RT porque no derivatiza con anisaldehído.



Carril	Muestra	Carril	Muestra	Carril	Muestra
C	Curcumina [b]	3	CHL3	8	PHL3
RP	Dimetilbenzaldehído y curcumina	4	CHL4	9	PHL4
N	Naranja de Sudán I [a]	5	CHL0	10	PHL0
1	CHL1	6	PHL1		
2	CHL2	7	PHL2		

Figura 41. HPTLC de los extractos de lúpulo 3. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC de disoluciones problema de flor de lúpulo después de derivatizar con anisaldehído, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

Tabla 41. Evaluación visual del cromatograma de lúpulo según y Camag 2. Luz blanca RT.

Parte superior de la placa	
Naranja Sudán I [a]: zona rosa ($R_F = 0,66$)	Zonas débil violeta grisácea [c] ($R_F \pm 0,55$)
	Zonas azules con intensidad variable [d] ($R_F = 0,35$)
Curcumina [b] naranja- parduzca ($R_F = 0,24$)	Zona amarilla [e] ($R_F = 0,24$)
Disolución de referencia	Disolución problema

C. Ensayos de pureza

En todas las muestras comercializadas se han encontrado elementos extraños, tallos y hojas (Tabla 42), destacando la muestra HL2 que además presenta contaminación animal. La muestra HL0 carece de elementos extraños y contaminación animal y/o fúngica.

Tabla 42. Ensayos de pureza de las muestras de lúpulo.

Muestra	Observaciones
HL0	Buen estado
HL1	Presencia de elementos extraños (hojas y tallos)
HL2	Presencia de elementos extraños (hojas y tallos). Contaminación animal
HL3	Buen estado
HL4	Buen estado

VI.2.6. Manzanilla, flor

A. Identificación microscópica

En la tabla (Tabla 43) se indica si se han encontrado (+) o no (–) los caracteres de diagnóstico microscópicos para la flor de manzanilla, citados por la Ph. Eur. en las muestras estudiadas. Se pueden observar estos caracteres en la figura 42 y QR6.

Tabla 43. Identificación microscópica en las muestras de manzanilla.

	Caracteres de identidad	MC0			MC1			MC2			MC3			MC4			MC5			MC6			MC7			MC8		
1	Fragmentos de la epidermis externa de brácteas del involucre constituida en margen, por células de paredes finas con cutícula finamente estriada (a), estomas anomocíticos (b) y ocasionalmente tricomas glandulares biseriados (c)	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Región central de la bráctea, por debajo de la epidermis, compuesta por esclereidas alargadas de paredes moderadamente engrosadas y canalizadas	+			+			+			+			+			-			+			+			+		
3	Fragmentos de la epidermis interna de la corola de flores liguladas, con células poligonales de paredes delgadas, ligeramente papilosas	+			+			+			+			+			+			-			+			+		
4	Fragmentos de la epidermis externa de las flores liguladas constituida por células sinuosas, cubiertas por cutícula estriada (a), a menudo acompañados de vasos estrechos subyacentes (b)	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b
		+		+	+		+	+		-	+		-	+		+	+		-	-		-		+		+	+	
5	Fragmentos del ápice de lóbulos de corola de flores tubulares con células alargadas/elongadas en el margen (a) y células ligeramente papilosas (b)	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b	a		b
		+		+	+		+	+		+	+		+	+		+	+		-	-		+		+	+		+	+
6	Tricomas glandulares, con pedicelo corto y cabeza con 2-3 pisos superpuestos de pares de células	+			+			+			+			+			+			+			+			-		

7	Fragmentos de base de la flor donde está el ovario, con anillo de células esclerosas de paredes gruesas	+		-			-			+			+			+			+			-			-		
8	Fragmentos de la epidermis que rodea el ovario, formada por células finas, alargadas longitudinalmente (a), numerosos tricomas glandulares (b), alternando con células grandes rellenas de mucílago en capas transversalmente (c)	a	b	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c			
		+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+
9	Fragmentos de la epidermis que rodea al ovario con tricomas glandulares (a) y células parenquimatosas que contienen pequeñas agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (b)	a	b	a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b	
		+	+	-	-		+	+	+	+	+	+	-	-		+	+		-	-		-	-		-	+	
10	Células en ápice de los estigmas se extienden hasta formar papilas redondeadas	+		-			-			-			-			-			-			+			-		
11	Granos de polen, esféricos a triangulares, triporados y una exina equinulada	+		+			+			+			+			+			+			+			+		

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma.

Tabla 43, continuación. Identificación microscópica en las muestras de manzanilla.

	Caracteres de identidad	MC9			MC10			MC11			MC12			MC13			MC14			MC15			MC16		
1	Fragmentos de la epidermis externa de brácteas del involucre constituida en margen, por células de paredes finas con cutícula finamente estriada (a), estomas anomocíticos (b) y ocasionalmente tricomas glandulares biseriados (c)	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		-	+ ¹	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
2	Región central de la bráctea, por debajo de la epidermis, compuesta por esclereidas alargadas de paredes moderadamente engrosadas y canalizadas	+			+			-			+			-			-			+			+		
3	Fragmentos de la epidermis interna de la corola de flores liguladas, con células poligonales de paredes delgadas, ligeramente papilosas	+			+			+			-			+			+			+			+		
4	Fragmentos de la epidermis externa de las flores liguladas constituida por células sinuosas, cubiertas	a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b		a	b	
		+	-		+	+		+	+		-	-		+	+		+	+		+	+		+	-	

	por cutícula estriada (a), a menudo acompañados de vasos estrechos subyacentes (b)																					
5	Fragmentos del ápice de lóbulos de corola de flores tubulares con células alargadas/elongadas en el margen (a) y células ligeramente papilosas (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b					
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
6	Tricomas glandulares, con pedicelo corto y cabeza con 2-3 pisos superpuestos de pares de células	+			+			+			+			+			+					
7	Fragmentos de base de la flor donde está el ovario, con anillo de células esclerosas de paredes gruesas	+			+			+			+			+			+					
8	Fragmentos de la epidermis que rodea al ovario, formada por células finas, alargadas longitudinalmente (a), numerosos tricomas glandulares (b), alternando con células grandes rellenas de mucílago en capas transversalmente (c)	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Fragmentos de la epidermis que rodea al ovario con tricomas glandulares (a) y células parenquimatosas con contienen pequeñas agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (b)	a	b		a	b	a	b		a	b		a	b	a	b	a	b		a	b	
		+	+		+	+	+	+		+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	
10	Células en ápice de los estigmas se extienden hasta formar papilas redondeadas	-			-			-			-			+			-			-		
11	Granos de polen, esféricos a triangulares, triporados y una exina equinulada	+			+			+			+			+			+			+		

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma.

Tabla 43, continuación. Identificación microscópica en las muestras de manzanilla.

	Caracteres de identidad	MC17			MC18			MC19			MC20			MC21			MC22			MC23			MC24		
1	Fragmentos de la epidermis externa de brácteas del involucre constituida en margen, por células de paredes finas con cutícula finamente estriada (a), estomas anomocíticos (b) y ocasionalmente tricomas glandulares biseriados (c)	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		+	+ ¹	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+ ¹	-	-	-	-	+	+ ¹	-	-	-	-
2	Región central de la bráctea, por debajo de la epidermis, compuesta por esclereidas alargadas de paredes moderadamente engrosadas y canalizadas	+			+			-			-			+			-			+			+		

3	Fragmentos de la epidermis interna de la corola de flores liguladas, con células poligonales de paredes delgadas, ligeramente papilosas	–		+		+		+		+		+		–		+			
4	Fragmentos de la epidermis externa de las flores liguladas constituida por células sinuosas, cubiertas por cutícula estriada (a), a menudo acompañados de vasos estrechos subyacentes (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b		
		–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	+	–	+	–	+	–		
5	Fragmentos del ápice de lóbulos de corola de flores tubulares con células alargadas/elongadas en el margen (a) y células ligeramente papilosas (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b		
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
6	Tricomas glandulares, con pedicelo corto y cabeza con 2-3 pisos superpuestos de pares de células	–		+		+		+		+		+		+		+			
7	Fragmentos de base de la flor donde está el ovario, con anillo de células esclerosas de paredes gruesas	+		–		–		–		+		+		+		+			
8	Fragmentos de la epidermis que rodea ovario, formada por células finas, alargadas longitudinalmente (a), numerosos tricomas glandulares (b), alternando con células grandes rellenas de mucílago en capas transversalmente (c)	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+
9	Fragmentos de la epidermis que rodea al ovario con tricomas glandulares (a) y células parenquimatosas que contienen pequeñas agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b		
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+		
10	Células en ápice de los estigmas se extienden hasta formar papilas redondeadas	–		–		+		–		–		+		–		+			
11	Granos de polen, esféricos a triangulares, triporados y una exina equinulada	+		+		+		+		+		+		+		+			

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma.

QR6. Identificación microscópica en las muestras de manzanilla (MC0 – MC11).

QR6, continuación. Identificación microscópica en las muestras de manzanilla (MC12 – MC24).

(Para acceder: pulse sobre los QR6 o capture con el móvil).



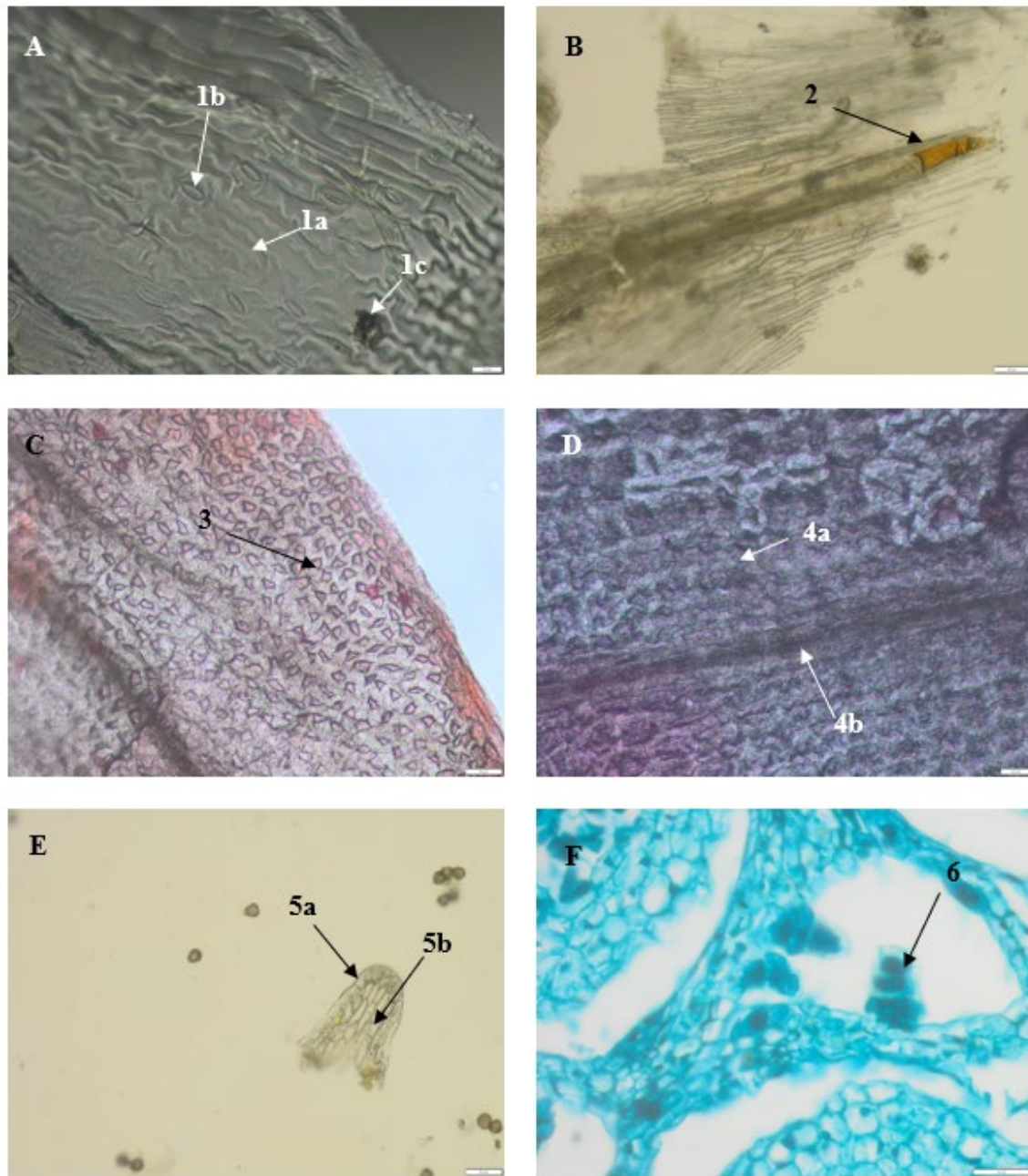


Figura 42. Identificación microscópica de flor de manzanilla. **A.** Muestra MC10. Fragmentos de la epidermis externa de las brácteas del involucre constituida, en el margen, por células de paredes finas recubiertas de una cutícula finamente estriada (1a), estomas anomocíticos (1b) y ocasionalmente tricomas glandulares biseriados (1c). **B.** Muestra MC4. Una región central compuesta, por debajo de la epidermis de la bráctea, por esclereidas alargadas con paredes moderadamente engrosadas y canalizadas (2). **C.** Muestra MC15. Epidermis interna de la corola de las flores liguladas constituida por células poligonales de paredes delgadas, ligeramente papilosas (3). **D.** Muestra MC0. Epidermis externa de las flores liguladas constituida por células sinuosas, cubiertas por una cutícula estriada (4a), a menudo acompañados de vasos estrechos subyacentes (4b). **E.** Muestra MC11. Fragmentos del ápice de los lóbulos de la corola de las flores tubulares con células alargadas en el margen (5a) y células ligeramente papilosas (5b). **F.** Muestra MC0. Tricomas glandulares, con pedicelo corto y cabeza con 2-3 pisos superpuestos de pares de células (6). **Valor de escala en imágenes A, D y F:** 20 μm ; **B, C y E:** 50 μm .

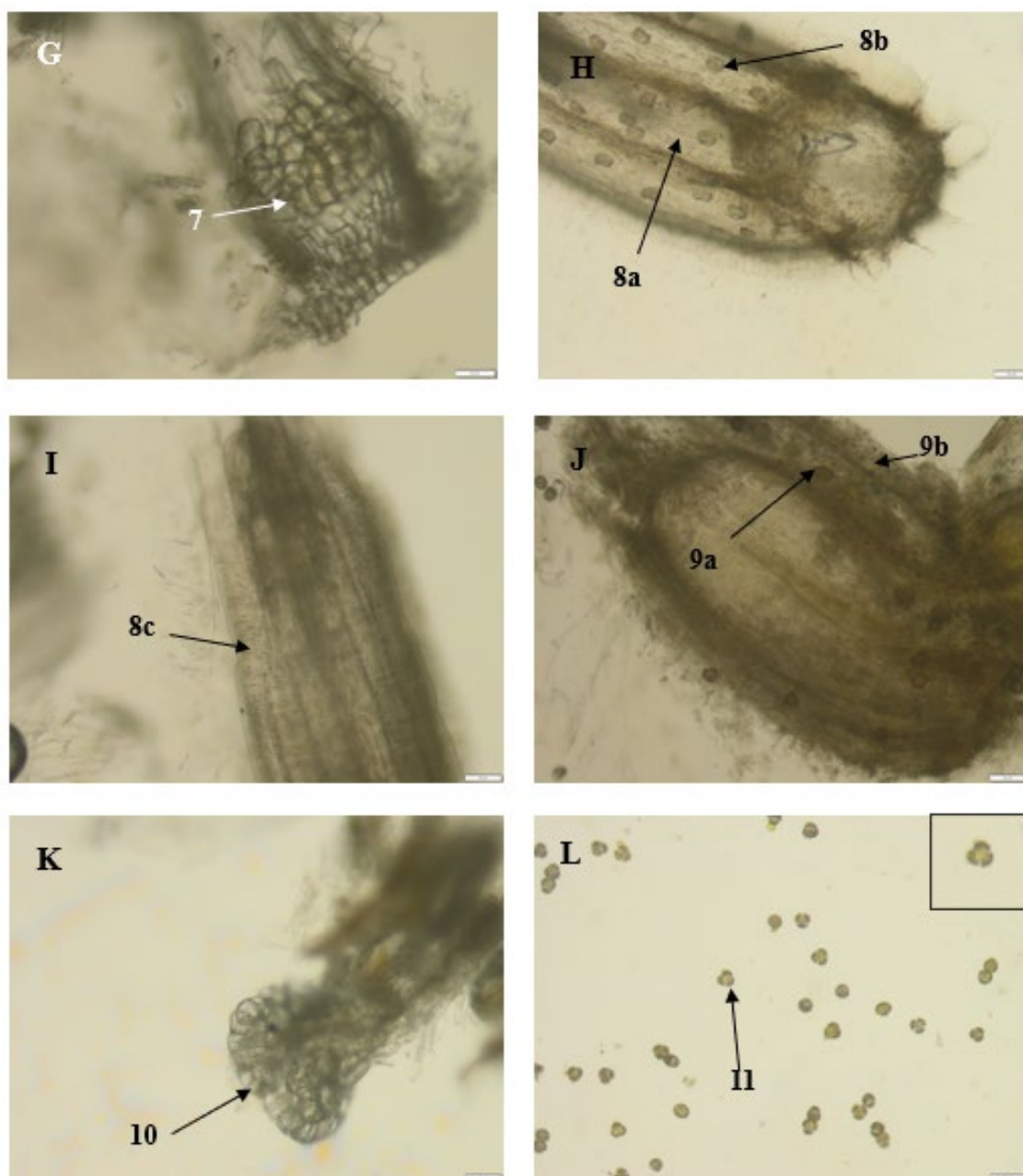


Figura 42, continuación. Identificación microscópica de flor de manzanilla. **G.** Muestra 17. Fragmentos de base de la flor donde está el ovario, con anillo de células esclerosas de paredes gruesas. **H.** Muestra 6. Epidermis que rodea ovario, formada por células finas, alargadas longitudinalmente (8a), numerosos tricomas glandulares (8b), alternando con células grandes rellenas de mucílago en capas transversalmente. **I.** Muestra 6. Epidermis que rodea ovario, formada por células finas, alargadas longitudinalmente, numerosos tricomas glandulares, alternando con células grandes rellenas de mucílago en capas transversalmente (8c). **J.** Muestra 14. Epidermis que rodea al ovario con tricomas glandulares (9a) y células parenquimatosas que contienen pequeñas agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (9b). **K.** Muestra 22. Células en ápice de los estigmas que se extienden hasta formar papilas redondeadas. **L.** Muestra 13. Granos de polen, esféricos a triangulares, triporados y una exina equinulada. **Valor de escala en imágenes G-L:** 50 μm .

B. Identificación por HPTLC

El cromatograma obtenido (Figura 43) para la identificación por HPTLC de las diferentes muestras de manzanilla es el siguiente:

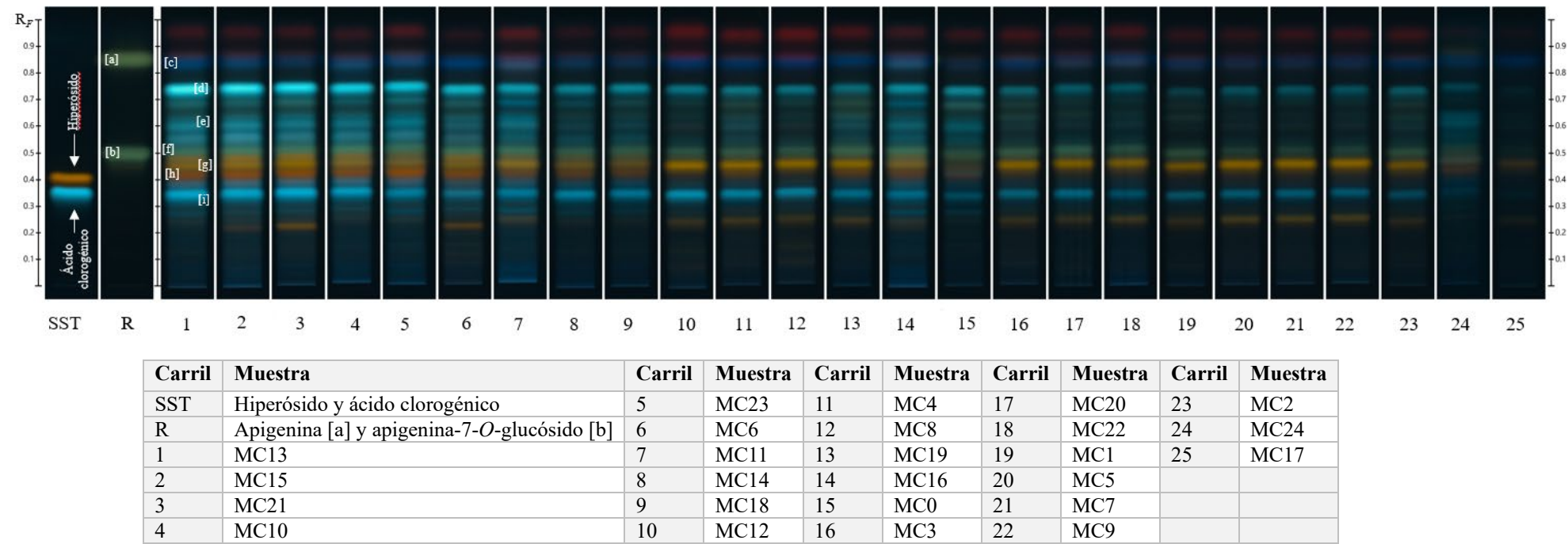


Figura 43. HPTLC de los extractos de manzanilla. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC a la luz UV 366 nm de disoluciones problema de flor de manzanilla después de derivatizar con NPR y disolución de PEG 400, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

Como se puede ver en el cromatograma, existen tres perfiles de las disoluciones problema estudiadas. Tomando de material de referencia la HPTLC Association, pero sin que establezca un perfil cromatográfico determinado por HPTLC ni marcadores de intensidad, en este cromatograma destaca una zona azul oscura [c] y leve con un $R_F = 0,84$, coincidiendo con la apigenina [a]. Una banda de color azul claro [d] con una intensidad de elevada a moderada con un $R_F = 0,75$, una zona azulada poco intensa [e] con $R_F = 0,55-0,70$ y a continuación, una banda verde [f] (en la misma zona que la apigenina-7-*O*-glucósido, [b]) de intensidad variable con $R_F = 0,51$. En algunas de las disoluciones problema, se determina una zona amarilla [g] y una naranja [h] con $R_F = 0,46$ y $0,42$. Se observan dos zonas de color azul [i] también de intensidad variable ($R_F = 0,35$ y $0,38$). Se aprecian otras bandas de distintos colores e intensidad variable en la zona superior e inferior de la placa.

C. Ensayos de pureza

La tabla 44 indica la presencia o ausencia de elementos extraños y/o contaminación en las muestras estudiadas.

Tabla 44. Ensayos de pureza de las muestras de manzanilla.

Muestra	Observaciones
MC0	Buen estado
MC1	Presencia de elementos extraños. Contaminación animal
MC2	Presencia de elementos extraños. Contaminación animal
MC3	Presencia de elementos extraños. Contaminación animal
MC4	Presencia de elementos extraños. Contaminación animal
MC5	Presencia de elementos extraños (tallos y hojas)
MC6	Presencia de elementos extraños. Contaminación animal
MC7	Presencia de elementos extraños. Contaminación animal
MC8	Presencia de elementos extraños (tallos y hojas)
MC9	Presencia de elementos extraños. Contaminación animal
MC10	Contaminación animal
MC11	Presencia de elementos extraños (inflorescencia manzanilla amarga, no representativo)
MC12	Presencia de elementos extraños (tallos, hojas y otros no identificables)
MC13	Presencia de elementos extraños (p.e. flor de familia Lamiaceae)
MC14	Presencia de elementos extraños (tallos, hojas y otros no identificables)
MC15	Presencia de elementos extraños (escasos tallos)
MC16	Presencia de elementos extraños (principalmente tallos)
MC17	Presencia de elementos extraños (tallos, hojas y otros no identificables)
MC18	Buen estado
MC19	Presencia de elementos extraños (tallos y hojas)
MC20	Presencia de elementos extraños (tallos, hojas y otros no identificables)
MC21	Presencia de elementos extraños (escasos tallos)
MC22	Presencia de elementos extraños (tallos, hojas y otros no identificables)
MC23	Presencia de elementos extraños (escasos tallos)
MC24	Buen estado. Abundantes capítulos florales

VI.2.7. Melisa, hoja

A. Identificación microscópica

En la tabla 45 se indica si se han encontrado (+) o no (–) en las diferentes muestras de melisa, los caracteres de diagnóstico microscópicos citados por la Ph. Eur. para la hoja de melisa. En la figura 44 y QR7 se pueden observar estos caracteres.

Tabla 45. Identificación microscópica en las muestras de melisa.

Caracteres de identidad		MO0		MO1		MO2		MO3		MO4		MO5		MO6		MO7		MO8	
1	Fragmentos de la epidermis superior con paredes sinuosas (1a), a veces acompañados de parénquima en empalizada (1b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+	+	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	–	–
2	Fragmentos de la epidermis inferior, con estomas diacíticos	+		+		+		+		+ ¹		+		+ ¹		+ ¹		+	
3	Tricomas tectores unicelulares cónicos, cortos y rectos, con cutícula fina estriada, libres o sobre la epidermis	+		+		+		+		+		+		+		+		+	
4	Tricomas uniseriados, pluricelulares, puntiagudos y con una cutícula gruesa y verrugosa	+		+		+		+		+		+		+		+		+	
5	Tricomas glandulares octocelulares de tipo laminar	+		+		+		+		+		+		+		+		+	
6	Tricomas glandulares de pie uni a tricelular y cabeza unicelular o más raramente bicelular	+		+		+		+		+		+		+		+		–	

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma.

QR7. Identificación microscópica en las muestras de melisa.
(Para acceder, pulse sobre el QR7 o capture con el móvil).



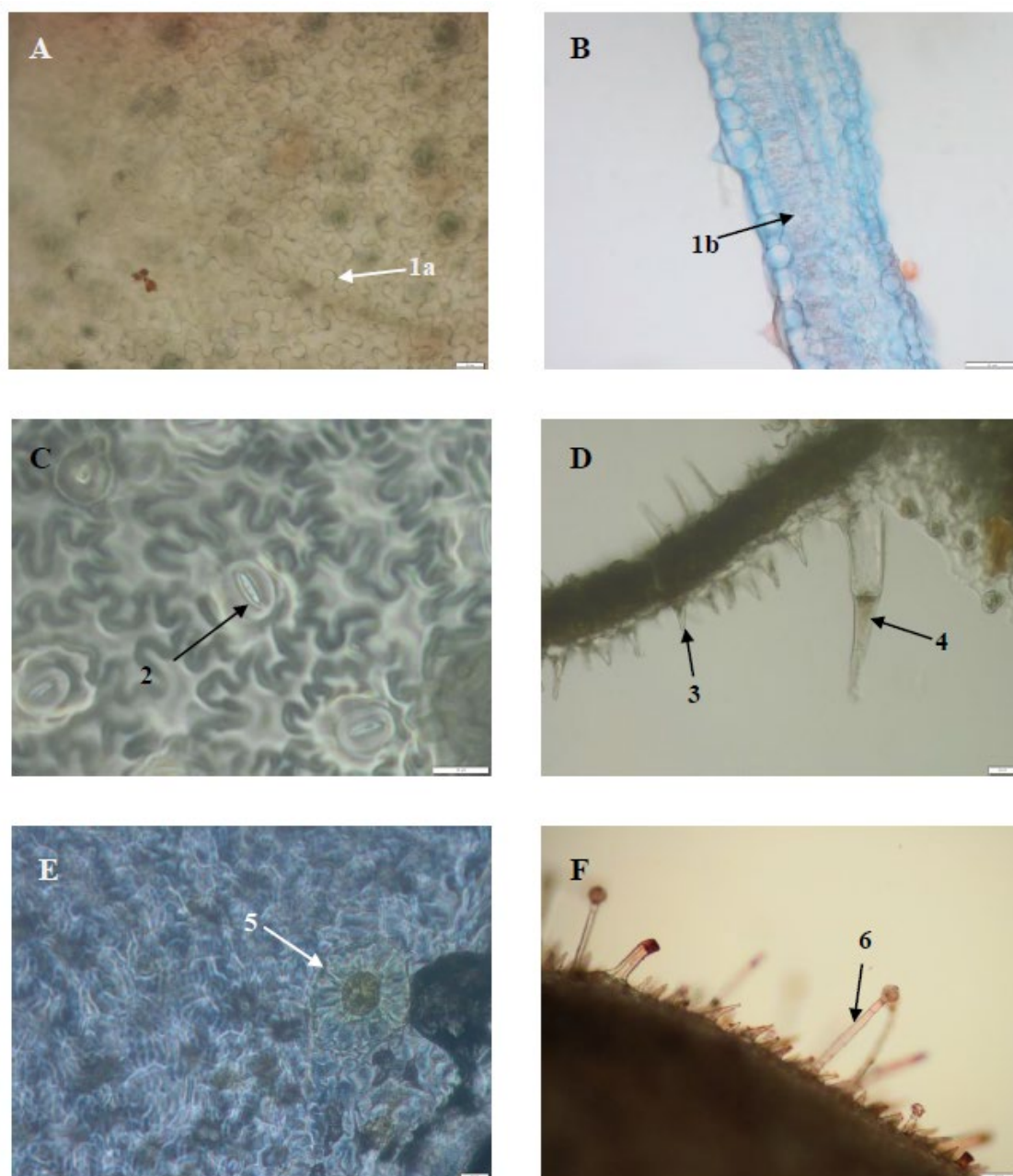
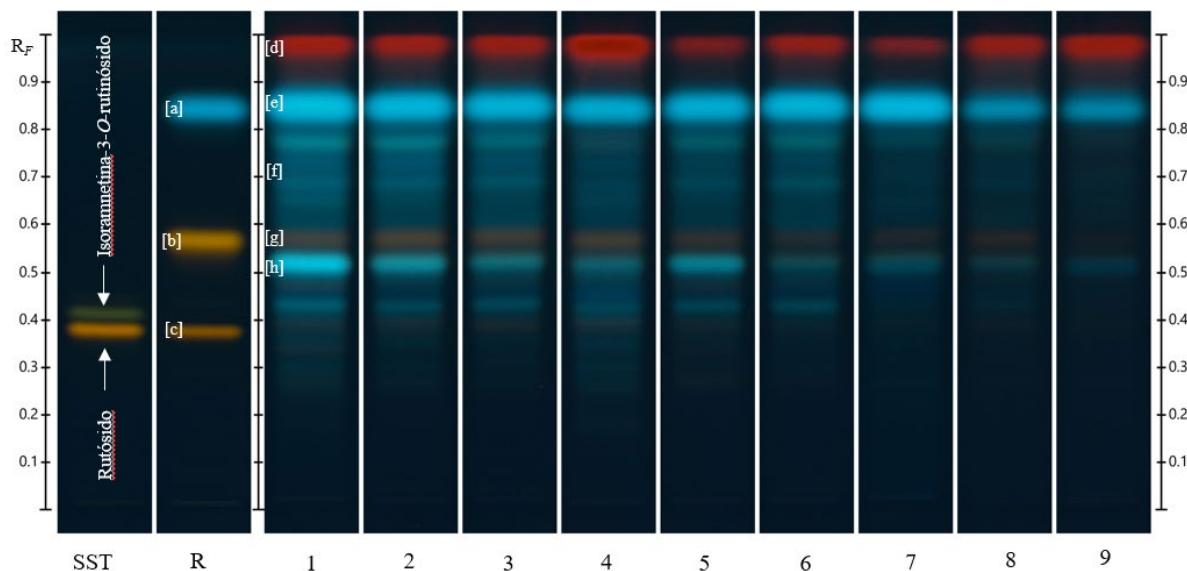


Figura 44. Identificación microscópica en las muestras de melisa. **A** Muestra MO5. Epidermis superior con paredes sinuosas (1a), a veces acompañados de parénquima en empalizada. **B.** Muestra MO0. Epidermis superior con paredes sinuosas, a veces acompañados de parénquima en empalizada (1b). **C.** Muestra MO0. Epidermis inferior con estomas diacíticos (2). **D.** Muestra MO6. Tricomas tectores unicelulares cónicos, cortos y rectos, con cutícula fina estriada, libres o sobre una epidermis (3). Tricomas tectores uniseriados, pluricelulares y puntiagudos, con cutícula gruesa y verrugosa (4). **E.** Muestra MO4. Tricomas glandulares octocelulares de tipo laminar (5). **F.** Muestra MO2. Tricomas glandulares de pie uni o a tricelular y cabeza unicelular o más raramente bicelular (6). **Valor de escala en imágenes A-E:** 20 μm ; **F:** 50 μm .

B. Identificación por HPTLC

El cromatograma (Figura 45) obtenido para la identificación por HPTLC con la metodología de la HPTLC Association de las diferentes muestras de melisa es el siguiente:



Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Isoramnetina-3-O-rutinosido y rutósido	5	MO3
R	Ácido clorogénico [a], luteolina-7-O-glucósido [b] y rutósido [c]	6	MO5
1	MO7	7	MO8
2	MO4	8	MO2
3	MO6	9	MO1
4	MO0		

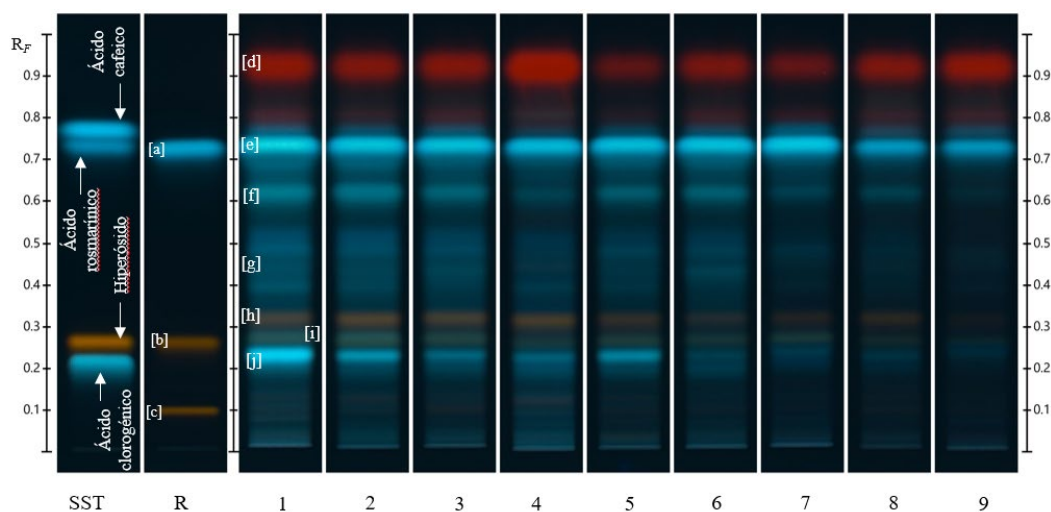
Figura 45. HPTLC de los extractos de melisa. Protocolo 1. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC a la luz UV 366 nm de disoluciones problemas de melisa después de derivatizar con NPR y disolución de PEG 400, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles. Fase móvil HPTLC Association.

Tabla 46. Esquema de los resultados HPTLC Association. Melisa.

Parte superior de la placa	
Ácido <u>rosmarínico</u> [a] ($R_F = 0,85$) <u>Luteolin-7-O-glucósido</u> [b] ($R_F = 0,55$) Rutina [c] ($R_F = 0,34$)	Dos zonas rojas [d] Zona intensa azul [e] Varias zonas azules débiles [f] Zona naranja débil [g] Dos zonas azules [h]
Disolución de referencia	Disolución problema

Con el cromatograma de la figura 45 y la tabla 46, se observa que las muestras del carril 1 al 6 presentan la totalidad de las zonas citadas por la HPTLC Association. Las muestras MO8 y MO2 también contienen todas las bandas, pero con una intensidad menor. Puesto que la HPTLC Association no establece marcadores de intensidad, no se puede confirmar que estas muestras no cumplan con los criterios de aceptación. La muestra MO1 carece de las zonas [f] y [h]. Además, la HPTLC Association permite que haya otras zonas débiles en el cromatograma, pero no debe aparecer una zona naranja en las disoluciones problema en la misma posición que la rutina ni tampoco en el tercio inferior de la placa. Por tanto, cumplen todas las muestras excepto la MO1.

El cromatograma de la figura 46 corresponde a las muestras obtenidas utilizando el mismo método de extracción de la HPTLC Association pero con la fase móvil de la Ph. Eur. Se observan zonas similares al cromatograma anterior (Figura 45), como son la [d], [e], [f], [g] y [h]. Sin embargo, las zonas [i] y [j] solo se pueden determinar en el cromatograma de la figura 46. Además, se destaca que la fase móvil de la HPTLC Association es más apolar que la fase móvil de la Ph. Eur. La Ph. Eur. no presenta monografía para este tipo de extracto y por tanto carece de material de referencia para la identificación por HPTLC.



Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Ácido cafeico y ácido rosmarínico; Hiperósido y ácido clorogénico	5	MO3
R	Ácido rosmarínico [a], hiperósido [b] y rutósido [c]	6	MO5
1	MO7	7	MO8
2	MO4	8	MO2
3	MO6	9	MO1
4	MO0		

Figura 46. HPTLC de los extractos de melisa. Protocolo 2. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC a la luz UV 366 nm de disoluciones problema de melisa después de derivatizar con NPR y disolución de PEG 400, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles. Fase móvil Ph. Eur.

C. Ensayos de pureza

En la tabla 47 se indica si se ha determinado cualitativamente la presencia de elementos extraños, especialmente tallos, contaminación animal y/o fúngica.

Tabla 47. Ensayos de pureza de las muestras de melisa.

Muestra	Observaciones
MO0	Buen estado
MO1	Presencia de tallos y otros elementos extraños
MO2	Presencia de tallos y otros elementos extraños
MO3	Presencia de tallos y otros elementos extraños
MO4	Buen estado
MO5	Buen estado
MO6	Presencia de tallos
MO7	Presencia de tallos y otros elementos extraños
MO8	Buen estado

VI.2.8. Naranja amarga, flor

A. Identificación microscópica

En la tabla 48 se describen los caracteres de diagnóstico a nivel microscópico para la flor de naranja amarga y se marca si se han encontrado (+) o no (-). Estos caracteres se pueden observar en la figura 47 y QR8.

Tabla 48. Identificación microscópica en las muestras de naranja amarga.

	Caracteres de identidad	CA0		CA1		CA2		CA3		CA4	
1	Numerosos granos de polen esféricos, con una exina finamente punteada y 3-5 poros germinales	+		+		-		-		-	
2	Fragmentos de la epidermis de los sépalos, junto con mesofilo subyacente (2a), y numerosos estomas anomocíticos (2b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+ ¹	+	+	+	+ ¹	+	+ ¹
3	Cristales prismáticos de oxalato cálcico en sépalos	+		+		+		+		+	
4	Tricomas tectores unicelulares (en sépalo)	+		-		-		+		+	
5	Fragmentos de la epidermis de los pétalos con una cutícula claramente estriada (en pétalo)	+		+		+		+		+ ²	
6	Fragmentos de grandes glándulas secretoras esquizolisígenas (en pétalo)	+		+		+		+		+	

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma; ² No se ha podido determinar la cutícula claramente estriada.

QR8. Identificación microscópica en las muestras de naranja amarga.
(Para acceder: pulse sobre el QR8 o capture con el móvil).



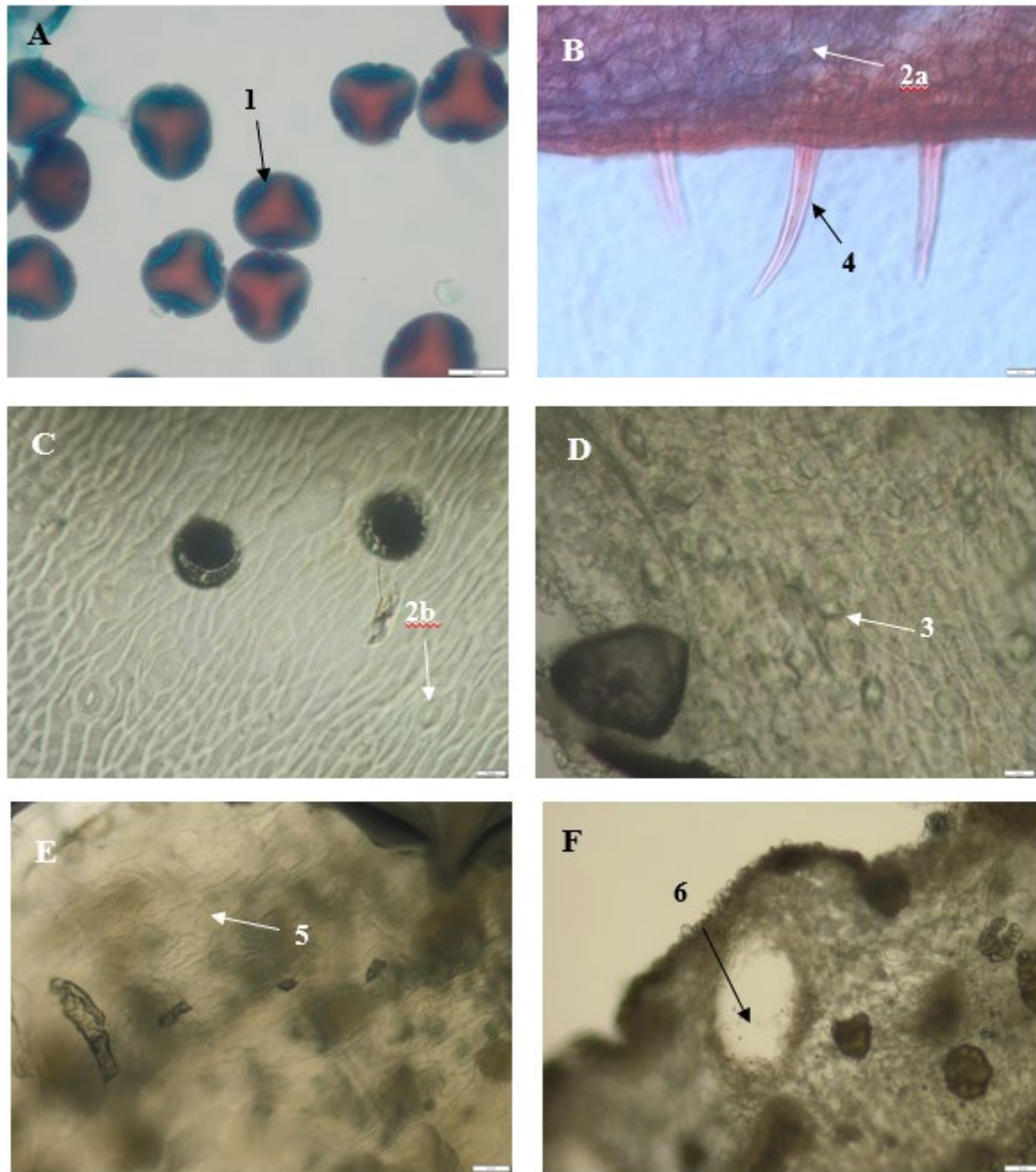
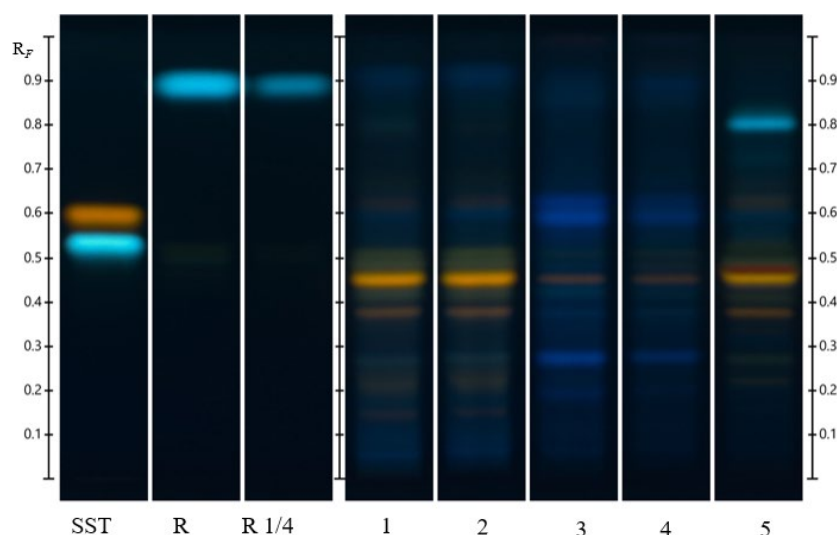


Figura 47. Identificación microscópica en las muestras de naranjo amargo. **A.** Muestra CA0. Granos de polen esféricos, con exina finamente punteada y 3-5 poros germinales (1). **B.** Muestra CA0. Fragmentos de la epidermis de los sépalos, vistos de frente y en sección transversal, junto con mesofilo subyacente (2a), y numerosos estomas anomocíticos. Tricomas tectores unicelulares (en sépalo) (4). **C.** Muestra CA0. Fragmentos de la epidermis de los sépalos, vistos de frente y en sección transversal, junto con mesofilo subyacente, y numerosos estomas anomocíticos (2b). **D.** Muestra CA1. Cristales prismáticos de oxalato cálcico en sépalos (3). **E.** Muestra CA3. Fragmentos de la epidermis de los pétalos con una cutícula claramente estriada (en pétalo) (5). **F.** Muestra CA3. Fragmentos de grandes glándulas secretoras esquizolisígenas (en pétalo) (6). **Valor de escala en imágenes A-D:** 20 μ M; **E y F:** 50 μ M.

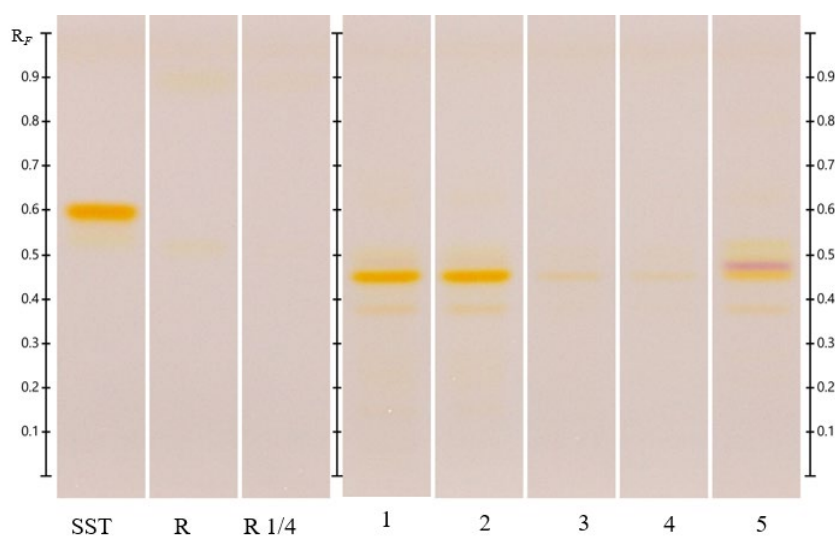
B. Identificación por HPTLC

Los cromatogramas obtenidos (Figura 48 y Figura 49) por HPTLC para las muestras de flor de naranjo amargo son:

a) Luz UV a 366 nm sin dejar transcurrir 1 h después de la derivatización



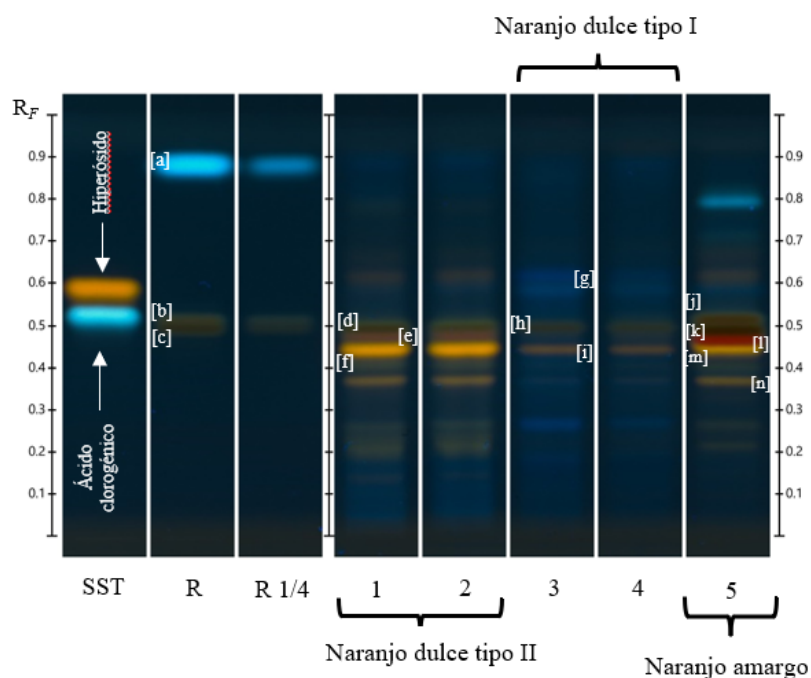
b) Luz blanca RT sin dejar transcurrir 1 h después de la derivatización



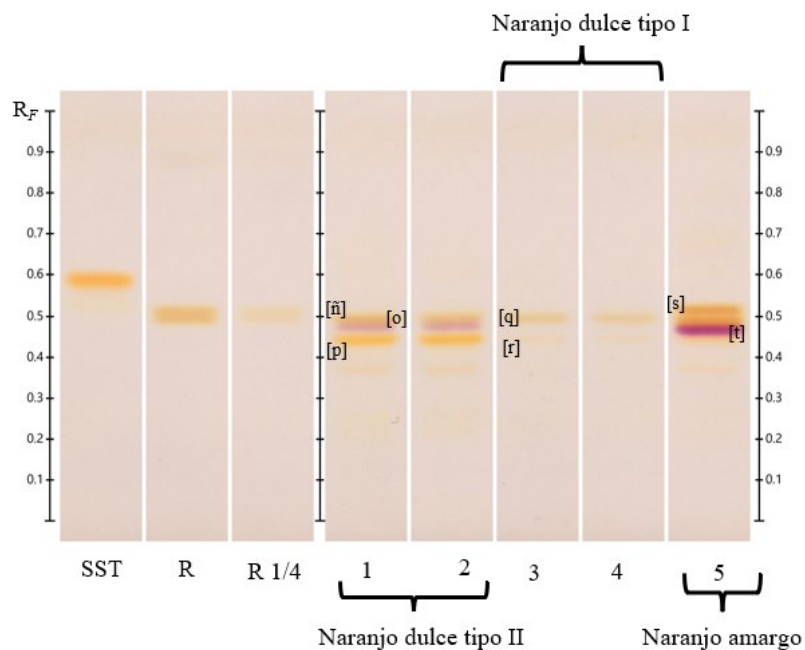
Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Hiperósido y ácido clorogénico	2	CA4
R	Ácido cafeico [a], naringina [b] y hesperidina [c]	3	CA2
R 1/4	Naringina, hesperidina y ácido cafeico	4	CA3
1	CA1	5	CA0

Figura 48. HPTLC de los extractos de naranjo amargo. Protocolo 1 (sin 1h). Cromatograma a la luz UV 366 nm (a) y luz blanca RT (b) de las muestras de la flor de naranjo amargo sin dejar transcurrir 1 h después de la derivatización con NPR y disolución de PEG 400. Tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

c) Luz UV a 366 nm 1 h después de la derivatización



d) Luz blanca RT 1 h después de la derivatización



Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Hiperósido y ácido clorogénico	2	CA4
R	Ácido cafeico [a], naringina [b] y hesperidina [c]	3	CA2
R ¼	Naringina, hesperidina y ácido cafeico	4	CA3
1	CA1	5	CA0

Figura 49. HPTLC de los extractos de naranja amargo. Protocolo 1 (1h). Cromatograma a la luz UV 366 nm (c) y luz blanca RT (d) de las muestras de la flor de naranja amargo 1 h después de la derivatización con NPR y disolución de PEG 400. Tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

En la publicación de Hänni et al. (2022) diferencian en la identificación por HPTLC, la flor de naranjo amargo, flor de naranjo dulce tipo I y flor de naranjo dulce tipo II (tres variedades). En las tablas 49 y 50 se muestran las zonas que se destacan para diferenciar estos tres tipos de flor de naranjo.

Tabla 49. Evaluación visual según los resultados de Hänni et al. (2022). 1. Luz UV a 366 nm.

Parte superior de la placa		
Zona verde ($R_F = 0,50$ [d]) Zona naranja ($R_F = 0,48$ [e]) Zona amarilla ($R_F = 0,45$ [f]) Varias zonas de diversos colores	Zona azul ($R_F = 0,61$ [g]) Zona negra ($R_F = 0,49$ [h]) Zona naranja ($R_F = 0,42$ [i]) Varias zonas azules	Zona negra ($R_F = 0,51$ [k]) Zona roja ($R_F = 0,47$ [l]) Zona amarilla ($R_F = 0,45$ [m]) Zona naranja ($R_F = 0,36$ [n]) Dos zonas azules ($R_F = 0,28$)
Naranjo dulce tipo II	Naranjo dulce tipo I	Naranjo amargo

Tabla 50. Evaluación visual según los resultados de Hänni et al. (2022). 2. Luz blanca RT.

Parte superior de la placa		
Zona amarilla ($R_F = 0,49$ [ñ]) Zona roja ($R_F = 0,47$ [o]) Zona amarilla ($R_F = 0,44$ [p])	Zona amarilla ($R_F = 0,49$ [q]) Zona amarilla ($R_F = 0,45$ [r])	Dos zonas amarillas ($R_F = 0,48-0,50$ [s]) Zona roja ($R_F = 0,47$ [t])
Naranjo dulce tipo II	Naranjo dulce tipo I	Naranjo amargo

Teniendo en cuenta los resultados descritos por estos autores (Hänni et al., 2022), la única muestra correspondiente a la flor de naranjo amargo es la muestra CA0 (Figuras 48 y 49), ya que presenta las zonas [k], [l] [m] y [n]. Con luz UV (366 nm), se observa también una banda [i] adicional verdosa oscura ($R_F=0,50$) y una zona azul de intensidad moderada con $R_F = 0,8$.

Con la luz blanca RT, se observan las dos zonas amarillas [s] y la banda roja [t] (Figuras 48 y 49).

Con luz UV (366 nm), las muestras CA1 y CA4 corresponden a la flor de naranjo dulce tipo II, determinando en este cromatograma la zona [d] de color verde oscuro con $R_F = 0,51$, la zona [e] de color naranja con $R_F = 0,49$ y la zona amarilla [f] con $R_F = 0,44$. A la luz blanca RT también se determinan las zonas [ñ], [o] y [p], coincidiendo todas las zonas con Hänni et al., (2022) (Figuras 48 y 49).

Las muestras CA2 y CA3 corresponden a la flor de naranjo dulce tipo I. Con la luz UV a 366 nm, se determinan dos zonas azules [g] $R_F = 0,59$ y $0,62$, una zona [g] marrón oscura (negra) con $R_F = 0,51$ y una banda naranja [i] de intensidad moderada con $R_F = 0,44$. A la luz blanca RT, se observan (Figuras 48 y 49) las zonas amarillas poco intensas [q] y [r], correspondiendo todas las zonas con los resultados de Hänni et al., (2022).

A pesar de haber realizado la metodología descrita por Hänni et al., (2022), estas muestras también se pueden comparar por lo citado por la Ph. Eur., ya que todavía no presenta HPTLC, pero sí TLC. La Ph. Eur. indica que se debe esperar 1 h antes de visualizar la placa cromatográfica. Cabe destacar que en la figura 48 no se observan las sustancias de referencia naringina [b] y hesperidina [c], sin embargo, al transcurrir 1 h sí que se detectan (Figura 49). En la tabla 53 se muestra lo indicado por la Ph. Eur.

Tabla 51. Evaluación visual del cromatograma de naranjo amargo según Ph. Eur.

Top of the plate	
Hesperidin: a greenish-yellow fluorescent zone Naringin: a yellow fluorescent zone	A weak yellow fluorescent zone
	A weak yellow fluorescent zone
	A greenish-yellow fluorescent zone (hesperidin) [j]
	A yellow fluorescent zone (naringin) [k]
	A red fluorescent zone (neohesperidin) [l]
Reference solution	A yellow fluorescent zone (diosmin and neodiosmin) [m]
	Test solution

Aunque la muestra CA0 (carril 5) no contiene las dos zonas débiles de color amarillo citadas por la Ph. Eur. sí que presenta el resto de las zonas, correspondiendo únicamente esta muestra a la flor de naranjo amargo. De hecho, la Ph. Eur. cita la zona [j] que no indican Hänni et al., (2022).

Por otro lado, se ha utilizado el procedimiento de Hänni et al. (2022) en las muestras CA1 a CA4 para confirmar que todas las muestras comercializadas son naranjo dulce. Se obtuvo el siguiente cromatograma (Figura 50), verificando así que todas ellas son naranjo dulce. En material y métodos se explica que, según estos autores, el extracto 10 mL (metanol/agua) es para la identificación del naranjo dulce (Figura 50) y el extracto 25 mL (metanol/agua) es para el naranjo amargo. Por tanto, en los carriles (5 al 8) no se observa nada, ya que son naranjo dulce. Asimismo, se confirma que las muestras CA1 y CA4 (carriles 1 y 2) corresponden al naranjo tipo II y las muestras CA2 y CA3 al naranjo tipo I (Hänni et al., 2022).

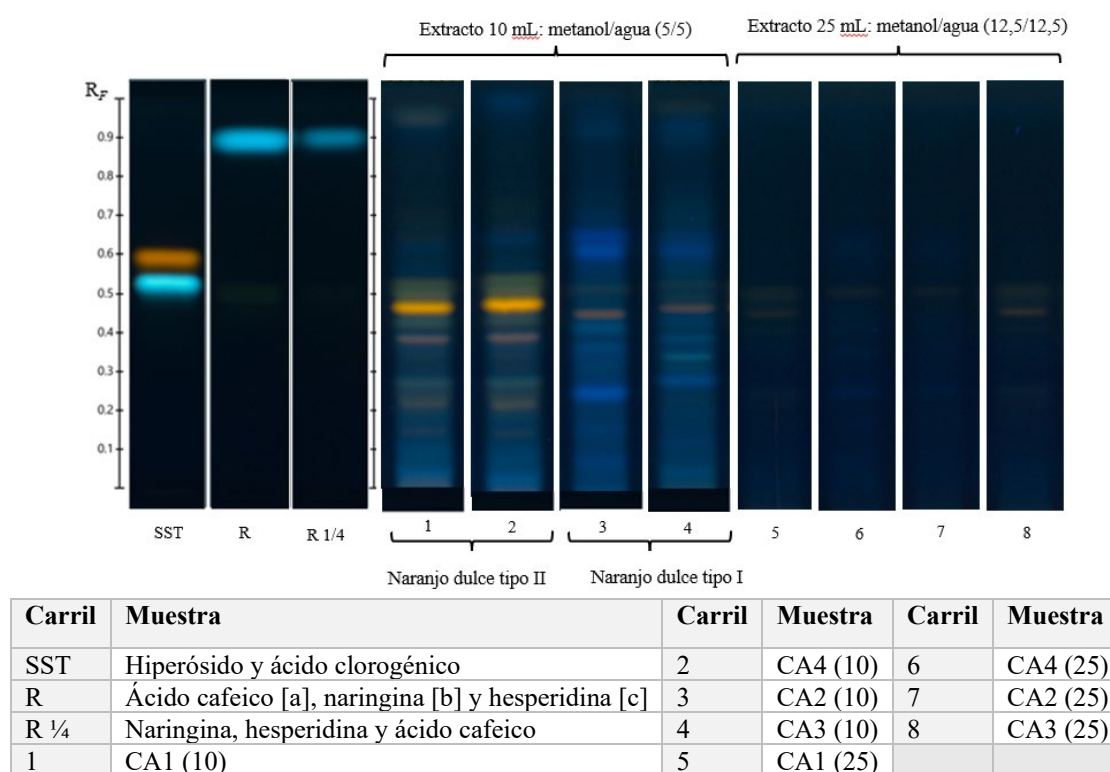


Figura 50. HPTLC de los extractos de naranjo amargo. Protocolo 2. Cromatograma a 366 nm y luz blanca RT de las muestras de la flor de naranjo amargo después de la derivatización con NPR y disolución de PEG 400. Tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

C. Ensayos de pureza

En la tabla 52 se determina la presencia de elementos extraños en las distintas muestras estudiadas. Prácticamente no se han encontrado flores cerradas excepto en la muestra CA0.

Tabla 52. Ensayos de pureza de las muestras de naranjo amargo.

Muestra	Observaciones
CA0	Buen estado
CA1	Buen estado
CA2	Presencia de elementos extraños
CA3	Presencia de elementos extraños
CA4	Buen estado

VI.2.9. Pasiflora, sumidad

A. Identificación microscópica

Para las distintas muestras de pasiflora, en la tabla 53 se indica si se han encontrado (+) o no (–) los caracteres microscópicos citados por la Ph. Eur. para la sumidad de pasiflora. En la figura 51 y QR9 se encuentran las imágenes de estos caracteres.

Tabla 53. Identificación microscópica en las muestras de pasiflora.

Caracteres de identidad		PI0		PI1		PI2		PI3		PI4		PI5	
1	Fragmentos de la epidermis adaxial de hoja compuesta por células de paredes sinuosas, casi angulares (a), acompañadas de parénquima en empalizada subyacente (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–
2	Fragmentos de la epidermis inferior de hoja formada por células de paredes sinuosas (a) y estomas anomocíticos o anisocíticos (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+	+	+	+	+ ¹	+	+ ¹	+	+ ¹
3	Fragmentos de los nervios de la hoja con vasos anillados o espiralados (a) y vainas con agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+
4	Fragmentos del tallo con numerosas fibras (a) acompañadas de vasos punteados o reticulados (b) y radios medulares (c)	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
5	Parénquima central/medular del tallo con células de paredes ligeramente engrosadas y con punteaduras	+		+		+		+		+		+	
6	Tricomas uniseriados de 1-3 células de paredes finas, rectos o ligeramente curvados, que terminan en punta	+		+		+		+		+		+	

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma.

QR9. Identificación microscópica en las muestras de pasiflora.
(Para acceder: pulse sobre el QR9 o capture con el móvil).



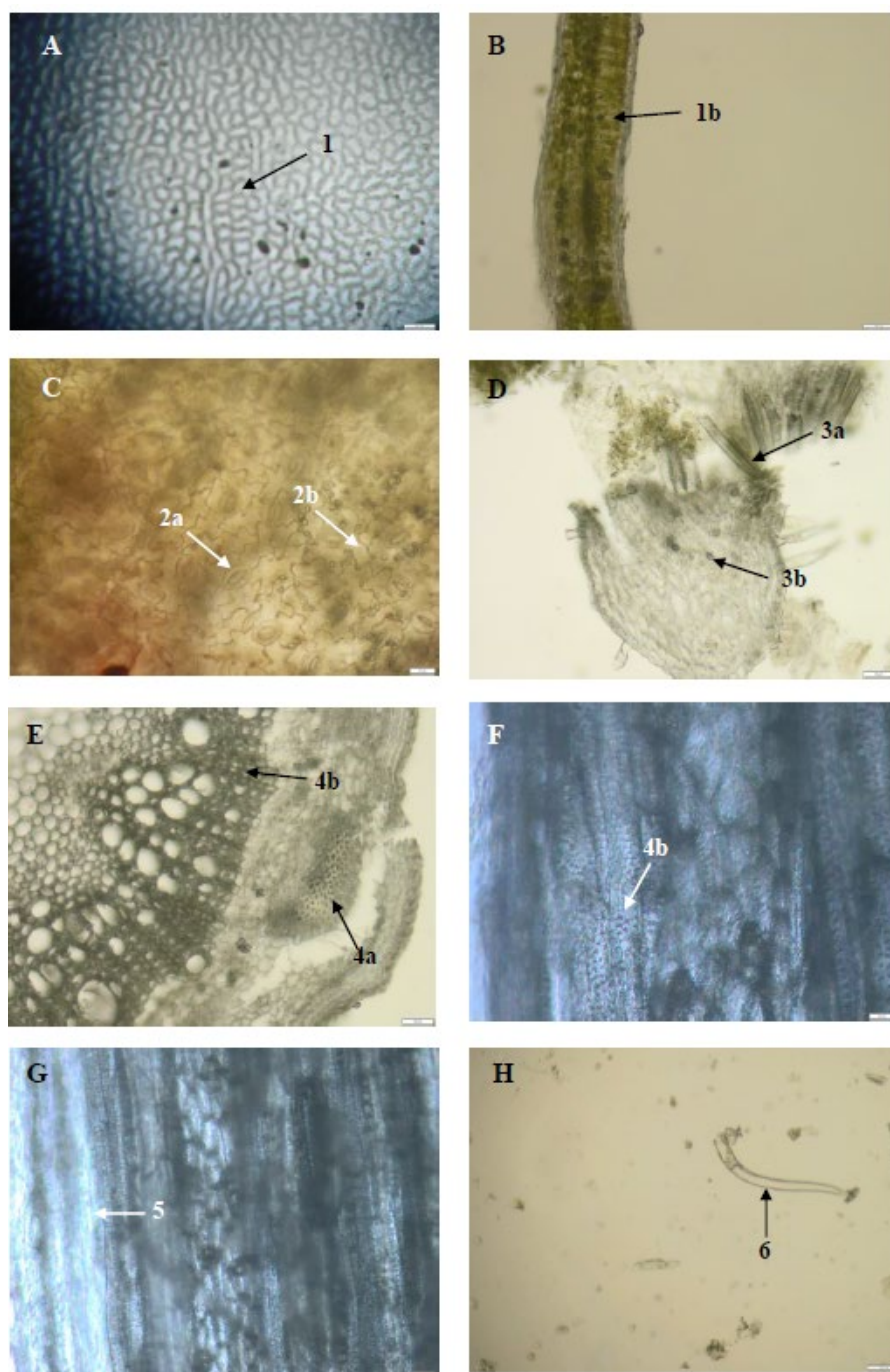
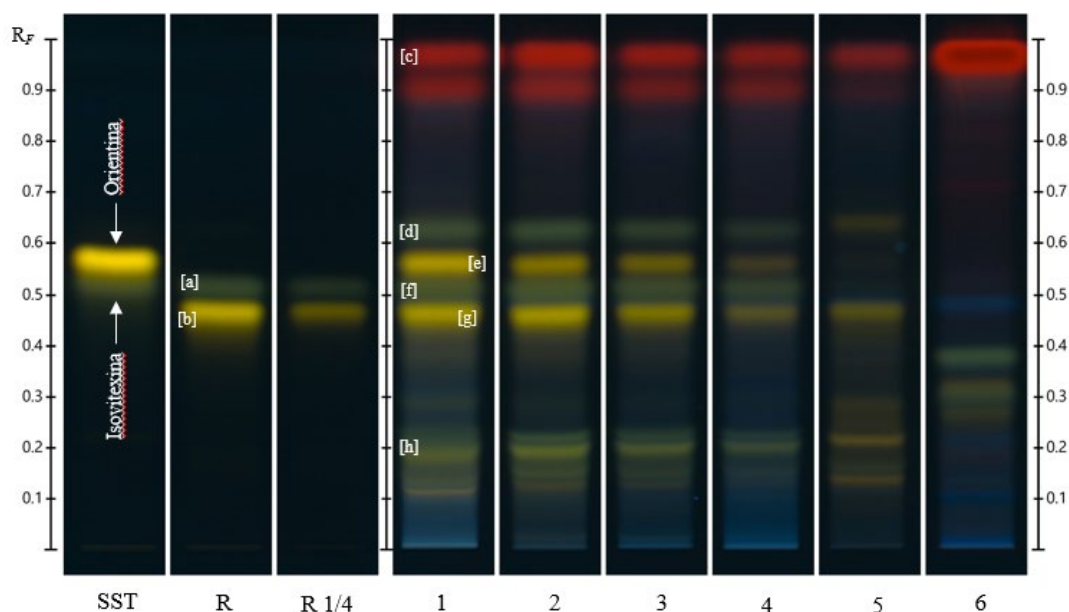


Figura 51. Identificación microscópica en las muestras de pasiflora. **A.** Muestras PI0. Epidermis adaxial de hoja compuesta por células de paredes sinuosas, casi angulares (1a), con parénquima en empalizada. **B.** Muestras PI2. Epidermis adaxial de hoja compuesta por células de paredes sinuosas, casi angulares (1a), con parénquima en empalizada (1b). **C.** Muestra PI2. Epidermis inferior de hoja formada por células de paredes sinuosas (2a) y estomas anomocíticos o anisocíticos (2b). **D.** Muestra PI3. Nervios de la hoja con vasos anillados o espiralados (3a) y vainas con agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (3b). **E.** Muestra PI2. Fragmentos del tallo con numerosas fibras (4a) acompañadas de vasos punteados o reticulados y radios medulares (4c). **F.** Muestra PI0. Fragmentos del tallo con numerosas fibras acompañadas de vasos punteados o reticulados (4b) y radios medulares. **G.** Muestra PI0. Fragmentos del parénquima central/medular del tallo con células de paredes ligeramente engrosadas y con punteaduras (5). **H.** Muestra PI5. Tricomas uniseriados de 1-3 células rectos o ligeramente curvados (6). **Valor de escala en imágenes A-B, D-E y H:** 50 μm ; **C, F-G:** 20 μm .

B. Identificación por HPTLC

El cromatograma que se expone a continuación es el que se ha obtenido con las diferentes muestras de pasiflora:



Carril	Muestra	Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Orientina e isovitexina	1	PI5	4	PI3
R	Homoorientina [a] e isovitexina [b]	2	PI1	5	PI4
R 1/4	Dilución ¼ de R	3	PI2	6	PI0

Figura 52. HPTLC de los extractos de pasiflora. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC a la luz UV 366 nm de disoluciones problema de pasiflora después de derivatizar con NPR y disolución de PEG 400, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

Tabla 54. Evaluación visual del cromatograma de pasiflora según Ph. Eur. (Knowledge Data Base).

Top of the plate		
	[c] 2 red zones, intense	[j] 2 red zones, intense
	[d] A green or greenish-blue zone, faint to equivalent	[k] A green or greenish-blue zone, faint to equivalent
	[e] A yellow zone, faint to equivalent	[l] A yellow zone, faint to equivalent
[a] Isovitexin: a green or greenish-blue zone	[f] A green or greenish-blue zone, faint to equivalent (isovitexin)	[m] A bluish-green zone (swertisin)
[b] Homoorientin: a yellow zone	[g] A yellow zone, faint to equivalent (homoorientin)	[n] A yellow zone, faint to equivalent (homoorientin)
	[h] A green or greenish-blue zone, very faint to faint	[o] A green or greenish-blue zone, very faint to faint
Reference solution (a)	Test solution (isovitexin-type)	Test solution (swertisin-type)

Teniendo en cuenta que los marcadores de intensidad son homoorientina e isovitexina y según el cromatograma (Figura 52), las muestras PI1, PI2, PI3 y PI5 contienen todas las zonas [c], [d], [e], [f], [g] y [h] con el color e intensidad establecidos y pertenecen al quimiotipo isovitexina (Tabla 54). La muestra PI4, como se observa en el cromatograma (Figura 52), solo presenta una zona roja [c] en lugar de dos, como indica la tabla 54 y carece de las bandas correspondientes a las letras [e] y [f] (quimiotipo isovitexina) y [h] o [l] y [m] (quimiotipo swertisina) (Tabla 54). Por otro lado, la muestra PI0 contiene la zona [m] correspondiendo la quimiotipo swertisina, aunque solamente tiene una zona roja [c] en lugar de dos como cita la Ph. Eur. y no presenta las zonas [k], [l] y [o] (Tabla 54).

Además, según la Ph. Eur., en el cromatograma obtenido con las disoluciones problema, la zona fluorescente de color verde o azul verdoso, de tenue a muy tenue, en el tercio inferior de la placa puede solaparse con una zona amarilla fluorescente justo debajo. Pueden estar presentes zonas de intensidad de muy débiles a débiles de color amarillo, amarillo verdoso o amarillo parduzco o verde azulado, especialmente en el tercio inferior de la placa, como se puede observar en los carriles del 1 al 5 de este cromatograma con $R_F = 0,14$. En el carril 6 se pueden determinar tres bandas de color verde y verde-amarillento de intensidad débil o muy débil en el tercio medio de la placa ($R_F = 0,28$, $R_F = 0,32$ y $R_F = 0,38$, respectivamente).

Por tanto, las muestras PI1, PI2, PI3 y PI5 cumplen con los criterios de aceptación de la Ph. Eur., mientras que las muestras PI0 y PI4 no cumplen con estos criterios (Tabla 54).

C. Ensayos de pureza

No se han encontrado elementos extraños ni contaminación en ninguna de las muestras, excepto en la muestra PI3 que se detectó contaminación animal. Hay que destacar que en ninguna muestra se han encontrado prácticamente flores ni frutos.

VI.2.10. Tilo, flor

A. Identificación microscópica

En la tabla 55 se indica si se han encontrado (+) o no (–) los caracteres de identidad para la flor de tilo, citados por la Ph. Eur. en las diferentes muestras estudiadas. Estos caracteres se pueden observar en la figura 53 y QR10.

Tabla 55. Identificación microscópica en las muestras de tila.

	Caracteres de identidad	TP0		TP1		TP2		TP3		TP4		TP5		TP6		TP7	
1	Fragmentos de la epidermis adaxial de bráctea con células de paredes anticlinales rectas o ligeramente sinuosas	+		–		+		+		+		–		+		–	
2	Fragmentos de la epidermis abaxial de la bráctea con células de paredes anticlinales onduladas sinuosas (a) y estomas anomocíticos, cubiertos con una cutícula estriada (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	–	–	–	–	–	–	+	+ ¹	+	+ ^{1,2}	–	–	–	–
3	Fragmentos de los sépalos con células epidérmicas que presentan paredes anticlinales rígidas (a) rodeadas de tricomas tectores curvados, de pared engrosada, unicelulares o estrellados hasta 5 células (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+ ³	–	+ ³	+	+ ³	–	+ ³	–	+ ³	–	+ ³	+	+ ³	+	+ ³
4	Fragmentos del mesofilo de los sépalos o de la lámina de los pétalos compuestos por células parenquimáticas que contienen agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (a) y células mucilaginosas (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Fragmentos de la epidermis adaxial de los pétalos con células de paredes rectas (a) y tricomas glandulares elongados (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	–	–	+	–	–	–
6	Granos de polen ovales o ligeramente triangulares, con 3 poros germinativos y una exina finamente granular	+		+		+		+		+		+		+		+	
7	Tricomas retorcidos, unicelulares del ovario pueden estar presentes, aislados o estrellados con 2-4 ramificaciones	+		+		+		+		+		+		+		+	

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma; ² No se ha podido apreciar la cutícula estriada de los estomas; ³ Se han observado tricomas estrellados con más de 5 células.

QR10. Identificación microscópica en las muestras de tila (TP0 – TP10).

QR10, continuación. Identificación microscópica en las muestras de tila (TP11 – TP21).

(Para acceder: pulse sobre los QR10 o capture con el móvil).



Tabla 55, continuación. Identificación microscópica en las muestras de tila.

	Caracteres de identidad	TP8		TP9		TP10		TP11		TP12		TP13		TP14		TP15	
1	Fragmentos de la epidermis adaxial de bráctea con células de paredes anticlinales rectas o ligeramente sinuosas	-		-		+		+		+		+		+		+	
2	Fragmentos de la epidermis abaxial la bráctea con células de paredes anticlinales onduladas sinuosas (a) y estomas anomocíticos cubiertos con una cutícula estriada (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		-	-	+	+ ²	+	+	+	+ ^{1,2}	-	-	-	+ ^{1,2}	+	+ ¹	+	+ ¹
3	Fragmentos de los sépalos con células epidérmicas que presentan paredes anticlinales rígidas (a) rodeadas de tricomas tectores curvados, de pared engrosada, unicelulares o estrellados hasta 5 células (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³
4	Fragmentos del mesofilo de los sépalos o de la lámina de los pétalos compuestos por células parenquimáticas que contienen agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (a) y células mucilaginosas (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Fragmentos de la epidermis adaxial de los pétalos con células de paredes rectas (a) y tricomas glandulares elongados (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
6	Granos de polen ovales o ligeramente triangulares, con 3 poros germinativos y una exina finamente granular	+		+		+		+		+		+		+		+	
7	Tricomas retorcidos, unicelulares del ovario pueden estar presentes, aislados o estrellados con 2-4 ramificaciones	+		+		+		+		+		+		+		+	

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma; ² No se ha podido apreciar la cutícula estriada de los estomas; ³ Se han observado tricomas estrellados con más de 5 células.

Tabla 55, continuación. Identificación microscópica en las muestras de tila.

	Caracteres de identidad	TP16		TP17		TP18		TP19		TP20		TP21	
1	Fragmentos de la epidermis adaxial de bráctea con células de paredes anticlinales rectas o ligeramente sinuosas	+		+		+		-		+		+	
2	Fragmentos de la epidermis abaxial de la bráctea con células de paredes anticlinales onduladas sinuosas (a) y estomas anomocíticos cubiertos con una cutícula estriada (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+	+	+ ^{1,2}	-	-	-	-	+	+
3	Fragmentos de los sépalos con células epidérmicas que presentan paredes anticlinales rígidas (a) rodeadas de tricomas tectores curvados, de pared engrosada, unicelulares o estrellados hasta 5 células (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	-	+ ³	+	+
4	Fragmentos del mesofilo de los sépalos o de la lámina de los pétalos compuestos por células parenquimáticas que contienen agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (a) y células mucilaginosas (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Fragmentos de la epidermis adaxial de los pétalos con células de paredes rectas (a) y tricomas glandulares elongados (b)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
		-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
6	Granos de polen ovales o ligeramente triangulares, con 3 poros germinativos y una exina finamente granular	+		+		+		+		+		+	
7	Tricomas retorcidos, unicelulares del ovario pueden estar presentes, aislados o estrellados con 2-4 ramificaciones	+		+		+		+		+		+	

¹ No se ha podido determinar el tipo de estoma; ² No se ha podido apreciar la cutícula estriada de los estomas; ³ Se han observado tricomas estrellados con más de 5 células.

A nivel microscópico, además de presentar todos los caracteres de identidad, según la Ph. Eur. se diferencia la especie *Tilia tomentosa* Moench o *Tilia americana* L. cuando los tricomas de los sépalos tienen entre 5-8 ramificaciones. Como se puede observar en la tabla, todas las muestras contienen tricomas en los sépalos, pero presentan más de 5 ramificaciones. Por tanto, no corresponden a las especies oficiales determinadas por la Ph. Eur. que son *Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop., *Tilia* × *europaea* L. o mezclas entre ellos. Todas las muestras estudiadas corresponden a *Tilia tomentosa* o *Tilia americana* (QRs10). Además, se ha observado que las muestras TP2, TP6 (Figura 53) y TP19 presentan más de 8 ramificaciones en los tricomas estrellados. En las muestras TP14 y TP15, se han determinado tricomas en las brácteas, no citados por la Ph. Eur.

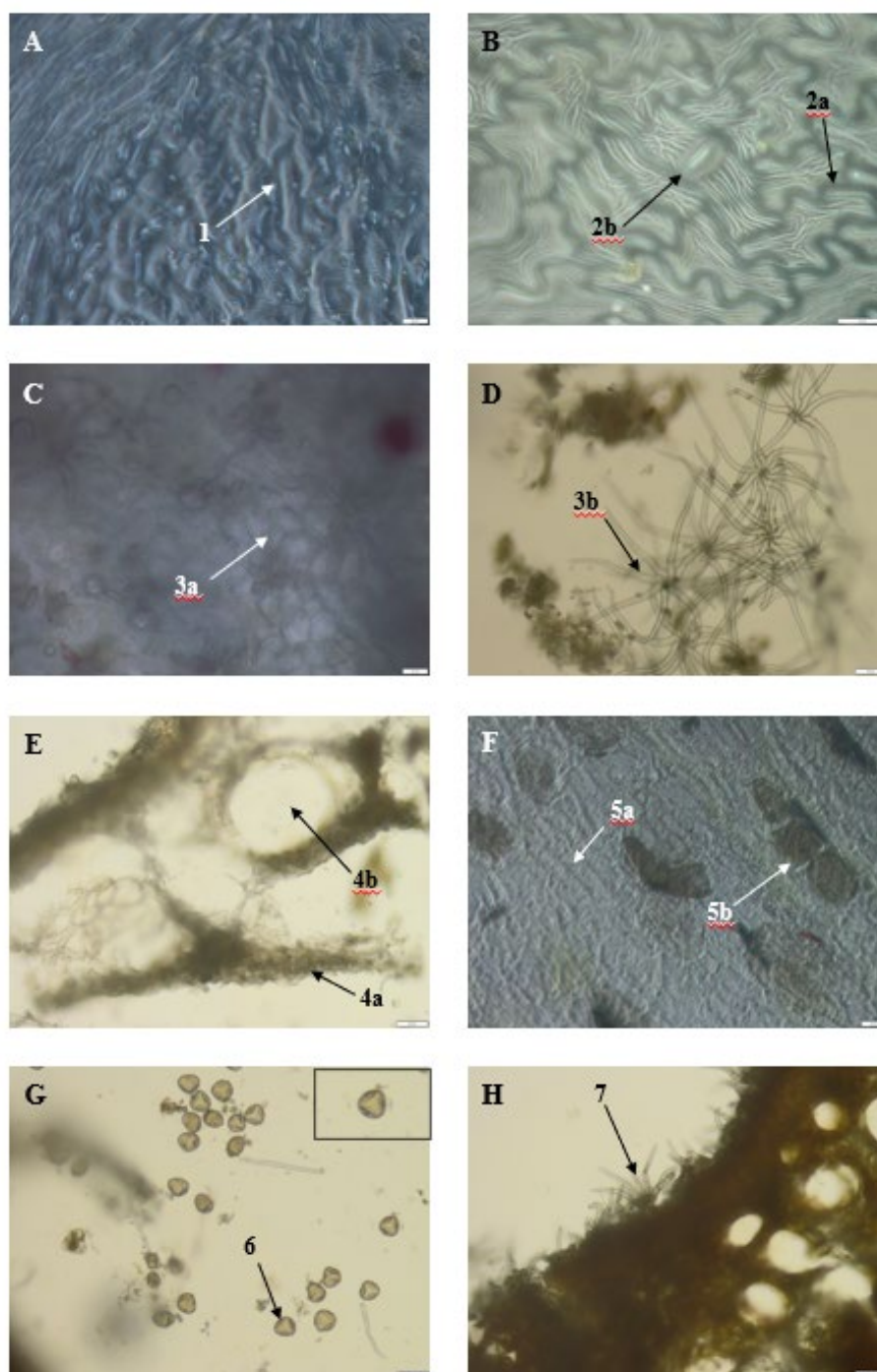
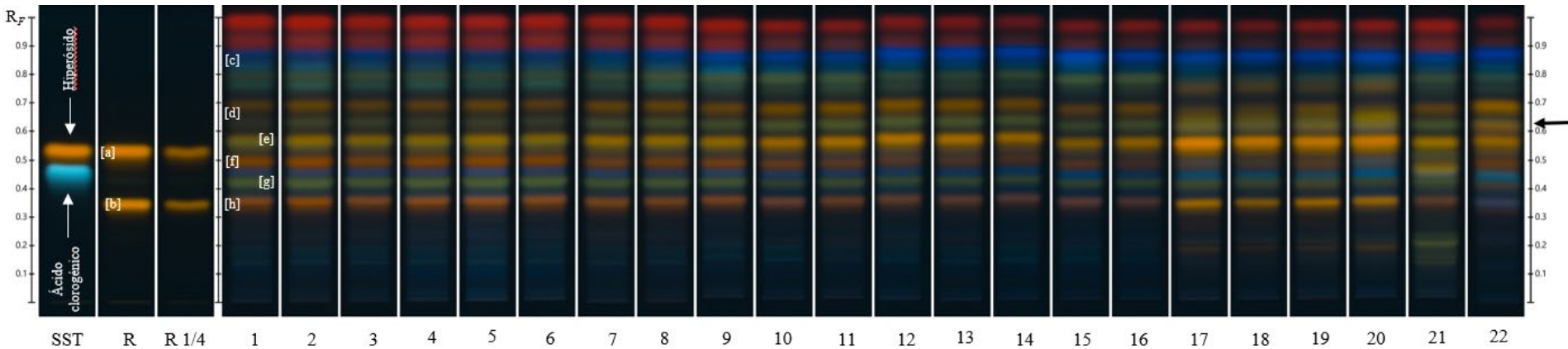


Figura 53. Identificación microscópica en las muestras de tila. **A.** Muestra TP21. Epidermis adaxial de la bráctea con células de paredes anticlinales rectas o ligeramente sinuosas. **B.** Muestra TP0. Epidermis abaxial de la bráctea con células de paredes anticlinales onduladas sinuosas (2a) y estomas anomocíticos, cubiertos con una cutícula estriada (2b). **C.** Muestra TP0. Sépalos con células epidérmicas que presentan paredes anticlinales rígidas (3a) rodeadas de tricomas tectores curvados, de pared engrosada, unicelulares o estrellados hasta 5 células. **D.** Muestra TP6. Sépalos con células epidérmicas que presentan paredes anticlinales rígidas (3a) rodeadas de tricomas tectores curvados, de pared engrosada, unicelulares o estrellados hasta 5 células (3b). **E** Muestra TP13. Mesofilo de los sépalos o de la lámina de los pétalos compuestos por células parenquimáticas que contienen agrupaciones de cristales de oxalato cálcico (4a) y células mucilaginosas (4b). **E.** Muestra TP10. Epidermis adaxial de los pétalos con células con paredes rectas (5a) y tricomas glandulares elongados (5b). **G.** Muestra TP15. Granos de polen ovales o ligeramente triangulares, con 3 poros germinativos y una exina finamente granular (6). **H.** Muestra TP15. Tricomas retorcidos, unicelulares del ovario pueden estar presentes, aislados o estrellados con 2-4 ramificaciones (7). Cavidades mucilaginosas en el ovario (8). **Valor de escala en imágenes A-C y F:** 20 μm ; **D-E y G-H:** 50 μm .

B. Identificación por HPTLC

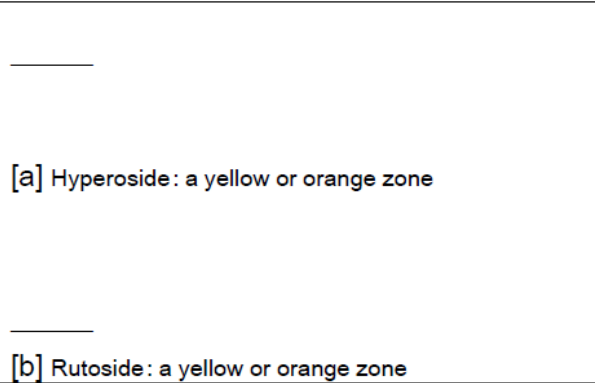
El cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC de las diferentes muestras de la flor del tilo es el siguiente:



Carril	Muestra	Carril	Muestra	Carril	Muestra	Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Hiperósido y ácido clorogénico	3	TP5	8	TP3	13	TP8	18	TP16
R	Hiperósido [a] y trihidrato de rutósido [b]	4	TP6	9	TP20	14	TP10	19	TP17
R 1/4	Dilución ¼ de R	5	TP7	10	TP14	15	TP13	20	TP21
1	TP1	6	TP9	11	TP18	16	TP15	21	TP19
2	TP4	7	TP2	12	TP11	17	TP12	22	TP0

Figura 54. HPTLC de los extractos de tila. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC a 366 nm de disoluciones problemas de la flor del tilo después de derivatizar con NPR y disolución de PEG 400, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

Tabla 56. Evaluación visual del cromatograma de tila según Ph. Eur. (Knowledge Data Base).

Top of the plate	
 [a] Hyperoside: a yellow or orange zone [b] Rutoside: a yellow or orange zone	[c] A blue zone, faint to equivalent [d] 2 yellow or orange zones, faint to equivalent [e] A yellow or orange zone, equivalent [f] A brownish zone, very faint to faint [g] A yellow, orange or greenish zone, faint
Reference solution (a)	Test solution

Teniendo en cuenta la descripción de la tabla 56 y la figura 54, los resultados obtenidos son:

Zona [c]: todas las muestras presentan la banda [c] con mayor o menor intensidad.

Zona [d]: dos bandas amarillas o naranjas de intensidad débil a equivalente (de $R_F \frac{1}{4}$ a R_F) respecto al hiperósido que es el marcador de intensidad establecido por la Ph. Eur. para el tercio medio de la placa en las zonas amarillas y naranjas. Sin embargo, en el cromatograma obtenido se aprecia una banda naranja y una verde del carril 1 al 16 y el carril 21, con intensidades variables, algunas de ellas menores a $R_F \frac{1}{4}$, como el carril 1 y el carril 15 y 16. En los carriles de 17 al 20 (TP12, TP16, TP17 y TP21) se determina la banda naranja, aunque se solapa parcialmente con la banda verde, siendo la intensidad de la zona naranja muy débil. En el carril 22 (TP0) sí que se observan dos bandas de color amarillo con la intensidad citada. Esta zona (según el cromatograma para la interpretación de los resultados del Knowledge Data Base) es la determinante para diferenciar las diferentes especies de tila. Si aparecen dos bandas de los colores que marca la tabla 56, las muestras pertenecen a las especies oficinales de la Ph. Eur. pero si aparece una banda naranja o amarilla y una verde, corresponderá a la *Tilia tomentosa*.

Zona [e]: se encuentra en todas las disoluciones problema con una intensidad igual al hiperósido.

Zona [f]: se determina en todas las muestras y con la intensidad establecida (menor de $R_F \frac{1}{4}$ a $R_F \frac{1}{4}$) excepto en el carril 20 (TP21) que aparece una banda azulada de intensidad débil ($R_F = 0,49$). Zona [g]: se detecta en todas las disoluciones problema con una intensidad similar al hiperósido en $R_F \frac{1}{4}$, excepto en el carril 22 (TP0) que presenta un color parduzco.

Zona [h]: debe presentar una zona amarilla, naranja o azulada, de intensidad de R a R $\frac{1}{4}$ respecto al rutósido (marcador de intensidad establecido por la Ph. Eur. para el tercio inferior de la placa en las zonas amarillas y naranjas), correspondiendo en todas las disoluciones problema estudiadas, aunque en el carril 13, 14, 15, 16, 21 y 22 (TP8, TP10, TP13, TP15, TP19 y TP0) presenta una intensidad un poco menor.

Además, la Ph. Eur. permite que haya otras zonas azules, amarillas, naranjas, parduzcas y verdosas fluorescente en las disoluciones problema. Por tanto, ninguna de las disoluciones problema cumple con los criterios de aceptación establecidos por la Ph. Eur., ya que todas ellas pertenecen a la especie *T. tomentosa*.

C. Ensayos de pureza

En la tabla 57 se indica si se ha encontrado en las muestras estudiadas presencia de elementos extraños y/o contaminación animal o fúngica.

Tabla 57. Ensayos de pureza de las muestras de tila.

Muestra	Observaciones
TP0	Buen estado
TP1	Enmohecimiento
TP2	Enmohecimiento
TP3	Enmohecimiento y contaminación animal
TP4	Presencia de elementos extraños y enmohecimiento
TP5	Presencia de elementos extraños y enmohecimiento
TP6	Presencia de elementos extraños y enmohecimiento
TP7	Presencia de elementos extraños y enmohecimiento
TP8	Buen estado
TP9	Elementos extraños
TP10	Buen estado
TP11	Enmohecimiento
TP12	Enmohecimiento
TP13	Enmohecimiento
TP14	Buen estado
TP15	Buen estado
TP16	Buen estado
TP17	Elementos extraños
TP18	Presencia de elementos extraños
TP19	Presencia de elementos extraños
TP20	Buen estado
TP21	Buen estado

VI.2.11. Valeriana, raíz

A. Identificación microscópica

En la tabla 58, se indica con un (+) o con un (–) si se han encontrado los caracteres de diagnóstico en las muestras estudiadas de valeriana. En la figura 55 y QR11 se pueden ver estos caracteres.

Tabla 58. Identificación microscópica en las muestras de valeriana.

	Caracteres de identidad	VO1	VO2	VO3	VO4	VO5	VO6
1	Grupos ocasionales de esclereidas rectangulares con paredes moderadamente engrosadas y un amplio lumen, desde la base del tallo	-	+	-	-	+	-
2	Fragmentos muy numerosos de parénquima con células grandes ovoides	+	+	+	+	+	+
3	Vasos lignificados densamente reticulados, aislados o en pequeños grupos	+	+	+	+	+	+
4	Células alargadas de pared fina de la capa pilífera, algunas con pelos radicales o sus cicatrices	+	+	+	-	-	-
5	Esta capa pilífera suele ir acompañada de una capa subyacente con paredes ligeramente engrosadas o con punteadas	+	-	+	-	-	-
6	Fragmentos del tejido dérmico del rizoma compuesto por 1 ó 2 filas de células poligonales con paredes irregularmente engrosadas	-	+	-	+	+	-
7	Algunos grupos de esclereidas con paredes gruesas y un lumen estrecho de la médula del rizoma	+	-	+	+	-	-
8	Numerosos gránulos de almidón, simples o de 2 a 6 compuestos, pero frecuentemente separados, redondeados o irregulares que suelen presentar una hendidura bastante indistinta o un hilio radiado	+	+	-	+	+	+

QR11. Identificación microscópica en las muestras de valeriana.

(Para acceder: pulse sobre el QR11 o capture con el móvil).



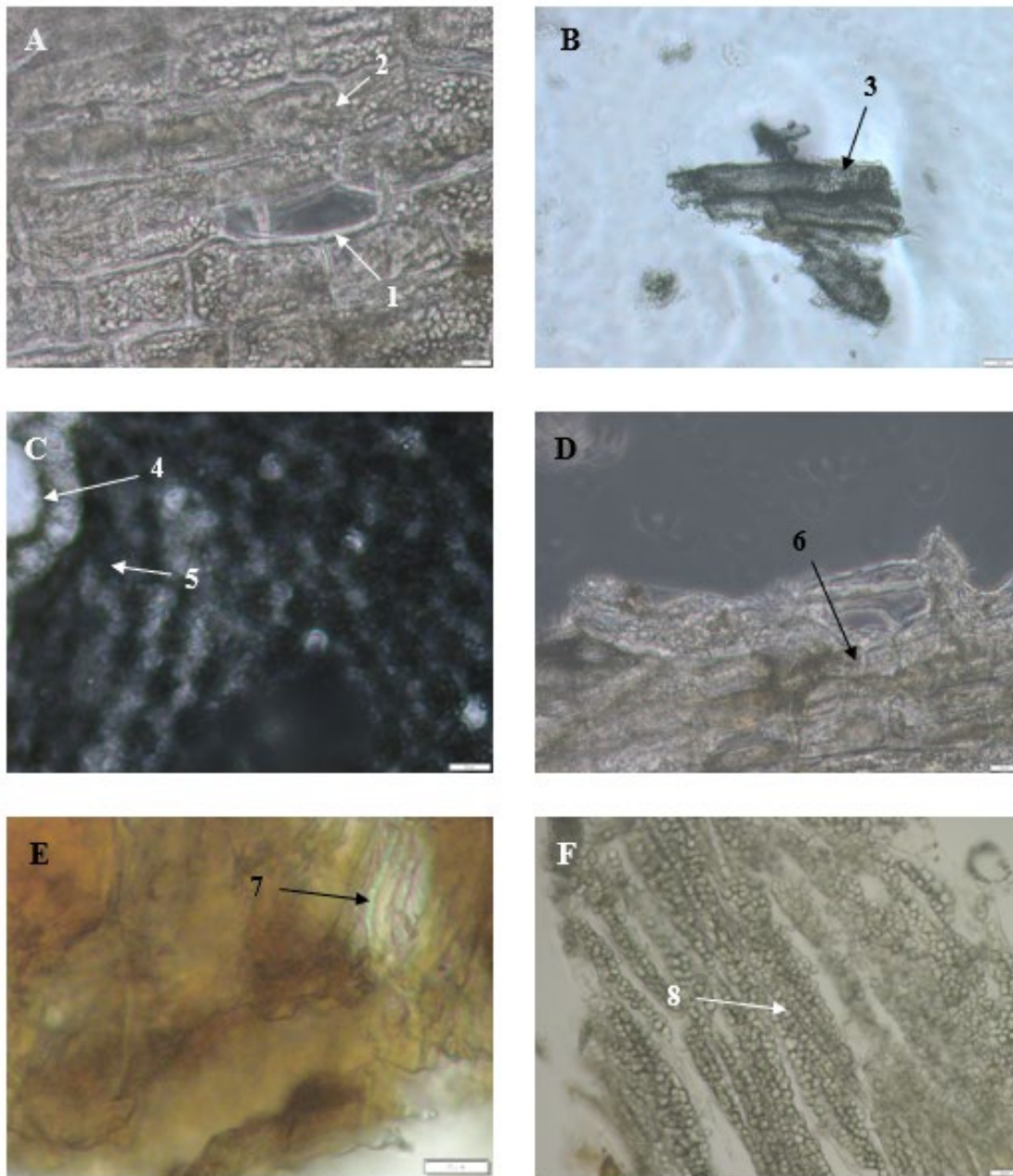
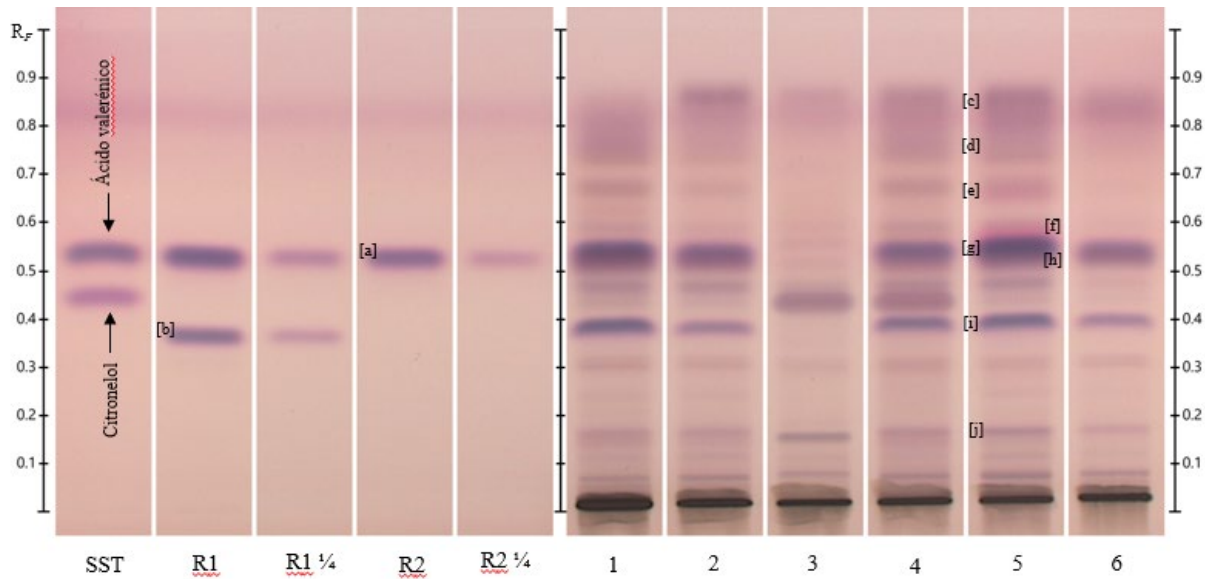


Figura 55. Identificación microscópica en las muestras de valeriana. **A.** Muestra VO2. Grupos ocasionales de esclereidas rectangulares con paredes moderadamente engrosadas y amplio lumen (1). Parénquima con células grandes ovoides (2). **B.** Muestra VO6. Vasos lignificados densamente reticulados, aislados o en pequeños grupos (3). **C y D.** Muestra VO1. Células alargadas de pared fina de la capa pilífera, con pelos radiculares o sus cicatrices (4). Capa pilífera acompañada de una capa subyacente con paredes ligeramente engrosadas o con punteadas (5). **E.** Muestra VO2. Tejido dérmico del rizoma compuesto por 1 o 2 filas de células poligonales con paredes irregularmente engrosadas (6). **F.** Muestra VO4. Algunos grupos de esclereidas con paredes gruesas y un lumen estrecho de la médula del rizoma (7). **G.** Muestra VO4. Numerosos gránulos de almidón, simples o compuestos, frecuentemente separados, redondeados o irregulares que suelen presentar una hendidura bastante indistinta o un hilio radiado (8). **Valor de escala en imágenes A, C, E y F:** 20 μm ; **B y D:** 50 μm .

B. Identificación por HPTLC

Con las diferentes muestras de valeriana, se ha obtenido el siguiente cromatograma:



Carril	Muestra	Carril	Muestra
SST	Ácido valerénico y citronelol	2	VO2
R1	Ácido acetoxivalerénico [a]	3	VO3
R1 ¼	Dilución ¼ de R de ácido acetoxivalerénico	4	VO4
R2	Ácido valerénico [b]	5	VO5
R2 ¼	Dilución ¼ de R de ácido valerénico	6	VO6
1	VO1		

Figura 56. HPTLC de los extractos de valeriana. Cromatograma obtenido para la identificación por HPTLC con luz blanca RT de disoluciones problema de valeriana después de derivatizar con anisaldehído R, incluyendo una tabla con la descripción de las disoluciones aplicadas en cada uno de los carriles.

Tabla 59. Evaluación visual del cromatograma de valeriana según Pharmedica.

Top of the plate	
[a] Valerenic acid: a violet zone [b] Acetoxyvalerenic acid: a violet zone	[c] A violet zone, faint to equivalent [d] A violet zone, very faint to faint [e] A brownish green zone, faint to equivalent (may be absent) (valtrate) [f] A pink zone, faint to equivalent (may be absent) [g] A violet zone, faint to intense (partly overlapping with the violet zone below) (valerenic acid) [h] A violet zone, faint to equivalent [i] A violet zone, faint to equivalent (acetoxyvalerenic acid) [j] A violet zone, faint to very faint (hydroxyvalerenic acid)
Reference solution (a)	Test solution

Como se puede observar en el cromatograma (Figura 56) y en la tabla 59, las muestras VO1, VO2 y VO5 contienen las bandas [c], [d], [g], [h], [i] y [j], descartando que la zona [g] a veces se solapa con una zona morada debajo, como se puede ver en los carriles 1, 2, 4, 5 y 6. La muestra VO5 presenta la zona [f] que estar presente o ausente, aunque ligeramente solapada con la zona [g]. La muestra VO6 no contiene la zona [d] aunque el resto de muestras sí. En los carriles 3 y 4, es decir, las muestras VO3 y VO4 solo presentan la zona [j], las zonas [d] y [e] pero con muy baja intensidad y la muestra VO4 también la zona [e], sin embargo, estas dos muestras contienen una zona grisácea morada, de intensidad moderada, con $R_F = 0,44$ que no debería estar presente.

C. Ensayos de pureza

Únicamente se ha detectado la presencia de pequeñas piedras, bases de tallos y otros elementos extraños no identificables en la muestra VO4 (sobre individual para infusión). En el resto de las muestras no se ha encontrado la presencia de elementos extraños.

VII.

DISCUSIÓN



Los trastornos del sueño y ansiedad son dos de los problemas de salud más frecuentes en la actualidad (CGPE, 2023; SEN, 2023). El consumo de los medicamentos de síntesis (ansiolíticos e hipnóticos) para estas patologías está incrementándose hoy en día (AEMPS, 2022), a pesar de que presentan notables efectos secundarios, tales como la tolerancia y dependencia (Edinoff et al., 2021). Por ello, se propuso estudiar el papel que tienen las plantas medicinales y la fitoterapia para el tratamiento de estas patologías en la Comunidad Valenciana, así como el grado de calidad de las muestras más comunes en los mercados especializados. Para llevarlo a cabo se han planteado varias facetas, desde el conocimiento de su consumo hasta la validación establecida principalmente por la Farmacopea Europea. Así se han organizado los resultados en tres capítulos diferentes. El capítulo 1 de la tesis incluye el estudio descriptivo que permite conocer cuáles son las plantas medicinales más utilizadas en la Comunidad Valenciana para los trastornos del sueño y ansiedad, el perfil del consumidor, así como otros parámetros relacionados con su consumo. Esta información ha servido para seleccionar 11 plantas medicinales y, con ellas, llevar a cabo un control de calidad de 100 muestras (capítulo 2), adquiridas en diferentes establecimientos. Algunas de las muestras son MTP o complementos alimenticios en los que en algunos se reconoce el fabricante y en otros no. El control de calidad se ha centrado en la identificación microscópica, identificación por HPTLC y determinación cualitativa de elementos extraños y contaminación animal y/o fúngica (capítulo 3).

Teniendo en cuenta los objetivos de este estudio, el perfil de consumidores de plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad son las mujeres (66%) de mediana edad (41-55 años), coincidiendo con los resultados del estudio de Sánchez et al. (2020). Esto puede ser debido a que las mujeres presentan mayores problemas para conciliar y mantener el sueño, así como para tratar la ansiedad (Tyrer et al., 2006; Pengo et al., 2018; Rumble et al., 2023). Como se aprecia en los resultados obtenidos en el capítulo 1, los individuos con estudios universitarios (30,6%) son los que consumen más plantas medicinales, datos que coinciden con los obtenidos por Sánchez et al. (2020), y que posiblemente sea debido a que estos usuarios están más informados sobre sus propiedades e indicaciones terapéuticas, aunque en un principio las hayan conocido y consumido en su entorno familiar. Ramet et al. (2023) indican que el estilo de vida está cambiando y por tanto también la manera de adquirir conocimientos debido a Internet. Antiguamente, los conocimientos se transmitían oralmente de generación en generación, pero actualmente, las nuevas tecnologías han facilitado el acceso a estos conocimientos. Por ello, Internet se ha convertido en la actualidad en la principal fuente de información sobre plantas medicinales para la mayoría de los jóvenes. Este hecho, sin embargo,

no es avalado por el trabajo de Tareau et al. (2017), en el cual solo un limitado número de entrevistados (23 individuos) contestaron que conocieron las plantas medicinales a través de redes sociales y otros medios de Internet.

Respecto a la frecuencia de uso de las plantas medicinales, se ha determinado que se consumen fundamentalmente de forma ocasional (51%), como se ratifica también en el estudio de Caro et al. (2020). Sin embargo, hay algunos individuos que las toman con mayor frecuencia. Sería interesante que los consumidores conocieran que las plantas medicinales poseen compuestos químicos responsables de su actividad farmacológica y, en consecuencia, de sus propiedades beneficiosas para la salud, pero también los causantes de los efectos secundarios y/o interacciones con otras plantas medicinales o medicamentos (Williamson et al., 2001; Spinella et al., 2002; Déciga-Campos et al., 2022), acciones a considerar cuando se consumen sobre todo diariamente o en combinación. Gran parte de la población desde antaño cree que las plantas medicinales no presentan efectos perjudiciales para la salud, a pesar de que se han descrito intoxicaciones (Farzaei et al., 2020), seguramente debido a su desconocimiento. Por ello, toda la población que consuma plantas medicinales simultáneamente con medicamentos bajo prescripción médica, deberían comunicarlo al médico. Del mismo modo, si se observa algún efecto adverso se debería notificar. En este sentido, se ha comprobado que la comunicación del consumo de plantas medicinales al médico de cabecera por parte del paciente es mayor en el caso de aquellos que toman medicación para los trastornos del sueño y ansiedad que los que la toman para otras patologías. Estos resultados indican que los consumidores de plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad están más concienciados de que lo que están tomando es un tratamiento y por tanto lo comunican a su médico. Sin embargo, Caro et al. (2020) reportaron en su estudio que los entrevistados en general no comunican a su médico el uso de la fitoterapia.

Las plantas medicinales se pueden adquirir en distintos tipos de establecimientos, como son supermercados, herboristerías, oficinas de farmacia, mercadillos, internet, etc. En la oficina de farmacia es el único lugar donde existe un profesional sanitario totalmente capacitado para realizar la atención farmacéutica adecuada en los casos que sea necesario. En este estudio, la población indicó que las compraban normalmente en el supermercado. Esto podría ser debido a su menor coste y en determinados casos por la mayor facilidad para su adquisición. Seguramente, es por ello por lo que, la forma farmacéutica seleccionada por excelencia ha sido la infusión, ya que es la mayoritaria en estos comercios o porque tradicionalmente se han consumido así. En las formas farmacéuticas de las plantas medicinales, el correcto uso y su

preparación son fundamentales para conseguir el efecto deseado. La decocción y la infusión son los principales métodos de preparación, tal como se ha observado en este estudio. La población que consume plantas medicinales en infusión suele ser más propensa a la automedicación. Los usuarios normalmente no suelen controlar el tiempo empleado en la extracción y por tanto se desconoce la cantidad de compuestos químicos que se habrán extraído (López Luengo, 2002; Sánchez et al., 2020). Justamente es en las infusiones donde se ha encontrado una mayor contaminación tanto microbiológica como animal en este estudio, al igual que citan Martins et al. (2001) y Kosalec et al. (2009), y podría ocasionar futuros problemas en la seguridad de los productos (Posadzki et al., 2013; De Sousa Lima et al., 2020). Caldeirão et al. (2021) destaca también la presencia de micotoxinas en las infusiones, aunque en este estudio no se ha realizado ese tipo de ensayo. Por el contrario, los comprimidos, cápsulas o grageas se utilizan comúnmente para la administración oral de plantas medicinales debido a su buena biodisponibilidad y adherencia terapéutica, mejorando así la dosificación y comodidad del paciente (López Luengo, 2002; Sánchez et al., 2020), aunque en este estudio no haya sido la opción más demandada.

Cabe destacar que, aunque los entrevistados indicaron que principalmente obtienen las plantas medicinales en supermercados, también señalan que son las de peor calidad, obteniendo así diferencias significativas entre el lugar de adquisición y la percepción de la peor calidad, lo que demuestra una curiosa contradicción, ya que, aun teniendo conocimiento de ello, las compran allí. La respuesta de los entrevistados coincide con los resultados analíticos obtenidos a partir de las muestras seleccionadas, como posteriormente se comentará. Por ello, hay que destacar la importancia de la calidad, seguridad y eficacia, tres requisitos fundamentales que hay que considerar en el desarrollo de los productos a base de plantas medicinales. Es esencial lograr una exhaustiva trazabilidad desde el momento de la recolección hasta la venta del producto al consumidor. La variabilidad extrínseca e intrínseca de las plantas medicinales presenta un papel crucial en el estado de la planta, afectando así a la composición cualitativa y cuantitativa de los compuestos químicos (Cañigüeral, 2013).

En el cuestionario de este estudio se incluyeron nueve plantas medicinales para que los entrevistados pudieran marcar cuál o cuáles utilizaban para los trastornos del sueño y ansiedad y había una casilla en la que podían escribir alguna otra que no estuviera, como han sido principalmente el naranjo amargo y/o hierbaluisa, también empleadas tradicionalmente para estas alteraciones (Suryawanshi et al., 2011; Abbaspoor et al., 2022; Martínez-Rodríguez et al., 2022). Todas las plantas medicinales presentes en el cuestionario han sido seleccionadas por los

entrevistados, predominando según el *Use Value*: valeriana, manzanilla, tila, pasiflora y melisa, tanto solas como combinadas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Caro et al. (2020), destacando en su estudio la valeriana como la planta medicinal más empleada para los trastornos del sueño y ansiedad, así como la pasiflora y la tila. En el estudio de Sánchez et al. (2020) también se cita a la valeriana como la planta medicinal más utilizada para el insomnio, y en el caso de Ascanio (2023) también se concluyó que valeriana, pasiflora y tila eran las más utilizadas, aunque en su estudio también se incluyó el empleo de la melatonina. Puchol (2017) describió en su tesis doctoral que las plantas más utilizadas como ansiolíticas y antidepresivas fueron tila, valeriana, melisa, pasiflora y naranjo amargo. En la presente tesis se ha visto una gran asociación entre todas ellas. La justificación de este uso mixto podría ser el sinergismo que existe entre las combinaciones de plantas medicinales al tener compuestos con diferente mecanismo de acción, como se ha comentado anteriormente (capítulo 2). Pocos individuos contestaron que las toman junto con otras sustancias, como la melatonina. La manzanilla y la tila son dos de las más utilizadas sin combinar. Puede ser debido a que las presentaciones realizadas por las empresas las fabrican así, aunque hay veces que se encuentran asociadas con otras plantas. Sin embargo, no existen estudios que indiquen el empleo de manzanilla y tila para los trastornos del sueño y ansiedad, aunque se han utilizado tradicionalmente para estas alteraciones, lo que se relaciona con que los individuos contesten que las conocen por costumbre en su familia.

Respecto a los resultados del control de calidad, se discuten los resultados por drogas vegetales en orden decreciente (del *Use Value*) del uso de las plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad en función de las respuestas de los entrevistados: raíz de valeriana, flor de tilo, flor de manzanilla, hoja de melisa, sumidad de pasiflora, hoja de hierbaluisa, flor de naranjo amargo, sumidad florida de amapola de California, hoja y flor de espinillo blanco, flor de lavanda y estróbilo de lúpulo.

En la identificación microscópica de la raíz de valeriana (*Valeriana officinalis*) no se han encontrado todos los caracteres en todas de las muestras. Concretamente, las esclereidas no se han determinado en gran parte de las muestras, esto puede ser debido a que son muestras muy secas, lo que dificulta la manipulación. Respecto a la identificación por HPTLC, según los criterios de la revista *Pharmeuropa*, las muestras VO1, VO2, VO5 y VO6 cumplen con los criterios de aceptación. Sin embargo, las muestras VO3 y VO4 contienen una zona que no debería estar presente, lo que conlleva a que podría ser una adulteración. En la HPTLC Association (*V. officinalis*) se muestran algunos cromatogramas de la raíz de valeriana para

facilitar la evaluación de los resultados, coincidiendo con las zonas descritas por la revista *Pharmeuropa* 34.1 (2022). Además, se indica que la zona anómala presente en las muestras VO3 y VO4 podría ser posibles adulteraciones. Respecto a la descripción del envase (capítulo 2) de estas dos muestras, en la VO3 no indica la planta medicinal o especie ya que es a granel y en la muestra VO4 simplemente describe que es valeriana. Por ello no se puede confirmar que sea una falsificación, aunque posiblemente con los resultados de la identificación, sí lo sea.

Respecto a la inflorescencia de tilo (*Tilia platyphyllos*, *T. cordata* o *Tilia* × *europaea*), en la identificación microscópica se ha visto que todas las muestras contienen tricomas estrellados con 5-8 ramificaciones, incluso algunas de ellas más de 8 ramificaciones, lo que confirma según la Ph. Eur. (Nº 0957) son *T. tomentosa* o *T. americana* y las que presentan más de 8 ramificaciones corresponderán a alguna otra especie no identificada. En la identificación por HPTLC presentan una zona verde determinante, excepto la TP0, no correspondiendo a las especies oficiales ya que según el Knowledge Database (Ph. Eur. Nº 0957) no debe estar presente porque es la determinante de que pertenecen a *T. tomentosa*. Además, en algunas de ellas se ha encontrado contaminación fúngica y/o animal (de la TP1 a la TP7 y de la TP11 a la TP13) a pesar de que presentan las zonas características citadas por la Ph. Eur. con mayor o menor intensidad (con la zona verde que no debería constar). Por tanto, ninguna de las muestras estudiadas corresponde con las especies oficiales. De hecho, en la descripción del envase (capítulo 2), son las mismas empresas las que describen su contenido incluyendo la especie, aunque no sean las oficiales, así como *Tilia* ssp. o simplemente tila. Concretamente, la TP12 se podría decir que es una falsificación, ya que en el envase describe que pertenece la *Tilia platyphyllos*. Esta variabilidad en las muestras estudiadas puede ser debido a la gran cantidad de hibridaciones que existen en esta especie (Lobdell et al., 2023).

En cuanto a los capítulos florales de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), en la identificación microscópica se han encontrado algunos de los caracteres citados por la Ph. Eur. (Nº 0404) en las diferentes muestras estudiadas, pero se destaca que en gran parte de las muestras no se observa el estigma, lo que puede ser debido a la maduración asíncrona de los estambres y el pistilo, a fin de evitar la autopolinización. El estilo crece a través del tubo que forman las anteras soldadas y los estigmas se abren a continuación, tras la maduración de las anteras. Respecto a la identificación por la HPTLC Association (*M. chamomilla*) no contiene un perfil cromatográfico determinado ni indica zonas que deban estar ausentes, por tanto, la intensidad de estas zonas es totalmente subjetiva, ya que no se ha encontrado ningún material de referencia para realizar la evaluación visual de los resultados obtenidos. En las muestras estudiadas, se

puede observar que la intensidad de las zonas es muy variada. Se ha visto contaminación en algunas de las muestras (de la MC1 a la MC3 y de MC6 a la MC10), donde la intensidad es muy tenue (siendo totalmente una visión subjetiva, ya que no se ha encontrado ningún material de referencia con que compararlo). Otras muestras como la MC5, MC20 y MC22 tienen un perfil similar y en éstas no se ha encontrado contaminación animal. Todas las muestras presentan elementos extraños, excepto la MC18 y MC24, a pesar de que la MC24 contiene las zonas muy tenues. En las descripciones de los envases (capítulo 2) de las muestras MC5, MC9 y MC22 resulta curioso que sea la misma empresa la que describa su producto comercializado como *Matricaria chamomilla* (planta y flor). Por tanto, es la misma empresa la que está indicando que contiene elementos extraños (planta) y además separa la planta de la flor, siendo todo planta y la flor uno de sus órganos.

Respecto a la hoja de melisa (*Melissa officinalis*), prácticamente en todas las muestras se han encontrado casi todos los caracteres de diagnóstico microscópicos establecidos en la Ph. Eur. (Nº 1447). A nivel fitoquímico se ha tomado como referencia la HPTLC Association (*M. officinalis*) y ésta no establece marcadores de intensidad. Por tanto, del mismo modo que ocurre en la manzanilla, la intensidad de las zonas es subjetiva. Particularmente, observando el cromatograma de esta droga vegetal, la muestra MO1 parece ser de baja calidad, ya que algunas zonas son de intensidad muy tenue o no se ven. También podría ser debido a que los compuestos químicos hayan sufrido algún proceso de alteración o degradación, como oxidación o hidrólisis (Komes et al., 2011). Aunque no se puede comparar porque los extractos son diferentes, al realizar la identificación de las muestras con la metodología de la Ph. Eur. (Nº 2524) para el extracto seco, pero utilizando el método de extracción de la HPTLC Association, se ha observado una mejor separación en algunas zonas porque en este caso la fase móvil es más resolutive, y posiblemente puede ser que detecte una mayor cantidad de compuestos químicos. Estas variaciones cromatográficas también pueden ser debidas a modificaciones por factores extrínsecos e intrínsecos correspondientes a cada de estas muestras. Se han determinado elementos extraños, como tallos, en las muestras MO1, MO2, MO3, MO6 y MO7, pero como se puede observar en el cromatograma, parece ser que no afecta a la identificación por HPTLC.

En la sumidad de pasiflora (*Passiflora incarnata*) se han determinado casi todos los caracteres de identidad microscópicos de la especie en las muestras estudiadas. En el caso de la identificación cromatográfica por HPTLC, se ha demostrado que cuatro de las muestras estudiadas cumplen los criterios de aceptación de la Ph. Eur. (Nº 1459) perteneciente al quimiotipo isovitexina. Por el contrario, dos de ellas (PI0 y PI4) no cumplen los criterios de

aceptación. Por último, la muestra PI3 presenta contaminación, aunque cumpla con los criterios del HPTLC. En el caso de la muestra PI4, el mismo envase describe que corresponde a la especie *Passiflora caerulea*, que no es oficial, por lo que ya la misma empresa es la que informa que el producto que están comercializando no corresponde con la droga oficial. La muestra PI0 es recolectada y no cumple fitoquímicamente, lo que puede ser debido a la gran variabilidad que existe en esta especie, perteneciendo posiblemente a otro quimiotipo no determinado, tal como se ha descrito en diferentes artículos (Wohlmuth et al., 2010; Almeida et al., 2021; Bokelmann et al., 2022).

En el caso de la hoja de hierbaluisa (*Aloysia citrodora*, *Lippia citrodora*, *Verbena triphylla*, *A. triphylla*) todas las muestras poseen los caracteres de identificación establecidos por la Ph. Eur. a nivel microscópico, por lo que cumplen con los criterios de aceptación para la droga oficial de la especie botánica, coincidiendo con Gattuso et al. (2008) que confirman que los tricomas que presenta *A. citrodora* son unicelulares. Para la identificación de la hoja de hierbaluisa (*A. citrodora*) por HPTLC, hay que considerar que la monografía de la Ph. Eur. (Nº 1834) presenta TLC, ya que aún no contiene la adaptación al capítulo 2.8.25 (HPTLC) lo que podría alterar algunos parámetros como la intensidad y el color de las zonas. La Ph. Eur. (Nº 1834) describe que no debe existir ninguna zona grisácea ($R_F = 0,40$) entre el arbutósido y rutósido, ya que en ese caso sería una falsificación (*Verbena officinalis*). Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de las muestras AC1 a la AC7, se observa una zona de intensidad muy débil, pero la intensidad es tan baja que no se puede asegurar que sea una adulteración o falsificación en el caso de que en el envase describa las especies oficiales (muestras AC1, AC2, AC4 y AC7). En el caso de la muestra AC0 podría ser otra variedad de *A. citrodora* con una composición química diferente (Peixoto et al., 2023) o una forma afectada por la variabilidad extrínseca o intrínseca. Sin embargo, comparando los resultados de identificación por HPTLC de este estudio con la HPTLC Association (*A. citrodora*) para la hoja de hierbaluisa, indica que si aparece esta zona grisácea ($R_F = 0,40$) se trata de *Verbena officinalis*, de acuerdo con lo establecido con la Ph. Eur. Finalmente, la descripción de la HPTLC Association (*Verbena officinalis*) para verbena señala que, si aparece esta zona, corresponde a dicha especie. Todas las muestras excepto la AC0 y AC4 contienen elementos extraños (tallos), aunque parece que no afectan a la identificación microscópica ni por HPTLC.

En el estudio de las muestras de flor de naranjo amargo (*Citrus × aurantium*), en la identificación microscópica, se ha observado que la muestra CA0 consta de los caracteres de diagnóstico de esta droga vegetal. En las muestras CA2, CA3 y CA4 no se han encontrado

granos de polen, lo que puede ser debido al grado de madurez de la flor o principalmente a que las flores que se encontraban en las muestras estaban todas abiertas incluidos los órganos dispersos en el envase. En las muestras CA1 y CA2 no se han determinado los tricomas tectores unicelulares en sépalos porque puede ser que se hayan caído ya que la gran mayoría de flores presentes en los envases eran flores abiertas. En la identificación por HPTLC, según los resultados obtenidos, se observa que solamente la muestra CA0 corresponde a la droga oficial (*Citrus × aurantium*), mientras que las muestras de CA1 a la CA4 pertenecen al naranjo dulce (Hänni et al., 2022). Sin embargo, cabe destacar que la especie *Citrus × aurantium* se considera sinónimo de *Citrus × sinensis* (WFO, 2024) y en los resultados obtenidos se puede diferenciar claramente que la muestra CA0 es naranjo amargo mientras que las muestras CA1 y CA4 pertenecen al naranjo amargo tipo II (una variedad de Hänni et al., 2022) y CA2 y CA3 corresponden al naranjo amargo tipo I (otra variedad citada por Hänni et al., 2022). En los envases de las muestras CA2 y CA4 se describe que corresponden a la especie *Citrus × aurantium*, pero al considerarse sinónimos, no se puede confirmar que sea una falsificación según la descripción. En los envases de las muestras CA1 y CA3, al ser a granel, no detalla la descripción del producto en el envase. A pesar de que la Ph. Eur. (Nº 1810) indica que la droga es la flor cerrada, Farag et al. (2020) describen en su estudio que los componentes químicos presentes en el fruto son distintos si es *Citrus × aurantium* o *Citrus × sinensis*. La principal diferencia en el cromatograma obtenido podría ser debido a que la flor de *Citrus × aurantium* contiene un mayor contenido en IntegroPectina (pectina rica en flavonoides y terpenos volátiles, principalmente el α -terpinol) y por tanto presenta más hesperidina y naringina (Farag et al., 2020; Scurria et al., 2022).

Respecto a la sumidad florida de *Eschscholzia californica*, la muestra EC0 cumple tanto los criterios de diagnóstico a nivel microscópico como los de identificación por HPTLC de la revista Pharmeuropa 35.2 (2022). Microscópicamente, en la muestra EC1 no se han encontrado todos los caracteres de identificación, pero en la identificación por HPTLC, esta muestra sí que cumple con los criterios de aceptación, aunque presente las zonas de intensidad baja.

En la hoja y flor de espino blanco (*Crataegus monogyna*, *C. azarolus*, *C. laevigata* o *C. pentagyna*), microscópicamente no se ha conseguido diferenciar la especie oficial a la que corresponden, pero sí se ha podido comprobar que corresponden a *C. monogyna*, *C. azarolus* o *C. laevigata* o sus híbridos (Ph. Eur Nº 1432). En la identificación por HPTLC, todas las muestras estudiadas corresponden a las especies *C. monogyna*, *C. azarolus* o *C. laevigata* o sus híbridos (Ph. Eur Nº 1432). Esto puede ser debido a la gran hibridación que existe entre las

especies y variedades del género *Crataegus*, lo que afecta a su composición química (Edwards et al., 2012). En las muestras CM1, CM2 y CM4 se ha determinado contaminación fúngica, no perjudicando la identificación microscópica ni por HPTLC.

En la identificación microscópica de la flor de lavanda (*Lavandula angustifolia*, *L. officinalis*) se ha observado que todas las muestras contienen los elementos de diagnóstico referidos en la monografía de la Ph. Eur. Sin embargo, en la identificación por HPTLC, solamente la muestra LA0 cumple con los criterios de aceptación de la Ph. Eur. (Nº 1534) para la *L. angustifolia*, ya que se ha visto que las muestras LA1 a la LA4 son híbridos correspondientes al 'lavandin flower' (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel), un híbrido entre *L. angustifolia* y *L. latifolia*. Esto podría ser debido a que como indican Pokajewicz et al. (2023a), el aceite esencial de lavandín es más resistente y produce mayor biomasa generando un mayor contenido de aceite esencial y por ello un mayor rendimiento. La composición química del aceite de lavandín es parecida al de *L. angustifolia* pero contiene más terpenos (alcanfor, borneol y 1,8-cineol), dando notas de alcanfor, menos valoradas en perfumería, lo que reduce el coste del producto final. El mayor contenido en alcanfor en el aceite esencial de lavandín varía no solo el olor, sino que puede potenciar el riesgo de toxicidad llegando a ocasionar efectos biocidas (Pokajewicz et al., 2023b). Por ello, como se ha comentado anteriormente, la única muestra que corresponde a la especie oficial es la muestra LA0. La muestra LA4 se podría considerar una falsificación, puesto que en la descripción del envase detalla que es *L. angustifolia*, por lo que es incorrecto según la identificación por HPTLC. En el envase de la muestra LA1 es la misma empresa la que indica que no es la especie oficial. Las muestras LA2 y LA3, al ser adquiridas a granel, se desconoce la descripción del producto. De las muestras estudiadas, excepto en la LA0, se detectó contaminación fúngica en todas ellas, lo que parece no afectar a ninguna de las dos identificaciones realizadas.

Respecto al estróbilo de lúpulo (*Humulus lupulus*), en todas las muestras estudiadas se han encontrado los caracteres de diagnóstico microscópicos establecidos en la monografía de la Ph. Eur. (Nº 1222). Sin embargo, al realizar la identificación por HPTLC de las muestras, se ha observado que la muestra HL0 contiene más compuestos químicos que el resto de las muestras. Esto puede ser debido a la cantidad de variedades existentes en esta especie y que cada una de ellas, contiene más o menos compuestos químicos, tales como la humulona, lupulona o xanthohumol (Min et al., 2023). Además, observando los resultados obtenidos, cabe destacar que con el protocolo de Camag (extracto metanólico) se pueden detectar más compuestos que

con el protocolo establecido por la Ph. Eur. (Nº 1222). Se han determinado elementos extraños en las muestras HL1 y HL2, conteniendo la muestra HL2 contaminación animal.

Por tanto, y a modo de resumen, se puede decir que las adulteraciones y falsificaciones se están convirtiendo en un problema generalizado, determinante desde el buen cultivo y recolección hasta la venta del producto en el comercio, como se ha comentado anteriormente (Cañigüeral et al., 2013; Posadzi et al., 2013; Mishra et al., 2015). Esto puede ser debido a la identificación incorrecta de las plantas, al desconocimiento de las especies oficiales, lo que afectará a la calidad del producto y por tanto a la seguridad del consumidor o por motivos económicos.

Considerando el envase de los productos en los que se encuentra descrito, se puede decir que, en la gran mayoría de las muestras estudiadas, siendo complementos alimenticios una gran parte, no se detalla correctamente el producto, lo que también podría generar cierta desconfianza en el consumidor que se fije en ello. Sin embargo, otros consumidores pueden pensar que son totalmente inocuas y las compran sin prestar atención a estos detalles.

Respecto al lugar de adquisición, las muestras obtenidas en supermercados y herboristerías son de peor calidad respecto a las adquiridas en oficinas de farmacia. Sin embargo, esto no es un requisito fundamental ya que lo principal es que sean de buena calidad.

Teniendo en cuenta que el material vegetal analizado en esta tesis procede de preparados vegetales producidos industrialmente y considerando los resultados obtenidos y analizados de las muestras adquiridas en distintos establecimientos, se destaca que existen una gran cantidad de factores tanto extrínsecos como intrínsecos totalmente desconocidos, incluyendo las posibles adulteraciones, las buenas prácticas agrícolas (GACP) y las buenas prácticas de fabricación (GMP) que influyen en estos procedimientos para demostrar la autenticidad de la especie, alterando tanto su morfología como el perfil cromatográfico.

Una posibilidad para optimizar este procedimiento y demostrar la autenticidad de las muestras en un futuro próximo, sería realizar la identificación mediante códigos de barras de ADN y PCR, realizando una biblioteca de referencia con una alta cobertura de especies, mediante métodos avanzados de secuenciación (Antil et al., 2023). Existen estudios (Li et al., 2015) en los que se utilizan marcadores de ADN probados para determinar su idoneidad para códigos de barras en grupos de plantas determinados, permitiendo detectar posibles adulteraciones con otras especies (Mishra et al., 2026). Li et al. (2015) sugieren que los códigos de barras específicos se utilicen cada vez más, proporcionando identificaciones moleculares rápidas y precisas a nivel de especies y poblaciones. Sin embargo, utilizando esta técnica se puede llegar

a autenticar la especie, pero no la composición química que contiene cada una de las muestras estudiadas, es decir, la identificación mediante un perfil cromatográfico es imprescindible para la determinación de estos compuestos y con ello garantizar una excelente calidad en los productos a base de plantas.

VIII.

CONCLUSIONES



Las conclusiones más relevantes que se destacan de los resultados obtenidos en la presente tesis son:

1. De los 703 individuos que consumen plantas medicinales para los trastornos del sueño y ansiedad, el perfil predominante es: mujer de mediana edad (41-55 años), con estudios universitarios y residente en municipios con una población superior a 5.000 habitantes.
2. Las plantas medicinales más utilizadas para los trastornos del sueño y ansiedad en la Comunidad Valenciana son, por orden decreciente, valeriana, tila, manzanilla, melisa y pasiflora.
3. La forma farmacéutica más utilizada es la infusión y su consumo es puntual, aunque en ocasiones se utilizan simultáneamente con medicamentos de síntesis. Los consumidores las adquieren fundamentalmente en supermercados, a pesar de que la mayoría tienen una percepción de la calidad peor respecto a las de otros establecimientos.
4. La mayoría de las muestras estudiadas son complementos alimenticios, y no se detalla correctamente el producto en el envase por lo que no se facilita su elección. En el caso de los medicamentos tradicionales a base de plantas, sí consta claramente la descripción del producto en el envase.
5. En las muestras de raíz de valeriana no hay relación entre la identificación microscópica de los caracteres de diagnóstico y el HPTLC, excepto en las muestras VO3 y VO4 que parecen ser adulteraciones, ya que en la identificación microscópica no se observan todos los caracteres y en el HPTLC, se identifica una zona claramente definida como adulteración.
6. En la flor de tilo se verifica que tanto con la identificación microscópica como con la identificación por HPTLC todas las muestras objeto de estudio son falsificaciones o no pertenecen a las especies oficiales citadas por la Farmacopea Europea.
7. En los capítulos florales de manzanilla no se ha encontrado una concordancia exacta entre la identificación microscópica y por HPTLC, sin embargo, algunas de las muestras objeto de estudio sí que se ven afectadas por la contaminación animal al compararlas en el perfil cromatográfico obtenido.
8. En la mayoría de las muestras de la hoja de melisa sí hay correspondencia entre la identificación microscópica y el perfil cromatográfico por HPTLC excepto en la muestra MO1 que hay cierta discrepancia.

9. En las muestras de sumidad de pasiflora no se observa correlación entre los caracteres de diagnóstico microscópicos y la identificación por HPTLC. Se han determinado la mayoría de los caracteres de identidad a nivel microscópico, pero en la identificación por HPTLC dos de las muestras (PI0 y PI4) no cumplen con los criterios de aceptación y otra muestra (PI3) aunque cumple con los criterios de identificación microscópica y por HPTLC, presenta contaminación animal.
10. Respecto a la hoja de hierbaluisa, en las muestras AC1-AC7 hay una coordinación parcialmente definida, pero en la identificación por HPTLC la muestra AC0 no cumple con los criterios de aceptación.
11. En las muestras de naranjo amargo existe una gran discrepancia entre la identificación de los caracteres de identidad a nivel microscópico y por HPTLC. Todas las muestras presentan los caracteres de diagnóstico microscópicos, sin embargo, en la identificación por HPTLC, solo la muestra CA0 presenta el perfil cromatográfico del naranjo amargo, mientras que las muestras CA1-CA4 corresponden al naranjo dulce, por lo que estas muestras se pueden considerar falsificaciones según la identificación por HPTLC.
12. En la amapola de California la muestra EC0 posee las características micromorfológicas y cromatográficas establecidas por Pharmedica, pero en la muestra EC1 hay cierta divergencia entre la identificación microscópica y por HPTLC.
13. En las muestras de hoja y flor de espinillo no se ha conseguido establecer una relación entre la identificación microscópica y por HPTLC. El perfil cromatográfico por HPTLC ha permitido detectar las especies *Crataegus monogyna*, *C. laevigata*, *C. azarolus* o híbridos entre ellos.
14. En las muestras de flor de lavanda se han determinado todos los caracteres de identidad microscópicos, pero en la identificación por HPTLC solamente la muestra LA0 cumple con los criterios de aceptación. Las muestras LA1-LA4 son falsificaciones, correspondiendo a una especie no oficial, concretamente al híbrido conocido como lavandín.
15. En el estróbilo de lúpulo, existe una gran concordancia entre la identificación microscópica y por HPTLC y todas las muestras cumplen con los criterios establecidos. La identificación con la metodología de Camag mejora notablemente la visualización de la composición química.
16. La identificación microscópica ayuda a verificar la autenticidad de la droga vegetal, pero el estado de las muestras seleccionadas se considera un factor limitante para la realización de este análisis, mientras que la identificación por HPTLC, permite reconocer la droga

vegetal en las diferentes muestras estudiadas, consiguiendo un perfil cromatográfico capaz de determinar la composición química. En ambos procedimientos, hay que considerar la variabilidad extrínseca e intrínseca de las muestras a analizar y se pueden determinar posibles adulteraciones y falsificaciones.

17. En este estudio, la determinación cualitativa de elementos extraños y/o contaminación animal y/o fúngica parece no afectar gravemente a la identificación microscópica y a la identificación por HPTLC.

IX.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



- AAV - Atlas de anatomía vegetal. Tejidos y órganos vegetativos. Arnaldoa. 2013; 20: 13–22.
- Abbaspoor Z, Siahposh A, Javadifar N, Faal Siahkal S, Mohaghegh Z, Sharifipour F. The effect of *Citrus aurantium* aroma on the sleep quality in postmenopausal women: A randomized controlled trial. Int J Community Based Nurs Midwifery. 2022; 10: 86–95.
- Acero N, Ortega T, Villagrasa V, León G, Muñoz-Mingarro D, Castillo E, et al. Phytotherapeutic alternatives for neurodegenerative dementias: Scientific review, discussion and therapeutic proposal. Phytother Res. 2023; 37: 1176–1211.
- AEMPS – Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. 2022. Consultado [3 de enero de 2023]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/medicamentos-de-uso-humano/observatorio-de-uso-de-medicamentos/informes-ansioliticos-hipnoticos/>
- Aguilar J, Leyva E, Loredó-Carrillo SE. Importancia de los productos naturales provenientes de las plantas a través de la historia. Química y Desarrollo. Boletín de la Sociedad Química de México. Disponible en https://bsqm.org.mx/pdf-boletines/V17/V17N3/BSQM231703_iProductosNat.pdf
- Al-Snafi A. *Eschscholzia californica*: a phytochemical and pharmacological -review. Indo Am J P Sci. 2017; (02): 257–263.
- Almeida V, Silva C, Rodrigues Valadares, P. Flavonoids of *Passiflora*: isolation, structure elucidation, and biotechnological application. En: Studies in Natural Products Chemistry 2021; 71: 263–310.
- APA - American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition, Text Revision (DSM-5-TR). 2022; 5 (5). Las Vegas: American Psychiatric Association.
- Andrón A, Arboix M, García G, Martín del Castillo JM, Ortega Hernández-Agero T, Sánchez J, et al. Líneas directrices del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) para la evaluación de complementos alimenticios elaborados a base de componentes de origen vegetal y sus preparaciones. Rev Com Cient AESAN. 2007; 1: 9–34.
- Antil S, Abraham JS, Sripoorna S, Maurya S, Dagar J, Makhija S, et al. DNA barcoding, an effective tool for species identification: a review. Mol Biol Rep. 2023; 50: 761–775.
- Appel K, Rose T, Fiebich B, Kammler T, Hoffmann C, Weiss G. Modulation of the γ -aminobutyric acid (GABA) system by *Passiflora incarnata* L. Phytother Res. 2010; 25: 838–843.
- Arnaud C, Gauthier P, Gottesmann C. Study of a GABA_A receptor antagonist on sleep-waking behavior in rats. Psychopharmacology. 2001;154: 415–419.

- Ascanio EM. Estudio del uso de plantas medicinales para la ansiedad y el insomnio en la población canaria. Riull. Repositorio Institucional. Universidad de la Laguna. [Internet]. 2023. Disponible en: <https://riull.ull.es/xmlui/handle/915/33979>
- Asher GN, Corbett AH, Hawke RL. Common herbal dietary supplement-drug interactions. *Am Fam Phys*. 2017; 96: 101–107.
- Auf'mkolk M, Ingbar JC, Amir SM, Winterhoff H, Sourgens H, Hesch RD, et al. Inhibition by certain plant extracts of the binding and adenylate cyclase stimulatory effect of thyrotropin in human thyroid membranes*. *Endocrinology*. 1984; 115: 527–534.
- Bahramsoltani R, Rostamiasrabadi P, Shahpiri Z, Marques AM, Rahimi R, Farzaei MH. *Aloysia citrodora* Paláu (Lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol*. 2018; 222: 34–51.
- Barquero AA. Plantas sanadoras: pasado, presente y futuro. *Quim Viva*. 2007; 6: 19–35.
- Beck MA, Häberlein H. Flavonol glycosides from *Eschscholtzia californica*. *Phytochemistry*. 1999; 50: 329–332.
- Beniaich G, Salim R, Ech-chihbi E, El-Hajjaji F, Rais Z, Abdellaoui A, et al. Ethnobotanical survey about medicinal plants used in traditional treatment of insomnia, asthenia, and oral and gum infections in the region Fez-Meknes, Morocco. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021; 29: 133–145.
- Benkherouf AY, Eerola K, Soini SL, Uusi-Oukari M. Humulone modulation of GABA_A receptors and its role in hops sleep-promoting activity. *Front Neurosci*. 2020; 14: 594708.
- Bilia AR, Costa MDC. Medicinal plants and their preparations in the European market: Why has the harmonization failed? The cases of St. John's wort, valerian, ginkgo, ginseng, and green tea. *Phytomedicine*. 2021; 81: 153421.
- Bocquet L, Sahpaz S, Hilbert JL, Rambaud C, Rivière C. *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. *Phytochem Rev*. 2018; 17: 1047–1090.
- Bokelmann, JM. Passionflower (*Passiflora incarnata*): (Flowering Vine). In: Medicinal Herbs in Primary Care. Amsterdam: Elsevier. Part 3. 2022; pag. 515–522.
- Borrás S, Martínez-Solís I, Ríos JL. Medicinal plants for insomnia related to anxiety: An updated review. *Planta Med*. 2021; 87: 738–753.
- Borza L. Cognitive-behavioral therapy for generalized anxiety. *Dialogues Clin Neurosci*. 2017; 19: 203–208.
- Boyadzhiev L, Kancheva D, Gourdon C, Metcheva D. Extraction of valerenic acids from valerian (*Valeriana officinalis* L.) rhizomes. *Pharmazie*. 2004; 59: 727–728.

- Bragg S, Benich J, Christian N, Visserman J, Freedy J. Updates in insomnia diagnosis and treatment. *Int J Psychiatry Med*. 2019; 54: 275–289.
- Bruni O, Ferini-Strambi L, Giacomoni E, Pellegrino P. Herbal remedies and their possible effect on the GABAergic system and sleep. *Nutrients*. 2021; 13: 530.
- Cai L. Thin layer chromatography. *Curr Protocols Essential Lab Techn*. 2014; 8: 6.3.1–18.
- Caro R, Carrera J, Cabello M, Guerrero B, Ovelar C, Ennme I, et al. Uso de plantas medicinales en la provincia de Sevilla. *Rescifar*. 2020; 1: 138–147.
- Carskadon MA, Dement WC. Monitoring and staging human sleep. *Princ Pract Sleep Med*. 2011; 5: 16–26.
- Castroviejo S (coordinador general). *Flora Ibérica* 1-8, 10-15, 17-18, 21. Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC. 1986–2012.
- Cañigual S, Dellacassa E, Bandoni AL. Plantas medicinales y fitoterapia: ¿Indicadores de dependencia o factores de desarrollo? *Acta Farm. Bonaerense*. 2003; 22: 265–278.
- Cañigual S. Medicamentos a base de plantas: el reto de la calidad y la Farmacopea como herramienta para alcanzarla. *Rev Fitoter*. 2013; 13: 101–122.
- Cañigual S, Frommenwiler D, Reich E, Vila R. High performance thin-layer chromatography (HPTLC) in the quality control of herbal products. *Recent Adv Pharm Sci VIII*. 2018: 119–136.
- Caldeirão L, Sousa J, Nunes LCG, Godoy HT, Fernandes JO, Cunha SC. Herbs and herbal infusions: Determination of natural contaminants (mycotoxins and trace elements) and evaluation of their exposure. *Food Res Int*. 2021; 144: 110322.
- CE – Consejo de Europa. 22 de julio de 1964: se abre a la firma el Convenio sobre la Elaboración de una Farmacopea Europea. 2023. Consultado [1 abril 2024]. Disponible en: <https://www.coe.int/es/web/portal/-/22-july-1964-convention-on-the-elaboration-of-a-european-pharmacopoeia-opened-for-signature>
- CGCF – Consejo General de Colegios de Farmacéuticos. Disponible en: <https://www.farmaceuticos.com/>
- CGPE – Consejo General de la Psicología de España. Aumentan las consultas en atención primaria por ansiedad, problemas de sueño y depresión. *INFOCOP*. 2023. Consultado [24 marzo 2024]. Disponible en: <https://www.infocop.es/aumentan-las-consultas-en-ap-por-ansiedad-problemas-de-sueno-y-depresion/>
- Chan NY, Chan JWY, Li SX, Wing YK. Non-pharmacological approaches for management of insomnia. *Neurotherapeutics*. 2021; 18: 32–43.

- Chellappa SL, Aeschbach D. Sleep and anxiety: From mechanisms to interventions. *Sleep Med Rev.* 2022; 61: 101583.
- Chen X, Zhang L, Qian C, Du Z, Xu P, Xiang Z. Chemical compositions of essential oil extracted from *Lavandula angustifolia* and its prevention of TPA-induced inflammation. *Microchem J.* 2020; 153: 104458.
- COFA – Colegio Oficial de Farmacéuticos de Alicante. Umayya A. Tratado de los medicamentos simples. Alicante: Colegio Oficial de Farmacéuticos de la Provincia de Alicante; 1999, pag. 17–56.
- COFM – Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid. Las ventas de plantas medicinales en la farmacia aumentan de forma significativa en el confinamiento. INFITO. 2020. Consultado [9 enero 2024]. Disponible en: <https://www.cofm.es/es/comunicacion/noticias/las-ventas-de-plantas-medicinales-en-la-farmacia-aumentan-de-forma-significativa-en-el-confinamiento.html>
- Costa M. La vegetación y el Paisaje de las Tierras Valencianas. Madrid: Editorial Rueda; 1999.
- Cui M, Cheng L, Zhou Z, Zhu ZA, Liu Y, Li C, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and safety concerns of hawthorn (*Crataegus* genus): A comprehensive review. *J Ethnopharmacol.* 2024; 319 (Pt 2): 117229.
- Cunnington D, Junge MF, Fernando AT. Insomnia: prevalence, consequences and effective treatment. *Med J Aust.* 2013; 199: 36–40.
- D'Ambrogio A. Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Buenos Aires: Hemisferio Sur; 1986.
- Déciga-Campos M, Ventura-Martínez R, González-Trujano ME, Silveira D. Editorial: Pharmacological interaction between drugs and medicinal plants. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 1081090.
- Della Monica C, Johnsen S, Atzori G, Groeger JA, Dijk DJ. Rapid eye movement sleep, sleep continuity and slow wave sleep as predictors of cognition, mood, and subjective sleep quality in healthy men and women, aged 20-84 years. *Front Psychiatry.* 2018; 9: 255.
- Depner CM, Stothard ER, Wright KP Jr. Metabolic consequences of sleep and circadian disorders. *Curr Diab Rep.* 2014; 14: 507.
- De Sousa Lima CM, Fujishima MAT, de Paula Lima B, Mastroianni PC, de Sousa FFO, da Silva JO. Microbial contamination in herbal medicines: a serious health hazard to elderly consumers. *BMC Complement Med Ther.* 2020; 20: 17.

- Do TKT, Trettin I, De Vaumas R, Cañigüeral S, Valder C, Reich E. Proposal for a standardized method for the identification of essential oils by HPTLC. *Pharmeur Bio Sci Notes*. 2021: 157–166.
- Dobros N, Zawada KD, Paradowska K. Phytochemical profiling, antioxidant and anti-inflammatory activity of plants belonging to the *Lavandula* genus. *Molecules*. 2022; 28: 256.
- Edinoff AN, Nix CA, Hollier J, Sagrera CE, Delacroix BM, Abubakar T, et al. Benzodiazepines: uses, dangers, and clinical considerations. *Neurol Int*. 2021;13: 594–607.
- Edwards JE, Brown PN, Talent N, Dickinson TA, Shipley PR. A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*. 2012; 79: 5–26.
- EFSA - European Food Safety Authority. Botanical. 2023. Consultado [7 marzo 2024]. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/botanical-summary-report>.
- EMA - European Medicines Agency. Good agricultural and collection practice for starting materials of herbal origin - Scientific guideline. 2006. Consultado [18 marzo 2024]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/good-agricultural-collection-practice-starting-materials-herbal-origin-scientific-guideline>.
- EMA - European Medicines Agency. Eschscholziae herba - medicinal product. 2015. Consultado [27 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/eschscholziae-herba>.
- EMA - European Medicines Agency. Crataegi folium cum flore - herbal medicinal product. 2016. Consultado [27 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/crataegi-folium-cum-flore>.
- EMA - European Medicines Agency. Melissae folium - herbal medicinal product. 2013. Consultado [27 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/melissae-folium>.
- EMA - European Medicines Agency Lavandulae flos - herbal medicinal product- herbal medicinal product. 2019. Consultado [21 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/lavandulae-flos>.
- EMA - European Medicines Agency. Verbenae citriodora folium - herbal medicinal product. 2019. Consultado [23 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/verbenae-citriodora-folium>.
- Fahn A. Anatomía Vegetal. Madrid: Ed. Pirámide. 1982.

- Farag MA, Abib B, Ayad L, Khattab AR. Sweet and bitter oranges: An updated comparative review of their bioactives, nutrition, food quality, therapeutic merits and biowaste valorization practices. *Food Chem.* 2020; 331: 127306.
- Farzaei MH, Bayrami Z, Farzaei F, Aneva I, Das SK, Patra JK, et al. Poisoning by medical plants. *Arch Iran Med.* 2020; 23: 117–127.
- Fedurco M, Gregorová J, Šebrlová K, Kantorová J, Peš O, Baur R, et al. Modulatory effects of *Eschscholzia californica* alkaloids on recombinant GABA_A receptors. *Biochem Res Int.* 2015; 617620.
- Ferguson JM. SSRI antidepressant medications: adverse effects and tolerability. *JCP.* 2001; 3: 22–27.
- Fitoterapia.net. Disponible en: <https://www.fitoterapia.net/>
- Flight L, Julious A. Practical guide to sample size calculations: an introduction. *Pharm Statist.* 2016; 15: 68–74.
- García Toro, L. Siete de cada diez españoles dice tomar plantas medicinales. INFITO. 2015. Consultado [13 enero 2024]. Disponible en: <https://www.infito.com/comunicacion/prensa/2015/espanoles-toman-plantas-medicinales-tratamiento-prevencion/>
- Gattuso S, Van Baren CM, Gil A, Bandoni A, Ferraro G, Gattuso M. Morpho-histological and quantitative parameters in the characterization of lemon verbena (*Aloysia citriodora Palau*) from Argentina. *B Latinoam Caribe Pl.* 2008; 7: 190–198.
- GPC-SNS - Guías de Práctica Clínica. Madrid. Agencia Laín Entralgo. Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. 2008.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova.* 2007; 30: 374–381.
- Golem DL, Martin-Biggers JT, Koenings MM, Davis KF, Byrd-Bredbenner C. An integrative review of sleep for nutrition professionals. *Adv Nutr.* 2014; 5: 742–759.
- Gottesmann C. GABA mechanisms and sleep. *Neuroscience.* 2002; 111: 231–239.
- Grandner MA. Sleep, health, and society. *Sleep Med Clin.* 2017; 12: 1–22.
- Grundmann O, Wang J, McGregor GP, Butterweck V. Anxiolytic activity of a phytochemically characterized *Passiflora incarnata* extract is mediated via the GABAergic system. *Planta Med.* 2008; 74: 1769–1773.
- Grytsyk A., Posatska N., Svirská S. Macroscopic and microscopic morphological features of *Verbena L.* Species. *Sciences of Europe.* 2020; 60: 35.
- Gunja N. The clinical and forensic toxicology of Z-drugs. *J Med Toxicol.* 2013; 9: 155–162.

- Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med.* 2006; 27: 1–93.
- Guía para la prescripción, dispensación o recomendación de productos fitoterápicos. Consultado [21 de marzo de 2024]. Disponible en: <https://www.fitoterapia.net/publicaciones/tutoriales/tutorial-guia-para-prescripcion-dispensacion-2242.html>.
- GVA – Generalitat Valenciana. 2019. Plan Territorial de Emergencia de la Comunitat Valenciana. Consultado [14 de febrero de 2022]. Disponible en: https://www.112cv.gva.es/documents/163565706/163566493/15_D119_203_PTECV.pdf/e76b8233-a9c8-4109-8afe-42faf25a4c3e.
- GVA – Generalitat Valenciana. 2022a. El territorio forestal de la Comunitat Valenciana. Consultado [14 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://agroambient.gva.es/es/web/medio-natural/montes/>
- GVA – Generalitat Valenciana. 2022b. Banco de datos municipal. Datos estadísticos. Demografía. Consultado [9 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://pegv.gva.es/es/informacion-municipal>.
- Hänni M, Peter S, Wolfram E, Meier B. Evaluation and optimization of HPTLC and assay methods for *Aurantii amari flos* and *Aurantii dulcis flos*. *Z Phytother.* 2022; 43: S32.
- Hardeland R. Melatonin in aging and disease -multiple consequences of reduced secretion, options and limits of treatment. *Aging and disease.* 2012; 3: 194–225.
- HPTLC Association. HPTLC method for European vervain herb. *Aloysia citrodora*. [Online]. Disponible en: <https://www.hptlc-association.org/home.cfm>.
- HPTLC Association. HPTLC method for European vervain herb. *Verbena officinalis*. [Online]. Disponible en: <https://www.hptlc-association.org/home.cfm>.
- HPTLC Association. HPTLC method for *Lavandula angustifolia* (Lavander Flower). [Online] Disponible en: <https://www.hptlc-association.org/home.cfm>.
- HPTLC Association. HPTLC method for identification B Flavonoids Profile for *Matricaria chamomilla* – flower heads. [Online]. Disponible en: <https://www.hptlc-association.org/home.cfm>.
- HPTLC Association. HPTLC method for Melissa leaf. *Melissa officinalis*. [Online]. Disponible en: <https://www.hptlc-association.org/home.cfm>.
- HPTLC Association. HPTLC method for Valerian root. *Valeriana officinalis*. [Online]. Disponible en: <https://www.hptlc-association.org/home.cfm>.

- HPTLC Identification methods. Camag Laboratory. Hops strobile (*Humulus lupulus*). Method document Hop Strobile Laboratory. Camag. Created by DAr/30 May 2012. Released by AA/02. Jun 2015.
- Hosseini SH, Sadeghi Z, Hosseini SV, Bussmann RW. Ethnopharmacological study of medicinal plants in Sarvabad, Kurdistan province, Iran. *J Ethnopharmacol.* 2022; 288: 114985.
- Hulsegge G, Loeff B, van Kerkhof LW, Roenneberg T, van der Beek AJ, Proper KI. Shift work, sleep disturbances and social jetlag in healthcare workers. *J Sleep Res.* 2019; 28: e12802.
- INE - Instituto Nacional de Estadística. 2018. Population by Autonomous Community and Autonomous City and size of municipalities. Consultado [12 abril 2019]. Disponible en: <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?t=2915/>
- INE - Instituto Nacional de Estadística. 2021. Number of municipalities by Autonomous Community and province and size of municipality. Consultado [12 abril 2019]. Disponible en: <https://www.ine.es/jaxi/Tabla.htm?path=/t20/e245/p04/provi/10/&file=0tamu001.px&L=0/>
- Jembrek MJ, Vlavinic J. GABA Receptors: pharmacological potential and pitfalls. *Curr Pharm Des.* 2015; 21: 4943–4959.
- Jiménez Barca A. Las mujeres en España duermen peor que los hombres y se medican más para lograrlo. *El País* [Internet]. 25 de febrero de 2024. Consultado [23 marzo 2024]. Disponible en: <https://elpais.com/salud-y-bienestar/2024-02-25/las-mujeres-en-espana-duermen-peor-que-los-hombres-y-se-medican-mas-para-dormir.html#>
- Jiménez-Ferrer E, Santillán-Urquiza MA, Alegría-Herrera E, Zamilpa A, Noguerón-Merino C, Tortoriello J, et al. Anxiolytic effect of fatty acids and terpenes fraction from *Aloysia triphylla*: Serotonergic, GABAergic and glutamatergic implications. *Biomed Pharmacother.* 2017; 96: 320–327.
- Khom S, Baburin I, Timin E, Hohaus A, Trauner G, Kopp B, et al. Valerenic acid potentiates and inhibits GABA_A receptors: molecular mechanism and subunit specificity. *Neuropharmacology.* 2007; 53: 178–187.
- Kneifel W, Czech E, Kopp B. Microbial contamination of medicinal plants-a review. *Planta Med.* 2002; 68: 5–15.
- Komes D, Belščak-Cvitanović A, Horžić D, Rusak G, Likić S, Berendika M. Phenolic composition and antioxidant properties of some traditionally used medicinal plants affected by the extraction time and hydrolysis. *Phytochem Anal.* 2011; 22: 172–180.

- Kosalec I, Cvek J, Tomić S. Contaminants of medicinal herbs and herbal products. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2009; 60: 485–501.
- Kumar D, Sharma, U. High-performance thin-layer chromatography: An economical alternative for the quality control of medicinal plants and derived products. *Sep Sci plus.* 2018; 1: 100–134.
- La Vanguardia. 28 de octubre de 2015. Consultado [15 enero 2024]. Disponible en: <https://www.lavanguardia.com/local/valencia/20151028/54437513674/un-64-de-valencianos-afirma-tomar-plantas-medicinales-segun-estudio-infito.html>
- Le Bon O. Relationships between REM and NREM in the NREM-REM sleep cycle: a review on competing concepts. *Sleep Med.* 2020; 70: 6–16.
- Lemoine P, Bablon JC, Da Silva C. A combination of melatonin, vitamin B₆ and medicinal plants in the treatment of mild-to-moderate insomnia: A prospective pilot study. *Complement Ther Med.* 2019; 45: 104–108.
- Lim DC, Najafi A, Afifi L, Bassetti C, Buysse DJ, Han F, et al. The need to promote sleep health in public health agendas across the globe. *Lancet Public Health.* 2023; 8: e820–e826.
- Li X, Yang Y, Henry RJ, Rossetto M, Wang Y, Chen S. Plant DNA barcoding: from gene to genome. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2015; 90: 157–166.
- Li Y, Kong D, Fu Y, Sussman MR, Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiol Biochem.* 2020; 148: 80–89.
- Lobdell MS, Jablonsk EJ, Worcester LB. Register of *Tilia* cultivars. *HortScience.* 2023; 58: 341–363.
- López Luengo MT. Formas de administración más habituales de plantas medicinales. *Offarm.* 2002; 21: 122–125.
- López V, Nielsen B, Solas M, Ramírez MJ, Jäger AK. Exploring pharmacological mechanisms of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on central nervous system targets. *Front Pharmacol.* 2017; 8: 280.
- Manda VK, Ibrahim MA, Dale OR, Kumarihamy M, Cutler SJ, Khan IA, et al. Modulation of CYPs, P-gp, and PXR by *Eschscholzia californica* (California Poppy) and its alkaloids. *Planta Med.* 2016; 82: 551–558.
- Martinelli F, Perrone A, Yousefi S, Papini A, Castiglione S, Guarino F, et al. Botanical, phytochemical, anti-microbial and pharmaceutical characteristics of hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.), Rosaceae. *Molecules.* 2021; 26: 7266.

- Martínez-Rodríguez A, Martínez-Olcina M, Mora J, Navarro P, Caturla N, Jones J. Anxiolytic effect and improved sleep quality in individuals taking *Lippia citriodora* extract. *Nutrients*. 2022; 14: 218.
- Martins HM, Martins ML, Dias MI, Bernardo F. Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions. *Int J Food Microbiol*. 200; 68: 149–153.
- McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res*. 2006; 20: 519–530.
- Mieda M, Hasegawa E, Kisanuki YY, Sinton CM, Yanagisawa M, Sakurai T. Differential roles of orexin receptor-1 and -2 in the regulation of non-REM and REM sleep. *Neuroscience*. 2011; 31: 6518–6526.
- Miroddi M, Calapai G, Navarra M, Minciullo PL, Gangemi S. *Passiflora incarnata* L.: ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials. *J Ethnopharmacol*. 2013; 150: 791–804.
- Min B, Ahn Y, Cho HJ, Kwak WK, Jo K, Suh HJ. Chemical compositions and sleep-promoting activities of hop (*Humulus lupulus* L.) varieties. *J Food Sci*. 2023; 88: 2217–2228.
- Mishra P, Kumar A, Nagireddy A, Mani DN, Shukla AK, Tiwari R, Sundaresan V. DNA barcoding: an efficient tool to overcome authentication challenges in the herbal market. *Plant Biotechnol J*. 2016;14: 8–21.
- Monti JM. Serotonin control of sleep-wake behavior. *Sleep Med Rev*. 2011; 15: 269–281.
- Monge A. El descubrimiento de fármacos a partir de plantas. *Cien Invest*. 2003; 6: 36–39.
- Muñoz JM. ¿Qué caracteriza a la medicina Ayurveda en Sri Lanka y cómo influye sobre la realidad social de la población? *Evidentia*. 2010; 7: (31).
- Murrough JW, Yaqubi S, Sayed S, Charney DS. Emerging drugs for the treatment of anxiety. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2015; 20: 393–406.
- Muyumba NW, Mutombo SC, Sheridan H, Nachtergaeel A, Duez P. Quality control of herbal drugs and preparations: The methods of analysis, their relevance and applications. *Talanta Open*. 2021; 4: 100070.
- Nandhini S, Narayanan KB, Ilango K. *Valeriana officinalis*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Asian J Pharm Clin Res*. 2018; 11: 36–41.
- Ohayon MM, Carskadon MA, Guilleminault C, Vitiello MV. Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep*. 2004; 27: 1255–1273.

- OCU - Organización de Consumidores y Usuarios. España, líder en consumo de benzodiazepinas. 13 de mayo de 2022. Consultado [27 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.ocu.org/salud/medicamentos/noticias/consumo-psicofarmacos>
- Pace-Schott E, Hobson J. The Neurobiology of sleep: Genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat Rev Neurosci*. 2002; 3: 591– 605.
- Patwardhan B, Warude D, Pushpangadan P, Bhatt N. Ayurveda and traditional Chinese medicine: a comparative overview. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2005; 2: 465– 473.
- Pavlova KM, Latreille V. Sleep disorders. *Am J Med*. 2019;132: 292–299.
- Peixoto JAB, Álvarez-Rivera G, Costa ASG, Machado S, Cifuentes A, Ibáñez E, et al. Contribution of phenolics and free amino acids on the antioxidant profile of commercial lemon verbena infusions. *Antioxidants*. 2023; 12: 251.
- Pengo MF, Won CH, Bourjeily G. Sleep in Women Across the Life Span. *Chest*. 2018; 154: 196–206.
- Peraíta M. Los jóvenes sí saben que un mal uso de las tecnologías influye en su salud mental. ABC [Internet] 21 de noviembre de 2023. Consultado [5 marzo 2024]. Disponible en: <https://www.abc.es/familia/padres-hijos/jovenes-saben-mal-uso-tecnologias-influye-salud-20231121151204-nt.html?ref=https%3A%2F%2Fwww.abc.es%2Ffamilia%2Fpadres-hijos%2Fjovenes-saben-mal-uso-tecnologias-influye-salud-20231121151204-nt.html>.
- Ph. Eur. – European Pharmacopoeia. 11^a ed., Supplement 11.5. EDQM - European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care. Strasbourg: Council of Europe. 2023.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 1810 in European Pharmacopoeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1424–1425.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 1432 in European Pharmacopoeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1551–1552.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 1222 in European Pharmacopoeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1556–1557.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 1534 in European Pharmacopoeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1579–1580.

- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 1438 in European Pharmacopeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1583–1585.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 0957 in European Pharmacopeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1588–1589.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 0404 in European Pharmacopeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1611–1612.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 1447 in European Pharmacopeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1618–1619.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 2524 in European Pharmacopeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1619–1620.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Herbal drug, monograph N° 1459 in European Pharmacopeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2022, pag. 1657–1658.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Chapter 2.8. Methods in Pharmacognosy, N° 20801 in European Pharmacopeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2008, 11.0, pag. 321–341.
- Ph. Eur. – European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (EDQM), Chapter 2.8.25: High-performance thin-layer chromatography of herbal drugs and herbal preparations, monograph N° 20825 in European Pharmacopeia, 11.5. Strasbourg: Council of Europe. 2020, 11.0, pag. 334–335.
- Pharmeuropa 34.1; PA/PH/Exp. 13B/T (21) 55 ANP.
- Pharmeuropa 35.2; PA/PH/Exp. 13A/T (20) 26 ANP.
- Posadzki P, Watson L, Ernst E. Contamination and adulteration of herbal medicinal products (HMPs): an overview of systematic reviews. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013; 69: 295–307.
- Pokajewicz K, Czarniecka-Wiera M, Krajewska A, Maciejczyk E, Wieczorek PP. *Lavandula × intermedia* – A bastard lavender or a plant of many values? Part I. Biology and chemical composition of lavandin. *Molecules.* 2023; 28: 2943.

- Pokajewicz K, Czarniecka-Wiera M, Krajewska A, Maciejczyk E, Wieczorek PP. *Lavandula × intermedia* – A bastard lavender or a plant of many values? Part II. Biological activities and applications of lavandin. *Molecules*. 2023; 28: 2986.
- Poza JJ, Pujol M, Ortega-Albás JJ, Romero O; en representación del Grupo de estudio de insomnio de la Sociedad Española de Sueño (SES). Melatonin in sleep disorders. *Neurologia (Engl Ed)*. 2018; 19: S0213-4853(18)30200-7.
- Puchol-Enguádanos SV. Estudio descriptivo sobre la utilización de plantas medicinales tradicionales y autóctonas de la Comunidad Valenciana con propiedades ansiolíticas y antidepresivas. 2017. PhD, Universidad CEU Cardenal Herrera: Moncada (Valencia).
- Quinto-Ortiz YE, González-Trujano ME, Sánchez-Jaramillo E, Moreno-Pérez GF, Jacinto-Gutiérrez S, Pellicer F, et al. Pharmacological interaction of quercetin derivatives of *Tilia americana* and clinical drugs in experimental fibromyalgia. *Metabolites*. 2022; 12: 916.
- Ramet A, Benyei P, Parada M, Aceituno-Mata L, García del Amo D, Reyes-García V. Grandparents' proximity and children's traditional medicinal plant knowledge: insights from two schools in intermediate-rural Spain. *J Ethnobiol*. 2018; 38: 187–204.
- Real Decreto 1345/2007, de 11 de octubre, por el que se regula el procedimiento de autorización, registro y condiciones de dispensación de los medicamentos de uso humano fabricados industrialmente. BOE.es - BOE-A-2007-19249. Consultado [20 octubre 2021]. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2007-19249>.
- Real Decreto 1487/2009, de 26 de septiembre, relativo a los complementos alimenticios. BOE-A-2009-16109. Consultado [22 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2009-16109>.
- Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. BOE.es - BOE-A-2015-8343. Consultado [16 octubre 2021]. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2015-8343>.
- Reich E, Schibli A. High-Performance Thin-Layer for the Analysis of Medicinal Plants. Stuttgart: Thieme. 2007, pag. 1–265.
- Reglamento (CE) nº 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. BOE.es - DOUE-L-2002-80201. Consultado [21 abril 2022]. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2002-80201>.

- Riemann D, Nissen C, Palagini L, Otte A, Perlis ML, Spiegelhalder K. The neurobiology, investigation, and treatment of chronic insomnia. *Lancet Neurol*. 2015; 14: 547–558.
- Ríos JL. *Fitoterapia*, 3ª ed. Valencia: PUV, 2021.
- Rodríguez V. Los farmacéuticos defienden que las plantas medicinales tienen evidencia científica contrastada para su uso terapéutico. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. 2018. Consultado [16 marzo 2024]. Disponible en: <https://www.farmaceuticos.com/noticias/los-farmaceuticos-defienden-que-las-plantas-medicinales-tienen-evidencia-cientifica-contrastada-para-su-uso-terapeutico/>
- Rosselló JA, Maravilla AJ, Rosato M, Torres N, Ferrer-Gallego PP. Typification of *Dactylis ibizensis* (Poaceae) and inference of the ploidy level of the type specimen. *Taxon*. 2021; 70: 866–874.
- Rumble ME, Okoyeh P, Benca RM. Sleep and women's mental health. *Psychiatr Clin North Am*. 2023; 46: 527–537.
- Ruparel P, Lockwood B. The quality of commercially available herbal products. *Nat Prod Commun*. 2011; 6: 733–744.
- Sateia MJ. International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications. *Chest*. 2014; 146: 1387–1394.
- Sateia MJ, Buysse DJ, Krystal AD, Neubauer DN, Heald JL. Clinical Practice Guideline for the pharmacologic treatment of chronic insomnia in adults: An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *J Clin Sleep Med*. 2017; 13: 307–349.
- Sakalauskaitė-Juodeikienė E, Eling P. Hildegard of Bingen (c. 1098-1179) on sleep and dreams in her *Causae et curae* and *Physica*: a historical perspective. *Sleep Med*. 2021; 88: 7–12.
- Sánchez M, González-Burgos E, Iglesias I, Lozano R, Gómez-Serranillos MP. Current uses and knowledge of medicinal plants in the Autonomous Community of Madrid (Spain): a descriptive cross-sectional study. *BMC Complement Med Ther*. 2020; 20: 306.
- Sánchez-Ortuño MM, Bélanger L, Ivers H, LeBlanc M, Morin CM. The use of natural products for sleep: A common practice? *Sleep Med*. 2009; 10: 982–987.
- Schwartz MD, Kilduff TS. The neurobiology of sleep and wakefulness. *Psychiatr Clin North Am*. 2015; 38: 615–644.
- Scurria A, Sciortino M, Garcia AR, Pagliaro M, Avellone G, Fidalgo A, Albanese L, Meneguzzo F, Ciriminna R, Ilharco LM. Red orange and bitter orange IntegroPectin: Structure and Main Functional Compounds. *Molecules*. 2022;27: 3243.
- Segal R, Pilote L. Warfarin interaction with *Matricaria chamomilla*. *CMAJ*. 2006; 174:1281–1282.

- SEN - Sociedad Española de Neurología. Pérez Menéndez A. Departamento de prensa. Los problemas del sueño amenazan la salud y la calidad de vida de hasta el 45% de la población mundial. Sala de Prensa. 19 de marzo de 2024. Consultado [23 marzo 2024]. Disponible en: <https://www.sen.es/saladeprensa/pdf/Link332.pdf>
- Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B. *Melissa officinalis* L. – A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol. 2016; 188: 204–228.
- Shan L, Dauvilliers Y, Siegel JM. Interactions of the histamine and hypocretin systems in CNS disorders. Nat Rev Neurol. 2015; 11: 401–413.
- Shi DQ, Liu JJ, Feng YM, Zhou Y, Liao CC, Liu D, et al. Iridoids and sesquiterpenoids from *Valeriana officinalis* and their bioactivities. Phytochemistry. 2023; 205: 113478.
- Sollars PJ, Pickard GE. The neurobiology of circadian rhythms. Psychiatr Clin North Am. 2015; 38: 645–665.
- Spinella M. The importance of pharmacological synergy in psychoactive herbal medicines. Altern Med Rev. 2002; 7: 130–137.
- Srivastava JK, Shankar E, Gupta S. Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. Mol Med Rep. 2010; 3: 895–901.
- Suntar I, Khan H, Patel S, Celano R, Rastrelli L. An overview on *Citrus aurantium* L.: Its functions as food ingredient and therapeutic agent. Oxid Med Cell Longev. 2018; 7864269.
- Suryawanshi, JAS. An overview of *Citrus aurantium* used in treatment of various diseases. Afr J Plant Sci. 2011; 5: 390–395.
- Szűcs Z, Cziáky Z, Kiss-Szikszai A, Sinka L, Vasas G, Gonda S. Comparative metabolomics of *Tilia platyphyllos* Scop. bracts during phenological development. Phytochemistry. 2019; 167: 112084.
- Tareau MA, Palisse M, Odonne G. As vivid as a weed... Medicinal and cosmetic plant uses amongst the urban youth in French Guiana. J Ethnopharmacol. 2017; 203: 200–213.
- Toker G, Aslan M, Yeşilada E, Memişoğlu M, Ito S. Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal *Tiliae flos* and Turkish lime species for quality assessment. J Pharm Biomed Anal. 2001; 26: 111–121.
- Tyrer P, Baldwin D. Generalised anxiety disorder. Lancet 2006; 368: 2156–2166
- Ubillos S. Manual práctico de análisis estadístico en ciencias de la salud. Burgos: Universidad de Burgos. 2019.
- USP –The United States Pharmacopoeia Convention. Identification of articles of botanical origin by high-performance thin-layer chromatography procedure. Identification of

- Articles of Botanical Origin / General Information. First Supplement to USP 38–NF 33. 2015.
- Vasey C, McBride J, Penta K. Circadian rhythm dysregulation and restoration: The role of melatonin. *Nutrients*. 2021; 13: 3480.
- Vanaclocha B, Cañigüeral C. Fitoterapia. Vademécum de prescripción. 5ª ed. Barcelona: Elsevier. 2019.
- Watson CJ, Baghdoyan HA, Lydic R. Neuropharmacology of sleep and wakefulness: 2012 Update. *Sleep Med Clin*. 2012; 7: 469–486.
- WFO – World Flora Online, 2024. Consultado el [3 enero 2024]. Disponible en: <http://www.worldfloraonline.org>.
- Williamson EM. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*. 2001; 8: 401–409.
- Wohlmuth H, Penman KG, Pearson T, Lehmann RP. Pharmacognosy and chemotypes of passionflower (*Passiflora incarnata* L.). *Biol Pharm Bull*. 2010; 33: 1015–1018.
- Yoo DY, Choi JH, Kim W, Yoo KY, Lee CH, Yoon YS, et al. Effects of *Melissa officinalis* L. (lemon balm) extract on neurogenesis associated with serum corticosterone and GABA in the mouse dentate gyrus. *Neurochem Res*. 2011; 36: 250–257.
- Zanoli P, Zavatti M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *J Ethnopharmacol*. 2008; 116: 383–396.
- Zenderland J, Hart R, Bussmann RW, Paniagua Zambrana NY, Sikharulidze S, et al. The use of “use value”: quantifying importance in ethnobotany. *Econ Bot*. 2019; 73: 293–303.
- Zimmermann M, Chong AK, Vechiu C, Papa A. Modifiable risk and protective factors for anxiety disorders among adults: A systematic review. *Psychiatry Res*. 2020; 285: 112705.
- Zisapel N. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation. *Br J Pharmacol*. 2018; 175: 3190–3199.

X.

ANEXOS



X.

ANEXO I



Tabla 1 (T.1). Cálculo encuestas por municipio.

CASTELLÓN				
CUADRANTE NORESTE				
EL BAIX MAESTRAT	Hab/mun.	Enc/mun.	Enc. Red.	Enc. Realiz.
Alcalà de Xivert	6679	8,36	9	9
Benicarló	26744	33,47	34	36
Càlig	1945	2,43	3	3
Canet lo Roig	696	0,87	1	1
Castell de Cabres	19	0,02	1	1
Cervera del Maestre	599	0,75	1	1
Xert	725	0,91	1	1
Jana, la	666	0,83	1	1
Peníscola/Peníscola	7447	9,32	10	10
Pobla de Benifassà, la	197	0,25	1	1
Rossell	952	1,19	2	2
Salzadella, la	729	0,91	1	1
Sant Jordi/San Jorge	935	1,17	2	2
Sant Mateu	1974	2,47	3	3
San Rafael del Río	462	0,58	1	1
Santa Magdalena de Pulpis	761	0,95	1	1
Traiguera	1375	1,72	2	2
Vinaròs	28438	35,58	36	36
TOTAL	81.343	101,79	110	112
LA PLANA ALTA (SIN ALMÀSSORA)				
Benicàssim/Benicasim	18055	22,59	23	25
Benlloc	1036	1,30	2	2
Borriol	5322	6,66	7	7
Cabanes	2889	3,62	4	4
Castellón de la Plana	170888	213,83	214	218
Coves de Vinromà, les	1822	2,28	3	3
Oropesa del Mar	8830	11,05	12	12
Pobla Tornesa, la	1208	1,51	2	2
Serratella, la	101	0,13	1	1
Sierra Engarcerán	1023	1,28	2	2
Torreblanca	5461	6,83	7	7
Torre d'en Doménec, la	191	0,24	1	1
Vall d'Alba	2817	3,52	4	4
Vilafamés	1833	2,29	3	3
Vilanova d'Alcolea	575	0,72	1	1
Sant Joan de Moró	3099	3,88	4	4
TOTAL	225.150	281,73	290	296
TOTAL CUADRANTE	306.493	383,52	400	408

CUADRANTE NOROESTE

ELS PORTS

Castellfort	192	2,71	3	3
Cinctorres	399	5,64	6	6
Forcall	453	6,40	7	7
Herbés	49	0,69	1	1
Mata de Morella, la	162	2,29	3	3
Morella	2437	34,46	35	37
Olocau del Rey	117	1,65	2	2
Palanques	31	0,44	1	1
Portell de Morella	197	2,79	3	3
Todolella	138	1,95	2	2
Vallibona	75	1,06	2	2
Villores	42	0,59	1	1
Zorita del Maestrazgo	112	1,58	2	2
TOTAL	4.404	62,27	68	70

L'ALCALATÉN

Atzeneta del Maestrat	1271	17,97	18	19
Alcora, l'	10430	147,47	148	148
Benafigos	149	2,11	3	3
Costur	511	7,23	8	8
Xodos/Chodos	113	1,60	2	2
Figueroles	525	7,42	8	8
Llucena/Lucena del Cid	1319	18,65	19	20
Useres, les/Useras	966	13,66	14	14
Vistabella del Maestrat	342	4,84	5	5
TOTAL	15.626	220,94	225	227

L'ALT MAESTRAT

Albocàsser	1234	17,45	18	18
Ares del Maestrat	190	2,69	3	3
Benassal	1084	15,33	16	16
Catí	742	10,49	11	12
Culla	504	7,13	8	8
Tírig	435	6,15	7	7
Torre d'En Besora, la	157	2,22	3	3
Vilafranca/Villafranca del Cid	2227	31,49	32	32
Vilar de Canes	172	2,43	3	3
TOTAL	6.745	95,37	101	102

TOTAL CUADRANTE	26.775	378,57	394	399
------------------------	---------------	---------------	------------	------------

CUADRANTE SURESTE

SUR PLANA ALTA (SOLO ALMÀSSORA)

Almassora	25831	45,81	46	46
TOTAL	25.831	45,81	46	46

PLANA BAIXA

Aín	125	0,22	1	1
Alcudia de Veo	201	0,36	1	1
Alfondegulla	862	1,53	2	2
Almenara	5900	10,46	11	11
Artana	1958	3,47	4	4
Betxí	5709	10,12	11	11
Borriana/Burriana	34544	61,26	62	64
Chilches/Xilxes	2670	4,74	5	5
Eslida	776	1,38	2	2
Llosa, la	940	1,67	2	2
Moncofa	6278	11,13	12	12
Nules	13170	23,36	24	25
Onda	24850	44,07	45	47
Ribesalbes	1180	2,09	3	3
Suera/Sueras	520	0,92	1	1
Tales	814	1,44	2	2
Vall d'Uixó, la	31552	55,96	56	56
Vila-real	50577	89,70	90	90
Vilavella, la	3226	5,72	6	6
Alqueries, les/las Alquerias del niño perdido	4460	7,91	8	8
TOTAL	190.312	337,51	348	353
TOTAL CUADRANTE	216.143	383,32	394	399

CUADRANTE SUROESTE

EL ALTO MIJARES

Arañuel	146	2,01	3	3
Argelita	113	1,56	2	2
Ayódar	164	2,26	3	3
Castillo de Villamalefa	101	1,39	2	2
Cirat	206	2,84	3	3
Cortes de Arenoso	317	4,37	5	5
Espadilla	72	0,99	1	1
Fanzara	276	3,80	4	4
Fuente la Reina	49	0,68	1	1
Fuentes de Ayódar	94	1,30	2	2
Ludiente	155	2,14	3	3
Montán	359	4,95	5	5
Montanejos	548	7,55	8	8
Puebla de Arenoso	144	1,98	2	2
Toga	100	1,38	2	2
Torralba del Pinar	54	0,74	1	1
Torrechiva	74	1,02	2	2

Anexo I

Vallat	49	0,68	1	1
Villahermosa del Río	462	6,37	7	7
Villamalur	63	0,87	1	1
Villanueva de Viver	66	0,91	1	1
Zucaina	172	2,37	3	3
TOTAL	3.784	52,14	62	62
EL ALTO PALANCIA				
Algimia de Almonacid	259	3,57	4	4
Almedíjar	256	3,53	4	4
Altura	3509	48,35	49	53
Azuébar	324	4,46	5	5
Barracas	169	2,33	3	3
Bejís	373	5,14	6	6
Benafer	156	2,15	3	3
Castellново	946	13,03	14	14
Caudiel	647	8,91	9	9
Chóvar	297	4,09	5	5
Gaibiel	193	2,66	3	3
Geldo	633	8,72	9	9
Higueras	62	0,85	1	1
Jérica	1553	21,40	22	22
Matet	84	1,16	2	2
Navajas	712	9,81	10	10
Pavías	62	0,85	1	1
Pina de Montalgrao	114	1,57	2	2
Sacañet	59	0,81	1	1
Segorbe	8878	122,32	123	123
Soneja	1439	19,83	20	20
Sot de Ferrer	428	5,90	6	6
Teresa	249	3,43	4	4
Torás	229	3,16	4	4
Toro, El	253	3,49	4	4
Vall de Almonacid	281	3,87	4	4
Viver	1538	21,19	22	22
TOTAL	23.703	326,57	340	344
TOTAL CUADRANTE	27.487	378,71	402	406
TOTAL CASTELLÓN	576.898	1.524,12	1590	1612

Hab/mun: habitantes/municipio; **Enc/mun:** encuestas/municipio; **Enc. Red:** encuestas redondeadas;
Enc. Realiz: encuestas realizadas.

VALENCIA

CUADRANTE NORESTE

EL CAMP DE TÚRIA	Hab./mun.	Enc./mun.	Enc. red.	Enc. realiz.
Benaguasil	10.878	2,89	3	3
Benissanó	2.224	0,59	1	1
Bétera	23.647	6,28	7	7
Casinos	2.773	0,74	1	1
Eliaana, l'	18.050	4,80	5	5
Llíria	22.972	6,10	7	8
Loriguilla	1.984	0,53	1	1
Marines	1.828	0,49	1	1
Nàquera/Náquera	6.205	1,65	2	2
Olocau	1.766	0,47	1	1
Pobla de Vallbona, la	24.068	6,40	7	7
Riba-roja de Túria	21.992	5,84	6	6
Serra	3.091	0,82	1	1
Vilamarxant	9.550	2,54	3	3
Gátova	392	0,10	1	1
San Antonio de Benagéber	8.846	2,35	3	3
TOTAL	160.266	42,58	50	51

EL CAMP DE MORVERDE

Albalat dels Tarongers	1.202	0,32	1	1
Alfara de la Baronia	539	0,14	1	1
Algar de Palancia	470	0,12	1	1
Algímia d'Alfara	1.019	0,27	1	1
Benavites	594	0,16	1	1
Benifairó de les Valls	2.168	0,58	1	1
Canet d'En Berenguer	6.575	1,75	2	2
Quart de les Valls	992	0,26	1	1
Quartell	1.561	0,41	1	1
Estivella	1.432	0,38	1	1
Faura	3.547	0,94	1	1
Gilet	3.276	0,87	1	1
Petrés	969	0,26	1	1
Sagunt/Sagunto	65.669	17,45	18	18
Segart	158	0,04	1	1
Torres Torres	640	0,17	1	1
TOTAL	90.811	24,13	34	34

L'HORTA NORD

Albalat dels Sorells	3.944	1,05	2	2
Alboraia/Alboraya	24.222	6,44	7	7
Albuixech	3.983	1,06	2	2
Alfara del Patriarca	3.314	0,88	1	1
Almàssera	7.295	1,94	2	2
Bonrepòs i Mirambell	3.645	0,97	1	1

Anexo I

Burjassot	37.584	9,99	10	11
Emperador	692	0,18	1	1
Foios	7.342	1,95	2	2
Godella	13.058	3,47	4	4
Massalfassar	2.480	0,66	1	1
Massamagrell	15.752	4,19	5	5
Meliana	10.662	2,83	3	3
Moncada	21.802	5,79	6	6
Museros	6.291	1,67	2	2
Pobla de Farnals, la	7.840	2,08	3	3
Puig de Santa Maria, el	8.566	2,28	3	3
Puçol	19.455	5,17	6	6
Rafelbunyol	8.929	2,37	3	3
Rocafort	7.160	1,90	2	2
Tavernes Blanques	9.117	2,42	3	3
Vinlesa	3.380	0,90	1	1
TOTAL	226.513	60,19	70	71

L'HORTA SUD

Albal	16.270	4,32	5	5
Alcàsser	9.908	2,63	3	3
Alfafar	20.763	5,52	6	6
Benetússer	14.668	3,90	4	4
Beniparrell	1.931	0,51	1	1
Catarroja	27.827	7,39	8	8
Llocnou de la Corona	118	0,03	1	1
Massanassa	9.538	2,53	3	3
Paiporta	25.309	6,72	7	7
Picassent	20.709	5,50	6	6
Sedaví	10.245	2,72	3	3
Silla	18.467	4,91	5	5
TOTAL	175.753	46,70	52	52

VALENCIA

València	791.413	210,29	211	216
TOTAL CUADRANTE	1.444.756	383,89	417	424

CUADRANTE NOROESTE

LA PLANA DE UTIEL-REQUENA

Camporrobles	1.195	1,02	2	2
Caudete de las Fuentes	696	0,60	1	1
Chera	494	0,42	1	1
Fuenterrobles	682	0,58	1	1
Requena	20.227	17,30	18	18
Sinarcas	1.124	0,96	1	1
Utiel	11.540	9,87	10	10
Venta del Moro	1.242	1,06	2	2

Villargordo del Cabriel	586	0,50	1	1
TOTAL	37.786	32,32	37	37

LOS SERRANOS

Alcublas	654	0,56	1	1
Alpuente	637	0,54	1	1
Andilla	303	0,26	1	1
Aras de los Olmos	374	0,32	1	1
Benagéber	190	0,16	1	1
Bugarra	715	0,61	1	1
Calles	342	0,29	1	1
Chelva	1.498	1,28	2	2
Chulilla	615	0,53	1	1
Domeño	704	0,60	1	1
Gestálgar	554	0,47	1	1
Higueruelas	508	0,43	1	1
Losa del Obispo	504	0,43	1	1
Pedralba	2.777	2,37	3	3
Sot de Chera	352	0,30	1	1
Titaguas	459	0,39	1	1
Tuéjar	1.132	0,97	1	1
Villar del Arzobispo	3.579	3,06	4	4
Yesa, La	227	0,19	1	1
TOTAL	16.124	13,79	25	25

LA HOYA DE BUÑOL

Alborache	1.127	0,96	1	1
Buñol	9.517	8,14	9	9
Cheste	8.319	7,11	8	8
Chiva	14.941	12,78	13	13
Dos Aguas	355	0,30	1	1
Godella	3.462	2,96	3	3
Macastre	1.240	1,06	2	2
Siete Aguas	1.171	1,00	2	2
Yátova	2.073	1,77	2	2
TOTAL	42.205	36,10	41	41

EL RINCÓN DE ADEMUZ

Ademuz	1.046	0,89	1	1
Casas Altas	136	0,12	1	1
Casas Bajas	172	0,15	1	1
Castielfabib	306	0,26	1	1
Puebla de San Miguel	61	0,05	1	1
Torrebaja	397	0,34	1	1
Vallanca	126	0,11	1	1
TOTAL	2244	1,92	7	7

L'HORTA OEST

Alaquàs	29.341	25,09	26	26
Aldaia	31.492	26,93	27	27
Quart de Poblet	24.536	20,98	21	22
Xirivella	29.108	24,89	25	26
Manises	30.693	26,25	27	27
Mislata	43.278	37,01	38	38
Paterna	69.156	59,14	60	62
Picanya	11.409	9,76	10	10
Torrent	81.245	69,48	70	70
TOTAL	350.258	299,55	304	308
TOTAL CUADRANTE	448.617	383,67	414	418

CUADRANTE SURESTE

LA RIBERA ALTA

Alberic	10.556	7,26	8	8
Alcàntera de Xúquer	1.297	0,89	1	1
Alzira	44.393	30,55	31	31
Alcúdia, l'	11.938	8,21	9	9
Alfarp	1.532	1,05	2	2
Algemesí	27.285	18,78	19	19
Alginet	13.100	9,01	10	10
Antella	1.209	0,83	1	1
Beneixida	648	0,45	1	1
Benifaió	11.930	8,21	9	9
Benimodo	2.241	1,54	2	2
Benimuslem	660	0,45	1	1
Carcaixent	20.424	14,05	15	15
Càrcer	1.876	1,29	2	2
Carlet	15.514	10,68	11	11
Catadau	2.830	1,95	2	2
Cotes	332	0,23	1	1
Ènova, l'	903	0,62	1	1
Gavarda	1.058	0,73	1	1
Guadassuar	5.914	4,07	5	5
Llombai	2.686	1,85	2	2
Manuel	2.439	1,68	2	2
Massalavés	1.575	1,08	2	2
Montserrat	7.583	5,22	6	6
Montroi/Montroy	2.822	1,94	2	2
Pobla Llarga, la	4.482	3,08	4	4
Rafelguaraf	2.370	1,63	2	2
Real	2.152	1,48	2	2
Sant Joanet	486	0,33	1	1
Sellent	379	0,26	1	1
Senyera	1.143	0,79	1	1
Sumacàrcer	1.109	0,76	1	1

Tous	1.254	0,86	1	1
Turís	6.623	4,56	5	5
Villanueva de Castellón	7.095	4,88	5	5
TOTAL	219.838	151,28	169	169

LA RIBERA BAIXA

Albalat de la Ribera	3.329	2,29	3	3
Almussafes	8.932	6,15	7	7
Corbera	3.160	2,17	3	3
Cullera	21.918	15,08	16	16
Favara	2.490	1,71	2	2
Fortaleny	1.030	0,71	1	2
Llaurí	1.209	0,83	1	1
Polinyà de Xúquer	2.459	1,69	2	2
Riola	1.734	1,19	2	2
Sollana	4.884	3,36	4	4
Sueca	27.460	18,90	19	20
Benicull de Xúquer	974	0,67	1	1
TOTAL	79.579	54,76	61	63

LA SAFOR

Ador	1.393	0,96	1	1
Alfauir	440	0,30	1	1
Almiserà	258	0,18	1	1
Almoines	2.379	1,64	2	2
Alqueria de la Comtessa, l'	1.418	0,98	1	1
Barx	1.229	0,85	1	1
Bellreguard	4.549	3,13	4	4
Beniarjó	1.746	1,20	2	2
Benifairó de la Valldigna	1.580	1,09	2	2
Beniflà	455	0,31	1	1
Benirredrà	1.576	1,08	2	2
Castellonet de la Conquesta	145	0,10	1	1
Daimús	3.128	2,15	3	3
Font d'En Carròs, la	3.790	2,61	3	3
Gandia	73.829	50,80	51	52
Guardamar de la Safor	491	0,34	1	1
Xeraco	5.702	3,92	4	4
Xeresa	2.145	1,48	2	2
Llocnou de Sant Jeroni	542	0,37	1	1
Miramar	2.599	1,79	2	2
Oliva	25.199	17,34	18	19
Palma de Gandia	1.543	1,06	2	2
Palmera	1.047	0,72	1	1
Piles	2.688	1,85	2	2
Potries	1.014	0,70	1	1
Rafelcofer	1.358	0,93	1	1
Real de Gandia, el	2.395	1,65	2	2

Anexo I

Rótova	1.262	0,87	1	1
Simat de la Valldigna	3.325	2,29	3	3
Tavernes de la Valldigna	17.158	11,81	12	12
Vilallonga/Villalonga	4.303	2,96	3	3
TOTAL	170.686	117,46	132	134
LA VALL D'ALBAIDA				
Atzeneta d'Albaida	1.162	0,80	1	1
Agullent	2.413	1,66	2	2
Albaida	5.908	4,07	5	5
Alfarrasí	1.262	0,87	1	1
Aielo de Malferit	4.646	3,20	4	4
Aielo de Rugat	155	0,11	1	1
Bèlgida	672	0,46	1	1
Bellús	314	0,22	1	1
Beniatjar	224	0,15	1	1
Benicolet	582	0,40	1	1
Benigànim	5.899	4,06	5	5
Benissoda	418	0,29	1	1
Benissuera	180	0,12	1	1
Bocairent	4.214	2,90	3	3
Bufali	159	0,11	1	1
Carrícola	93	0,06	1	1
Castelló de Rugat	2.275	1,57	2	2
Quatretonda	2.239	1,54	2	2
Fontanars dels Alforins	979	0,67	1	1
Guadasséquies	444	0,31	1	1
Llutxent	2.373	1,63	2	2
Montaverner	1.631	1,12	2	2
Montitxelvo/Montichelvo	605	0,42	1	1
Olleria, l'	8.225	5,66	6	6
Ontinyent	35.395	24,36	25	26
Otos	446	0,31	1	1
Palomar, el	576	0,40	1	1
Pinet	156	0,11	1	1
Pobla del Duc, la	2.537	1,75	2	2
Ráfol de Salem	440	0,30	1	1
Rugat	162	0,11	1	1
Salem	433	0,30	1	1
Sempere	35	0,02	1	1
Terrateig	280	0,19	1	1
TOTAL	87.532	60,23	82	83
TOTAL CUADRANTE	557.635	383,73	444	449

CUADRANTE SUROESTE**EL VALLE DE COFRENTES-AYORA**

Ayora	5.276	20,81	21	21
Cofrentes	1.125	4,44	5	5
Cortes de Pallás	818	3,23	4	4
Jalance	845	3,33	4	4
Jarafuel	776	3,06	4	4
Teresa de Cofrentes	650	2,56	3	3
Zarra	365	1,44	2	2
TOTAL	9855	38,87	43	43

EL CANAL DE NAVARRÉS

Anna	2.638	10,40	11	12
Bicorp	524	2,07	3	3
Bolbaite	1.347	5,31	6	6
Chella	2.469	9,74	10	11
Enguera	4.800	18,93	19	20
Millares	346	1,36	2	2
Navarrés	2.975	11,73	12	12
Quesa	662	2,61	3	3
TOTAL	15.761	62,16	66	69

LA COSTERA

Alcúdia de Crespins, l'	5.188	20,46	21	21
Barxeta	1.604	6,33	7	7
Canals	13.588	53,59	54	54
Cerdà	334	1,32	2	2
Estubeny	122	0,48	1	1
Font de la Figuera, la	2.038	8,04	9	9
Genovés, el	2.828	11,15	12	12
Granja de la Costera, la	297	1,17	2	2
Xàtiva	29.045	114,55	115	116
Llocnou d'En Fenollet	893	3,52	4	4
Llanera de Ranes	1.049	4,14	5	5
Llosa de Ranes, la	3.585	14,14	15	15
Moixent/Mogente	4.318	17,03	18	18
Montesa	1.180	4,65	5	5
Novetlè/Novelé	838	3,31	4	4
Rotglà i Corberà	1.114	4,39	5	5
Torrella	148	0,58	1	1
Vallada	3.036	11,97	12	12
Vallés	157	0,62	1	1
TOTAL	71.362	281,45	293	294
TOTAL CUADRANTE	96.978	382,49	402	406

TOTAL VALENCIA	2.547.986	1.533,78	1677	1697
-----------------------	------------------	-----------------	-------------	-------------

Hab/mun: habitantes/municipio; **Enc/mun:** encuestas/municipio; **Enc. Red:** encuestas redondeadas; **Enc. Realiz:** encuestas realizadas.

ALICANTE

CUADRANTE NORESTE

LA MARINA ALTA	Hab/mun.	Enc./mun.	Enc. red.	Enc. realiz.
Atzúbia, l'	661	0,50	1	1
Alcalalí	1.298	0,98	1	1
Beniarbeig	1.983	1,50	2	2
Benigembla	444	0,34	1	1
Benidoleig	1.110	0,84	1	1
Benimeli	410	0,31	1	1
Benissa	10.768	8,15	9	9
Poble Nou Benitatxell	4.130	3,12	4	4
Calp	21.633	16,37	17	17
Castell de Castells	435	0,33	1	1
Dénia	41.733	31,57	32	33
Gata de Gorgos	5.893	4,46	5	5
Xaló	2.683	2,03	3	3
Xàbia/Jávea	27.224	20,60	21	22
Llíber	1.051	0,80	1	1
Murla	493	0,37	1	1
Ondara	6.815	5,16	6	6
Orba	2.111	1,60	2	2
Parcent	908	0,69	1	1
Pedreguer	7.490	5,67	6	6
Pego	10.052	7,60	8	8
Ràfol d'Almúnia, El	644	0,49	1	1
Sagra	389	0,29	1	1
Sanet y Negrals	648	0,49	1	1
Senija	581	0,44	1	1
Teulada	10.722	8,11	9	9
Tormos	336	0,25	1	1
Vall d'Alcalà, la	164	0,12	1	1
Vall d'Ebo, la	224	0,17	1	1
Vall de Gallinera	589	0,45	1	1
Vall de Laguar, la	820	0,62	1	1
Verger, el	4.520	3,42	4	4
Poblets, els	2.864	2,17	3	3
TOTAL	171.826	129,99	149	151

LA MARINA BAIXA

Alfàs del Pi, l'	20.053	15,17	16	16
Altea	21.995	16,64	17	17
Beniardá	178	0,13	1	1
Benidorm	67.558	51,11	52	52
Benifato	149	0,11	1	1
Benimantell	490	0,37	1	1
Bolulla	418	0,32	1	1
Callosa d'en Sarrià	7.257	5,49	6	6

Confrides	208	0,16	1	1
Finestrat	6.381	4,83	5	5
Castell de Guadalest, el	209	0,16	1	1
Nucia, la	18.242	13,80	14	14
Orxeta	738	0,56	1	1
Polop	4.850	3,67	4	4
Relleu	1.147	0,87	1	1
Sella	585	0,44	1	1
Tàrbena	627	0,47	1	1
Vila Joiosa, la/Villajoyosa	33.969	25,70	26	26
TOTAL	185.054	140,00	150	150

L'ALACANTÍ NORTE

Agost	4.713	3,57	4	4
Aigües	936	0,71	1	1
Busot	2.925	2,21	3	3
Campello, el	27.893	21,10	22	22
Xixona/Jijona	6.875	5,20	6	6
Mutxamel	25.009	18,92	19	19
Sant Joan d'Alacant	23.518	17,79	18	18
Sant Vicent del Raspeig	57.785	43,72	44	46
Torre de les Maçanes, la	654	0,49	1	1
TOTAL	150.308	113,71	118	120
TOTAL CUADRANTE	507.188	383,71	417	421

CUADRANTE NOROESTE

EL COMTAT

Agres	551	1,12	2	2
Alcocer de Planes	229	0,46	1	1
Alcoleja	180	0,36	1	1
Alfafara	407	0,82	1	1
Almudaina	104	0,21	1	1
Alqueria d'Asnar, l'	491	0,99	1	1
Balones	122	0,25	1	1
Benasau	156	0,32	1	1
Beniarrés	1.118	2,26	3	3
Benilloba	742	1,50	2	2
Benillup	94	0,19	1	1
Benimarfull	413	0,84	1	1
Benimassot	96	0,19	1	1
Cocentaina	11.456	23,20	24	24
Quatretondeta	121	0,25	1	1
Fachea	101	0,20	1	1
Famorca	53	0,11	1	1
Gaïanes	471	0,95	1	1
Gorga	258	0,52	1	1
Orxa, l'/Lorcha	596	1,21	2	2
Millena	229	0,46	1	1

Anexo I

Muro de Alcoy	9328	18,89	19	20
Planes	713	1,44	2	2
Tollos	56	0,11	1	1
TOTAL	28.085	56,87	71	72

L'ALCOIÀ

Alcoi/Alcoy	58.977	119,43	120	123
Banyeres de Mariola	7.113	14,40	15	15
Benifallim	108	0,22	1	1
Castalla	9.880	20,01	21	21
Ibi	23.403	47,39	48	48
Onil	7.475	15,14	16	16
Penàguila	301	0,61	1	1
Tibi	1.564	3,17	4	4
TOTAL	108.821	220,37	226	229

L'ALT VINALOPÓ/ALTO VINALOPÓ

Beneixama	1.703	3,45	4	4
Biar	3.651	7,39	8	8
Camp de Mirra, el	428	0,87	1	1
Cañada	1.214	2,46	3	3
Salinas	1.585	3,21	4	4
Sax	9.771	19,79	20	20
Villena	33.983	68,82	69	70
TOTAL	52.335	105,98	109	110
TOTAL CUADRANTE	189.241	383,22	406	411

CUADRANTE SURESTE

ALACANTÍ SUR

Alacant/Alicante	331.577	152,18	153	155
------------------	----------------	---------------	------------	------------

EL BAIX DE VINALOPÓ

Crevillent	28.957	13,29	14	14
Elx/Elche	230.625	105,85	106	108
Santa Pola	31.745	14,57	15	15
TOTAL	291.327	133,71	135	137

BAIX SEGURA ESTE

Algorfa	2.838	1,30	2	2
Almoradí	20.542	9,43	10	10
Benejúzar	5.361	2,46	3	3
Benijófar	3.357	1,54	2	2
Bigastro	6.702	3,08	4	4
Daya Nueva	1.718	0,79	1	1
Daya Vieja	685	0,31	1	1
Dolores	7.383	3,39	4	4
Formentera del Segura	4.131	1,90	2	2

Guardamar del Segura	15.058	6,91	7	7
Jacarilla	1.986	0,91	1	1
Rafal	4.418	2,03	3	3
Rojales	16.560	7,60	8	8
San Fulgencio	7.943	3,65	4	4
San Miguel de Salinas	5.811	2,67	3	3
Torrevieja	82.599	37,91	38	38
Pilar de la Horadada	21.418	9,83	10	10
Montesinos, Los	4.844	2,22	3	3
TOTAL	213.354	97,92	106	106
TOTAL CUADRANTE	836.258	383,82	394	398

CUADRANTE SUROESTE

EL VINALOPÓ MITJÀ/EL VINALOPÓ MEDIO

Algueña	1.341	1,68	2	2
Aspe	20.537	25,73	26	26
Elda	52.404	65,65	66	68
Fondó de les Neus, el	2.474	3,10	4	4
Hondón de los Frailes	1.132	1,42	2	2
Monforte del Cid	7.944	9,95	10	10
Monòver/Monóvar	12.175	15,25	16	16
Novelda	25.725	32,23	33	36
Petrer	34.479	43,19	44	44
Pinós, el/Pinoso	7.845	9,83	10	10
Romana, la	2.376	2,98	3	3
TOTAL	168.432	211,01	216	221

BAIX SEGURA OESTE

Albatera	12.042	15,09	16	16
Benferri	1.940	2,43	3	3
Callosa de Segura	18.864	23,63	24	24
Catral	8.631	10,81	11	11
Cox	7.226	9,05	10	10
Granja de Rocamora	2.489	3,12	4	4
Orihuela	76.778	96,19	97	97
Redován	7.797	9,77	10	10
San Isidro	1.933	2,42	3	3
TOTAL	137.700	172,51	178	178
TOTAL CUADRANTE	306.132	383,52	394	399

TOTAL ALICANTE	1.838.819	1534,27	1611	1629
-----------------------	------------------	----------------	-------------	-------------

Hab/mun: habitantes/municipio; **Enc/mun:** encuestas/municipio; **Enc. Red:** encuestas redondeadas; **Enc. Realiz:** encuestas realizadas.

Tabla 2 (T.2). Descripción de la muestra.

Características sociodemográficas		Frecuencias	Porcentaje
Provincias	Alicante	1.629	33,0
	Castellón	1.612	32,6
	Valencia	1.697	34,4
Zonas este-oeste	Este	2500	50,6
	Oeste	2438	49,4
Género	Masculina	2.455	49,7
	Femenino	2.483	50,3
Edad	18-24	594	12,0
	25-40	1.112	22,5
	41-55	1.372	27,8
	56-70	1.140	23,1
	71-85	636	12,9
	Más de 85	84	1,7
Nivel de estudios	Sin estudios	212	4,3
	Educación primaria	455	9,2
	Educación secundaria	1.694	34,3
	Bachillerato	650	13,2
	Formación profesional	849	17,2
	Universitarios	1.047	21,2
	Otros estudios	31	0,6
Número de habitantes	Menos de 1.000	463	9,4
	1.000-5.000	676	13,7
	5.001-50.000	2.386	48,3
	Más de 50.000	1.413	28,6

ENCUESTA DE PLANTAS MEDICINALES

Se solicita su autorización para participar en el proyecto de investigación titulado:

"ESTUDIO DEL USO DE PLANTAS MEDICINALES ANSIOLÍTICAS E INDUCTORAS DEL SUEÑO EN LA COMUNIDAD VALENCIANA".

Su objetivo principal es conocer el uso real de las plantas medicinales para la ansiedad y el insomnio en el ámbito de la Comunidad Valenciana.

La participación es voluntaria y la respuesta es anónima, la información se tratará de acuerdo con la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

NO LA PUEDEN REALIZAR MENORES DE 18 AÑOS. SOLO PARA HABITANTES DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.

Estoy de acuerdo con las condiciones

☐

Marque con una cruz la opción u opciones que elija.

Si contesta "Otros" puede escribir lo que considere al respecto.

1. ¿En qué localidad (municipio) de la Comunidad Valenciana vive habitualmente?

2. Edad:

Entre 18 - 24 años

☐

Entre 25-40 años

☐

Entre 41- 55 años

☐

Entre 56-70 años

☐

Entre 71 - 85 años

☐

Más de 85 años

☐

3. Nacionalidad:

a) Española

☐

b) Extranjera (indicar país):

4. Sexo:

a) Hombre

☐

b) Mujer

☐

5. Nivel de estudios (no decir la profesión):

a) Sin estudios

☐

b) Educación primaria

☐

c) Educación secundaria

☐

d) Bachillerato

☐

e) Formación profesional

☐

f) Universitarios

☐

g) Otros:

6. ¿Cuántos habitantes tiene su población habitual?

a) Menos de 1.000 hab.

☐

b) Entre 1.000 y 5.000 hab.

☐

c) Entre 5.001 y 50.000 hab.

☐

d) Más de 50.000 hab.

☐

7. ¿Utiliza o ha utilizado plantas medicinales (hierbas, por ejemplo, infusiones)?

a) **NO**

☐

7.A ¿Por qué no las utiliza? Elija sólo una opción.

a) No me gustan

☐

b) No las necesito

☐

c) Solo tomo lo que me manda el médico

☐

d) No las conozco

☐

e) No sirven para nada

☐

f) No tengo costumbre

☐

Finalice aquí la encuesta si NO utiliza plantas medicinales

b) **SÍ**

☐

(continúe con la pregunta siguiente)

8. ¿Quién utiliza plantas medicinales en su familia?

a) Solo el entrevistado/a

☐

b) Adultos

☐

c) El entrevistado y los niños

☐

d) Adultos y niños

☐

9. ¿Para qué las utiliza o ha utilizado? Puede elegir varias opciones.

a) Dolor de estómago, problemas de digestión o de intestino como diarrea o estreñimiento

☐

b) Resfriado, tos, bronquitis u otra enfermedad relacionada con los pulmones

☐

c) Dificultad para dormir, tranquilizante, para la depresión o cansancio

☐

d) Para el riñón, infección de orina

☐

e) Para la vesícula o hígado

☐

f) Para los dolores e inflamación

☐

g) Para el dolor de cabeza

☐

h) Para adelgazar

☐

i) Para la próstata

☐

j) Para la menstruación/menopausia

☐

k) Para el colesterol

☐

l) Para la circulación

☐

m) Para la piel

☐

n) Para los ojos

☐

o) Otros:

Si ha elegido la opción de dificultad para dormir/ tranquilizante/ depresión/ cansancio, CÉNTRESE EN ESA PREGUNTA Y CONTINÚE.

En caso contrario, pase a la pregunta 18. (gire la hoja)

10. ¿Para qué problema nervioso utiliza las plantas medicinales? Puede elegir varias opciones.

a) A la hora de dormir o despertares durante la noche

☐

b) Ansiedad, estrés, nerviosismo

☐

c) Depresión

☐

d) Cansancio, debilidad, fatiga

☐

11: ¿En qué forma utiliza las plantas medicinales? Puede elegir varias opciones.

- | | | | |
|---|--------------------------|--|--------------------------|
| a) Infusión de una única planta | ☐ | b) Infusión (mezcla de varias plantas) | ☐ |
| c) En comprimidos, cápsulas o grageas de una única planta | ☐ | d) En comprimidos, cápsulas o grageas (mezcla de varias plantas) | ☐ |
| e) En gotas o jarabe de una única planta | ☐ | f) En gotas o jarabe (mezcla de varias plantas) | ☐ |
| g) Aceite de una única planta | ☐ | h) Aceite (mezcla de varias plantas) | ☐ |
| i) Otros: | <input type="text"/> | | |

12: ¿Cada cuánto tiempo se las toma?

- | | | | | | | | |
|-------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------|--------------------------|
| a) A diario | ☐ | b) Varias veces a la semana | ☐ | c) Varias veces al mes | ☐ | d) Ocasionalmente | ☐ |
|-------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------|--------------------------|

13: ¿Desde cuándo las utiliza?

- | | | | | | | | |
|---------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|
| a) Desde niño | ☐ | b) Hace más de 1 año | ☐ | c) Hace varios meses | ☐ | d) Hace menos de 1 mes | ☐ |
|---------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|

14: ¿Cómo empezó a conocerlas? Puede elegir varias opciones.

- | | | | |
|--|--------------------------|---|--------------------------|
| a) Costumbre en mi familia | ☐ | b) Tradición en la localidad | ☐ |
| c) Consejo de un conocido | ☐ | d) Consejo farmacéutico | ☐ |
| e) Consejo médico u otro profesional de la salud | ☐ | f) Terapia basada en remedios naturales | ☐ |
| g) Información por Internet | ☐ | h) Publicidad por otros medios | ☐ |
| i) Recomendación en una herboristería | ☐ | j) Conocimiento por mi profesión | ☐ |
| k) Otros: | <input type="text"/> | | |

15: ¿Dónde las consigue? Puede elegir varias opciones.

- | | | | | | |
|-----------------|--------------------------|------------------|--------------------------|-------------|--------------------------|
| a) Supermercado | ☐ | b) Herboristería | ☐ | c) Farmacia | ☐ |
| d) Parafarmacia | ☐ | e) Mercadillo | ☐ | f) Campo | ☐ |
| g) Otros: | <input type="text"/> | | | | |

16: ¿Por qué las utiliza? Elija sólo una opción.

- | | | | |
|--|--------------------------|---|--------------------------|
| a) Porque las conozco y me van bien | ☐ | b) Porque no tienen contraindicaciones | ☐ |
| c) Por recomendación médica u otro profesional de la salud | ☐ | d) Porque me las ha recomendado alguna persona de confianza | ☐ |
| e) Sustituyendo a los medicamentos habituales/puntuales | ☐ | f) Como complemento a mi medicación habitual | ☐ |
| g) Porque me gustan | ☐ | h) Porque me relajan | ☐ |

17: Señale las plantas que ha utilizado para dormir /tranquilizante /depresión /cansancio: Puede elegir varias opciones.

- | | | | |
|---|--------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| a) Valeriana/ Herba dels gats | ☐ | b) Melisa/ Melissa/ Tarongina | ☐ |
| c) Pasiflora/ Flor de passió | ☐ | d) Flor de Lavanda/ Espígol | ☐ |
| f) Amapola de California/ Rosella de Califòrnia | ☐ | g) Manzanilla/ Camamil·la | ☐ |
| h) Lúpulo/ Espàrgol/ Llúpul | ☐ | i) Tila/ Til | ☐ |
| j) Espino blanco/ Espí blanc | ☐ | k) Otros: | <input type="text"/> |
| l) No sabe/No contesta | ☐ | | |

18. ¿Toma alguna medicación?

- | | | | | | | |
|-------|--------------------------|---|-------|--------------------------|-------|--------------------------|
| a) Sí | ☐ | → 18. A ¿Para lo mismo que las plantas medicinales? | a) Sí | ☐ | b) No | ☐ |
| b) No | ☐ | | | | | |

19. ¿Sabe su médico que utiliza plantas medicinales?

- | | | | |
|-------|--------------------------|-------|--------------------------|
| a) Sí | ☐ | b) No | ☐ |
|-------|--------------------------|-------|--------------------------|

20. ¿Confía en la calidad de las plantas medicinales?

- | | | | |
|-------|--------------------------|-------|--------------------------|
| a) Sí | ☐ | b) No | ☐ |
|-------|--------------------------|-------|--------------------------|

21. ¿Ha notado diferencia en la calidad según donde las haya obtenido?

- | | | |
|--------------------------------------|--------------------------|--|
| a) NO | ☐ | Finalice aquí la encuesta si contesta que NO ha notado diferencia |
| b) SÍ | ☐ | |
| (continúe con la pregunta siguiente) | | |

22. ¿Dónde compró/obtuvo las de peor calidad?

- | | | | | | |
|------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|-------------|--------------------------|
| a) Supermercados | ☐ | b) Herboristería | ☐ | c) Farmacia | ☐ |
| d) Parafarmacia | ☐ | e) Mercadillo | ☐ | f) Campo | ☐ |
| g) Otros: | <input type="text"/> | | | | |

FIN DE LA ENCUESTA

Si tienen alguna pregunta sobre este proyecto de investigación, puede consultar en cualquier momento al Investigador Principal del proyecto, Prof. Dr. José Luis Ríos Cañavate cuyo e-mail es: riosjl@uv.es, a la Investigadora, Prof. Dra. Isabel Martínez-Solís, cuyo e-mail es isolis@uchceu.es o la estudiante de Doctorado Silvia Borrás Huertas cuyo e-mail es bohuer@alumni.uv.es. Si usted responde a las cuestiones que se le proponen, se entiende de forma tácita que ha comprendido el objetivo del presente estudio, que ha podido preguntar y aclarar las dudas que se le hubieran planteado inicialmente. Los investigadores le agradecen su valiosa participación en el presente estudio.

PEDRO JESÚS PÉREZ ZAFRILLA, Presidente del Comité Ético de Investigación en Humanos de la Comisión de Ética en la Investigación Experimentación de la Universitat de València,

CERTIFICA:

Que el Comité Ético de Investigación en Humanos, en su reunión extraordinaria del día 21 de mayo de 2020, una vez estudiado el proyecto de tesis doctoral titulado “Estudio del uso de plantas medicinales ansiolíticas e inductoras del sueño en la Comunidad Valenciana”, cuyo responsable es D. JOSÉ LUIS RIOS CAÑAVATE, como director de Dña. SILVIA BORRAS HUERTAS, con número de procedimiento 1253281,

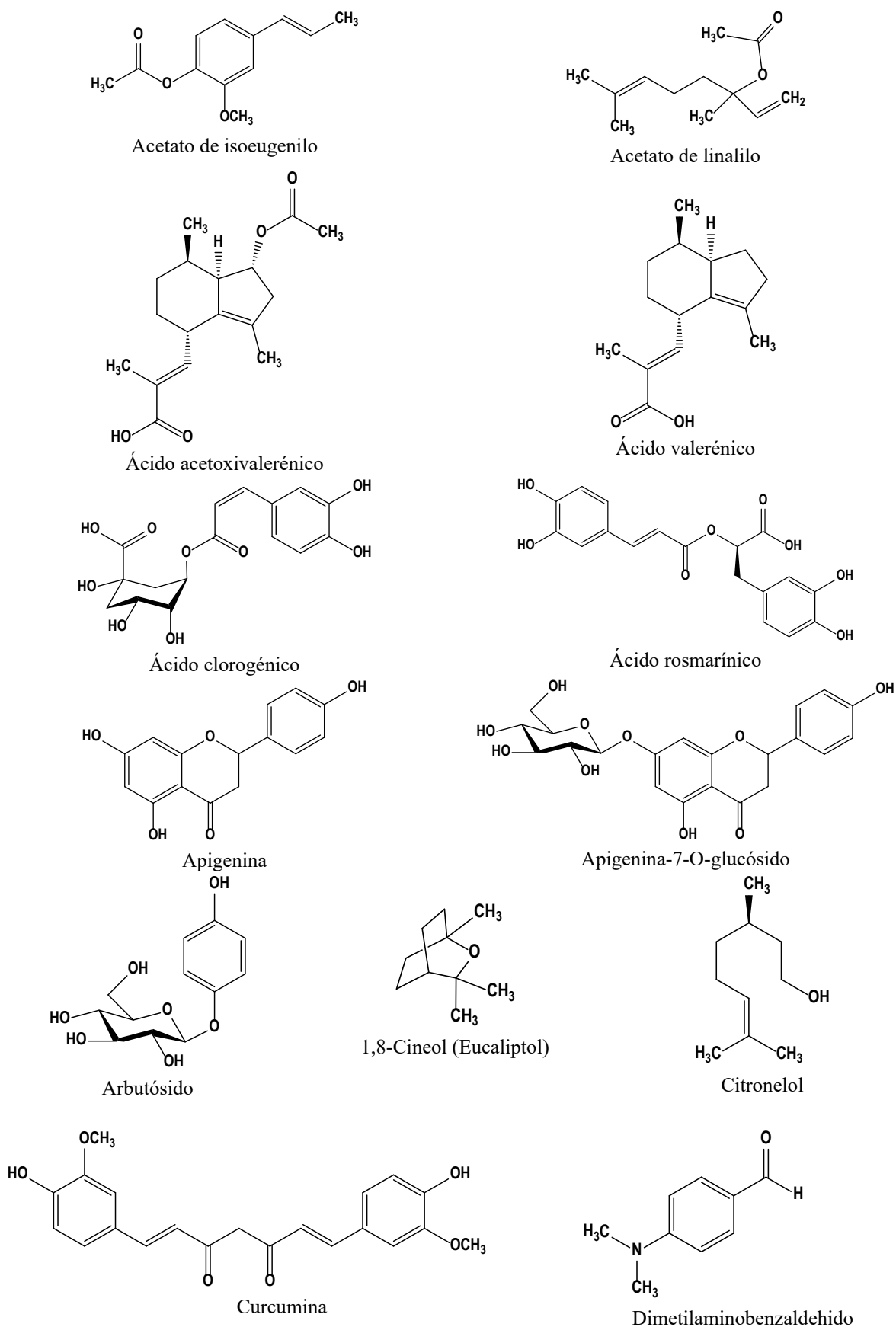
acordó informar FAVORABLEMENTE el mismo.

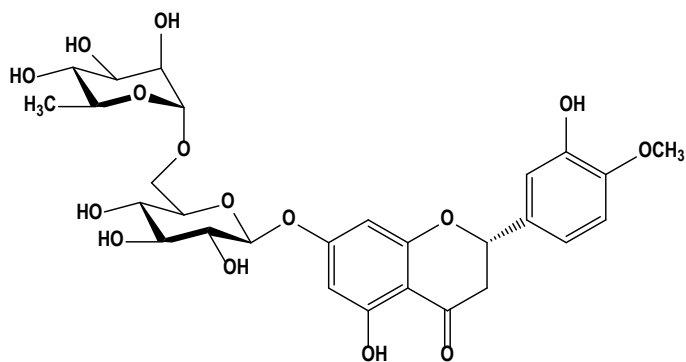
Y para que conste, se firma el presente certificado.

PEDRO
JESUS|
PEREZ|
ZAFRILLA

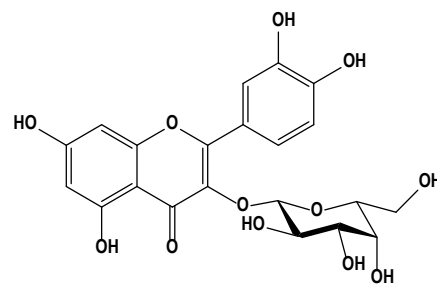
Firmado
digitalmente
por PEDRO
JESUS|PEREZ|
ZAFRILLA
Fecha:
2020.05.21[®]
22:08:41 +02'00'

Tabla 3 (T.3). Estructuras químicas de las sustancias de referencia para la identificación por HPTLC utilizadas en las drogas vegetales objeto de estudio.

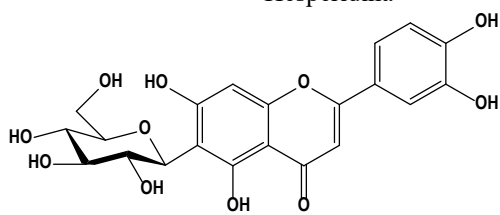




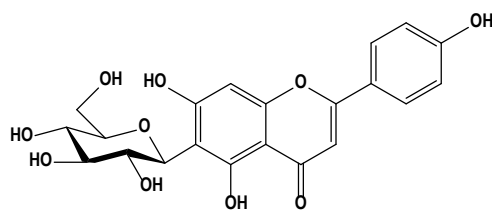
Hesperidina



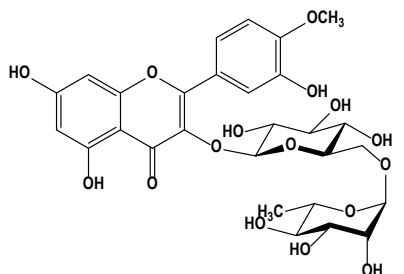
Hiperósido



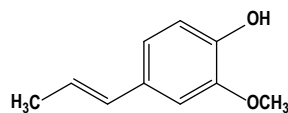
Homoorientina



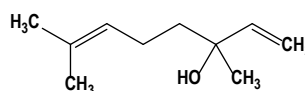
Isovitexina



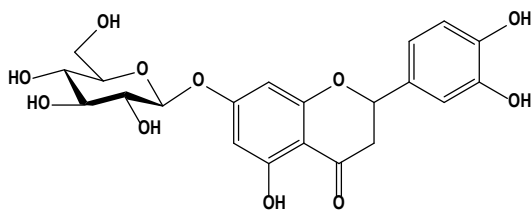
Isorhamnetina-3-O-rutinósido



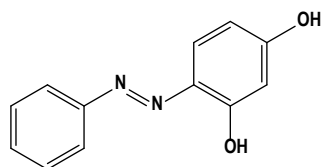
Isoeugenol



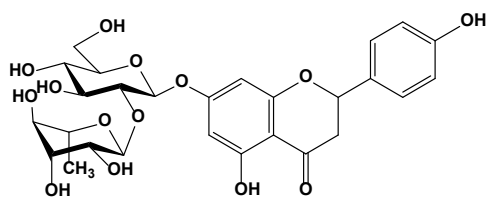
Linalool



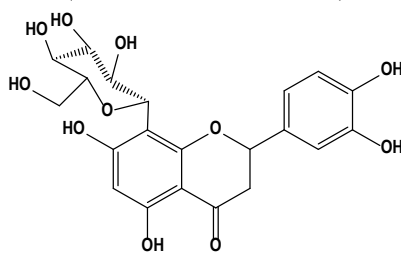
Luteolina-7-O-glucósido



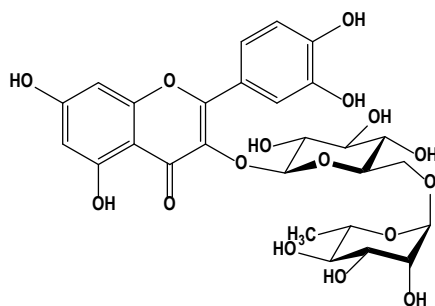
Naranja Sudán
(2,4-dihidroxiazobenceno)



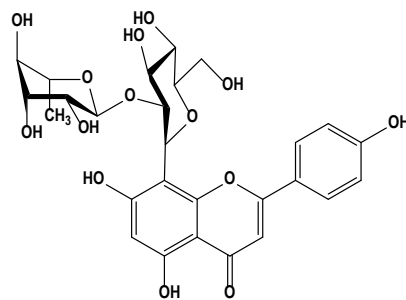
Naringina



Orientina



Rutósido



Vitexina-2''-O-rhamnósido

Tabla 4 (T.4). Material de laboratorio. Identificación microscópica.

Agitador magnético	P Selecta AGIMATIC Ref: 243
Balanza	KERN PCB 100-3
Balanza	Gram precision CM 5806
Baño de agua	MOD B-I
Cámara registro imágenes	Olympus CCD XC30
Estufa termostataada	P Selecta
Regla graduada	STAINLESS
Lupa	MEIJI EMZ-TR 26785
Microscopio	Olympus BX40
Microtomo con unidad de congelación	LEICA CM1325; MICROM GmbH
Microtomo de rotación	ANGLIA SCIENTIFIC
Papel de filtro	Eulabor
Software de adquisición de imágenes	Olympus cellSens

Tabla 5 (T.5). Colorantes, reactivos y otros productos. Identificación microscópica.

Fijador de montaje	Eukitt® R N°LOTE C32
Gel brillo seca rápido	Delipus ®
Glicerol	PRS – CODEX PANREA Lot 0000163156
Lejía	Hipoclorito sódico 3,78%
Parafina	HISTOSEC ® (MERC)
Safranina O	PCode: 1002181477
Verde rápido	PCode: 1002373376

Tabla 6 (T.6). Preparación de colorantes y reactivos. Identificación microscópica.

Colorantes/reactivos	Composición	Preparación
Albúmina de Mayer	Clara de huevo batida: 50 mL Glicerina: 50 mL Timol o fenol (unos cristales)	Batir las claras a punto de nieve y filtrar durante varias horas (hasta 12 h o más si es necesario). Mezclar a partes iguales con la glicerina y posteriormente se le añade los cristales de timol o fenol. Agitar abundantemente hasta empezar a utilizarlo
Glicerol 60%	Glicerol: 60 mL Agua destilada: 40 mL	Mezclar
Safranina	Etanol 50°: 100 mL Safranina: 1 g	Colocar sobre el agitador magnético entre 10-15 min y filtrar
Verde rápido	Etanol absoluto: 50 mL Esencia de clavo: 50 mL Verde rápido: 1 g	Colocar sobre el agitador magnético entre 10-15 min y si es necesario, posteriormente, filtrar

Tabla 7 (T.7). Material de laboratorio. Identificación por HPTLC.

Material de laboratorio	Casa comercial
Agitador magnético	IKA RCT basic
Aplicador	Camag Automatic TLC Sampler 4
Balanza	Santorias
Baño	Büchi Waterbath B-480
Baño ultrasonidos	Bandelin electronic GmbH & Co
Cámara de desarrollo	Camag ADC2 Automatic Developing Chamber
Dispositivo de inmersión cromatográfica	Camag Chromatogram Immersion Device III
Embudo de vidrio	Afora
Filtro membrana tamaño poro 0,45 µm	Gelman Acrodisc LC13
Imán agitador	Afora
Matraz Erlenmeyer 50 mL	Afora
Matraz de fondo redondo 50 mL	Afora
Papel de filtro	Eulabor
Placa calefactora	Placa Camag TLC Plate Heater
Placa silicagel	HPTLC silicagel 60 F254 (Merck) (5-7 µm) de 20 × 10 cm.
Probeta 10 mL	Afora
Pulverizador	Taurus Aromatic Type: SP-7407
Registro de las imágenes electrónicas	Visión CATS. Camag HPTLC Software. Versión 3.2 SP 2
Tamiz	Nº 78 y Nº B90
Varilla de metal	Afora
Viales tapón rosca ND9 PP Azul	4008247
Visualizador	Camag TLC Visualizer

Tabla 8 (T.8). Disolventes, reactivos y sustancias de referencia.

Nombre del producto	Código	Casa comercial
Acetato de etilo	E/0900/21	Fisher Scientific
Acetato de linalilo	49599	Sigma-Aldrich
Acetato isoeugenilo	07055	Sigma-Aldrich
Ácido acético glacial	131008.1611	PanReac AppliChem. ITW Reagents
Ácido acetoxivalerénico	3821 S	Extrasynthese
Ácido cafeico	C-0625	Sigma-Aldrich
Ácido clorogénico	C3878	Aldrich Chemistry
Ácido fórmico	A0451547	Thermo Scientific
Ácido rosmarínico	R4033	Sigma-Aldrich
Ácido valerénico	51964	HWI group
<i>p</i> -Anisaldehído	104805000	Acros Organics
Arbutina	A-4256	Sigma
Butanona (etilmetilcetona)	131429.1611	PanReac
Ciclohexano	UN1142	Scharlau
1,8-Cineol	Y0000176	European Pharmacopoeia
Citronelol	274	Fluka MCM Klosterfrau
Curcumina	458-37-7	Extrasynthese
Diclorometano	UN1593	Scharlau
4 – Dimetilaminobenzaldehído	109762	Sigma-Aldrich
Etanol absoluto	8025.1000	Baker
Hesperidina	05304LLZ	Aldrich
Hiperósido	0018-05-85	HWI group
HPTLC Silica Gel 60 F ₂₅₄	1.05642.0001	Analytical Chromatography
Isoeugenol	57522	Sigma-Aldrich
Isoorientina	0382-05-85	HWI group
Isoramnetina-3-rutósido	PHL83337	PhytoLab
Isovitexina	0112-05-90	HWI group
Linalol	51782	Sigma-Aldrich
Metanol	M/4058/17	Fisher Scientific
Naringina	91842	Sigma-Aldrich
Orientina	89746	PhytoLab
Polietilenglicol 400	142436.1611	Panreac-Applichem
Rutósido trihidrato	78095	Sigma-Aldrich
Sudan I, puro	147060250 / CAS842-07-9	Acros
Tolueno	131745.1611	PanReac AppliChem. ITW Reagents
Vitexin-2- <i>O</i> ''-rhamnósido	49513	Sigma-Aldrich
Xileno	8080.1000	J.T.Baker

X.

ANEXO II



Medicinal Plants for Insomnia Related to Anxiety: An Updated Review[#]

Authors

Silvia Borrás^{1,2}, Isabel Martínez-Solís², José Luis Ríos¹ 

Affiliations

- 1 Departament de Farmacologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de València, Spain
- 2 Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera, Spain

Key words

medicinal plants, essential oils, sleep disorders, insomnia, anxiety, clinical trials

received

January 7, 2021

accepted after revision

May 9, 2021

published online

June 11, 2021

Bibliography

Planta Med 2021; 87: 738–753

DOI 10.1055/a-1510-9826

ISSN 0032-0943

© 2021. Thieme. All rights reserved.

Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany

Correspondence

Prof. José Luis Ríos

Departament de Farmacologia, Facultat de Farmàcia,
Universitat de València

Av. Vicent Andrés Estellés s/n., 46100 Burjassot,
Valencia, Spain

Phone: + 34 963 54 49 73, Fax: + 34 963 54 49 43

jose.l.rios@uv.es



Supplementary material is available under

<https://doi.org/10.1055/a-1510-9826>

ABSTRACT

Sleep disorders are common among the general population and can generate health problems such as insomnia and anxiety. In addition to standard drugs and psychological interventions, there are different complementary plant-based therapies used to treat insomnia and anxiety. This review aimed to find and examine the most recent research on the use of herbal medicines for treating anxiety and insomnia as compiled from clinical trials, as well as to assess the safety and efficacy of these medicines and to elucidate their possible mechanisms of action. The process entailed a search of PubMed, Scopus, and the Cochrane Library databases from 2010 to 2020. The search terms included “sleep disorder”, “insomnia”, “sedative”, “hypnotic”, “anxiety”, “anxiolytic”, and “clinical trial”, combined with the search terms “herbs” and “medicinal plants”, in addition to individual herbal medicines by both their common and scientific names. This updated review, which focuses mainly on clinical trials, includes research on 23 medicinal plants and their combinations. Essential oils and their associations have also been reviewed. The efficacy of medicinal plants depends on treatment duration, types of study subjects, administration route, and treatment method. More clinical trials with an adequate, standardized design are necessary, as are more preclinical studies to continue studying the mechanisms of action. As a result of our work, we can conclude that the 3 plants with the most potential are valerian, passionflower, and ashwagandha, with the combination of valerian with hops and passionflower giving the best results in the clinical tests.

Introduction

Sleeping is necessary for life, like eating or breathing, and can be described as a reversible state that is easily affected both by the physical environment (even though it does not interact with it) and by age [1]. Different mediators are implicated in the physiology of sleep. Of these, NA, histamine, DA, glutamate, and GABA play a relevant role in the process, but other neurotransmitters are also implicated, such as orexins A and B, adenosine, glycine, ACh, serotonin (5-HT), and melatonin [1–6]. NA is synthesized in different regions of the brain, one of which is the *locus coeruleus*,

where it is produced during wakefulness as well as during the sleep cycle; interestingly NA decreases partially in NREM sleep and is absent in REM sleep. In contrast, histamine, which is synthesized in the posterior area of the hypothalamus, specifically in the tuberomammillary nucleus, plays an important role in wakefulness and decreases during NREM sleep [2]. Glutamate, the most important stimulant in the CNS, is the third most relevant stimu-

[#] Dedicated to Professor Arnold Vlietinck on the occasion of his 80th birthday.

ABBREVIATIONS

5-HT	5-hydroxytryptamine, serotonin
ACh	acetylcholine
AChE	acetylcholinesterase
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
CNS	central nervous system
DA	dopamine
EPM	elevated plus maze
GABA	gamma-aminobutyric acid
GAD	generalized anxiety disorder
i. p.	intraperitoneally
i. v.	intravenous
ICSD	International Classification of Sleep Disorders
ISI	Insomnia Severity Index
NA	noradrenaline
NREM	nonrapid eye movement sleep
p. o.	per os, orally
PSQI	Pittsburgh Sleep Quality Index
REM	rapid eye movement sleep

lant neurotransmitter implicated in wakefulness; its activity occurs after stimulation of the ionotropic and metabotropic receptors [3]. The orexins A and B are related to the maintenance of wakefulness; they are synthesized in the hypothalamus and also trigger other systems, such as the noradrenergic, dopaminergic, and histaminergic pathways [4].

Inhibitors of the neurotransmitter system include GABA, adenosine, and glycine. Of these, GABA is the most important because it exerts inhibitory control over both the monoaminergic systems and the orexin system during sleep [5]. The GABA system is implicated in a relevant series of neurophysiological events, including anxiety and sleep, with impairments in GABA modulations producing different neurological and psychological disorders, including insomnia and anxiety [6, 7]. In the case of adenosine, it induces NREM sleep when present in the preoptic area and hypothalamus, whereas glycine favors atonic over REM sleep. ACh plays an important role during REM sleep because anticholinergic activity increases in this phase. In contrast, 5-HT inhibits REM sleep; thus, when the brain stem nucleus is activated, REM sleep decreases [7]. The last neurotransmitter implicated is melatonin, which is released in the absence of light and is essential for sleep regulation and circadian rhythm [2].

Sleep Disorders and Insomnia

Sleep disorders are common in the population and can generate problems with both sleep quality and overall health [8]. The ICSD-3 classifies these problems into 7 categories: insomnia, sleep-related breathing disorders, central disorders of hypersomnolence, circadian rhythm sleep-wake disorders, sleep-related movement, parasomnias, and other sleep disorders. One of the most common disorders is insomnia, which is defined as “difficulty in falling asleep or maintaining the sleep state during the

night” and affects a significant percentage of the general population [9]. The condition is considered chronic when insomnia occurs at least 3 times per week for at least 3 mo. This type of chronic insomnia is estimated to affect 5–10% of the population and is associated with numerous adverse effects on function, health, and quality of life. On the other hand, short-term insomnia manifests itself for less than 3 mo and affects a greater percentage of people—approximately 30% to 50% of the general population [10].

Relationship between Insomnia and Anxiety

Sleep disturbances, especially insomnia, are quite common in people suffering from anxiety, especially GAD, which is a persistent state of anxiety lasting for at least 6 mo and is often a consequence of different psychiatric disorders (e.g., depression or post-traumatic stress disorder). Patients with GAD commonly present with nonspecific somatic symptoms such as insomnia [11]. Based on the available scientific and medical evidence, the sleep disorders linked to mild-moderate GAD are maintenance sleep insomnia and, to a lesser degree, early sleep insomnia [12, 13]. GAD has a prevalence of 4–7% in the general population and is characterized by excessive worry and other physiological symptoms ranging from muscle tension to restlessness and insomnia [14]. Schanzer et al. described GAD as a disabling psychiatric condition encompassing several concurrent disorders, including social phobia, other specific phobias, panic disorder, and major depressive disorder. The pathophysiology of GAD is significantly affected by low levels of GABA and excitatory glutamate neurotransmission. GABA_A receptors are especially concentrated in the medial prefrontal cortex, the amygdala, and the hippocampus, all of which are involved in anxiety and fear responses [15]. Other authors have suggested that there is a bidirectional relationship between anxiety/depression and insomnia, with anxiety and depression being related to future insomnia and insomnia being related to future high anxiety and future high depression [11, 16]. In a recent study by Bragantini et al., difficulties initiating sleep were found to be related to increased anxiety levels [17].

Pharmacological Treatment of Insomnia

Treatment of chronic insomnia often involves prescription drugs such as benzodiazepines and hypnotics, but these have many adverse side effects such as dependency, headaches, nightmares, daytime fatigue, nausea, confusion, and a loss of balance resulting in falls [18]. Other pharmacological treatments such as antipsychotics and antidepressants likewise have significant adverse effects. Even so, they are commonly prescribed “off-label” for chronic insomnia, particularly in later life [19]. In addition, various nonpharmacological approaches are common, including cognitive-behavioral therapy. Having so many options allow people seeking treatment for insomnia to combine pharmacological and nonpharmacological therapies to achieve better sleep [10]. Treatment for GAD is similar; patients can use drugs such as benzodiazepines, antidepressants, and pregabalin (an anticonvulsant), but there are also effective psychological therapies such as behavioral therapy, relaxation response training, mindfulness meditation

training, and cognitive behavioral therapy, which is the most studied and most commonly used [14].

Medicinal Plants in the Treatment of Insomnia

Although pharmacotherapies and psychological interventions are the main treatments for insomnia and sleep disorders, compounds employed in complementary, alternative, and folk medicine have also been used to treat these disorders, albeit mostly by herbalists and indigenous communities. Here it is important to distinguish between the different types of assessments used when discussing these compounds. Thus, for example, whereas traditional knowledge about the historical use of medicinal plants provides valuable insight into their effects, preclinical studies focus on the *in vitro* and *in vivo* (animals) effects to understand and modify the potential applications of these compounds for use in humans. In the case of clinical trials with medicinal plants and their extracts, such studies, along with reviews like this one, provide evidence about how these plants may be used as supplements in humans to induce and maintain sleep during the night [20, 21]. The results obtained to date indicate that the active principles of sedative medicinal plants generally have effects on the GABA system, but other mechanisms are also implicated, including the dopaminergic pathway [6, 22].

This review aimed to find and examine the most recent research on herbal medicines studied for their effects on anxiety and insomnia in human clinical trials, as well as to evaluate their safety and efficacy in treating these pathologies. The methodology involved a language-restricted (English) search of PubMed, Scopus, and the Cochrane Library databases from 2010 to 2020, but certain highlighted papers were also included, mainly preclinical studies. The review centers on clinical data for medicinal plants studied specifically for insomnia and anxiety. The search terms included “insomnia”, “sleep disorders”, “sleep”, “sedative”, “hypnotic”, “anxiety”, “anxiolytic”, and “clinical trial” combined with the search terms “herbs”, “plants”, and “medicinal plants”, in addition to both the common and scientific names of individual herbal medicines. Several preclinical studies were also included to clarify the mechanisms of action of some relevant species. To avoid repetition, the official botanical names [23] of all the plants that appear in this review, as well as the doses and types of tests used, have been included as tables. Thus, ► **Table 1** compiles all the protocols and tests used in the clinical trials cited in the text while **Table 1S** (Supporting Information) compiles all the protocols and tests used in the clinical trials cited in **Tables 2S to 6S** (Supporting Information). ► **Table 2** summarizes the species cited in this review, including the binomial botanical name, family, and common names, whereas **Table 2S** (Supporting Information) compiles the principal studies of sedative and anxiolytic-like plants in animals. **Table 3S** (Supporting Information) lists the principal clinical trials cited in the text, including all the experimental data. **Table 4S** (Supporting Information) shows the trials in which a mixture of plants was used and **Table 5S** (Supporting Information) summarizes the trials with only essential oils. Finally, **Table 6S** (Supporting Information) compiles the studies that included mixtures of essential oils.

► **Table 1** Rating scales and tests used for clinical studies and cited in this review.

BAI	Beck Anxiety Inventory
BDI	Beck Depression Inventory
Bf-S	<i>Befindlichkeitsskala</i> (sensitivity scale)
DISS	Defined Intensity Stressor Simulation
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
HAM-A	Hamilton Anxiety Rating Scale
ICSD	International Classification of Sleep Disorders
ISI	Insomnia Severity Index
LSEQ	Leeds Sleep Evaluation Questionnaire
MENQOL	Menopause-Specific Quality of Life Questionnaire
PSQI	Pittsburgh Sleep Quality Index
PSS	Perceived Stress Scale
SMHSQ	St. Mary's Hospital Sleep Questionnaire
STAI	Spielberger State-Trait Anxiety Inventory
VAS	Visual Analogue Scale

Relevant Species Used to Treat Insomnia

A limited number of species were tested for their sedative and anxiolytic effects in animals. While the results provide some insight into the plants' active compounds and their potential mechanisms of action, they are inconclusive because some of the tests were carried out with isolated compounds and others with various extracts. Of these, valerian, passionflower, kava, goldshower, ashwagandha, and lemon balm gave the best results, as compiled in **Table 2S** (Supporting Information). In the following paragraphs, medicinal plants are classified according to the relevance of the preclinical and clinical studies performed with them; we then discuss the species cited for their clinical studies only.

Valeriana officinalis

Valerian is probably the species that has been studied the most for its effects on different types of nervous alterations, especially insomnia and anxiety [24]. Previous *in vivo* studies have established the plant's anxiolytic and antidepressant activities in both mice and rats but not its sedative or myorelaxant properties [25]. Researchers have also elucidated specific pharmacological activities for different compounds from the plant, including the synergistic interactions of different valepotriates [26], along with the allosteric modulation of GABA_A receptors (but not of its analogs and derivatives) by valerenic acid [27] (► **Fig. 1**). This latter compound is also responsible for the increase observed in BDNF levels *in vitro* [28]. These results indicate that valerenic acid could be considered the principal active compound of valerian.

Different clinical studies have demonstrated the positive effects of valerian on both the sleep structure and sleep perception of insomnia patients, making this a compound of interest for treating patients with mild psychophysiological insomnia. Indeed,

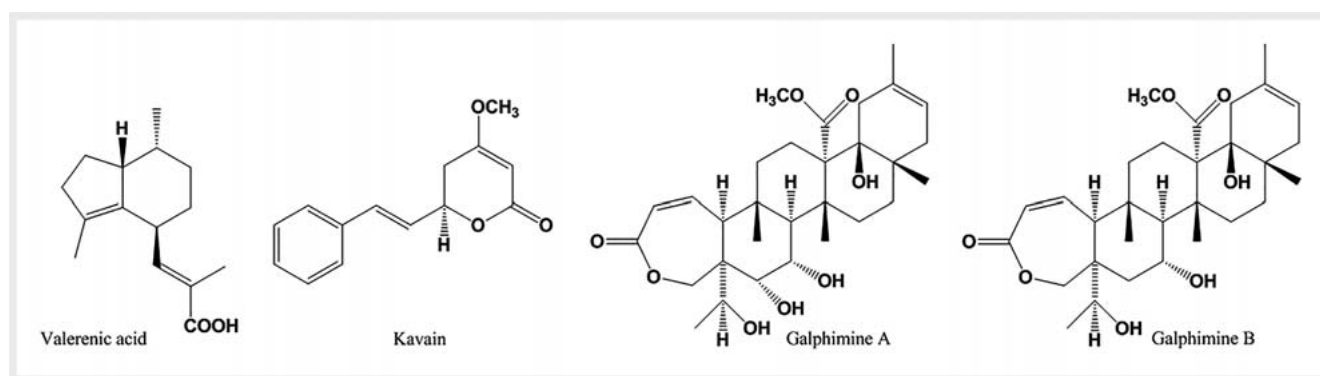
► **Table 2** Species cited in the present review: botanical names, family [23], and common names.

Botanical name	Family	Common name
<i>Aloysia polystachya</i> (Griseb.) Moldenke	Verbenaceae	“Burrito”, “ka á jaguá”
<i>Caralluma adscendens</i> var. <i>fimbriata</i> (Wall.) Gravelly & Mayur.	Apocynaceae	“Maakada singi”, “Mangana kodu”
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	Apiaceae	Gotu cola
<i>Citrus × aurantium</i> L.	Rutaceae	Bitter orange, Neroli oil
<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	Rutaceae	Lemon
<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck (syn: <i>Citrus × bergamia</i> Risso & Poit.)	Rutaceae	Bergamot
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Rutaceae	Sweet orange
<i>Crataegus rhipidophylla</i> Gand. (syn: <i>C. oxyacantha</i> L.)	Rosaceae	Hawthorn
<i>Crocus sativus</i> L.	Iridaceae	Saffron
<i>Eschscholzia californica</i> Cham.	Papaveraceae	California poppy
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Myrtaceae	Eucalyptus
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Apiaceae	Fennel
<i>Galphimia glauca</i> Cav.	Malpighiaceae	Goldshower, “calderona amarilla”
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Leguminosae	Soya
<i>Humulus lupulus</i> L.	Cannabaceae	Hops
<i>Lactuca sativa</i> L.	Compositae	Lettuce
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Lamiaceae	Lavender
<i>Lavandula dentata</i> L.	Lamiaceae	French lavender
<i>Lavandula × heterophylla</i> Viv. (syn: <i>Lavandula × hybrida</i> Balb. ex Ging.)	Lamiaceae	Lavender (hybrida)
<i>Lavandula × intermedia</i> Emeric ex Loisel	Lamiaceae	Lavandin super
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N. E.Br. ex Britton & P.Wilson	Verbenaceae	Bushy matgrass
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Compositae	Chamomile
<i>Melaleuca alternifolia</i> (Maiden & Betcher) Cheel	Myrtaceae	Tea tree
<i>Melissa officinalis</i> L.	Lamiaceae	Lemon balm
<i>Mentha × piperita</i> L.	Lamiaceae	Peppermint
<i>Nepeta menthoides</i> Boiss. & Buhse	Lamiaceae	“Ostokhodus”
<i>Passiflora edulis</i> Sims (syn: <i>Passiflora incarnata</i> L.)	Passifloraceae	Passionflower
<i>Petasites hybridus</i> (L.) G.Gaertn., B.Mey., & Scherb.	Compositae	Butterbur
<i>Piper methysticum</i> G.Forst.	Piperaceae	Kava
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	Rosemary
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Lamiaceae	Baikal skull
<i>Scutellaria lateriflora</i> L.	Lamiaceae	American skullcap
<i>Sedum roseum</i> (L.) Scop. (Syn: <i>Rhodiola rosea</i> L.)	Crassulaceae	Golden root
<i>Valeriana officinalis</i> L.	Caprifoliaceae	Valerian
<i>Viola odorata</i> L.	Violaceae	Wood violet or sweet violet
<i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal	Solanaceae	Ashwagandha
<i>Ziziphus jujuba</i> var. <i>spinosa</i> (Bunge) Hu ex H.F.Chow	Rhamnaceae	Sour date

continued

► Table 2 Continued

Botanical name	Family	Common name
Species not declared: possible species used are listed		
Botanical name of species was not cited	Geraniaceae	Geranium
<i>Cananga odorata</i> (Lam.) Hook.f. & Thomson or <i>Cananga odorata</i> var. <i>fruticosa</i> (Craib) J.Sinclair	Annonaceae	Ylang ylang
<i>Cinnamomum verum</i> J. Presl	Lauraceae	Cinnamon
<i>Citrus paradisi</i> Macfad.	Rutaceae	Grapefruit
<i>Pelargonium</i> hybrids	Geraniaceae	Rose-scented geranium



► Fig. 1 Chemical structure of active component of valerian (valerenic acid), kava (kavain), and goldshower (galphimine A and galphimine B).

Donath et al. [29] analyzed its effects on this disorder using both objective and subjective sleep parameters and found that only patients who had received multiple doses showed a significant increase in sleep. In another clinical trial with patients with non-organic insomnia, Ziegler et al. demonstrated a similar effect when patients received valerian or oxazepam [30]. Other studies did not obtain positive results with similar doses, but these were conducted on a reduced number of patients [31,32]. In a controlled trial with menopausal women, Taavoni et al. found that valerian had a positive effect on sleep quality in comparison to a placebo [33], but Barton et al. observed no significant improvement in sleep [34]. In patients with obsessive-compulsive disorders, valerian significantly ameliorated anxiety and various other psychiatric symptoms including insomnia, but the effects were not significantly greater than those of the placebo [35]. Another clinical trial evaluated the activity of valerian in patients of both genders, with the results unequivocally demonstrating the remarkable effects of valerian in providing patients with the necessary comfort and relaxation without sedation and with less somnolence than midazolam, which was used as a reference drug [36]. Taking the results of all these clinical trials together, it seems clear that valerian has an anxiolytic effect and, as a consequence, improves both the quality and time of sleep, although more studies are needed before this plant can be recommended in a clinical setting.

Passiflora edulis

The aerial parts of passionflower are widely used to treat sleep disorders and anxiety [37]. Preclinical studies confirmed the anxiolytic and sedative properties in both mice [38,39] and rats [40]. In the first case, in which the EPM test was used, researchers proposed an anxiolytic-like effect through a GABA_A/benzodiazepine receptor antagonist rather than a specific 5-HT_{1A}-antagonist, concluding that passionflower activity in mice may be due to a GABAergic mechanism rather than a serotonergic effect [39]. The same test in rats demonstrated a significant increase in slow-wave sleep and a reduction of REM sleep, along with a decrease in the total time spent in wakefulness [40].

Different clinical trials have confirmed the anxiolytic and sedative effects of passionflower. For example, Akhondzadeh et al. evaluated the efficacy of passionflower in the treatment of GAD, demonstrating that passionflower was indeed an effective treatment therapy [41]. In another study, the results were not significant for anxiety, probably because the dosage was inferior to the adequate dose, but they were positive for sleep quality [42]. In contrast, another trial with pre-operative patients showed that subjects who took passionflower had a reduction in anxiety levels but experienced no sedation effects [43]. In the case of patients undergoing dental extraction, passionflower had a similar effect to midazolam as an anxiolytic [44]. In the specific case of sleep disorders, Lee et al. demonstrated the positive effects of passion-

flower on objective sleep parameters in adults with insomnia, with improvements in both sleep efficiency and waking after sleep onset [45]. Although the dosages varied in these studies, making comparisons difficult, it seems that passionflower could be useful for treating both anxiety and sleep disorders.

Piper methysticum

Kava is used for treating anxiety, stress, and insomnia and in elevated doses also has anesthetic and hypnotic properties [46,47]. The preclinical assays reviewed here were carried out principally with kavain (► Fig. 1), which, when tested for its effects on the GABAergic system, was found to improve GABA_A activity. Moreover, the combination of kavain and diazepam produced an even greater enhancement of GABA activity compared to their actions alone [48]. Shinomiya et al. demonstrated that kava improves delta activity during sleep at stages 2–3 and 3–4 [49], while Tsutsui et al. confirmed the hypnotic effect of kavain, finding that, compared to rilmazafone and diphenhydramine, it enhanced sleep quality in sleep-disturbed rats during the sleep-wake cycle. The combination of kavain and rilmazafone reduced sleep latency and awake time and increased NREM sleep time; in contrast, when combined with diphenhydramine, it affected sleep latency but not awake time or NREM sleep [50].

Clinical studies have further demonstrated kava's potential for treating anxiety and sleep disorders in humans. Lehl, for example, studied the effect of kava on sleep disorders in patients with anxiety, measuring the results with various scales such as the HAM-A, the Bf-S (a self-rated scale of well-being), and the CGI scale. In the first 2, the authors observed a reduction in psychic anxiety and an increase in general well-being [51]. Sarris et al. demonstrated a decrease in the anxiety levels of patients with GAD, above all in participants with high-level anxiety according to the DSM. The results, as measured with HAM-A, showed that the effect in the kava group was associated with GABA transporter polymorphisms [52]. Kutcha et al. likewise demonstrated the efficacy of kava in the treatment of anxiety as measured with HAM-A on volunteers with anxiety disorders, observing a significant enhancement in the high-dose group compared with the low-dose group [53]. Unfortunately, Sarris et al. were unable to confirm this effect in a clinical trial with a longer duration and a larger sample size [54]. Taken together, however, these studies demonstrate that kava generally has anxiolytic and hypnotic effects and can improve sleep quality, especially when the problem is due to anxiety issues.

Galphimia glauca

Goldshower or “calderona amarilla” is a tropical plant of Central America used for treating anxiety and sleep disorders [55]. Many preclinical studies have been performed with enriched extract and with the plant's nor-seco-triterpenes, some of which (galphimines A, B ► Fig. 1), and E) have been described as inhibitors of dopaminergic activity. However, these compounds may also interact with the serotonergic system, which could partly explain their previously described anxiolytic effects [55]. In this context, Herrera-Ruiz et al. tested the anxiolytic properties of goldshower using the EPM test with different sets of mice. They found that the galphimine-rich fraction, galphimine A, and galphimine B showed a

higher anxiolytic effect than the placebo, but this effect was modest compared to the standard drug [56]. These same authors [57] studied the effects of a standardized extract using the EPM, the light-dark test, and the forced swimming test in mice and observed an anxiolytic-like effect in the EPM and the light-dark tests; however, no effect was observed in the forced swimming test. This could be due to an interaction of galphimine B with the serotonergic system in the dorsal hippocampus, which modulates the induced response of 5-HT_{1A} receptors in an allosteric manner without affecting the GABAergic system [58]. Avilés-Montes et al. performed another preclinical trial using galphimine A on mice and observed an anxiolytic-like effect with no accompanying sedative effect [59]. The mechanism was elucidated by Santillán-Urquiza et al., who noted that galphimines act in the dopaminergic system but not in the GABAergic system [60]. These same authors also established that the administration route should be oral, although Garige et al. had previously used i. p. administration with similar results [61]. Taken together, these results indicate that *Galphimia glauca* has anxiolytic properties due to its nor-seco-triterpenes and galphimines A and B via the serotonergic and dopaminergic systems but not by the GABAergic one.

In addition to the preclinical assays, some relevant trials have also been performed in humans. Especially noteworthy are those carried out by Herrera-Arellano et al., who performed 2 clinical trials comparing goldshower's anxiolytic effects with those of lorazepam but under different conditions. The results for both treatments, as measured with the HAM-A, demonstrated that *Galphimia glauca* exerted anxiolytic effects in patients with GAD, even at different doses and with different treatment times, although the age range was similar [62,63]. In another study, Romero-Cerecero et al. demonstrated the same anxiolytic effect in a study with patients who received either extract or sertraline. Using various scales to measure anxiety, they established that there were no significant differences between groups as measured by the BSPS, which indicates that anxiety decreased in both treated groups [64]. In a second study, these same authors developed a trial comparing the efficacy of a standardized extract of *Galphimia glauca* with that of alprazolam. The results were measured with the Health Scale. The authors observed that the extract of *Galphimia glauca* reduced anxiety levels but did not produce sleepiness during the day, thereby confirming the dopaminergic hypothesis as the mechanism of action for galphimine B [65]. In conclusion, *Galphimia glauca* is an effective anxiolytic that reduces anxiety through a dopaminergic mechanism without causing drowsiness.

Withania somnifera

Ashwagandha is a classic herb used in Ayurvedic medicine [66]. It was evaluated in a previous study by Andrade et al., who investigated its efficacy against anxiety and observed a positive effect vs. placebo [67]. In a subsequent study, Chandrasekhar et al. designed a trial to see if ashwagandha could reduce stress and anxiety and observed similar beneficial results, including improvements in the quality of life, but with no reductions in cortisol levels [68]. Lopresti et al. performed a clinical trial for assessing ashwagandha's effects on stress, anxiety, and hormone production, among other outcomes, in healthy adults. The results of the

HAM-A scale showed a beneficial anxiolytic effect. Likewise, the DASS-21 measure indicated a strong positive trend, with decreases in cortisol and dehydroepiandrosterone levels but no significant increase in testosterone in men [69]. Fuladi et al. suggested that ashwagandha could be used as a complement to selective serotonin reuptake inhibitors in patients with GAD [70]. In the case of patients with schizophrenia, Gannon et al. indicated that ashwagandha could help in the treatment of depression and anxiety [71]. Salve et al. carried out a clinical trial in which patients who received treatment showed improvements in their stress levels and sleep quality as measured by the PSS and HAM-A, as well as in their cortisol levels [72]. A similar trial performed by Langade et al. confirmed that ashwagandha can be used as an anxiolytic as well as for treating insomnia and enhancing sleep quality compared to a placebo [73]. Kelgane et al. studied whether an extract of ashwagandha could be used in the elderly for general health and sleep quality, with the outcomes, as measured with different scales, demonstrating that ashwagandha supplementation could be an effective alternative to counter issues associated with aging, including sleep quality and mental alertness [74]. Deshpande et al. showed improved sleep quality in healthy patients suffering from nonrestorative sleep after treatment with a standardized extract of ashwagandha [75]. In a recent clinical study, Langade et al. verified the use of an extract of ashwagandha both as an anxiolytic and to improve symptoms of insomnia as compared to a placebo [76]. Taken together, these studies show that ashwagandha can be used as an anxiolytic, as well as for treating insomnia and enhancing sleep quality.

Melissa officinalis

Lemon balm is used in folk medicine as a sedative-hypnotic agent for treating insomnia and stress [77], with volatile compounds, triterpenes, and phenolics as the principal active constituents [78]. In one preclinical study, its anti-anxiety effects were associated with the inhibition of GABA transaminase and the consequent increase in cerebral availability of GABA, without impairment to normal activity [79]. This study was complemented with an open-label prospective study performed by the same authors. Indeed, Cases et al. [80] studied the anxiolytic effect of one standardized extract (Cyracos) in healthy volunteers and described its positive effects on symptoms of anxiety and insomnia for patients with mild-to-moderate anxiety. However, this clinical study has severe limitations due to the absence of a placebo or positive control, the low number of volunteers, and the broad age range of the subjects. In another study, Haybar et al. performed a clinical trial in patients with chronic stable angina, observing that treated patients showed significant reductions in their scores for depression, anxiety, stress, and total sleep disturbance in the DASS-21 and PSQI [81]. While more clinical studies with lemon balm are needed to establish clear conclusions about its effects, other studies have examined the potential of mixtures of lemon balm with other plants. These will be discussed below in the section on “Effects of Medicinal Plants in Combination”.

Matricaria chamomilla

Chamomile has long been used around the world as a medicinal plant to treat different pathologies and their symptoms, including

anxiety and insomnia [82]. In their study of this plant, Amsterdam et al. [83] demonstrated its anxiolytic effect on patients with mild to moderate GAD. Keefe et al. confirmed these anxiolytic properties in patients with moderate GAD but not in patients with severe GAD symptoms [84]. Mao et al. investigated these effects in a similar trial but over a longer period and using different indexes and scales to measure the results. They concluded that chamomile can be used for reducing anxiety in patients with moderate-to-severe GAD without modifying the rate of relapse [85]. Moreover, in an exploratory study, Keefe et al. measured cortisol levels in patients with GAD and demonstrated that an increase in morning salivary cortisol and the diurnal cortisol slope are both related to symptom improvement in chamomile treatment of GAD [86]. Concerning insomnia, chamomile can enhance sleep quality in elderly subjects as demonstrated by Adib-Hajbaghery et al. using the PSQI [87]. Likewise, after drinking a cup of chamomile tea, postnatal women with sleep disorders and symptoms of depression showed an increase in sleep quality and an improvement in their symptoms; however, these effects did not last over an extended period [88]. Chamomile can also be used to ameliorate symptoms of depression, as demonstrated by Amsterdam et al. in a clinical trial that included volunteers with comorbid anxiety and depression [89]. The results suggested that chamomile may be used as an antidepressant in anxious patients with depression to ameliorate the negative symptoms of the disease, including insomnia. In conclusion, chamomile could be a good complementary treatment for sleep disorders, including those due to comorbidities such as anxiety and depression.

Humulus lupulus

Hops, traditionally used for anxiety and mood disorders, were studied by Kyrou et al. in a clinical trial using young subjects that included 2 intervention periods separated by a wash-out period. The researchers noted improvements in the subjects' symptoms of anxiety, stress, and depression, along with the insomnia associated with them [90]. Erkkola et al. performed a clinical trial in healthy postmenopausal women, who often suffer sleep disorders. Although the results were not significant after 8 weeks, at 16 weeks, the treatment was shown to reduce all outcome measures [91]. Nonetheless, the best results were obtained in association with valerian (see the section, “Effects of Medicinal Plants in Combination”).

Other species of interest

Carmona et al. performed a phase-2 clinical trial with *Aloysia polystachya* and observed a reduction in anxiety symptoms as measured by HAM-A [92]. *Centella asiatica*, another species that could be used for the treatment of GAD, was tested in patients with this disorder by Jana et al. [93], who observed improvements in levels of anxiety, stress, and depression. *Sedum roseum* was evaluated in a pilot study by Bystritsky et al., who found an anxiolytic effect in volunteers with GAD as demonstrated by reductions in their HAM-A scores; however, it must be noted that the number of participants was exceptionally low [94]. Edwards et al. studied the effects of *Sedum roseum* on students, and the results showed improvements in symptoms of stress [95]. In a similar study, Cropley et al. confirmed the effects of golden root for decreasing

stress and anxiety in subjects with mild anxiety [96]. Different preparations of *Scutellaria laterifolia* were used in a trial conducted by Wolfson et al., who observed an anxiolytic effect, but more studies are needed to confirm this property [97]. In the case of *Scutellaria baicalensis*, no clinical trials have been carried out, but flavonoids (baicalein and wogonin) have previously been cited as being responsible for its anxiolytic and sedative effects [98,99]. *Nepeta menthoides* was studied by Firoozabadi et al. in a clinical trial with patients suffering from anxiety and symptoms of depression; the results showed a decrease in anxiety symptoms and a significantly lower rate of short-term recurrence of these symptoms after cessation of the intervention [100]. *Rosmarinus officinalis* (rosemary) was studied by Nematollahi et al. in university students to treat memory performance, anxiety, depression, and sleep quality; improvements in all areas were observed [101]. Finally, *Caralluma adscendens* var. *fimbriata* was investigated for the first time by Kell et al. to assess its efficacy in reducing anxiety and stress in patients with mild to moderate anxiety. It is noteworthy that while there were no significant changes in males, the female subjects experienced changes in their cortisol levels [102].

In conclusion, although the number of trials on these plants is quite low, several species have yielded interesting results. These data can thus be considered preliminary, with those studies having positive results pointing the way for future research.

Effects of Medicinal Plants in Combination

Some authors have found that it is possible to obtain better results with a combination of medicinal plants than with only one, an idea also held by practitioners of herbal medicine and phytotherapy (the experimental data are compiled in **Table 4S**, Supporting Information). In this context, Morin et al. performed a study comparing the effects of a mixture of valerian and hops to those of diphenhydramine in patients with mild insomnia vs. a placebo. The combination of medicinal plants improved insomnia as measured by sleep latency, sleep efficiency, and total sleep time and provided enhancements in quality of life [103]. Koetter et al. evaluated the efficacy of a dry extract combination of valerian and hops in patients with nonorganic insomnia and observed that the results were markedly better with the mixture than with valerian alone [104]. Dimpfel et al. demonstrated that a valerian-hops combination improves sleep in patients after receiving only 1 administration [105].

Another typical combination of medicinal plants is valerian and lemon balm. Kennedy et al. studied the effects of this mixture on healthy volunteers suffering from stress induced in a laboratory setting and observed improvements, notably a dose-dependent reduction in anxiety as measured by the DISS [106]. In another study, menopausal women who received essential oil of valerian and lemon balm vs. a placebo presented up to a 5-point reduction in their PSQI scores [107].

Abdellah et al. demonstrated the beneficial effect of a mixture of California poppy and valerian extracts on sleep disorders and anxiety in patients in a primary health care setting [108]. Wheatley studied the effects of kava followed by administration of valerian in patients being treated for stress-induced insomnia, noting improvements in both stress levels and insomnia [109].

Ranjbar et al. carried out a clinical trial in which subjects took lemon balm and *Nepeta menthoides*. The authors found that this combination improved the symptoms of anxiety and depression and reduced insomnia as measured with ISI, BAI, and BDI scores [110].

Maroo et al. demonstrated that administration of NSF-3 (a mixture of valerian, passionflower, and hops) in patients with primary insomnia enhanced total sleep time and latency and decreased both the number of nightly awakenings and the ISI scores [111]. Ze185 (a mixture of valerian, passionflower, lemon balm, and butterbur) reduced the self-reported anxiety response to stress in male test subjects but without affecting any physiological parameters, including salivary cortisol levels due to stress [112]. Hanus et al. combined hawthorn and California poppy to evaluate the effect in patients with mild-to-moderate anxiety disorders associated with functional disturbances. Anxiety levels decreased in both the treatment and placebo groups, but the improvement was greater in the treatment group, as indicated by the HAM-A (both total and somatic) and VAS scores [113]. Scholey et al. demonstrated that LZComplex3, which contains lactium (hydrolyzed milk protein, α -capsazepine enriched), sour date, hops, magnesium, and vitamin B₆, improved sleep quality somewhat, but there were no significant differences between the baseline and endpoint of the primary outcome in patients with insomnia as measured with the PSQI [114]. Dietary supplementation with polyunsaturated fatty acids and hops improved neither sleep quality nor the sleep-wake cycle as measured by the LSEQ in participants with moderate to severe sleep disorders [115]. Finally, in a single-center, single-arm, open-label study in which Lemoine et al. used a combination of medicinal plants (extracts of California poppy, passionflower, and lemon balm) with melatonin and vitamin B₆ in patients with mild-to-moderate insomnia, the results showed improvements in sleep quality [116]. These results justify the use of some combinations of these plants, such as mixtures of valerian and hops or of valerian and passionflower, as sedative agents.

Essential Oils

The essential oil of lavender has been widely used for treating insomnia and anxiety (see experimental data, compiled in **Table 5S**, Supporting Information). Previous reports have suggested that this is mainly due to the regulation of GABAergic neurotransmission, especially with regard to GABA_A receptors, which enhance the inhibitory response of the nervous system [117,118]. Various clinical trials have confirmed the anxiolytic properties of lavender, as well as its sedative effect. In several of these studies, researchers have opted to use a preparation made from lavender called Silexan. This was the case for Woelk et al., who compared this preparation with lorazepam and observed similar outcomes in subjects with GAD; however, this study did not confirm lavender's sedative properties [119]. Kasper et al. carried out another trial with Silexan, noting that the results demonstrated a clear reduction in the PSQI scores in the Silexan group vs. the placebo group [120]. In another clinical trial, subjects with neurasthenia, post-traumatic stress disorder, or somatization disorder were treated with Silexan, which led to improvements in anxiety levels, sleep disorders, and restlessness [121]. Kasper et al. confirmed the

anxiolytic effect of Silexan in patients with GAD and also demonstrated that Silexan can act as an antidepressant [122]. Kasper et al. performed a clinical study on the ability of Silexan to improve anxiety levels, restlessness, and disturbed sleep patterns with volunteers. They verified the anxiolytic effects as measured with HAM-A; however, no sedative effects were observed (PSQI). These results indicate that Silexan may be administered orally as a treatment for anxiety but not for sedation [123]. Inhalational administration may also be of interest. Indeed, in a study carried out by Chien et al. on midlife premenopausal and postmenopausal women with insomnia who underwent ultrasonic ionizer aromatherapy with essential lavender oil, the authors found that lavender aromatherapy decreased the heart rate while increasing high-frequency standard deviation of the normal-to-normal intervals, along with the square root of the mean-squared differences of successive normal intervals for 30 min in comparison to controls [124]. Another clinical trial was performed by Karan et al. with patients unable to undergo general anesthesia. When these subjects inhaled lavender oil before dental surgery, it reduced anxiety and even decreased the need for antipsychotics [125]. Otaghi et al. performed a similar clinical trial on patients undergoing angiography. Those who received treatment with lavender essential oil and peppermint essential oil before angiography presented no differences in sleep quality [126]. Jokar et al. carried out a clinical trial in menopausal women to assess the effects of lavender oil on menopausal symptoms, especially insomnia, and observed a reduction of symptoms [127]. Another clinical trial with type 2 diabetes patients suffering from insomnia showed that lavender aromatherapy led to an increase in the quality of life through the reduction of insomnia and an increase in mood status [128].

Aromatherapy with lavender essential oil could also be a potential treatment for regulating melatonin levels, especially in older people with various sleep disorders. Velasco-Rodríguez et al. carried out a clinical trial with geriatric patients who inhaled essential lavender oil; the results confirmed that lavender increased blood melatonin levels, thus regulating the circadian cycle in both older adult men and women, which is relevant for treating insomnia. Another possibility for improving sleep disorders and anxiety may be the application of this oil through massage [129]. Ayik et al. demonstrated this in patients undergoing colorectal surgery. Before the operation, patients received a back massage with lavender essential oil (*Lavandula × heterophylla*) twice daily. They noted a decrease in both sleep disorders and anxiety as compared to the control group, who received standard nursing care [130].

Neroli oil was tested in pregnant women suffering sleep disturbances; the results showed a reduction of anxiety symptoms [131]. Heydari et al. confirmed that this essential oil can also improve premenstrual syndromes, including insomnia and anxiety, among others [132]. Pimenta et al. showed that bitter orange essential oil (inhalational administration) reduced blood pressure in patients with chronic myeloid leukemia while modifying the excitation of the CNS, thereby reducing insomnia [133]. A similar study carried out by Moslemi et al. showed improvements in patients with acute coronary syndrome who were treated with essential oil [134]. Another recent trial confirmed the anxiolytic effect of bitter orange essential oil in patients undergoing coronary angiography, with a reduction of STAI scores, systolic blood pres-

sure, diastolic blood pressure, and both respiratory and pulse rates [135]. In a clinical trial in elderly patients with heart failure, neroli oil improved sleep quality as measured with SMHSQ [136]. Moreover, aromatherapy with neroli oil can be used in type 2 diabetes patients for decreasing anxiety and fatigue. This same effect was described by Abdollahi et al. in volunteers who inhaled an extract of bitter orange (20% concentration) [137]. The essential oil of sweet orange was studied by Goes et al. in male volunteers subjected to an anxiogenic situation, obtaining positive results [138]. Mirghafourvand et al. carried out a clinical trial with postpartum women and the outcomes, as measured by PSQI, indicated that treatment with orange essential oil increased sleep quality [139].

Ylang-ylang was evaluated in a pilot study, but no differences were observed between groups for either anxiety levels or physiological parameters [140]. Wood violet essential oil was studied in patients with chronic insomnia and the outcomes, as measured by ISI, indicated a reduction in symptoms after treatment [141]. In a subsequent trial, volunteers with chronic insomnia demonstrated that this essential oil is more effective than a placebo in severe insomnia [142]. Another clinical trial in which Shirzadegan et al. studied the effects of geranium aroma on anxiety in subjects with acute myocardial infarction showed a reduction in anxiety levels; unfortunately, there are no other clinical trials on this species reported in the literature [143]. Afrasiabian et al. performed a clinical trial with lemon verbena and observed improvements in insomnia [144]. The essential oil of bushy matgrass may also be a potential treatment for decreasing anxiety. In a preclinical trial carried out by Hatano et al., the authors hypothesized that the component responsible for the plant's anxiolytic effects was carvone [145]. Soto-Vásquez et al. also investigated this plant, noting a reduction in anxiety levels when subjects inhaled the plant's essential oil [146].

Several other clinical trials have examined the potential of various combinations of different types of essential oils for improving sleep disorders and anxiety (Table 6S, Supporting Information). In one study, Lee et al. tested the effects of inhalation of an essential oil mixture (lemon, eucalyptus, tea tree, and peppermint) and observed that this aromatherapy reduced stress and depression while improving sleep quality but did not affect the stress index scores [147]. Stevens et al. used a specific mixture (Serenity soft-gel) containing lavender essential oil, L-theanine, and a blend of lemon balm, passionflower, and chamomile in a group of volunteers and observed significant differences in the treated group as measured with LSEQ [148]. Hur et al. investigated a mixture of essential oils (lavender, geranium, cinnamon, grapefruit, neroli, and ylang-ylang), administered by both inhalation and abdominal massage. The outcomes were satisfactory, with reductions in subjective stress and fatigue, and improvements in sleep quality [149]. Gürlér et al. studied the same properties in menopausal women, who inhaled a combination of 2 different oils (lavender and lemon). The results were positive, with a reduction in the total median scores of the PSQI and MENQOL for the aromatherapy group [150]. A combination of lavandin super, bergamot, and ylang-ylang was tested for its effects on the sleep quality of patients in cardiac rehabilitation and found to have significant positive results in the PSQI [151]. Another study compared the effect of lavender and peppermint essential oils (by inhalation) on the

sleep quality of cancer patients; the mean PSQI scores were lower in the lavender and peppermint groups than in the controls, but no differences between the effects of the individual essential oils were observed [152]. Polonini et al. studied the intranasal effect of Pinetonina (a mixture of French lavender and fennel) on stress and chronic stress-induced sleep disorders in volunteers and observed improvements in sleep quality as measured by the PSQI [153]. Lavender and bitter orange improved the sleep quality of postmenopausal women vs. a placebo [154]. The combination of various oils from wood violet, saffron, and lettuce also led to significant reductions in the ISI and PSQI scores in a trial on patients with chronic insomnia [155].

Discussion

Insomnia and anxiety are 2 closely related diseases that affect a large portion of the population, especially in elderly people and women. According to the literature consulted, insomnia is more common in the elderly than in young adults because it is associated with other disorders they tend to suffer from, albeit not with age. Other causes include changes in circadian rhythm or certain medications [156]. Insomnia is more prevalent in women than men (1.5 times), perhaps due to different biological, psychological, and social factors. In fact, 14 to 27% of women have sleep disorders during pregnancy while 40 to 56% of menopausal women suffer sleep disturbances [157]. This explains the greater number of clinical trials carried out on these 2 population groups to evaluate the use of various medicinal plants for treating insomnia and anxiety.

At first glance, the results of the different clinical trials seem to disagree on the benefits of these treatments for insomnia and/or anxiety. This is due to various factors, including the use of different types of extracts, the nature of the population group studied, the size of the population sample used in the trial, and the study design. For example, in the various studies on valerian, the protocols used are quite different, and the results vary accordingly. Thus, while valerian improved sleep quality in menopausal women [33], no beneficial effects on insomnia were observed in elderly adults [31,32]. This could be because different research groups used different specific extracts (see Table 35, Supporting Information). Moreover, Taibi et al. evaluated sleep in the laboratory using self-reported data [32]. In the case of kava, it was shown to improve symptoms of anxiety but only in the elderly [53]. In population groups other than the elderly and menopausal women, similar studies have been carried out with different medicinal plants; for example, both passionflower and goldshower have been tested against these pathologies. Thus, several clinical trials have been carried out with these species to evaluate their efficacy in reducing anxiety and sleep disorders, with 3 specific studies—2 using passionflower [43,44] and 1 using valerian [36]—assessing the use of these plants to treat anxiety before an intervention. Another widely studied species is chamomile, which can improve moderate GAD, but seems to have little effect on the severe form of the pathology [84]. Still, it showed beneficial results in treating anxiety in postnatal women. Ashwagandha is another species that could be used as an anxiolytic or to improve sleep quality [66].

Another factor affecting the results in this field of study is the complex formulations of the extracts assessed. Because several clinical trials have used a combination of different medicinal plants [104, 107], the results may have been affected by a pharmacokinetic and/or pharmacodynamic synergy, which could lead to both positive and negative interactions between the components [158, 159]. In some cases, synergistic effects can improve the solubility and bioavailability of different active ingredients in plants [160, 161]. For example, the increase in the bioavailability of curcumin in the presence of piperine is well-documented [162].

Concerning the principal mechanisms responsible for the effects of medicinal plants, various studies have implicated the GABAergic pathway as the principal system involved. Indeed, some authors have proposed valerenic acid as the active principle of valerian because it regulates the allosteric GABA_A receptors. In the case of kava, it has a clear active compound, kavain, which enhances the receptor activity of the subunit composition of GABA, especially at receptors $\alpha 4\beta 2\delta$ [48].

Another group of relevant principles on sleep activity and anxiety is flavonoids, which play an important role as GABA_A receptor ligands in the CNS [163]. Of these, amentoflavone (*Ginkgo biloba*), apigenin (*Matricaria chamomilla*), or baicalein (*Scutellaria baicalensis*) is most likely responsible for the sedative properties of these species [163] through a mechanism by which these flavonoids, especially apigenin, act as a noncompetitive antagonist of GABA_A receptors while also enhancing the modulatory action of diazepam on the activation by GABA of GABA_A receptors [164] or that of chrysin (*Passiflora edulis*) as a partial agonist at the benzodiazepine binding site [6]. Other flavonoids, such as kaempferol and quercetin, are transformed into their active metabolites, including hydroxyphenylacetic acid, by the intestinal microflora [6, 165]. The anxiolytic and sedative-like effects of flavonoids such as quercetin, rutin, and isoquercitrin reinforce these studies, but in this case, not only the GABA/benzodiazepine receptors are implicated because the 5-HT_{1A} serotonergic receptors are also involved in this case [166], effects ratified for other flavonoids, such as quercitrin, rutin, kaempferol and tiliroside, which can modify the serotonergic system for inducing their anxiolytic effects by acting directly on the postsynaptic 5-HT_{2A/2C} receptors and also on 5-HT_{1A} [167]. However, the anxiolytic-like effect of rutin in the basolateral amygdala involves GABA_A, but the effect was not associated with benzodiazepine receptors [168].

In the case of essential oils, they have also been described as regulators of GABAergic neurotransmission—acting especially on GABA_A receptors—because they seem to enhance the inhibitory response of the nervous system. Still, no specific principles have been described as being responsible for these effects, although several trials have used isolated compounds from essential oils, such as linalool and its oxides [117, 118].

Another interesting aspect of medicinal plants for treating insomnia and anxiety is the potential synergy between synthetic drugs and plant extracts. Indeed, Carrasco et al. described a possible synergy between the active principles of valerian and passionflower with benzodiazepines because these species can enhance the inhibitory activity of benzodiazepines by binding to GABA receptors. Although this causes an interesting enhancement, it can also lead to severe secondary effects [169].

For this reason, Tweddell et al. [170] emphasize the importance of evaluating the efficacy of treatment with medicinal plants in patients treated with benzodiazepines beforehand to avoid adverse interactions.

While studies so far indicate that the GABAergic pathway is the main system affected by different medicinal plants [6], another group of principles has been found to act via the serotonergic and dopaminergic pathways. These include *Galphimia glauca*, which has anxiolytic properties due to galphimines A and B [60–65].

When comparing clinical trials, the study design and the characteristics and size of the population sample are all extremely relevant as they can modify and condition the results obtained, making comparisons between various studies difficult. In the trials analyzed, we observed a great variation in the number of subjects included, as well as the doses employed and the duration of the studies (see **Table 3S**, Supporting Information); also noteworthy is the age range of the subjects in different clinical trials. For example, in one study with only 16 participants, the ages ranged from 22 to 55 years old [29], whereas in another study with 202 patients, the range varied from 18 to 73 years old [30]. Other authors modified their own projects and performed assays first with 34 subjects [64] but then used a greater number of subjects ($n = 167$) in a second trial [65]. The duration of the studies also varied greatly, with some lasting only 2 weeks [45] whereas others lasted up to 16 weeks [54]. This variability can modify the results because treatments for insomnia and anxiety are not generally short. Likewise, various dosages and routes of administration also need to be highlighted, both in preclinical and clinical studies. For example, the possible routes of administration for preclinical studies in animals are p.o., i.p., or i.v. (see **Table 2S**, Supporting Information), while for clinical studies the administration route is generally oral (see **Table 3S**, Supporting Information).

Another highly relevant aspect of these studies is which plant part and what kind of extract were used in the trials. Indeed, some studies used essential oils to treat insomnia and anxiety, including lavender oil and neroli, along with commercial products such as Silexan (capsules with essential oil of lavender) [119–123]. This influenced the via of administration, with some oils administered by inhalation (lavender oil and neroli) [124–128, 131–136] or intranasal application (a drop of violet essential oil) [141]. Other studies combined aromatherapy with massages, using essential oils in some cases [130, 149].

Taking into account the results found in the literature, the efficacy of medicinal plants, their extracts, and the essential oils obtained from them to treat insomnia and anxiety largely depends on the duration of treatment, the patients involved (number and characteristics), the route of administration, and the treatment method. It is thus necessary to conduct more clinical studies with an adequate study design and more homogeneous trial protocols to compare the results and make a more realistic assessment. More preclinical studies are also of interest because the mechanisms of these plants are mostly unknown. This would also help clarify other relevant aspects, such as appropriate dosages, routes of administration, and safety.

Supporting Information

This section consists of 6 tables. **Table 1S** consists of rating scales and tests used for clinical studies cited in **Tables 3S to 6S**. **Table 2S** includes the medicinal plant studied for sedative and anxiolytic-like effects in animals. **Table 3S** compiles the data from clinical trials of medicinal plant extracts, including common name, sample/extract studied, doses in mg, time of treatment, administration route, number of patients, clinical protocols, criteria of evaluation, and effects cited in the original paper. **Table 4S** is similar but compiles clinical trials with mixtures of medicinal plants. **Table 5S** summarizes the clinical trials of essential oils of medicinal plants, while **Table 6S** does the same for mixtures of essential oils.

Contributors' Statement

The 3 authors have participated in the preparation of the document jointly. Data collection: S. Borrás; design of the study: I. Martínez, J.L. Ríos; analysis, interpretation and drafting: S. Borrás, I. Martínez, J.L. Ríos; critical revision of the manuscript: I. Martínez, J.L. Ríos.

Acknowledgements

The authors would like to thank Laura Gatzkiewicz for her contribution in the process of improving the language of the text.

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest

References

- [1] Fuller PM, Gooley JJ, Saper CB. Neurobiology of the sleep-wake cycle: sleep architecture, circadian regulation, and regulatory feedback. *J Biol Rhythms* 2006; 21: 482–493
- [2] Hirshkowitz M, Rose MW, Sharafkhaneh A. Neurotransmitters, Neurochemistry, and clinical Pharmacology of Sleep. In: Chokroverty S, ed. *Sleep Disorders Medicine: Basic Science technical Considerations, and clinical Aspects*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009: 67–79
- [3] Ribeiro FM, Vieira LB, Pires RG, Olmo RP, Ferguson SS. Metabotropic glutamate receptors and neurodegenerative diseases. *Pharmacol Res* 2017; 115: 179–191
- [4] Grafe LA, Bhatnagar S. Orexins and stress. *Front Neuroendocrinol* 2018; 51: 132–145
- [5] Szymusiak R, McGinty D. Hypothalamic regulation of sleep and arousal. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1129: 275–286
- [6] Savage K, Firth J, Stough C, Sarris J. GABA-modulating phytochemicals for anxiety: a systematic review of preclinical and clinical evidence. *Phytother Res* 2018; 32: 3–18
- [7] McCarley RW. Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Med* 2007; 8: 302–330
- [8] Pavlova MK, Latreille V. Sleep Disorders. *Am J Med* 2019; 132: 292–299
- [9] Sateia MJ. International classification of sleep disorders, third edition: highlights and modifications. *Chest* 2014; 146: 1387–1394
- [10] Sateia MJ, Buysse DJ, Krystal AD, Neubauer DN, Heald JL. Clinical practice guideline for the pharmacologic treatment of chronic insomnia in adults: an American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *J Clin Sleep Med* 2017; 13: 307–349

- [11] Kavan MG, Elsasser GN, Barone EJ. Generalized anxiety disorder: practical assessment and management. *Am Fam Physician* 2009; 79: 785–791
- [12] Monti JM, Monti D. Sleep disturbance in generalized anxiety disorder and its treatment. *Sleep Med Rev* 2000; 4: 263–276
- [13] Staner L. Sleep and anxiety disorders. *Dialogues Clin Neurosci* 2003; 5: 249–258
- [14] Hoge EA, Ivkovic A, Fricchione GL. Generalized anxiety disorder: diagnosis and treatment. *BMJ* 2012; 345: e7500
- [15] Schanzer B, Rivas-Grajales AM, Khan A, Mathew SJ. Novel investigational therapeutics for generalized anxiety disorder (GAD). *Expert Opin Investig Drugs* 2019; 28: 1003–1012
- [16] Jansson-Fröjmark M, Lindblom K. A bidirectional relationship between anxiety and depression, and insomnia? A prospective study in the general population. *J Psychosom Res* 2008; 64: 443–449
- [17] Bragantini D, Sivertsen B, Gehrman P, Lydersen S, Güzey IC. Differences in anxiety levels among symptoms of insomnia. The HUNT study. *Sleep Health* 2019; 5: 370–375
- [18] Lie JD, Tu KN, Shen DD, Wong BM. Pharmacological treatment of insomnia. *Pharm Therap* 2015; 40: 759–771
- [19] Sarris J, Byrne GJ. A systematic review of insomnia and complementary medicine. *Sleep Med Rev* 2011; 15: 99–106
- [20] Leach MJ, Page AT. Herbal medicine for insomnia: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev* 2015; 24: 1–12
- [21] Sarris J, McIntyre E, Camfield DA. Plant-based medicines for anxiety disorders, Part 1. *CNS Drugs* 2013; 27: 207–219
- [22] Sarris J, McIntyre E. Herbal Anxiolytics with sedative Actions. In: Camfield D, McIntyre E, Sarris J, eds. *Evidence-based herbal and nutritional Treatments for Anxiety in psychiatric Disorders*. Stuttgart: Springer; 2017: 11–31
- [23] The Plant List. A working list of all known plant species. Royal Botanic Gardens, Kew and Missouri Botanical Garden. Accessed January 11–15, and January 18–22, 2021 at: <http://www.theplantlist.org/>
- [24] Plushner SL. Valerian: *Valeriana officinalis*. *Am J Health Syst Pharm* 2000; 57: 328, 333, 335
- [25] Hattesoehl M, Feistel B, Sievers H, Lehnfeld R, Hegger M, Winterhoff H. Extracts of *Valeriana officinalis* L. s.l. show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties. *Phytomedicine* 2008; 15: 2–15
- [26] Patocka J, Jakl J. Biomedically relevant chemical constituents of *Valeriana officinalis*. *J Appl Biomed* 2010; 8: 11–18
- [27] Felgentreff F, Becker A, Meier B, Brattström A. Valerian extract characterized by high valerenic acid and low acetoxyl valerenic acid contents demonstrates anxiolytic activity. *Phytomedicine* 2012; 19: 1216–1222
- [28] Gonulalan EM, Bayazaid O, Yalcin FN, Demirezer LO. The roles of valerenic acid on BDNF expression in the SH-SY5Y cell. *Saudi Pharm J* 2018; 26: 960–964
- [29] Donath F, Quispe S, Diefenbach K, Maurer A, Fietze I, Roots I. Critical evaluation of the effect of valerian extract on sleep structure and sleep quality. *Pharmacopsychiatry* 2000; 33: 47–53
- [30] Ziegler G, Ploch M, Miettinen-Baumann A, Collet W. Efficacy and tolerability of valerian extract LI 156 compared with oxazepam in the treatment of non organic insomnia – a randomized, double-blind, comparative clinical study. *Eur J Med Res* 2002; 7: 480–486
- [31] Diaper A, Hindmarch I. A double-blind, placebo-controlled investigation of the effects of two doses of a valerian preparation on the sleep, cognitive and psychomotor function of sleep-disturbed older adults. *Phytother Res* 2004; 18: 831–836
- [32] Taibi DM, Vitiello MV, Barsness S, Elmer GW, Anderson GD, Landis CA. A randomized clinical trial of valerian fails to improve self-reported, polysomnographic, and actigraphic sleep in older women with insomnia. *Sleep Med* 2009; 10: 319–328
- [33] Taavoni S, Ekbatani N, Kashaniyan M, Haghani H. Effect of valerian on sleep quality in postmenopausal women: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Menopause* 2011; 18: 951–955
- [34] Barton DL, Atherton PJ, Bauer BA, Moore DF jr., Mattar BI, Lavoisier BI, Rowland KM jr., Zon RT, Lelindqwister NA, Nagargoje GG, Morgenthaler TI, Sloan JA, Loprinzi CL. The use of *Valeriana officinalis* (Valerian) in improving sleep in patients who are undergoing treatment for cancer: a phase III randomized, placebo-controlled, double-blind study (NCCTG Trial, N01C5). *J Support Oncol* 2011; 9: 24–31
- [35] Roh D, Jung JH, Yoon KH, Lee CH, Kang LY, Lee S, Shin K, Kim DH. Valerian extract alters functional brain connectivity: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Phytother Res* 2019; 33: 939–948
- [36] Farah GJ, Ferreira GZ, Danieleto-Zanna CF, Luppi CR, Jacomacci WP. Assessment of *Valeriana officinalis* L. (valerian) for conscious sedation of patients during the extraction of impacted mandibular third molars: a randomized, split-mouth, double-blind, crossover study. *J Oral Maxillofac Surg* 2019; 77: 1796.e1–1796.e8
- [37] Miroddi M, Calapai G, Navarra M, Minciullo PL, Gangemi S. *Passiflora incarnata* L.: ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials. *J Ethnopharmacol* 2013; 150: 791–804
- [38] Dhawan K, Kumar S, Sharma A. Anti-anxiety studies on extracts of *Passiflora incarnata* Linnaeus. *J Ethnopharmacol* 2001; 78: 165–170
- [39] Grundmann O, Wang J, McGregor GP, Butterweck V. Anxiolytic activity of a phytochemically characterized *Passiflora incarnata* extract is mediated via the GABAergic system. *Planta Med* 2008; 74: 1769–1773
- [40] Guerrero FA, Medina GM. Effect of a medicinal plant (*Passiflora incarnata* L.) on sleep. *Sleep Sci* 2017; 10: 96–100
- [41] Akhondzadeh S, Naghavi HR, Vazirian M, Shayeganpour A, Rashidi H, Khani M. Passionflower in the treatment of generalized anxiety: a pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. *J Clin Pharm Ther* 2001; 26: 363–367
- [42] Ngan A, Conduit R. A double-blind, placebo-controlled investigation of the effects of *Passiflora incarnata* (passionflower) herbal tea on subjective sleep quality. *Phytother Res* 2011; 25: 1153–1159
- [43] Movafegh A, Alizadeh R, Hajimohamadi F, Eshfehani F, Nejatfar M. Preoperative oral *Passiflora incarnata* reduces anxiety in ambulatory surgery patients: a double-blind, placebo-controlled study. *Anesth Analg* 2008; 106: 1728–1732
- [44] Dantas LP, de Oliveira-Ribeiro A, de Almeida-Souza LM, Groppo FC. Effects of *Passiflora incarnata* and midazolam for control of anxiety in patients undergoing dental extraction. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2017; 22: 95–101
- [45] Lee J, Jung HY, Lee SI, Choi JH, Kim SG. Effects of *Passiflora incarnata* Linnaeus on polysomnographic sleep parameters in subjects with insomnia disorder: a double-blind randomized placebo-controlled study. *Int Clin Psychopharmacol* 2020; 35: 29–35
- [46] Graziano S, Orsolini L, Rotolo MC, Tittarelli R, Schifano F, Pichini S. Herbal highs: review on psychoactive effects and neuropharmacology. *Curr Neuropharmacol* 2017; 15: 750–761
- [47] Salehi B, Zakaria ZA, Gyawali R, Ibrahim SA, Rajkovic J. *Piper* species: a comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. *Molecules* 2019; 24: 1364
- [48] Chua HC, Christensen ET, Hoestgaard-Jensen K, Hartiadi LY, Ramzan I, Jensen AA, Absalom NL, Chebib M. Kava, the major constituent of the anxiolytic kava extract, potentiates GABA_A receptors: functional characteristics and molecular mechanism. *PLoS One* 2016; 11: e0157700
- [49] Shinomiya K, Inoue T, Utsu Y, Tokunaga S, Masuoka T, Ohmori A, Kamei C. Effects of kava-kava extract on the sleep-wake cycle in sleep-disturbed rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2005; 180: 564–569
- [50] Tsutsui R, Shinomiya K, Takeda Y, Obara Y, Kitamura Y, Kamei C. Hypnotic. *J Pharmacol Sci* 2009; 111: 293–298
- [51] Lehl S. Clinical efficacy of kava extract WS 1490 in sleep disturbances associated with anxiety disorders. Results of a multicenter, randomized,

- placebo-controlled, double-blind clinical trial. *J Affect Disord* 2004; 78: 101–110
- [52] Sarris J, Stough C, Bousman CA, Wahid ZT, Murray G, Teschke R, Savage KM, Dowell A, Ng C, Schweitzer I. Kava in the treatment of generalized anxiety disorder: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *J Clin Psychopharmacol* 2013; 33: 643–648
- [53] Kuchta K, de Nicola P, Schmidt M. Randomized, dose-controlled double-blind trial: efficacy of an ethanolic kava (*Piper methysticum* rhizome) extract for the treatment of anxiety in elderly patients. *Tradit Kampo Med* 2018; 5: 3–10
- [54] Sarris J, Byrne GJ, Bousman CA, Cribb L, Savage KM, Holmes O, Murphy J, Macdonald P, Short A, Nazareth S, Jennings E, Thomas SR, Ogden E, Chamoli S, Scholey A, Stough C. Kava for generalised anxiety disorder: A 16-week double-blind, randomised, placebo-controlled study. *Aust N Z J Psychiatry* 2020; 54: 288–297
- [55] Sharma A, Angulo-Bejarano PI, Madariaga-Navarrete A, Oza G, Iqbal HMN, Cardoso-Taketa A, Luisa Villarreal M. Multidisciplinary investigations on *Galphimia glauca*: A Mexican medicinal plant with pharmacological potential. *Molecules* 2018; 23: 2985
- [56] Herrera-Ruiz M, González-Cortazar M, Jiménez-Ferrer JE, Zamilpa A, Álvarez L, Ramírez G, Tortoriello J. Anxiolytic effect of natural galphimines from *Galphimia glauca* and their chemical derivatives. *J Nat Prod* 2006; 69: 59–61
- [57] Herrera-Ruiz M, Jiménez-Ferrer JE, De Lima TC, Avilés-Montes D, Pérez-García D, González-Cortazar M, Tortoriello J. Anxiolytic and antidepressant-like activity of a standardized extract from *Galphimia glauca*. *Phyto-medicine* 2006; 13: 23–28
- [58] Jiménez-Ferrer JE, Herrera-Ruiz M, Ramírez-García R, Herrera-Arellano A, Tortoriello J. Interaction of the natural anxiolytic galphimine-B with serotonergic drugs on dorsal hippocampus in rats. *J Ethnopharmacol* 2011; 137: 724–729
- [59] Aviles-Montes D, Herrera-Ruiz M, Roman-Ramos R, Jimenez-Ferrer JE, González-Cortazar M, Zamilpa A, Tortoriello J. Pharmacological interaction between galphimine-A, a natural anxiolytic compound and GABAergic drugs. *Int J Pharmacol* 2015; 11: 944–955
- [60] Santillán-Urquiza MA, Herrera-Ruiz M, Zamilpa A, Jiménez-Ferrer E, Román-Ramos R, Tortoriello J. Pharmacological interaction of *Galphimia glauca* extract and natural galphimines with ketamine and haloperidol on different behavioral tests. *Biomed Pharmacother* 2018; 103: 879–888
- [61] Garige BSR, Keshetti S, Vattikuti UMR. *In vivo* study on depressant effects and muscle coordination activity of *Galphimia glauca* stem methanol extract. *Pharmacognosy Res* 2016; 8: 219–225
- [62] Herrera-Arellano A, Jiménez-Ferrer JE, Zamilpa A, Morales-Valdez A, García-Valencia CE, Tortoriello J. Efficacy and tolerability of a standardized herbal product from *Galphimia glauca* on generalized anxiety disorder. A randomized, double-blind clinical trial controlled with lorazepam. *Planta Med* 2007; 73: 713–717
- [63] Herrera-Arellano A, Jiménez-Ferrer JE, Zamilpa A, García-Alonso G, Herrera-Alvarez S, Tortoriello J. Therapeutic effectiveness of *Galphimia glauca* vs. lorazepam in generalized anxiety disorder. A controlled 15-week clinical trial. *Planta Med* 2012; 78: 1529–1535
- [64] Romero-Cerecero O, Islas-Garduño AL, Zamilpa A, Pérez-García MD, Tortoriello J. Therapeutic effectiveness of *Galphimia glauca* in young people with social anxiety disorder: a pilot study. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018; 2018: 1716939
- [65] Romero-Cerecero O, Islas-Garduño AL, Zamilpa A, Herrera-Arellano A, Jiménez-Ferrer E, Tortoriello J. Galphimine-B standardized extract versus alprazolam in patients with generalized anxiety disorder: a ten-week, double-blind, randomized clinical trial. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 1037036
- [66] Mishra LC, Singh BB, Dagenais S. Scientific basis for the therapeutic use of *Withania somnifera* (ashwagandha): a review. *Altern Med Rev* 2000; 5: 334–346
- [67] Andrade C, Aswath A, Chaturvedi SK, Srinivasa M, Raguram R. A double-blind, placebo-controlled evaluation of the anxiolytic efficacy of an ethanolic extract of *Withania somnifera*. *Indian J Psychiatry* 2000; 42: 295–301
- [68] Chandrasekhar K, Kapoor J, Anishetty S. A prospective, randomized double-blind, placebo-controlled study of safety and efficacy of a high-concentration full-spectrum extract of ashwagandha root in reducing stress and anxiety in adults. *Indian J Psychol Med* 2012; 34: 255–262
- [69] Lopresti AL, Smith SJ, Malvi H, Kodgule R. An investigation into the stress-relieving and pharmacological actions of an ashwagandha (*Withania somnifera*) extract: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Medicine (Baltimore)* 2019; 98: 17186
- [70] Fuladi S, Emami SA, Mohammadpour AH, Karimani A, Manteghi AA, Sahebkar A. Assessment of *Withania somnifera* root extract efficacy in patients with generalized anxiety disorder: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Curr Clin Pharmacol* 2020; 15: 1. doi:10.2174/1574884715666200413120413
- [71] Gannon JM, Brar J, Rai A, Chengappa KNR. Effects of a standardized extract of *Withania somnifera* (Ashwagandha) on depression and anxiety symptoms in persons with schizophrenia participating in a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Ann Clin Psychiatry* 2019; 31: 123–129
- [72] Salve J, Pate S, Debnath K, Langade D. Adaptogenic and anxiolytic effects of ashwagandha root extract in healthy adults: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical study. *Cureus* 2019; 11: 6466
- [73] Langade D, Kanchi S, Salve J, Debnath K, Ambegaokar D. Efficacy and safety of ashwagandha (*Withania somnifera*) root extract in insomnia and anxiety: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Cureus* 2019; 11: 5797
- [74] Kelgane SB, Salve J, Sampara P, Debnath K. Efficacy and tolerability of ashwagandha root extract in the elderly for improvement of general well-being and sleep: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Cureus* 2020; 12: 7083
- [75] Deshpande A, Irani N, Balkrishnan R, Benny IR. A randomized, double blind, placebo controlled study to evaluate the effects of ashwagandha (*Withania somnifera*) extract on sleep quality in healthy adults. *Sleep Med* 2020; 72: 28–36
- [76] Langade D, Thakare V, Kanchi S, Kelgane S. Clinical evaluation of the pharmacological impact of ashwagandha root extract on sleep in healthy volunteers and insomnia patients: a double-blind, randomized, parallel-group, placebo-controlled study. *J Ethnopharmacol* 2021; 264: 113276
- [77] Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H, Naseri B, Sadat-Hosseini M. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: a review. *J Med Plant Res* 2010; 4: 2753–2759
- [78] Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B. *Melissa officinalis* L.—A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol* 2016; 188: 204–228
- [79] Ibarra A, Feuillere N, Roller M, Lesburgere E, Beracochea D. Effects of chronic administration of *Melissa officinalis* L. extract on anxiety-like reactivity and on circadian and exploratory activities in mice. *Phyto-medicine* 2010; 17: 397–403
- [80] Cases J, Ibarra A, Feuillère N, Roller M, Sukkar SG. Pilot trial of *Melissa officinalis* L. leaf extract in the treatment of volunteers suffering from mild-to-moderate anxiety disorders and sleep disturbances. *Med J Nutrition Metab* 2011; 4: 211–218
- [81] Haybar H, Javid AZ, Haghighizadeh MH, Valizadeh E, Mohaghegh SM, Mohammadzadeh A. The effects of *Melissa officinalis* supplementation on depression, anxiety, stress, and sleep disorder in patients with chronic stable angina. *Clin Nutr ESPEN* 2018; 26: 47–52
- [82] Srivastava JK, Shankar E, Gupta S. Chamomile: a herbal medicine of the past with bright future. *Mol Med Rep* 2010; 3: 895–901
- [83] Amsterdam JD, Li Y, Soeller I, Rockwell K, Mao JJ, Shults J. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral *Matricaria recutita* (chamomile) extract therapy for generalized anxiety disorder. *J Clin Psychopharmacol* 2009; 29: 378–382

- [84] Keefe JR, Mao JJ, Soeller I, Li QS, Amsterdam JD. Short-term open-label chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) therapy of moderate to severe generalized anxiety disorder. *Phytomedicine* 2016; 23: 1699–1705
- [85] Mao JJ, Xie SX, Keefe JR, Soeller I, Li QS, Amsterdam JD. Long-term chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) treatment for generalized anxiety disorder: a randomized clinical trial. *Phytomedicine* 2016; 23: 1735–1742
- [86] Keefe JR, Guo W, Li QS, Amsterdam JD, Mao JJ. An exploratory study of salivary cortisol changes during chamomile extract therapy of moderate to severe generalized anxiety disorder. *J Psychiatr Res* 2018; 96: 189–195
- [87] Adib-Hajbaghery M, Mousavi SN. The effects of chamomile extract on sleep quality among elderly people: a clinical trial. *Complement Ther Med* 2017; 35: 109–114
- [88] Chang SM, Chen CH. Effects of an intervention with drinking chamomile tea on sleep quality and depression in sleep disturbed postnatal women: a randomized controlled trial. *J Adv Nurs* 2016; 72: 306–315
- [89] Amsterdam JD, Shults J, Soeller I, Mao JJ, Rockwell K, Newberg AB. Chamomile (*Matricaria recutita*) may provide antidepressant activity in anxious, depressed humans: an exploratory study. *Altern Ther Health Med* 2012; 18: 44–49
- [90] Kyrou I, Christou A, Panagiotakos D, Stefanaki C, Skenderi K, Katsana K, Tsigos C. Effects of a hops (*Humulus lupulus* L.) dry extract supplement on self-reported depression, anxiety and stress levels in apparently healthy young adults: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover pilot study. *Hormones (Athens)* 2017; 16: 171–180
- [91] Erkkola R, Vervarcke S, Vansteelandt S, Rompotti P, De Keukeleire D, Hayrack A. A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover pilot study on the use of a standardized hop extract to alleviate menopausal discomforts. *Phytomedicine* 2010; 17: 389–396
- [92] Carmona F, Coneglian FS, Batista PA, Aragon DC, Angelucci MA, Martinez EZ, Pereira AMS. *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke (Verbenaceae) powdered leaves are effective in treating anxiety symptoms: a phase-2, randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Ethnopharmacol* 2019; 242: 112060
- [93] Jana U, Sur TK, Maity LN, Debnath PK, Bhattacharyya D. A clinical study on the management of generalized anxiety disorder with *Centella asiatica*. *Nepal Med Coll J* 2010; 12: 8–11
- [94] Bystritsky A, Kerwin L, Feusner JD. A pilot study of *Rhodiola rosea* (Rhodax) for generalized anxiety disorder (GAD). *J Altern Complement Med* 2008; 14: 175–180
- [95] Edwards D, Heufelder A, Zimmermann A. Therapeutic effects and safety of *Rhodiola rosea* extract WS 1375 in subjects with life-stress symptoms—results of an open-label study. *Phytother Res* 2012; 26: 1220–1225
- [96] Cropley M, Banks AP, Boyle J. The effects of *Rhodiola rosea* L. Extract on anxiety, stress, cognition and other mood symptoms. *Phytother Res* 2015; 29: 1934–1939
- [97] Wolfson P, Hoffmann DL. An investigation into the efficacy of *Scutellaria lateriflora* in healthy volunteers. *Altern Ther Health Med* 2003; 9: 74–78
- [98] Hui KM, Huen MS, Wang HY, Zheng H, Sigel E, Baur R, Ren H, Li ZW, Wong JT, Xue H. Anxiolytic effect of wogonin, a benzodiazepine receptor ligand isolated from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 1415–1424
- [99] De Carvalho RS, Duarte FS, de Lima TC. Involvement of GABAergic non-benzodiazepine sites in the anxiolytic-like and sedative effects of the flavonoid baicalein in mice. *Behav Brain Res* 2011; 221: 75–82
- [100] Firoozabadi A, Kolouri S, Zarshenas MM, Salehi A, Mosavat SH, Dastgheib SA. Efficacy of a freeze-dried aqueous extract of *Nepeta menthoides* Boiss. & Buhse in the treatment of anxiety in patients with depression: a double-blind, randomized, controlled trial. *J Herbal Med* 2017; 10: 17–23
- [101] Nematollahi P, Mehrabani M, Karami-Mohajeri S, Dabaghzadeh F. Effects of *Rosmarinus officinalis* L. on memory performance, anxiety, depression, and sleep quality in university students: a randomized clinical trial. *Complement Ther Clin Pract* 2018; 30: 24–28
- [102] Kell G, Rao A, Katsikitis M. A randomised placebo controlled clinical trial on the efficacy of *Caralluma fimbriata* supplement for reducing anxiety and stress in healthy adults over eight weeks. *J Affect Disord* 2019; 246: 619–626
- [103] Morin CM, Koetter U, Bastien C, Ware JC, Wooten V. Valerian-hops combination and diphenhydramine for treating insomnia: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Sleep* 2005; 28: 1465–1471
- [104] Koetter U, Schrader E, Käufeler R, Brattström A. A randomized, double blind, placebo-controlled, prospective clinical study to demonstrate clinical efficacy of a fixed valerian hops extract combination (Ze 91019) in patients suffering from non-organic sleep disorder. *Phytother Res* 2007; 21: 847–851
- [105] Dimpfel W, Suter A. Sleep improving effects of a single dose administration of a valerian/hops fluid extract—a double blind, randomized, placebo-controlled sleep-EEG study in a parallel design using electrohypnograms. *Eur J Med Res* 2008; 13: 200–204
- [106] Kennedy DO, Little W, Haskell CF, Scholey AB. Anxiolytic effects of a combination of *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis* during laboratory induced stress. *Phytother Res* 2006; 20: 96–102
- [107] Taavoni S, Nazem Ekbatani N, Haghani H. Valerian/lemon balm use for sleep disorders during menopause. *Complement Ther Clin Pract* 2013; 19: 193–196
- [108] Abdellah SA, Berlin A, Blondeau C, Guinobert I, Guilbot A, Beck M, Duforez F. A combination of *Eschscholtzia californica* Cham. and *Valeriana officinalis* L. extracts for adjustment insomnia: a prospective observational study. *J Tradit Complement Med* 2019; 10: 116–123
- [109] Wheatley D. Kava and valerian in the treatment of stress-induced insomnia. *Phytother Res* 2001; 15: 549–551
- [110] Ranjbar M, Firoozabadi A, Salehi A, Ghorbanifar Z, Zarshenas MM, Sadeghniaat-Haghighi K, Rezaeizadeh H. Effects of herbal combination (*Melissa officinalis* L. and *Nepeta menthoides* Boiss. & Buhse) on insomnia severity, anxiety and depression in insomniacs: Randomized placebo controlled trial. *Integr Med Res* 2018; 7: 328–332
- [111] Maroo N, Hazra A, Das T. Efficacy and safety of a polyherbal sedative-hypnotic formulation NSF-3 in primary insomnia in comparison to zolpidem: a randomized controlled trial. *Indian J Pharmacol* 2013; 45: 34–39
- [112] Meier S, Haschke M, Zahner C, Kruttschnitt E, Drewe J, Liakoni E, Hammann F, Gaab J. Effects of a fixed herbal drug combination (Ze 185) to an experimental acute stress setting in healthy men—an explorative randomized placebo-controlled double-blind study. *Phytomedicine* 2018; 39: 85–92
- [113] Hanus M, Lafon J, Mathieu M. Double-blind, randomised, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of a fixed combination containing two plant extracts (*Crataegus oxyacantha* and *Eschscholtzia californica*) and magnesium in mild-to-moderate anxiety disorders. *Curr Med Res Opin* 2004; 20: 63–71
- [114] Scholey A, Benson S, Gibbs A, Perry N, Sarris J, Murray G. Exploring the effect of Lactium™ and Zizyphus Complex on sleep quality: a double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Nutrients* 2017; 9: 154
- [115] Cornu C, Remontet L, Noel-Baron F, Nicolas A, Feugier-Favier N, Roy P, Claustrat B, Saadatani-Elahi M, Kassai B. A dietary supplement to improve the quality of sleep: a randomized placebo controlled trial. *BMC Complement Altern Med* 2010; 22: 10: 29
- [116] Lemoine P, Bablon JC, da Silva C. A combination of melatonin, vitamin B₆ and medicinal plants in the treatment of mild-to-moderate insomnia: A prospective pilot study. *Complement Ther Med* 2019; 45: 104–108

- [117] Woronuk G, Demissie Z, Rheault M, Mahmoud S. Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta Med* 2011; 77: 7–15
- [118] Koulivand PH, Khaleghi Ghadiri M, Gorji A. Lavender and the nervous system. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 681304
- [119] Woelk H, Schläpke S. A multi-center, double-blind, randomised study of the lavender oil preparation silexan in comparison to lorazepam for generalized anxiety disorder. *Phytomedicine* 2010; 17: 94–99
- [120] Kasper S, Gastpar M, Müller WE, Volz HP, Möller HJ, Dienel A, Schläpke S. Silexan, an orally administered *Lavandula* oil preparation, is effective in the treatment of 'subsyndromal' anxiety disorder: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Int Clin Psychopharmacol* 2010; 25: 277–287
- [121] Uehleke B, Schaper S, Dienel A, Schlaefke S, Stange R. Phase II trial on the effects of Silexan in patients with neurasthenia, post-traumatic stress disorder or somatization disorder. *Phytomedicine* 2012; 19: 665–671
- [122] Kasper S, Gastpar M, Müller WE, Volz HP, Möller HJ, Schläpke S, Dienel A. Lavender oil preparation Silexan is effective in generalized anxiety disorder—a randomized, double-blind comparison to placebo and paroxetine. *Int J Neuropsychopharmacol* 2014; 17: 859–869
- [123] Kasper S, Angheliescu I, Dienel A. Efficacy of orally administered Silexan in patients with anxiety-related restlessness and disturbed sleep—a randomized, placebo-controlled trial. *Eur Neuropsychopharmacol* 2015; 25: 1960–1967
- [124] Chien LW, Cheng SL, Liu CF. The effect of lavender aromatherapy on autonomic nervous system in midlife women with insomnia. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 740813
- [125] Karan NB. Influence of lavender oil inhalation on vital signs and anxiety: a randomized clinical trial. *Physiol Behav* 2019; 211: 112676
- [126] Otaghi M, Qavam S, Norozi S, Borji M, Moradi M. Investigating the effect of lavender essential oil on sleep quality in patients candidates for angiography. *Biomed Pharmacol J* 2017; 10: 473–478
- [127] Jokar M, Zahrseifi, Baradaranfard F, Khalili M, Bakhtiari S. The effects of lavender aromatherapy on menopausal symptoms: a single-blind placebo-controlled clinical trial. *Int J Pharm Res* 2018; 10: 182–188
- [128] Nasiri Lari Z, Hajimonfarednejad M, Riasatian M, Abolhassanzadeh Z, Iraj A, Vojoud M, Heydari M, Shams M. Efficacy of inhaled *Lavandula angustifolia* Mill. Essential oil on sleep quality, quality of life and metabolic control in patients with diabetes mellitus type II and insomnia. *J Ethnopharmacol* 2020; 251: 112560
- [129] Velasco-Rodríguez R, Pérez-Hernández MG, Maturano-Melgoza JA, Hilerio-López ÁG, Monroy-Rojas A, Arana-Gómez B, Vásquez C. The effect of aromatherapy with lavender (*Lavandula angustifolia*) on serum melatonin levels. *Complement Ther Med* 2019; 47: 102208
- [130] Ayik C, Özden D. The effects of preoperative aromatherapy massage on anxiety and sleep quality of colorectal surgery patients: a randomized controlled study. *Complement Ther Med* 2018; 36: 93–99
- [131] Namazi M, Amir Ali Akbari S, Mojab F, Talebi A, Alavi Majd H, Jannesari S. Aromatherapy with *Citrus aurantium* oil and anxiety during the first stage of labor. *Iran Red Crescent Med J* 2014; 16: e18371
- [132] Heydari N, Abootalebi M, Jamalimoghadam N, Kasraeian M, Emamghoreishi M, Akbarzadeh M. Investigation of the effect of aromatherapy with *Citrus aurantium* blossom essential oil on premenstrual syndrome in university students: a clinical trial study. *Complement Ther Clin Pract* 2018; 32: 1–5
- [133] Pimenta FC, Alves MF, Pimenta MB, Melo SA, de Almeida AA, Leite JR, Pordeus LC, Diniz MF, de Almeida RN. Anxiolytic effect of *Citrus aurantium* L. on patients with chronic myeloid leukemia. *Phytother Res* 2016; 30: 613–617
- [134] Moslemi F, Alijaniha F, Naseri M, Kazemnejad A, Charkhkar M, Heidari MR. *Citrus aurantium* aroma for anxiety in patients with acute coronary syndrome: a double-blind placebo-controlled trial. *J Altern Complement Med* 2019; 25: 833–839
- [135] Moradi K, Ashtarian H, Danzima NY, Saeedi H, Bijan B, Akbari F, Mohammadi MM. Essential oil from *Citrus aurantium* alleviates anxiety of patients undergoing coronary angiography: a single-blind, randomized controlled trial. *Chin J Integr Med* 2021; 27: 177–182
- [136] Arabfirouzjaei Z, Ilali E, Taraghi Z, Mohammadpour RA, Amin K, Habibi E. The effect of *Citrus aurantium* aroma on sleep quality in the elderly with heart failure. *JBUMS* 2019; 21: 181–187
- [137] Abdollahi F, Mobadery T. The effect of aromatherapy with bitter orange (*Citrus aurantium*) extract on anxiety and fatigue in type 2 diabetic patients. *Adv Integr Med* 2020; 7: 3–7
- [138] Goes TC, Antunes FD, Alves PB, Teixeira-Silva F. Effect of sweet orange aroma on experimental anxiety in humans. *J Altern Complement Med* 2012; 18: 798–804
- [139] Mirghafourvand M, Mohammad-Alizadeh Charandabi S, Hakimi S, Khodaie L, Galeshi M. Effect of orange peel essential oil on postpartum sleep quality: a randomized controlled clinical trial. *Eur J Integr Med* 2016; 8: 62–66
- [140] Gnatta JR, Piason PP, Lopes CL, Rogenski NM, Silva MJ. Aromatherapy with ylang for anxiety and self-esteem: a pilot study. *Rev Esc Enferm USP* 2014; 48: 492–499
- [141] Feyzabadi Z, Jafari F, Kamali SH, Ashayeri H, Badiie Aval S, Esfahani MM, Sadeghpour O. Efficacy of *Viola odorata* in treatment of chronic insomnia. *Iran Red Crescent Med J* 2014; 16: e17511
- [142] Feyzabadi Z, Rezaeitalab F, Badiie S, Taghipour A, Moharari F, Soltanifar A, Ahmadpour MR. Efficacy of violet oil, a traditional Iranian formula, in patients with chronic insomnia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Ethnopharmacol* 2018; 25: 22–28
- [143] Shirzadegan R, Gholami M, Hasanvand S, Birjandi M, Beiranvand A. Effects of geranium aroma on anxiety among patients with acute myocardial infarction: a triple-blind randomized clinical trial. *Complement Ther Clin Pract* 2017; 29: 201–206
- [144] Afrasiabian F, Mirabzadeh Ardakani M, Rahmani K, Azadi NA, Alemohammad ZB, Bidaki R, Karimi M, Emtiazy M, Hashempour MH. *Aloysia citriodora* Palau (lemon verbena) for insomnia patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of efficacy and safety. *Phytother Res* 2019; 33: 350–359
- [145] Hatano VY, Torricelli AS, Giassi AC, Coslope LA, Viana MB. Anxiolytic effects of repeated treatment with an essential oil from *Lippia alba* and (R)-(-)-carvone in the elevated T-maze. *Braz J Med Biol Res* 2012; 45: 238–243
- [146] Soto-Vásquez MR, Alvarado-García PAA. Anxiolytic-like effect of *Lippia alba* essential oil: A randomized, placebo-controlled trial. *J Complement Med Res* 2018; 7: 101–107
- [147] Lee M, Lim S, Song J, Kim M, Hur M. The effects of aromatherapy essential oil inhalation on stress, sleep quality and immunity in healthy adults: randomized controlled trial. *Eur J Integr Med* 2017; 12: 79–86
- [148] Stevens N, Dorsett J, DaBell A, Eggett DL, Han X, Parker TL. Subjective assessment of the effects of an herbal supplement containing lavender essential oil on sleep quality: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Cogent Medicine* 2017; 4: 1380871
- [149] Hur MH, Hong JH, Yeo S. Effects of aromatherapy on stress, fructosamine, fatigue, and sleep quality in prediabetic middle-aged women: a randomised controlled trial. *Eur J Integr Med* 2019; 31: 100978
- [150] Gürlür M, Kızılırmak A, Baser M. The effect of aromatherapy on sleep and quality of life in menopausal women with sleeping problems: a non-randomized, placebo-controlled trial. *Complement Med Res* 2020; 9: 1–10
- [151] McDonnell B, Newcomb P. Trial of essential oils to improve sleep for patients in cardiac rehabilitation. *J Altern Complement Med* 2019; 25: 1193–1199

- [152] Hamzeh S, Safari-Faramani R, Khatony A. Effects of aromatherapy with lavender and peppermint essential oils on the sleep quality of cancer patients: a randomized controlled trial. *Evid Based Complement Alternat Med* 2020; 2020: 7480204
- [153] Polonini H, Mesquita D, Lanine J, Dijkers E, Gkinis S, Raposo NRB, Brandão MAF, Ferreira ADO. Intranasal use of lavender and fennel decreases salivary cortisol levels and improves quality of sleep: a double-blind randomized clinical trial. *Eur J Integr Med* 2020; 34: 101015
- [154] Kamalifard M, Farshbaf-Khalili A, Namadian M, Ranjbar Y, Herizchi S. Comparison of the effect of lavender and bitter orange on sleep quality in postmenopausal women: a triple-blind, randomized, controlled clinical trial. *Women Health* 2018; 58: 851–865
- [155] Taherzadeh Z, Khaluyan H, Iranshahy M, Rezaeitalab F, Eshaghi Ghalibaf MH, Javadi B. Evaluation of sedative effects of an intranasal dosage form containing saffron, lettuce seeds and sweet violet in primary chronic insomnia: a randomized, double-dummy, double-blind placebo controlled clinical trial. *J Ethnopharmacol* 2020; 262: 113116
- [156] Ancoli-Israel S. Sleep and its disorders in aging populations. *Sleep Med* 2009; 10 (Suppl 1): S7–S11
- [157] Suh S, Cho N, Zhang J. Sex differences in insomnia: from epidemiology and etiology to intervention. *Curr Psychiatry Rep* 2018; 20: 69
- [158] Williamson E. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine* 2001; 8: 401–409
- [159] Spinella M. The importance of pharmacological synergy in psychoactive herbal medicines. *Altern Med Rev* 2002; 7: 130–137
- [160] Wagner H, Ulrich-Merzenich G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine* 2009; 16: 97–110
- [161] Wagner H. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Fitoterapia* 2011; 82: 34–37
- [162] Bhutani MK, Bishnoi M, Kulkarni SK. Anti-depressant like effect of curcumin and its combination with piperine in unpredictable chronic stress-induced behavioral, biochemical and neurochemical changes. *Pharmacol Biochem Behav* 2009; 92: 39–43
- [163] Wasowski C, Marder M. Flavonoids as GABA_A receptor ligands: The whole story? *Br J Pharmacol* 2011; 163: 234–245
- [164] Campbell EL, Chebib M, Johnston GA. The dietary flavonoids apigenin and (–)-epigallocatechin gallate enhance the positive modulation by diazepam of the activation by GABA of recombinant GABA_A receptors. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 1631–1638
- [165] Vissienon C, Nieber K, Kelber O, Butterweck V. Route of administration determines the anxiolytic activity of the flavonols kaempferol, quercetin and myricetin—are they prodrugs? *J Nutr Biochem* 2012; 23: 733–740
- [166] Aguirre-Hernández E, González-Trujano ME, Terrazas T, Herrera-Santoyo J, Guevara-Fefer P. Anxiolytic and sedative-like effects of flavonoids from *Tilia americana* var. *mexicana*: GABAergic and serotonergic participation. *Salud Mental* 2016; 39: 37–46
- [167] Noguerón-Merino MC, Jiménez-Ferrer E, Román-Ramos R, Zamilpa A, Tortoriello J, Herrera-Ruiz M. Interactions of a standardized flavonoid fraction from *Tilia americana* with serotonergic drugs in elevated plus maze. *J Ethnopharmacol* 2015; 164: 319–327
- [168] Hernández-León A, González-Trujano ME, Fernández-Guasti A. The anxiolytic-like effect of rutin in rats involves GABA_A receptors in the basolateral amygdala. *Behav Pharmacol* 2017; 28: 303–312
- [169] Carrasco MC, Vallejo JR, Pardo-de-Santayana M, Peral D, Martín MA, Altimiras J. Interactions of *Valeriana officinalis* L. and *Passiflora incarnata* L. in a patient treated with lorazepam. *Phytother Res* 2009; 23: 1795–1796
- [170] Tweddell P, Boyle C. Potential interactions with herbal medications and midazolam. *Dent Update* 2009; 36: 175–178

X.

ANEXO III



REVIEW

Phytotherapeutic alternatives for neurodegenerative dementias: Scientific review, discussion and therapeutic proposal

Nuria Acero¹ | Teresa Ortega² | Victoria Villagrasa³ | Gemma Leon³ |
Dolores Muñoz-Mingarro⁴ | Encarna Castillo³ | M. Eugenia González-Rosende³ |
Silvia Borrás⁵ | Jose Luis Rios⁵ | Francisco Bosch-Morell^{6,7} |
Isabel Martínez-Solís^{3,8} 

¹Pharmaceutical and Health Sciences Department, Pharmacy Faculty, San Pablo-CEU University, CEU Universities, Boadilla del Monte, Madrid, Spain

²Pharmacology, Pharmacognosy and Botany Department, Pharmacy Faculty, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain

³Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Alfara del Patriarca, Valencia, Spain

⁴Chemistry and Biochemistry Department, Pharmacy Faculty, San Pablo-CEU University, CEU Universities, Boadilla del Monte, Madrid, Spain

⁵Departament de Farmacologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de València, Burjassot, Valencia, Spain

⁶Biomedical Sciences Institute, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Alfara del Patriarca, Valencia, Spain

⁷Department of Biomedical Sciences, Faculty of Health Sciences, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, Alfara del Patriarca, Valencia, Spain

⁸ICBiBE-Botanical Garden, University of Valencia, Valencia, Valencia, Spain

Correspondence

Isabel Martínez-Solís, Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, C/Ramón y Cajal s/n. 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, Spain.
Email: isolis@uchceu.es

Francisco Bosch-Morell, Department of Biomedical Sciences, Faculty of Health Sciences, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, C/Ramón y Cajal s/n 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, Spain.
Email: fbosch@uchceu.es

Abstract

The incidence and prevalence of age-related neurodegenerative dementias have been increasing. There is no curative therapy and conventional drug treatment can cause problems for patients. Medicinal plants traditionally used for problems associated with ageing are emerging as a therapeutic resource. The main aim is to give a proposal for use and future research based on scientific knowledge and tradition. A literature search was conducted in several searchable databases. The keywords used were related to neurodegenerative dementias, ageing and medicinal plants. Boolean operators and filters were used to focus the search. As a result, there is current clinical and preclinical scientific information on 49 species used in traditional medicine for ageing-related problems, including neurodegenerative dementias. There are preclinical and clinical scientific evidences on their properties against protein aggregates in the central nervous system and their effects on neuroinflammation, apoptosis dysregulation, mitochondrial dysfunction, gabaergic, glutamatergic and dopaminergic systems alterations, monoamine oxidase alterations, serotonin depletion and oestrogenic protection. In conclusion, the potential therapeutic effect of the different medicinal plants depends on the type of neurodegenerative dementia and its stage of

Abbreviations: AChE, acetylcholinesterase; AD, Alzheimer's disease; Aβ, amyloid β; BACE, β-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme; BChE, butyrylcholinesterase; CAG, cytosine-adenine-guanine; CBD, cannabidiol; CNS, central nervous system; COMT, catechol-O-methyltransferase; COX, cyclooxygenase; DA, dopamine agonists; DLB, dementia with Lewy bodies; ERK1/2, extracellular signal-regulated protein kinase; GABA, gamma-aminobutyric acid; HD, Huntington's disease; IL, interleukin; IL-1β, interleukin-1β; IL-6, interleukin-6; iNOS, inducible nitric oxide synthase; JNK, c-Jun N-terminal kinase; MAO, monoamine oxidase; MAPK, mitogen-activated protein kinase; MCI, Mild cognitive impairment; ND, neurodegenerative diseases; NDS, neurodegenerative dementias; NFTs, neurofibrillary tangles; NF-κB, nuclear factor kappa B; NMDA, N-methyl-D-aspartate; PD, Parkinson's disease; PGE, prostaglandin; PI3K/Akt, phosphatidylinositol-3 kinase/Akt; PKC, protein kinase C; ROS, reactive oxygen species; TLRs, Toll-like receptors; TNF-α, tumor necrosis factor-α.

development, but more clinical and preclinical research is needed to find better, safer and more effective treatments.

KEYWORDS

Alzheimer, antioxidants, medicinal plants, neurodegenerative dementia, Parkinson, phytotherapy

1 | INTRODUCTION

Population ageing worldwide and, with it, a higher prevalence of neurodegenerative diseases (ND), including neurodegenerative dementias (NDs), pose a relevant problem for countries' health systems not only because of the economic cost, but also for human suffering. According to United Nations estimations, the number of people aged over 60 is set to double in the next 30 years. This ageing, which results from longer life expectancy, is evident in the brain because it shows characteristic changes associated with increasing neurodegeneration. Some of these changes can be highlighted, such as amyloid plaques, Lewy bodies, loss of neurons and brain volume, neurofibrillary tangles (NFTs), synaptic dystrophy, or protein abnormalities and inclusion bodies (Eloheid, Libard, Leino, Popova, & Alafuzoff, 2016). Yet whether these lesions are the cause or effect of neurodegeneration is still not well-established (Wyss-Coray, 2016). Not only genetic factors are important in the development of NDs, but environmental factors like lifestyle, diet, drug abuse and exposure to other toxins are also determining factors (Newman & Murabito, 2013). Cerebral degenerative disorders are often associated with sleep disorders. Disturbed sleep patterns and sleep deprivation accelerate the progression of NDs. Therefore, the treatment of these symptoms is a key therapeutic target for preventing such conditions (Malhotra, 2018). However, ageing is the highest risk factor for NDs (Niccoli & Partridge, 2012). The link between ageing and neurodegeneration could be related to loss of protein homeostasis, DNA damage, immune dysregulation, epigenetic changes, and lysosomal dysfunction (Wyss-Coray, 2016). In this sense, ageing also involves dysregulation of the immune system which also occurs in the central nervous system (CNS) (Chee & Solito, 2021). Microglia and astrocytes, components of the CNS innate immune system, release proinflammatory mediators (cytokines) in response to any damage. Excessive and prolonged inflammation can induce neurotoxicity and as a consequence dementia neurodegeneration development (Guo, Wang, & Yin, 2022; Pasqualetti, Brooks, & Edison, 2015). There is evidence to suggest that neurodegeneration occurs in part due to processes collectively referred to as neuroinflammation (Ransohoff, 2016), which is common to neurodegenerative disorders such as multiple sclerosis (MS), Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD), Huntington's disease (HD), amyotrophic lateral sclerosis (ALS), tauopathies and age-related macular degeneration (AMD) (Frank-Cannon, Alto, McAlpine, & Tansey, 2009). Neuroinflammatory responses may begin before significant loss of neuronal populations in the progression of these diseases, several of which always include the manifestation NDs.

NDs can be classified according to clinical manifestations, and also to modifications and accumulation of proteins in neurons, glial cells and extracellular locations (Kovacs, 2016). The clinical symptoms

that include cognitive decline, dementia and high-order brain function alterations, together with movement disorders (both hyper- and hypokinetic movement disorders), are especially helpful in early symptoms. Protein abnormalities can be detected only by immunohistochemistry (Kovacs, 2017). The most important proteins are tau, amyloid β ($A\beta$) and its precursor, α -synuclein, prion protein, transactive DNA-binding protein 43, and fused-in sarcoma protein (Kovacs & Budja, 2010). The location of these proteins is also important for diagnostic approaches when differentiating between synaptic, intra- and extra-cellular protein accumulations. Apart from protein deposits, other processes cause neuronal dysfunction and death, and are, therefore, associated with these disorders. Oxidative stress, apoptosis, mitochondrial dysfunction, accumulation of interstitial lactate and glutamate, neuroinflammation, or ubiquitin-proteasomal and autophagosome/lysosomal abnormalities are normally related to neurodegeneration (Dugger & Dickinson, 2017).

Although NDs have no cure, prevention and palliative therapies can slow down the effects of ageing and help prevent patients from becoming worse over a period of time (Di Meo et al., 2020; Solanki, Parihar, & Parihar, 2016). Such illnesses remain asymptomatic in their early stages, which mean that therapies usually commence in their more advanced stages and render them less effective. The enhancement of neuronal function or neuronal regeneration can contribute to prevent brain degenerative diseases. In line with this, evidence from much scientific research works supports the notion that plant extracts, and the secondary metabolites isolated from them like phenolics, terpenes and alkaloids, among others, are alternative sources for neurodegeneration therapy, mainly for prevention purposes (Pérez-Hernández, Zaldivar-Machorro, Villanueva-Porras, Vega-Ávila, & Chavarría, 2016). This has led to searches being made for novel treatments, which have also focused on traditional medicine and diets as alternative or complementary solutions. The ethnobotanical approach from Thai, Chinese and Ayurvedic traditional medicines, together with the traditional Mediterranean diet, are examples that provide numerous herbs used as medicinal plants, foods or spices with proven neuroprotective ability (Iriti, Vitalini, Fico, & Faoro, 2010).

The antioxidant and anti-inflammatory properties of the molecules isolated from plants, mainly phenolics, are well-known. The brain is especially sensitive to oxidative damage given its high oxygen demand, and the large amount of polyunsaturated fatty acids present in neuron membranes, which are susceptible to peroxidation reactions (Uttara, Singh, Zamboni, & Mahajan, 2009). Plant extracts are able to reduce oxidative stress by the direct uptake of free radicals, chelating divalent cations, or modulating the enzymes associated with antioxidant cell strategies. Besides, their neuroinflammation suppression capacity is a consequence of their effect on the release of cytokines,

and also on the down-regulation of proinflammatory transcription factors. The potential to modulate the cell-signalling pathways that affect gene expression, and to alter the phosphorylation state of target molecules, also confers neuroprotection. The blocking and activation of pathways are sometimes linked with these compounds' antioxidant activity. The phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway (PI3K/Akt) has been found to be activated by some flavonoids to induce pro-survival and antiapoptotic genes and to inhibit pro-apoptotic signals. Other pro-survival signalling pathways can also be activated, such as extracellular signal-regulated protein kinase (ERK1/2) or protein kinase C. Conversely, cell death pathways can be inhibited, like c-Jun N-terminal kinase (JNK) and p38 (Solanki et al., 2016).

Phenolics have also been demonstrated to reverse neuroinflammation due to glial activation by reducing cytokine and chemokines production, such as tumour necrosis factor- α (TNF- α), IL-6 (interleukin-6) or IL-1 β . They also decrease reactive oxygen species (ROS) generation and inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity and, therefore, nitric oxide levels, and suppress cytochrome c oxidase activity through the inhibition of mitogen-activated protein kinase and nuclear factor kappa B (NF- κ B) in microglial cells (Hornedo-Ortega et al., 2018). Other neuroprotective mechanisms of phenolics involve binding to cell surface receptors, modifying cell membrane functions, modulation of enzymes in neurotransmission like acetylcholinesterase (AChE) (Pérez-Hernández et al., 2016), and anti-amyloidogenic capacity. In this sense, plants with a wide range of ethnomedicinal uses have mitoprotective activity (Wong, Barron, & Abdullah, 2021), and also have demonstrated their ability to counteract glutamate-induced neuronal damage (Prasansuklab, Brimson, & Tencomnao, 2020), a potential mechanism underlying neuro-degeneration, and to attenuate homocysteine increases (Morillas-Ruiz et al., 2010).

Plants have been traditionally used worldwide in medicine since ancient times. Nowadays, the demand for phytotherapy is growing as an alternative and complementary approach to ND treatments. The aim of this article is to review the role of traditional plants and their components in the treatment of most NDs. With this objective, clinical and preclinical evidence is presented. Of the latter, aspects of relevance to clinical symptoms are highlighted. Finally, after discussing the background data, it proposes the plants and products considered to be the most promising ones for NDs.

2 | METHODOLOGY

A literature search was conducted in the Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, SciFinder and Web of Science databases, using the keywords 'neurodegenerative dementias', 'neurodegeneration', 'Alzheimer's disease', 'Parkinson's disease', 'Huntington's disease', 'Lewy bodies', 'dementia', 'insomnia', 'anxiety', 'aging' and 'ageing', 'ethnopharmacology', 'ethnomedicine', 'Traditional Medicine', 'Natural products', 'Natural molecules', 'Phytotherapy', 'Herbal Medicine', and 'Medicinal plants'. Boolean operators 'OR' and 'AND' were used to narrow and target the search. Inclusion criteria were applied by filtering out those published 10 years ago or less, review articles, research articles, clinical trials, meta-analyses and case studies.

The results of the literature search for botanical species in traditional medicine are shown in Table 1. We pre-selected ND that often cause dementia associated with ageing, such as AD, PD, HD, dementia with Lewy bodies (DLB) and mild cognitive impairment (MCI). The results of the review are summarised in Tables 2–9. As the results of the first search on MCI and medicinal plants were scarce, we did not consider presenting a table.

3 | PHYTOTHERAPY FOR NEURODEGENERATIVE DEMENTIAS

The current landscape of social globalisation affects the use of medicinal plants from different traditional medicines, leading to globalisation in traditional medicine (Knöss & Wiesner, 2019). Table 1 lists the botanical names of the species and families, as well as the common name of the plants and the different traditional medicines that cite them for the amelioration of ageing-related disorders, mainly dementias, which materialise in loss of memory and attention and difficulty in learning. The species shown in Table 1 are those presented as the most promising for the prevention and treatment of NDs, supported by scientific background.

3.1 | Alzheimer's disease

Alzheimer's disease (AD) occupies an important place for its high incidence in people aged over 65 years. It corresponds to 60%–80% of dementia cases. Given its correlation with population ageing, AD is currently the commonest neurological disorder in the elderly and one of the most important health problems worldwide, but mainly in developed countries. This health problem will become more acute in the forthcoming decades (Gregory et al., 2021). AD symptoms are the consequence of complex brain disorders and include progressive memory loss, cognitive impairment, the inability to learn new information, mood swings, disorientation, executive and language dysfunctions and, therefore, the inability to carry out one's daily life. Neuropsychiatric symptoms, such as anxiety and depression, agitation, apathy or hallucinations, may also be observed. In AD, the extracellular accumulation of A β aggregates in the brain's neocortex portion, and the intracellular accumulation of phosphorylated microtubule-associated tau proteins in NFTs, develops. Moreover, persistent neuroinflammation appears in the areas near these accumulations.

The activation of pro-inflammatory genes is observed, which promotes the release of IL-6, IL-1 β and TNF- α . This release of pro-inflammatory mediators is accompanied by glia activation, which leads to an increase in NF- κ B and toll-like receptors (TLRs) types TLR2 and TLR4 (Hampel et al., 2021; Uddin et al., 2020). In addition, the following alterations may be present: the blood-brain barrier (BBB) dysfunction related to the alteration of endothelial cells (De Bock et al., 2013); the cell cycle, with damage to N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors; glutamatergic transmission; different enzyme systems, as also observed in AD. All the described changes and alterations cause apoptosis dysregulation and lack of oxidative stress control and calcium

TABLE 1 Botanical species (scientific name, common name, botanical family) used in traditional medicine against the effects of ageing, including dementia and other age-related ailments, diseases and processes

Scientific name	Common name	Botanical family	Traditional medicine	References
<i>Allium sativum</i> L.	Garlic	Amaryllidaceae	TCM, TPM	Iranshahy & Javadi, (2019), Shen, Jiang, Yang, Wang, & Zhu, (2017)
<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.F.) Nees.	Creast, green chireta	Acanthaceae	AM	Elaheebocus & Mahomoodally, (2017)
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	'Zhi mu'	Asparagaceae	TCM	Han, Song, Chen, Yao, & Song, (2018), Lin et al., (2021)
<i>Artemisia annua</i> L.	Sweet wormwood	Compositae	TCM, TM	Lu, Baum, So, Chiu, & Xie, (2019)
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Wettst.	Brahmi, waterhyssop	Plantaginaceae	AM, TIM	Mehla, Gupta, Pahuja, Diwan, & Diksha, (2020)
<i>Calendula officinalis</i> L.	Common marigold	Compositae	TCM	Ahmad, Khan, & Wahid, (2012), Shen et al., (2017)
<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Green tea	Theaceae	HM, TCM	Roychoudhury et al., (2021), Shen et al., (2017)
<i>Celastrus paniculatus</i> Willd.	Black oil plant	Celastraceae	TIM, TCM	Shen, Chen, Zhang, Zheng, & Fu, (2019)
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	Gotu kola	Apiaceae	AM, TIM	Mehla et al., (2020)
<i>Citrus × aurantium</i> L.	Bitter orange, Neroli oil	Rutaceae	AM, TM	Antara Banerjee et al., (2021)
<i>Coffea arabica</i> L.	Coffee	Rubiaceae	TrM	Patay, Bencsik, & Papp, (2016)
<i>Convolvulus prostratus</i> Forssk. (syn: <i>Convolvulus pluricaulis</i> Choisy)	'Shankapushpi'	Convolvulaceae	AM, TAM, TCM	Semwal, Kumar, Semwal, & Andola, (2021)
<i>Crocus sativus</i> L.	Saffron	Iridaceae	AM, ITM, TCM, TM, TPM, UM	Abu-Izneid et al., (2020), Antara Banerjee et al., (2021), Iranshahy & Javadi, (2019), Mehla et al., (2020), Shen et al., (2017)
<i>Curcuma longa</i> L.	Turmeric	Zingiberaceae	AM, HM, TCM, TM	Antara Banerjee et al., (2021), Roychoudhury et al., (2021), Shen et al., (2017)
<i>Cullen corylifolium</i> (L.) Medik. (syn.: <i>Psoralea corylifolia</i> L.)	Babchi	Leguminosae	TM	Im, Chae, Zhang, & Lee, (2014)
<i>Ficus religiosa</i> L.	Sacred fig	Moraceae	TM	Bhangale, Acharya, & Acharya, (2015), Tiwari, Ansari, Mahmood, & Ahsan, (2019)
<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P.Karst.	Lingzhi, Reishi	Ganodermataceae	TCM, TM	Wachtel-Galor, Tomlinson, & Benzie, (2004)
<i>Ginkgo biloba</i> L.	Ginkgo	Ginkgoaceae	TIM, HM, TCM	Mehla et al., (2020), Roychoudhury et al., (2021), Shen et al., (2017)
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Licorice	Leguminosae	AM, TCM, TM	El-Saber Batiha, Magdy Beshbishy, El-Mleeh, Abdel-Daim, & Prasad Devkota, (2020), Wahab et al., (2021)
<i>Hericium erinaceus</i> (bull.) Persoon	Lion's mane mushroom	Hericiaceae	TCM	Spelman, Sutherland, & Bagade, (2017)
<i>Humulus lupulus</i> L.	Hops	Cannabaceae	TM	Astray, Gullón, Gullón, Munekata, & Lorenzo, (2020)
<i>Juglans regia</i> L.	Common walnut	Juglandaceae	TCM, TPM	Ahmad et al., (2012), Iranshahy & Javadi, (2019)
<i>Lavandula angustifolia</i> mill.	Lavander	Lamiaceae	TEM, TM	Perry & Howes Jr, (2011), Xu et al., (2017)
<i>Lavandula</i> sp (<i>Lavandula pubescens</i> Decne.)	Downy lavender	Lamiaceae	TM	Paul et al., (2022)
<i>Lippia origanoides</i> Kunth	'Orégano de México'	Verbenaceae	BTM, TM	Oliveira et al. (2014), Leyva-Jiménez, Lozano-Sánchez, Cádiz-Gurrea, Arráez-Román, & Segura-Carretero, (2019)

TABLE 1 (Continued)

Scientific name	Common name	Botanical family	Traditional medicine	References
<i>Luehea divaricata</i> Mart.	'Açoita-cavalo', 'ibatingui'	Malvaceae	TCAM	Courtes et al., (2015)
<i>Melissa officinalis</i> L.	Lemon balm	Lamiaceae	TEM, TPM	Iranshahy & Javadi, (2019), Perry, Court, Bidet, Court, & Perry, (1996)
<i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC.	Velvet bean	Leguminosae	TM	Ogunmoyole, Ola-Awe, & Fatile, (2021)
<i>Nigella sativa</i> L.	Black caraway	Ranunculaceae	AM, ITM, TEM, TIM, TJM, TMaM, UM	Dabeer et al., (2022)
<i>Origanum majorana</i> L.	Sweet marjoram	Lamiaceae	TEM, TM	Mossa & Nawwar, (2011); Postu et al., (2020)
<i>Oryza sativa</i> L.	Asian rice	Poaceae	PFM	Cabanting & Perez, (2016)
<i>Panax ginseng</i> C.A. Mey.	Ginseng, Korean ginseng	Araliaceae	AM, TCM, TM	Antara Banerjee et al., (2021)
<i>Panax quinquefolius</i> L.	American ginseng	Araliaceae	TNAM	Kochan & Chmiel, (2014)
<i>Passiflora edulis</i> Sims. (syn: <i>Passiflora incarnata</i> L.)	Passionflower	Passifloraceae	TCAM, TEM, TNAM, TSAM,	Coleta, Campos, Cotrim, & Proença da Cunha, (2001), Deng, Zhou, Bai, Li, & Li, (2010), Dhawan, Dhawan, & Sharma, (2004)
<i>Peganum harmala</i> L.	Wild rue	Nitrariaceae	ETM, TTuM, TItM, TCM	Ali et al., (2013), Leporatti & Ghedira, (2009), Liu et al., (2017)
<i>Persicaria minor</i> (Huds.) Opiz	Pygmy smartweed	Polygonaceae	TMaM	Hussin et al., (2019)
<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Date palm	Arecaceae	TAM	Gruca, Blach-Overgaard, & Balslev, (2015)
<i>Pistacia</i>	Wild pistachio	Anacardiaceae	TPM	Mahjoub, Akhavan Rezayat, Yousefi, Mohebbi, & Salari, (2018)
<i>Punica granatum</i> L.	Pomegranate	Lythraceae	TCM, TTM, TMoM	Ge et al., (2021)
<i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	Chinese sage	Lamiaceae	AM, TCM, TEM, TM	Perry et al., (1996)
<i>Salvia officinalis</i> L.	Sage	Lamiaceae	TEM	Perry et al., (1996)
<i>Theobroma cacao</i> L.	Cocoa tree	Malvaceae	TMM (Maya And Aztec civilisations)	Dillinger et al., (2000)
<i>Thymus</i> sp	Thymes	Lamiaceae	TM	Aldosary, El-Rahman, Al-Jameel, & Alromihi, (2021), Komaki, Hoseini, Shahidi, & Baharlouei, (2016)
<i>Vaccinium</i> sp pl		Ericaceae	Ethnopharmacological use Inupiat tribe (Alaska)	Kellogg et al., (2010)
<i>Valeriana officinalis</i> L.	Valerian	Caprifoliaceae	TIM, TM	Malva, Santos, & Macedo, (2004), Nandhini, Narayanan, & Ilango, (2018)
<i>Vicia faba</i> L.	Faba bean	Leguminosae	TIM	Ramírez-Moreno, Salguero Bodes, Romaskevych, & Duran-Herrera, (2015)
<i>Vitis vinifera</i> L.	Common grape vine	Vitaceae	TPM (TIRm) TKM	Ardid-Ruiz et al., (2020), Bakhtiyari et al., (2017), Chun, Kim, Choi, & Chang, (2008), Mirheidary, Esmaeili Saber, Shaeiri, & Gholami Fesharaki, (2020)
<i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal	Ashwagandha, Indian ginseng	Solanaceae	AM, TIM	Mehla et al., (2020), Sharma & Martins, (2020)
<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	Ginger	Zingiberaceae	TCM, TPM	Iranshahy & Javadi, (2019), Shen et al., (2017), Zhang et al., (2022)

Abbreviations: AM: Ayurvedic Medicine; BTM: Brazilian traditional medicine; ETM: Egyptian Traditional Medicine; HM: Herbal Medicine based on TM; ITM: Islamic traditional medicine; PFM: Philippine Folk Medicine; TAM: Traditional African Medicine; TCAM: Traditional Central America Medicine; TCM: Traditional Chinese Medicine; TEM: Traditional European Medicine; TIM: Traditional Indian medicine; TIRm: Traditional Iranian Medicine; TItM: Traditional Italian Medicine; TJM: Traditional Jewish Medicine; TKM: Traditional Korean Medicinal; TM: Traditional Medicine; TMA: Traditional Medicine in Asia; TMM: Traditional Mexican Medicine; TMaM: Traditional Malaysian Medicine; TMoM: Traditional Mongolian Medicine; TNAM: Traditional North America Medicine; TPM: Traditional Persian Medicine; TrM: Tropical Medicine based on TM; TSAM: Traditional South America Medicine; TTM: Traditional Tibetan Medicine; TTuM: Traditional Tunisian Medicine; TUM: Traditional Uyghur medicine (Turkish); UM: Unani Medicine.

TABLE 2 Studies on medicinal plants for Alzheimer's disease

Species	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type	References
<i>Allium sativum</i> <i>Pistacia khinjuk</i>	Phenols	Anti-AChE activity	Preclinical study (in vitro and in vivo)	Ghajarbeygi et al., (2019)
Amaryllidaceae members: <i>Galanthus</i> sp.pl., <i>Leucojum</i> sp.pl. and <i>narcissus</i> sp.pl.)	Galantamine	Anti-AChE	Preclinical study (in vitro)	Agatonovic-Kustrin, Kustrin, & Morton, (2019)
<i>Andrographis paniculata</i>	Andrographolide	Reduces A β extracellular plaque maturation, tau protein phosphorylation and neuroinflammation	Preclinical study (in vitro and in vivo)	Lu et al., (2019), Souza et al., (2022)
<i>Artemisia annua</i> <i>Glycyrrhiza glabra</i>	Myrtenal	Anti-AChE activity	Preclinical study (in vitro)	Kaufmann, Dogra, & Wink, (2011)
<i>Lavandula pubescens</i>	Carvacrol	Anti-AChE and anti-BuChE activity	Preclinical study (in vitro)	Abd Rashed, Abd Rahman, & Rathi, (2021)
<i>Origanum majorana</i>	Monoterpenes, sesquiterpenes	Antioxidant activity,	Preclinical study (in vivo)	Postu et al., (2020)
<i>Panax ginseng</i>	Ginsenosides	Prevent A β formation and decrease both BACE1 activity and BACE1 expression	Preclinical study (in vitro)	Dahge et al., (2021), Noori, Dehpour, Sureda, Sobarzo-Sanchez, & Shirooie, (2021)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Rosmarinic acid	Inhibits amyloid-beta oligomerisation and deposition	Preclinical study (in vitro and in vivo)	Agatonovic-Kustrin et al., (2019) Noguchi-Shinohara et al., (2020), Subedi, Gaire, Parveen, & Kim, (2021)
<i>Salvia</i> sp.	α -Thujone, camphor, 1,8-cineole and β -thujone	Anti-AChE and anti-BuChE activity	Preclinical study (in vitro)	Abd Rashed et al., (2021)
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Salvianolic acid B	Inhibits A β aggregation and fibre formation	Preclinical study (in vitro and in vivo)	Abd Rashed et al., (2021), Zhang, Qian, Zhang, & Wang, (2016)
<i>Thymus</i> sp.	Thymol, carvacrol and linalool	Anti-AChE activity	Preclinical study (in vitro)	Agatonovic-Kustrin et al., (2019)
<i>Bacopa monnieri</i>	Saponins	Antioxidant, anti-inflammatory, Blocks A β production, inhibits neural cell death	Clinical study	Gregory, Vengalasetti, Bredesen, & Rao, (2021)
<i>Crocus sativus</i>	Safranal	Antioxidant, anti-amyloidogenic, Anti-inflammatory, antidepressant, Immunomodulation, Neuroprotection	Clinical study	Farokhnia et al., (2014), Gregory et al., (2021)
<i>Curcuma longa</i>	Phenolic compounds (curcuminoids)	Antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, blocks A β production, inhibits neural cell death	Clinical study	Gregory et al., (2021)
<i>Ginkgo biloba</i>	Diterpenes (ginkgolides) and biflavonoids	Antiplatelet and antioxidant activity	Clinical study	Nowak et al., (2021)
<i>Centella asiatica</i>	Saponins (asiaticoside and madecassoside)	Reduces oxidative stress, A β levels and apoptosis, promotes dendritic growth and mitochondrial health	Clinical study	Gregory et al., (2021)
<i>Vitis vinifera</i>	Phenolic compounds	Antioxidant activity,	Clinical study	Lee, Torosyan, & Silverman, (2017)

TABLE 2 (Continued)

Species	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type	References
<i>Withania somnifera</i>	Withanolides and alkaloids	Antioxidant, anti-inflammatory, blocks A β production, inhibits neural cell death, dendrite extension, neurite outgrowth and restores synaptic function, neural regeneration and reverses mitochondrial dysfunction	Clinical study	Gregory et al., (2021)

homeostasis. The resulting neurodegeneration causes a dramatic loss of synapses in the hippocampus, cortex and subcortical structures.

Inflammatory processes, oxidative stress and excitotoxicity can be involved in AD onset and development (Livingston et al., 2020). As it is a chronic complex disease of multifactorial origin, in which different pathological processes intervene whose aetiology has not yet been fully elucidated, there is no curative treatment available. Pharmacological treatment aims to alleviate symptoms. In June 2021, the Food and Drug Administration approved the use of aducanumab, a human monoclonal antibody, to prevent disease progression. Antidepressants, such as selective serotonin reuptake inhibitors and anxiolytics (benzodiazepines), are also employed to treat psychopathological states associated with moderate or severe AD. Moreover, AChE and butyrylcholinesterase (BChE) inhibitor drugs (galantamine, donepezil and rivastigmine), monoamine oxidase inhibitors, anti-inflammatories, antioxidants, NMDA receptor antagonists (memantine), metal chelators and normalisers of metabolic processes are also applied. These drugs are effective in early disease stages, but not for moderate to severe processes. It can be assumed that plants might be a promising source of new bioactive compounds with anti-AChE activity, such as galantamine, an alkaloid isolated from several Amaryllidaceae members (*Galanthus* sp.pl., *Leucojum* sp.pl. and *Narcissus* sp.pl.) (Agatonovic-Kustrin et al., 2019). So it would seem reasonable to investigate the possible efficacy of medicinal plants and their active principles in which different pharmacological activities are combined because this could provide a multifactorial approach to the disease with a low incidence of adverse effects. Natural products can also act as a source of new effective molecules to be later utilised to treat AD if their low bioavailability is overcome (Dhage et al., 2021; Singh, Pandey, et al., 2021).

Many publications report the positive effects of medicinal plants and isolated active principles on AD-related cognitive decline in both clinical and preclinical studies with animal models of the disease. It is important to highlight that different beneficial biological activities for this disease frequently converge in the same medicinal plant. All these activities seem to be the consequence of the synergistic action of active principles (Figure 1).

3.1.1 | Preclinical studies

Several publications are available about observational and in vitro or in vivo studies, which indicate the possible efficacy of other medicinal

plants like Ginseng (*Panax ginseng* C.A.Mey.); Sage (*Salvia officinalis* L.); *Lippia origanoides* Kunth; and the mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.) Persoon (Akhondzadeh et al., 2003; Gregory et al., 2021; Heo et al., 2008; Singh, Pandey, et al., 2021; Singh, Rai, et al., 2021). The active principles isolated from plants have pharmacological activities capable of counteracting some of the pathological processes involved in AD. The main targets on which they act are AChE inhibition, A β peptides accumulation via the modulation of amyloid precursor protein (APP) and β -secretase (transmembrane aspartic proteases β -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme [BACE] 1 and BACE2), γ -secretase (presenilin proteins PS1 and PS2) activity, tau protein hyperphosphorylation, induced autophagy, control of oxidative processes in both neuronal or glial cells, or in inflammation or apoptosis (Ahmed et al., 2021; Hampel et al., 2021).

Apart from possessing marked antioxidant activity, many essential oils can inhibit AChE and BChE, and these activities are correlated with the presence of monoterpenes. Through in vitro and molecular docking tests, monoterpenes like 3-carene, α -pinene and β -pinene with IC₅₀ values of 1.73, 2.66 and 14.75 μ g/mL, respectively, exhibit more AChE inhibitory potency (Chen et al., 2021). Based on the activities of these compounds, several essential oils from medicinal plants have been proposed to reduce AD symptoms (Table 2).

Other active principles of medicinal plants can also improve AD symptoms by acting as AChE inhibitors and, therefore, improving the cognitive functions of AD patients. The compounds with the highest inhibitory potency are those of a steroidal nature like saponins, and this activity can be reduced if a long carbon chain or two heterocyclic nitrogen methylation is introduced into the structure. Other compounds with only one benzene-like ring showed also interesting IC₅₀ (Ahmed et al., 2021).

Powerful antioxidants like isoflavones (genistein), chalcones like cardamonin and its derivatives, and flavonoids rutin, galangin, baicalin and myricetin, could be used to prevent the deleterious effects induced by oxidative stress. Phenolic acids like rosmarinic acid have protective effects against A β peptide-induced neurotoxicity, ROS generation, lipid peroxidation, DNA decomposition, tau protein hyperphosphorylation and protein kinase activation. Therefore, these substances could help to prevent the worsening of AD-related neuropsychiatric symptoms (Agatonovic-Kustrin et al., 2019; Noguchi-Shinohara et al., 2020; Subedi et al., 2021). Some of these compounds, for example, myricetin for its hydrophobic nature and low molecular weight, can cross the BBB. Linalool, a monoterpene that is

TABLE 3 Botanical species used against effects of Parkinson's disease

Scientific name	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type model of study	References
<i>Ampelopsis grossedentata</i> (hand.-Mazz.) W.T.Wang	Dihydromyricetin	Potent neuroprotective agent: Modulating the Akt/GSK-3 β pathway	In vivo C57BL/6J mice MES23.5 cells	Ren, Zhao, Cao, & Zhen, (2016)
<i>Apium graveolens</i> L.	Apigenin, Luteonin	Neuroprotective: Improve oxidative stress, decrease the activity of MAO-A and B, and protect dopaminergic neurons.	In vivo C57BL/6J mice	Chonpathompikunlert, Boonruamkaew, Sukketsiri, Hutamekalin, & Sroyraya, (2018)
<i>Asparagus racemosus</i> Willd.	Shatavarin IV	Antioxidant (attenuation of oxidative stress) and promotes longevity: Increasing the mRNA expression of stress-responsive genes. Improved PD symptoms: Reducing α -synuclein aggregation, lipid accumulation and enhancing dopamine level.	In vivo (<i>Caenorhabditis elegans</i> model system)	Smita, Raj Sammi, Laxman, Bhatta, & Pandey, (2017)
<i>Bacopa monnieri</i>	Bacosides, bacopasides, bacosaponins	Anti-inflammatory: Suppressed the level of pro-inflammatory cytokines, decreased α -synuclein levels and reduced ROS generation. Neuroprotective: Decrease in GFAP immunostaining and expression of iNOS in the substantia nigra region; maintain dopamine concentrations; can inactivate the MAO-B; improve behavioural parameters.	In vivo Albino rats of Wistar strain In vivo MPTP-induced PD in mice In silico study-AutoDock tools	Singh, Pandey, Rumman, & Mahdi, (2020) Singh et al., (2021); Singh et al., (2021); Singh et al., (2021)
<i>Capsicum annuum</i> L.	Capsaicin Quercetin and other polyphenols	Neuroprotective: Reduction in the basal levels of oxidative markers such as ROS, MDA and HP; attenuating mitochondrial dysfunction. Neuroprotective: Antioxidant; decrease the inflammatory response Neuroprotective: Modulating DA metabolism and GSH redox status in rat brain.	In vivo PQ-treated mice In vivo Rotenone intoxicated mice	Hosamani, Krishna, & Muralidhara, (2016) Abdel-Salam & Heman, (2018)
<i>Crocus sativus</i>	Crocin Crocetin	Cytoprotective Antioxidant, cytoprotective	In vitro (MPP ⁺)-injured PC12 cells In vivo (fly model) Fly PD models	Zhang, Zhang, & Zhao, (2015) Inoue et al., (2021)
<i>Curcuma longa</i>	Curcumin	Neuroprotective: Reduce apoptosis and oxidative stress.	In vitro SH-SY5Y human neuroblastoma cells	Ma & Guo, (2017)

TABLE 3 (Continued)

Scientific name	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type model of study	References
<i>Garcinia indica</i>	Aromatic-turmerone	Anti-inflammatory. Neuroprotective	In vitro Murine microglial BV2 cells Wistar rats—midbrain slice cultures	Hori et al., (2021)
	Curcumin	Neuroprotective	In vitro/In vivo 6-hydroxydopamine Lesioned rat model and PC12 cells	He et al., (2022)
	Curcuminoids	Antioxidant and neuroprotective	In vivo Rotenone-treated mice	Khatri & Juvekar, (2016)
		Neuroprotective		Darbinyan et al., (2017)
		Anti-inflammatory. Neuroprotective	In vivo MPTP-induced PD in mice	Ojha, Rastogi, Devi, Agrawal, & Dubey, (2012)
<i>Ginkgo biloba</i>	Garcinol	Neuroprotective: Garcinol prevents NO accumulation in lipopolysaccharide-treated astrocytes. Garcinol significantly reduce the expression of inflammatory mediators (iNOS and COX-2).	In vivo (rat model) 6-hydroxydopamine Lesioned rat model	Antala et al., (2012)
		Neuroprotective and neuromodulatory potential. Anti-oxidoinflammatory and anti-apoptotic effects. Potential gastroprotective property.	In vivo Rotenone-treated mice	Adebayo et al., (2022)
<i>Hoscyarnus niger</i>	Methanolic extract of seeds: L-DOPA	Neuroprotective effect	In vivo (rat model) Wistar rats	Khatri & Juvekar, (2015)
<i>Juglans regia</i>	Caffeic acid, polyphenols	Antioxidant: Protection of dopaminergic neurons against induced neurotoxicity; prevention of depletion of striatal DA and its metabolites. Improve motor symptoms.	In vitro/In vivo MPTP-induced PD in mice	Choi et al., (2016)
<i>Mucuna pruriens</i>	L-DOPA	Efficacy and safety, noninferior to levodopa/benserazide.	Clinical trial	Cilia et al., (2017)
<i>Nigella sativa</i>	Thymoquinone	Antioxidant properties. Improves muscle rigidity compared to L-DOPA.	In vivo (mice model) Adult Balb/c mice	Jahromy, Jalili, Mohajer, Poor, & Dara, (2014)
		Neuroprotection in early PD	In vivo (rat model) Adult male Wistar rats	Sedaghat, Roghani, & Khalili, (2014)
		Anti-neuroinflammatory	In vitro LPS-activated microglial murine cells	Taka et al., (2015)
		Antioxidant. Neuroprotection. Modulation of the Nrf2-ARE signalling cascade.	In vitro/In vivo	Dong et al., (2021)

(Continues)

TABLE 3 (Continued)

Scientific name	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type model of study	References
<i>Paeonia x suffruticosa</i> Andr.	Terpenes, phenols, flavonoids, tannins.	Neuroprotective	Human neuroblastoma SH-SY5Y cells / C57/BL6 mice	Kim et al., (2014)
<i>Peganum harmala</i>	Harmaline	Antioxidant Neuroprotective	In vivo (mice model) MPTP-induced PD in mice	Rezaei, Nasri, Roughani, Niknami, & Ziai, (2016)
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Betacyanins, gallotannins, omega-3 fatty acids, ascorbic acid, α -tocopherols, kaempferol, Quercetin, and apigenin. L-DOPA, DA	Antioxidant Neuroprotective	In vivo (rat model) Wistar rats In vivo (rat model) 6-hydroxydopamine Lesioned rat model	Martins et al., (2016)
<i>Sorbus alnifolia</i> (Sieb. Et Zucc.) K. Koch	Anthocyanins, flavanols and polyphenolics	Neuroprotection. <i>Sorbus alnifolia</i> protects against dopaminergic neurodegeneration in <i>Caenorhabditis elegans</i> and shows lifespan-extension effects in wild-type worms.	In vitro/In vivo PC12 cells / <i>Caenorhabditis elegans</i>	Cheon et al., (2017)
<i>Valeriana officinalis</i>	Valeric acid (valerianic acid)	Anti-inflammatory Neuroprotective	In vivo Rotenone-treated mice In vivo MPTP-induced PD in mice	Jayaraj et al., (2020) Rodríguez-Cruz et al., (2019)
<i>Vicia faba</i>	Phenolic acids, saponins, aromatic amino acids, flavonoids	Anti-inflammatory, antioxidant and neuroprotective effects Improved motor activity and striatal DA level. Decrease the striatal malondialdehyde.	In vitro/In vivo In vivo Rotenone-treated mice	Abdel-Sattar et al., (2021)
<i>Zizyphus spina-christi</i> mill.		Neuroprotection. Antioxidant. Reduce neurotoxicity.	In vitro SH-SY5Y cells	Singh et al., (2018)

Abbreviations: COX-2, cyclooxygenase-2; DA, dopamine; GFAP, glial fibrillary acidic protein; GSH, oxidised glutathione; HP, hydroperoxides; iNOS, inducible nitric oxide synthase; L-DOPA, levodopa; MAO-A, monoamine oxidase-A; MAO-B, monoamine oxidase-B; MDA, malondialdehyde; MPTP, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; NO, nitric oxide; Nrf2-ARE, nuclear factor erythroid 2-related factor 2-antioxidant response element; PD, Parkinson's disease; PQ, paraquat; ROS, reactive oxygen species;

TABLE 4 Potentially useful botanical species for Huntington's disease

Species	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type	References
<i>Anemarrhene asphodeloides</i>	Mangiferin	↑ antioxidant defence system	In vitro (PC-12 cells, 3 NP model)	Piwowar et al., (2020)
<i>Phoenix dactylifera</i>		ROS scavenging, ↓ mitochondrial dysfunction	In vitro (PC-12 cells, 3-NP model)	Essa et al., (2019)
<i>Psoralea corylifolia</i>		Restoration of mitochondrial dysfunction	In vitro (PC-12 cells, 3-NP model)	Im et al., (2014)
<i>Punica granatum</i>	Unsaturated fatty acids (6,9-octadecadiynoic acid as 4,4-dimethyloxazoline derivative)	Neutralise ROS, ↑ antioxidant gene expression	In vitro (PC-12 cells, genetically modified)	Al-Sabahi et al., (2017)
<i>Calendula officinalis</i>	Chlorogenic acid, rutin Ferulic acid	Antioxidant, Anti-inflammatory	In vivo (Wistar rats, female; 100, 200 mg/kg; po, toxin: 3-NP, ip)	Shivasharan et al., (2013)
<i>Celastrus paniculatus</i>	Sesquiterpenoid polyalcohols and esters (malkanguniol, malkangunin, polyalcohol A-D, celapnin); alkaloids (paniculatin, celastrol); phenolic triterpenoids (celastrol, paniculadiol); fatty acids (oleic, linoleic, linolenic, palmitic, stearic and lignoceric acid) and agarofuran derivatives	↑ antioxidant defence system, ↓ glutamate toxicity	In vivo (Wistar rats, male; 100 ^b , 200 mg/kg; po, toxin: 3-NP, ip)	Malik, Karan, & Dogra, (2017)
<i>Centella asiatica</i>	Triterpene sapogenins, (madecassoside, asiaticoside), caffeic acid derivatives and flavonols	↑ antioxidant defence, preservation of mitochondrial integrity	In vivo (prepubertal mice, male, 5 mg/kg, po, toxin: 3-NP, ip)	Shinomol et al., (2010)
<i>Convolvulus pluricaulis</i>	Scopoletin	↑ antioxidant defence system	In vivo (Wistar rats, male; 10, 20 ^b mg/kg; po; toxin: 3-NP, ip)	Kaur, Prakash, & Kalia, (2016)
<i>Convolvulus pluricaulis</i>	Scopoletin	↑ antioxidant defence system	In vivo (Wistar rats, male; 100, 200 ^b mg/kg; po; toxin: 3-NP, ip)	Malik, Choudhary, & Kumar, (2015)
<i>Ginkgo biloba</i> L.	Flavoglycosides; terpene lactones	Improvement of energy metabolism, Antioxidant, Antiapoptotic	In vivo (Wistar rats, male; 100 mg/kg; ip; toxin: 3-NP, ip)	Mahdy, Tadros, Mohamed, Karim, & Khalifa, (2011)
<i>Ficus religiosa</i>	Ethyl acetate extract: Alkaloids, terpenoids and flavonoids; ethanolic extract: Tannins, phenols, Alkaloids, terpenoids, flavonoids and glycosides	↓ oxidative stress	In vivo (Wistar rats, male; 100, 200, 400 ^b mg/kg; po; toxin: 3-NP, ip)	Bhangale, Acharya, & Acharya, (2016)
<i>Luehea divaricata</i>	Gallic acid, Catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, Epicatechin, vitexin, rosmarinic acid, rutin, quercetin, and luteolin	↑ antioxidant defence system, ↓ acetylcholinesterase activity	In vivo (Wistar rats, male; 500, 1,000 mg/kg; ig; toxin: 3-NP, ip)	Courtes et al., (2015)
<i>Panax ginseng</i>	Gingenosides	↓ oxidative stress	In vivo (ICR mice, male; 50, 100, 250 mg/Kg ^c ; po; toxin: 3-NP, ip)	Jang, Lee, Kim, & Cho, (2013)

(Continues)

TABLE 4 (Continued)

Species	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type	References
<i>Panax quinquefolius</i>	Panaxadiols (Rb1, Rb3, Rd)	Free radicals scavenger	In vivo (SD rats, male; 10 mg/kg, po toxin: 3-NP, ip)	Lian, Zhang, & Stringer, (2005)
<i>Withania somnifera</i>	Withanolides	↑ antioxidant defence system, ↓ mitochondrial dysfunction	In vivo (Wistar rats, male) 100, 200 mg/kg:c po toxin: 3-NP, ip)	Kumar & Kumar, (2009)
<i>Zingiber officinale</i>		Anticholinesterase potency	In vivo (Wistar rats; 100, 200 mg/Kg ^c ; po; toxin: 3-NP, ip)	Sharma, Sharma, & Sharma, (2012)

frequently present as a constituent in essential oils from aromatic plants, possesses a wide range of biological activities, including antioxidant and anti-inflammatory effects. In rat models of AD, linalool prevents A β neurotoxicity by inhibiting free radical production and inflammatory response (Yuan et al., 2021). Isoquinoline alkaloids like berberine (Figure 2) are capable of crossing the BBB by inhibiting A β production and lowering the levels of BACE1 protein and its accumulation by promoting its clearance by autophagy through the class I PI3K/BecLin-1 pathway. This alkaloid also possesses antioxidant properties and normalising effects on blood glucose and lipidaemia (Noori et al., 2021).

However, as previously mentioned, these active principles often have a wide spectrum of actions, such as quinazolidine alkaloids that can act as modulators/inhibitors of A β , tau protein, AChE, BuChE, monoamine oxidase(MAO) and phosphodiesterase, as well as other protective effects that are useful in AD patients (Haghighijoo, Zamani, Moosavi, & Emami, 2022). In addition, numerous medicinal plants and natural products with sedative and/or anxiolytic activity can be used to treat AD-related neuropsychological effects. Aromatherapy with the essential oils of chamomile, lavender, marjoram and rosemary can significantly reduce agitated behaviour in AD patients (Agatonovic-Kustrin et al., 2019; Jimbo, Kimura, Taniguchi, Inoue, & Urakami, 2009).

3.1.2 | Clinical studies

In most cases, the possible efficacy of applying natural products in AD has been studied because of their use in traditional medicine to improve cognitive functions (Singh, Rai, et al., 2021). In quality clinical studies with AD patients, several plant species and drugs have been shown to be effective due to the active ingredients they contain (Table 2).

However, although an immense effort has been made to study the efficacy of medicinal plants for treating AD, the common idea shared by both clinical and observational trials and many preclinical studies is the need for further research to confirm the effects of plants and phytochemicals, and to establish an effective and safe dosage regimen.

Large multi-centre clinical trials are needed to validate the efficacy of both individual herbs and mixed formulations in the treatment of Alzheimer's disease and its early. It is important that more rigorous research is conducted, with good study design, larger sample sizes and good outcome endpoints.

3.2 | Parkinson's disease

Parkinson's disease (PD) was first described in 1817 by British neurologist James Parkinson. It is the second most common neurodegenerative disease, affects 1% of people over the age of 65 years, and is more prevalent in men than in women (3:2 ratio) (Rabiei, Solati, & Amini-Khoei, 2019). PD has very characteristic symptoms, such as

TABLE 5 Studies on medicinal plants for Dementia with Lewy bodies

Species	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type	References
Species of Amaryllidaceae	Galantamine	AChE inhibitor and a positive allosteric modulator of nicotinic receptors. Partial agonist effect on 5HT1A receptors. ↑ serotonergic and dopaminergic transmission in the prefrontal cortex. ↓ Behavioural and psychological symptoms of dementia. No effect on cognitive functions.	Review	Perry & Howes Jr, (2011)
-Yokukansan- (<i>Atractylodes</i> species; <i>Cnidium</i> ; <i>Uncaria</i> ; <i>Angelica</i> ; <i>Bupleurum</i> ; <i>Glycyrrhiza</i> ; and the fungus <i>Poria cocos</i>)				
<i>Camellia sinensis</i> ; <i>Theobroma cacao</i> ; <i>Coffea</i> species; <i>Vitis vinifera</i>	Epigallocatechin gallate	↑ γ-glutamylcysteine ligase mRNA expression. ↑ cellular glutathione. ↑ protein kinases C activity. Suppress Bcl-2 down-regulation. Inhibits AChE and neuroinflammatory response. Modulates cerebral blood flow and electroencephalographic activity. No effect on cognitive functions.	Review	Howes, Perry, Vásquez-Londoño, & Perry, (2020)
	Caffeine	Glutamate release inhibition. ↓ Aβ aggregates. ↑ protein kinases C activity. ↑ phosphor- cAMP-response element binding protein levels. ↓ phosphor-JNK and -ERK expression. There is no clear clinical evidence on cognitive functions.		
<i>Vitis vinifera</i> ; <i>Vaccinium corymbosum</i> ; <i>Arachis</i> <i>Hypogaea</i> ; <i>Pistacia vera</i>	Resveratrol	↓ aggregation and toxicity of amyloidogenic proteins. ↓ astrocyte and microglial activation. ↓ NF-κB activation. ↓ TNF-α production. ↓ NO production. ↓ MAPK phosphorylation. ↑ neurogenesis. Apparent ↓ decline of cognitive functions.		
Citrus species	Flavanones	↓ cell death. ↓ Excitotoxicity. ↓ oxidative stress. ↓ inflammation. ↓ mitochondrial dysfunction. ↓ lipid peroxidation. ↓ TNF-α, TNF-β, IL-1, NF-κB activation ↓ Caspase-3 activation. Improvement of cognitive functions.		

(Continues)

TABLE 5 (Continued)

Species	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type	References
<i>Crocus sativus</i> ; other species containing carotenoids such as crocins/crocetin, β -carotene, lutein and zeaxanthin	Methoxyflavones	↓tau hyperphosphorylation. ↓oxidative stress. ↑BDNF production. Activation of the cAMP/ERK/CREB cell survival signalling pathway. ↓TNF- α levels.		
	Coumarins	Anti-inflammatory by inhibiting microglial activation and COX-2 expression.		
	Carotenoids	↓A β aggregates. Inhibition of NO, TNF- α and IL-1 β . ↑antioxidant enzymes. ↓lipid peroxidation. NO, TNF- α and IL-1 β inhibition. ACHE inhibition. Improvement of cognitive functions.		
<i>Curcuma longa</i>	Curcuminoids (curcumin)	↓NF- κ B, TNF- α and COX-2 signalling pathways. Inhibition of IL-8, IL-6, IL-1 β and IL-1 α production. MAPK and NF- κ B pathway inhibition. ↑GSH peroxidase. ↓lipid peroxide levels. Inhibition of A β aggregates formation. β -Secretase inhibition. ↓microglial activation. Improvement of cognitive functions.		
Lamiaceae species; Other aromatic species	Monoterpenes	ACHE inhibition. ACh inhibition via nicotinic receptors. Suppresses pro-inflammatory cytokine production, via NF- κ B, TNF- α , IL-1 β and IL-6 and ERK pathways. ↓oxidative stress. Improvement of cognitive functions.		
	Rosmarinic acid	ACHE inhibition. Anti-A β . Antioxidant. Enhances cognition, verbal learning, memory and attention.		
<i>Glycine max</i>	Isoflavones	Estrogenic effects. Improvement in cholinergic function. ↓age-related neuronal loss.		

TABLE 5 (Continued)

Species	Bioactive substances	Activity/mechanism	Study type	References
<i>Oryza sativa</i>	Rice bran extract; rice bran oil; γ -Oryzanol; tocopherol and Tocotrienol	↓ cognitive decline. ↑ GSH peroxidase. ↓ lipid peroxidation. ↓ apoptosis. Improvement of memory. Activation of PGC-1α-dependent pathways. ↑ Cardiolipin levels. ↑ citrate synthase activity. ↑ respiratory chain complexes I and II. ↑ ATP levels. ↑ mitochondrial membrane potential. ↓ mitochondrial dysfunction. Activation of the M2 glial receptor. ↑ IL-10. ↓ release of COX-2 and PGE-2. ↓ oxidative stress. ↓ Neuroinflammation. No clinical results.	Review	Behl et al., (2021)

resting tremors, bradykinesia, rigidity and postural instability, which usually begin gradually and worsen over time. Other motor and non-motor (i.e., hyposmia, constipation, cognitive impairment, mood disturbances, sleep dysfunction, etc.) signs and symptoms may be related (Armstrong and Okum, 2020; Jankovic & Tan, 2020).

PD is considered to result from the interaction of many factors, such as ageing, genetic vulnerability and exposure to certain environmental factors. Currently, its aetiology remains unclear but seems to be due to the loss of pigmented dopaminergic neurons in the substantia nigra that, consequently, causes dopamine in the basal ganglia to drop, and also brings about the accumulation of intraneuronal aggregates, Lewy bodies. Lack of the neurotransmitter dopamine mainly affects PD patients' movement (Lee and Yankee, 2021). As in all NDs, PD has no cure. Thus treatments focus on managing symptoms with drugs (dopamine replacement, dopamine agonists with catechol-O-methyltransferase [COMT] inhibitors, MAO-B and COMT inhibitors, anticholinergic drugs, neurotrophic factors, etc.), surgical treatments, behavioural therapy, or a combination of different treatment options (Church, 2021; Jankovic & Tan, 2020; Rietdijk, Perez-Pardo, Garssen, van Wezel, & Kraneveld, 2017; Ríos, Onteniente, Picazo, & Montesinos, 2016).

Several mechanisms responsible for the degradation of dopaminergic neurons in molecular pathogenesis may be involved, such as oxidative stress, mitochondrial dysfunction, α -synuclein proteostasis, calcium homeostasis, axonal transport and neuroinflammation (Poewe et al., 2017; Rabiei et al., 2019). There is increasing evidence to link the brain-gut axis to the origin of PD. On this matter, Braak et al. (2003) postulate that an unknown pathogen (virus or bacteria) in the gut may be responsible for sporadic PD onset. Braak et al. (2003) hypothesis is that the pathology spreads through the olfactory tract and the vagus nerve, and triggers α -synuclein aggregation in the central nervous system (CNS) (Rietdijk et al., 2017). Other researchers conclude that some microorganisms present in the faecal microbiome might be related to PD (Fernández-Espejo, 2020; Generoso, Giridharan, Lee, Macedo, & Barichello, 2021).

As PD therapeutic strategies aim to reduce disease progression by delaying neurodegeneration, the tendency to prevent it by employing botanical-based medication with neuroprotective activity is growing (Rahman et al., 2021). Phytochemicals from medicinal plants can be a safe alternative to or can complement standard pharmacological treatments. According to different epidemiological studies, eating fruit, vegetables and whole grains with high contents of biologically active phytochemicals, such as flavonoids, anthocyanins, carotenoids, phytoestrogens, terpenoids, phytosterols, among others, reduces the risk of certain diseases, even in synucleinopathies like PD (Surguchov, Bernal, & Surguchev, 2021).

In this context, we highlighted in Table 3 experimental and clinical studies about botanical species, and their bioactive substances, that have been reported for their therapeutic potential in PD. Some medicinal plants, such as *Ampelopsis grossedentata* (Hand.-Mazz.) W.T.Wang, *Apium graveolens* L., *Bacopa monnieri* L., *Capsicum annuum* L., *Crocus sativus* L., *Curcuma longa* L., *Garcinia indica* L., *Ginkgo biloba* L., *Hyoscyamus niger* L., *Paeonia x suffruticosa* Andrews and *Sorbus alnifolia*

TABLE 6 Clinical trials of medicinal plants for insomnia and neurodegenerative diseases

Species	Sample/extract	Activity/mechanism	Type of study/dose/time/ administration via a number of patients	Criteria	References
<i>Citrus × aurantium</i> (neroli oil)	Neroli oil	Decrease systolic Blood pressure	Randomised controlled trial/ 1 drop/1 time/ inhalation N = 27	STAI-S, VAS, DBP, HR, RR, SBP	Hu, Peng, Lin, Chang, and Ou (2010)
	Essential oil (10%)	Improvement sleep quality	Double-blind randomised controlled trial/ 2 drop/2 time per day—4d consecutive in a wk—4-wk/ inhalation N = 80	PSQI	Abbaspoor et al. (2022)
	Essential oil (10%)	Enhancement sleep quality	Randomised, clinical trial 2 drops/3-nights / inhalation N = 80	SMHSQ	ArabFiroozjaei et al. (2019)
<i>Humulus lupulus</i> (hops)	Melcalin (dry extract)	Least mild depression, anxiety and stress symptoms	Randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover pilot study 400 mg/4-wk/p.o. N = 36	ADSS, DASS-21	Kyrou et al. (2017)
<i>Melissa officinalis</i> (lemon balm)	Dry extract	Positive effects for depression, anxiety, stress, and sleep disorder in patients with chronic stable angina	Double-blind placebo- controlled, clinical trial 3,000 mg/ 8-wk/p.o. N = 80	DASS-21, PSQI	Haybar et al. (2018)
<i>Lavandula angustifolia</i> (lavender)	Silexan	Improving sleep disorders and anxiety	Randomised, double-blind, placebo-controlled trial 80 mg/10-wk N = 221	CGI, HAM-A, PSWQ-PW, SAS	Kasper et al. (2010)
	Essential oil dilution of 6%	Improvement sleep quality	Double-blind randomised trial 0.12 ml/29 day Silexan (essential oil) N = 35	PSQI	dos Reis Lucena, dos Santos-Junior, Tufik, and Hachul (2021)
<i>Passiflora edulis</i> (passionflower)	Aqueous extract	Sedative effects	Double-blind, placebo- controlled trial 2000/1-wk N = 41	STAI	Ngan and Conduit (2011)
	EtOH extract	Sleep efficiency	Double-blind randomised Placebo-controlled clinical 60 mg/2-wk N = 110	TST, WASO, ISI, PSQI	Lee, Jung, Lee, Choi, and Kim (2020)
<i>Valeriana officinalis</i> (valerian)	Valerian extract LI 156 (Sedonium)	Decrease insomnia	Randomised, double-blind, multicentre, parallel, clinical study 600 mg/6-wk/p.o. N = 202	GES, CGI, SF-B, PSYA, PSYE, PSS, TRME	Ziegler, Ploch, Miettinen-Baumann, and Collet (2002)

TABLE 6 (Continued)

Species	Sample/extract	Activity/mechanism	Type of study/dose/time/ administration via a number of patients	Criteria	References
<i>Withania somnifera</i> (ashwagandha)	KSM-66 Ashwagandha extract	Increase sleep quality and it could be also used for patients with insomnia and anxiety	Randomised, double-blind, placebo controlled, parallel-group study 300 mg × 2/8-wk/ p.o. N = 80	HAM-A, PSQI, SE, SOL, TST, WASO Mental alertness, sleep quality	Langade, Thakare, Kanchi, and Kelgane (2021)
	Shoden Ashwagandha extract	Improve sleep quality and it could be used to promote healthy sleep patterns and resful sleep	Randomised, double blind, prospective, parallel, placebo controlled, clinical study 120/6-wk/ p.o. N = 144	RSQ-W, SE, SOL, TBT, TST, WASO, WHOQOL-Bref,	Deshpande, Irani, Balkrishnan, and Benny (2020)

Abbreviations: ADSS, Anxiety, Depression, and Stress Scores; CGI, clinical global impression; d, day; DASS, Depression Anxiety Stress Scale; DBP, diastolic blood pressure; GES, feeling of refreshment after sleep; HAM-A, Hamilton Anxiety Rating Scale; HR, heart rate; ISI, insomnia severity index; m, month; p.o., per os (orally); PSS, psychosomatic symptoms in the sleep phase; PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index; PSYA, psychic stability in the evening; PSYE, psychic exhaustion in the evening; RR, respiratory rate; RSQ-W, Restorative sleep questionnaire; SBP, systolic blood pressure; SE, sleep efficiency; SF-B, sleep questionnaire B; SMHSQ, St. Mary's Hospital Sleep Questionnaire; SOL, sleep onset latency; STAI, state-trait anxiety inventory; STAI-S, State-Trait Anxiety Inventory State; TST, total sleep time; TRME, dream recall; VAS, Visual Analogue Scale; WASO, wake after sleep onset; wk, week.

(Siebold & Zucc.) K. Koch, have shown a remarkable neuroprotective effect. Its compounds might mitigate neurodegeneration by lowering ROS levels in the brain, preventing nitric oxide (NO) accumulation and promoting the enhancement of α -synuclein clearance. They also act on the inhibition of MAOs and the modulation of the content of DA (Amro, Teoh, Norzana, & Srijit, 2018; Khazdair, Kianmehr, & Anaeigoudari, 2021; Peterson, 2020).

Other effective species, including *Asparagus racemosus* Willd., *Bacopa monnieri*, *C. sativus*, *C. longa*, *G. indica*, *G. biloba*, *Juglans regia* L., *Nigella sativa* L., *Peganum harmala* L., *Portulaca oleracea* L. *Valeriana officinalis* L., and *Vicia faba* L. have been considered by their potent antioxidant and anti-inflammatory effects. Some in vivo and in vitro studies have proved their ability to increase the mRNA expression of stress-responsive genes and reduce the expression of inflammatory mediators. (De Oliveria et al., 2009; Martins et al., 2016; Rahman et al., 2021; Yin et al., 2021).

The observed variability of therapeutic effects could be attributed to the different doses, routes of administration and origin of tested plants, extracts or active principles. Further clinical investigations to demonstrate their efficacy and to adequately explain mechanisms of action will be needed in the future to know how phytochemicals work in the brain.

3.3 | Other neurodegenerative dementias

3.3.1 | Huntington's disease

Huntington's disease (HD), an ND of the CNS characterised by undesired choreatic movements, behavioural and psychiatric disturbances, and dementia is an autosomal dominantly inherited mutation on chromosome 4, which results in an abnormal expansion of the cytosine-adenine-guanine repeats in the gene that encodes the huntingtin protein (Jimenez-Sanchez, Licitra, Underwood, & Rubinsztein, 2017).

The role of this protein in the neurodegeneration of striatal neurons is yet to be fully elucidated but seems to be related to energetic defects, oxidative damage and excitotoxicity. Proteolytic production of the N-terminal fragments of the huntingtin protein results in the formation of ubiquitinated aggregates in both the nucleus and cytoplasm of neurons to induce cell death. It would seem that oxidative processes favour aggregates, and mitochondrial dysfunction and oxidative stress may play an important role in the aetiology of HD (Manoharan et al., 2016).

Currently, HD treatment is only symptomatic (Wyant, Ridder, & Dayalu, 2017). Scientific studies have validated the beneficial effect of natural products against NDs, mainly those with neuroprotective, antioxidant and anti-inflammatory properties, and other relevant pharmacological activities, like AChE, secretase inhibitory and metal chelating properties (Kumar, Konar, Garg, Kaul, & Wadhwa, 2021; Natarajan, Shunmugiah, & Kasi, 2013; Tewari et al., 2018). In vitro and in vivo assays have shown plants with promising therapeutic potential in HD, (Table 4), whose mechanisms of action produce mainly antioxidant, anti-inflammatory effects, preservation of mitochondrial function, and neurotransmitter enhancement, that ultimately result in

TABLE 7 Studies in vitro of medicinal plants for insomnia and neurodegenerative diseases

Species (common name)	Sample/extract	Bioactive substances	Activity/mechanism	Criteria	References
<i>Citrus × aurantium</i> (neroli oil)	Neroli oil	Limonene, (E)-nerolidol, α -terpineol, α -terpinyl acetate and (E,E)-farnesol	Antimicrobial and antioxidant (bitter orange flowers)	ABTS, GC-FID, GC-MS	Ammar, Lebrini, Mathieu, Romdhane, and Zagrouba (2012)
<i>Melissa officinalis</i> (lemon balm)	Balm oil B4008 Sigma	Polyphenolics, such as rosmarinic acid, trimeric compounds, flavonoids, phenolic compounds and tocopherols	Protection for ischaemic damage. Inhibition of hypoxia-inducible factor 1- α (HIF-1 α) and oxidative stress in mouse embryos	Hypoxia in vitro, caspase-3 activity assay, in situ labelling of DNA fragmentation, RT-PCR, lipid peroxidation and antioxidant capacity	Bayat et al. (2012)
<i>Valeriana officinalis</i> (valerian)	Alcoholic extract	Valeric acids	Neuroprotective mechanisms against A β toxicity tested in rat hippocampal neurons 10 to 100 μ g/mL	Intracellular free calcium ([Ca ²⁺] _i)	Malva et al. (2004)
<i>Withania somnifera</i> (ashwagandha)	Withania somnifera extract	Withanolide-A	Withanolide-A reduced the glutamate-induced influx of intracellular calcium and excessive ROS production	JNK/p-38/ERK (MAPK family) intracellular signalling pathway	Dar, Satti, Dutt, Hamid, and Ahmad (2018)

Abbreviations: ABTS, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical-scavenging; GC-FID, Gas Chromatography-Flame Ionisation; GC-MS, Gas chromatography-mass spectrometry; MAPK, mitogen-activated protein kinase.

neuroprotective activity (Lum, Sekar, Gan, Bonam, & Shaikh, 2021). However, Further studies are required to elucidate the molecular mechanisms involved in the therapeutic effect of natural products in HD and randomised controlled trials are required to confirm clinical efficacy.

3.3.2 | Dementia with Lewy bodies

Dementia with Lewy bodies (DLB) is a disease associated with the presence of Lewy bodies, aggregates which contain α -synuclein associated with other proteins such as ubiquitin, neurofilament protein and α B-crystallin; Tau proteins may also be present. These protein aggregates affect the brain's biochemistry and functioning and cause problems with thinking, movement, behaviour, sleep and mood (McKeith et al., 2017). Lewy bodies spread throughout the cerebral cortex and/or other brain regions. In addition to the protein abnormalities, other pharmacologically relevant biomarkers such as cholinergic, dopaminergic and serotonergic systems are altered. Although the boundaries of DLB are unclear and overlap with NDs such as AD and PD, this disorder has its own clinical features (McKeith et al., 2017). A large body of evidence suggests that oxidative stress and neuroinflammation play a key role in disease progression (Grewal et al., 2021; Howes et al., 2020; Thapa, Khan, Sharma, Grewal, & Singh, 2021). As in most NDs associated with ageing, pharmacological interventions are currently limited (Brem & Sensi, 2018), which makes medicinal plants and their extracts, plus nutraceuticals, worthy options to be investigated (Solfrizzi et al., 2018).

In 2011, Perry and Howes conducted a comprehensive review of the scientific literature published to date on the use of phytopharmaceuticals and nutraceuticals for brain ageing from medicinal and food plants cited in herbal and traditional medicine (Table 5). They commented that galantamine (Figure 3) from species of Amaryllidaceae and yokukansan, a mixture of medicinal plants and mushrooms from traditional Japanese medicine, may be useful for treating DLB, mainly by improving psychiatric and psychological symptoms, such as irritability, agitation, aggressive behaviour, hallucinations, depression and anxiety.

In another review (Table 5), Howes et al. (2020) offered scientific evidence for the activity of epigallocatechin gallate (Figure 3), green tea (*Camellia sinensis* [L.] Kuntze), cocoa (*Theobroma cacao* L.), coffee (*Coffea Arabica* L.), grape juice and wine (*Vitis vinifera* L.), blueberries (*Vaccinium sp pl*), citrus fruit, monoterpenes and rosmarinic acid (Figure 3) from Lamiaceae species, turmeric and soya beans. Based on this background and despite positive results in vivo and in vitro experiments elucidating the mechanisms of action, there is no clear correlation between using epigallocatechin gallate or caffeine/coffee and improving or delaying cognitive decline. However, following nutritional and medicinal guidelines, supplementation with cocoa or chocolate appears to decrease and/or delay cognitive decline and its associated symptoms. Positive results are also cited for, grape juice, wine, resveratrol from grapes with anti-A β -aggregates and anti-inflammatory properties; blueberries/cherries, anthocyanins and

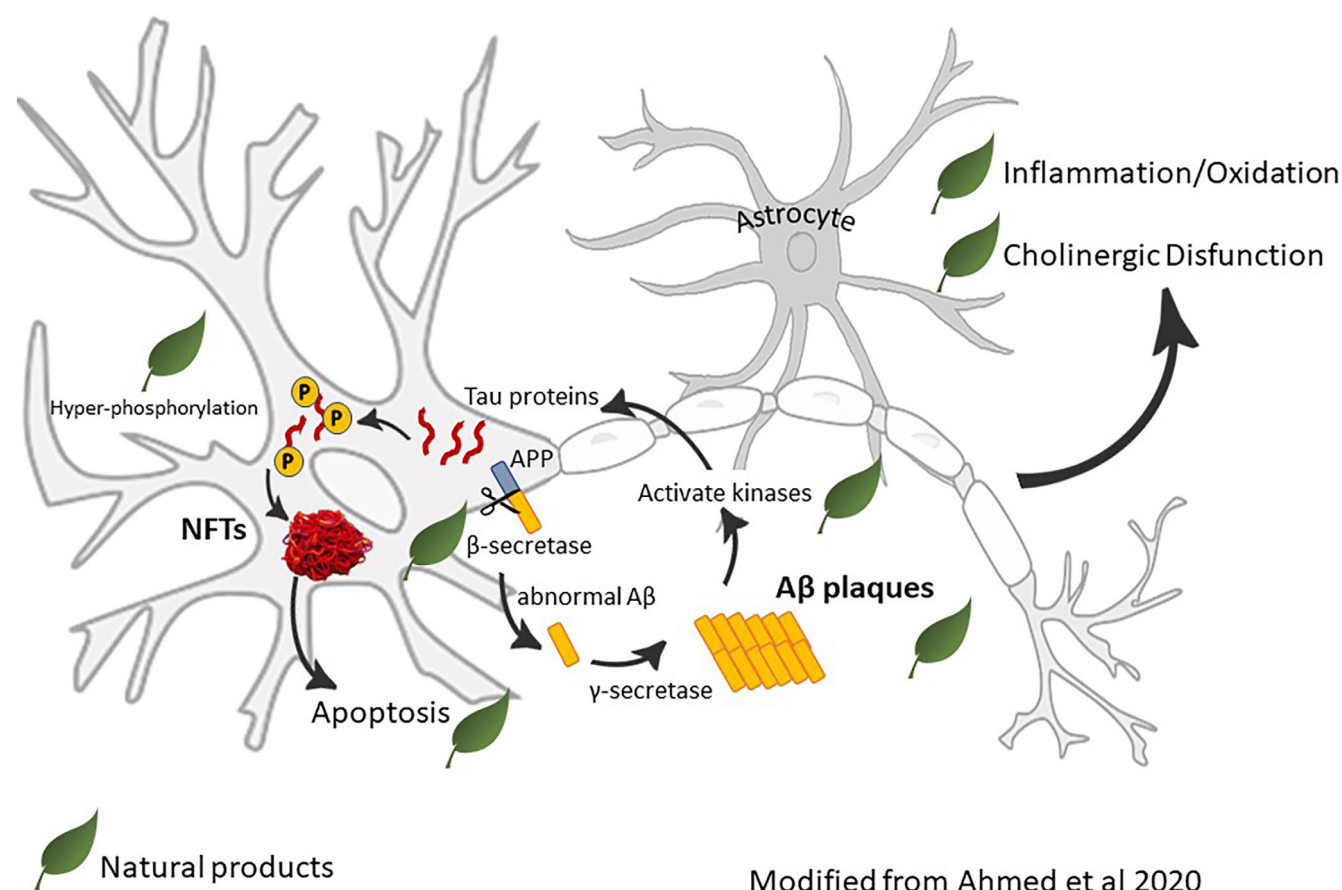
TABLE 8 Studies in vivo of medicinal plants for insomnia and neurodegenerative diseases

Species (common name)	Sample/extract	Bioactive substances	Activity/mechanism	Animal/dose: mg/kg Via	Criteria	References
<i>Citrus × aurantium</i> (neroli oil)	Essential oil	Monoterpene limonene, β -pinene, β -myrcene	Anxiolytic-like activity mediated by 5-HT _{1A} -receptors	Adult Swiss male mice 10 ml/kg p.o.	LDB procedure	Costa et al. (2013)
<i>Humulus lupulus</i> (hops)	Xanthohumol	Xanthohumol	Modulated the inflammation and apoptosis of aged brains	Male senescence-accelerated prone mice (SAMP8) 1 or 5 mg/kg day p.o.	RT-PCR and western blotting	Rancán et al. (2017)
<i>Melissa officinalis</i> (lemon balm)	Plant material diluted with physiological saline to obtain a final concentration of 10%.	Polyphenolics, such as rosmarinic acid, trimeric compounds, flavonoids, phenolic, and tocopherols	Protection for ischaemic damage. Inhibition of hypoxia-inducible factor 1- α (HIF-1 α) and oxidative stress	Male Sprague–Dawley rats/ 100 mg/kg p.o.	Caspase-3 activity assay, TUNEL	Bayat et al. (2012)
<i>Lavandula angustifolia</i> (lavender)	Lavender oil	Linalool, linalyl acetate, terphen-4-ol, lavandulyl acetate	Neuroprotective effects: Antioxidant and antiapoptotic activities	Male Wistar rats 200 μ l Inhalation	TTC staining, histopathology (H&E) staining, PCC, MDA formation, SOD, GPX, CAT, GSH, DNA fragmentation	Hancianu, Cioanca, Mihasan, and Hritcu (2013)
	Lavender oil		Neuroprotection: Inhibition of protein oxidation and lipid peroxidation	Mice/Kunming 50/100/200 mg/kg/ Reperfusion - i.l.	TTC staining, PCC, MDA and carbonyl formation, SOD, CAT, GSH/GSSG, GSH-Px	Wang et al. (2012)
<i>Passiflora edulis</i> (passionflower)	Flavonoid extract, chrysin	Chrysin (5,7 dihydroxy-flavone)	Chrysin may have anxiolytic properties	Sprague–Dawley rats. Each animal: DMSO 4%, 2 mg/kg chrysin, 1.5 mg/kg midazolam or 3 mg/kg flumazenil, and 2 mg/kg chrysin i.p.	EPM	Brown, Hurd, McCall, and Cerenuga (2007)
		Chrysin	Decreases epileptic seizures and alleviates the oxidative stress	Male adult Wistar rats 35 mg/kg of PTZ i.p. 5 and 10 μ g/mL p.o.	Nick-end labelling assay, histopathology, and reverse transcription-polymerase chain reaction for messenger RNA expression	Zhang et al. (2021)
<i>Withania somnifera</i> (ashwagandha)	Dry leaf powder	No cited	Anxiolytic, anti-inflammatory, and anti-apoptotic properties. Reduction and normalisation of GFAP, Iba1, PPAR γ , and inflammatory cytokines	Young adult female rats 1 mg/g p.o.	PPAR γ , iNOS, MCP-1, TNF α , IL-1 β , and IL-6	Kaur and Kaur (2017)

TABLE 9 Clinical trials of combination of medicinal plants for insomnia and neurodegenerative diseases

Species	Sample/extract	Dose/ time/ via/number of patients	Criteria	References
Valerian and hops	Ze 91,019 (valerian 500 mg) + hops extract Siccum (120 mg)	Randomised, double blind, placebo-Controlled, prospective clinical study 2 tablets / 28-d/p.o. N = 210	CGI, S3 + S4, SL-2	Koetter, Schrader, Käufeler, and Brattström (2007)
	Dormeslan: 25 drops contain: Hydroalcoholic extracts of valerian (460 mg) + hops (460 mg)	Randomised, double blind, placebo-controlled study 2 ml/2-nights/p.o. N = 42	SFx, 'sleep quantity', SF-A CIPS	Dimpfel and Suter (2008)
	One tablet contains 187 mg valerian/ 41.9 of hops native extracts	Randomised, multicentre, placebo-controlled, parallel-group study 2 tablets / 28-d / p.o. N = 210	CGI, ISI, PSG, SF-36	Morin, Koetter, Bastien, Ware, and Wooten (2005)

Abbreviations: CGI, clinical global impression; ISI, insomnia severity index; PSG, Polysomnography; SFx, Spectral Sleep Frequency Index; SF-A, sleep questionnaire; SL-2, sleep latency; S3 + S4, slow wave sleep; p.o., per os (orally); wk, week.

**FIGURE 1** Effects of natural products on Alzheimer's disease (Based on Ahmed et al., 2021)

anthocyanidins from blueberries with anti-apoptotic, neuroprotective and antioxidant properties; flavanones, methoxyflavones and coumarin from citrus juice with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective properties, similar to carotenoids from species containing especially crocin/crocetin, β -carotene, lutein and zeaxanthin. Other phytochemicals of interest for their activity include curcuminoids from

turmeric, especially curcumin (Figure 3) with antioxidant, anti-inflammatory neuroprotective and neuroregenerative properties; monoterpenes from several aromatic species, some of them belonging to the Lamiaceae family, with anti-inflammatory, antioxidant and neurotransmitter-regulating properties; rosmarinic acid from Lamiaceae species, which is antioxidant and neuroprotective; and

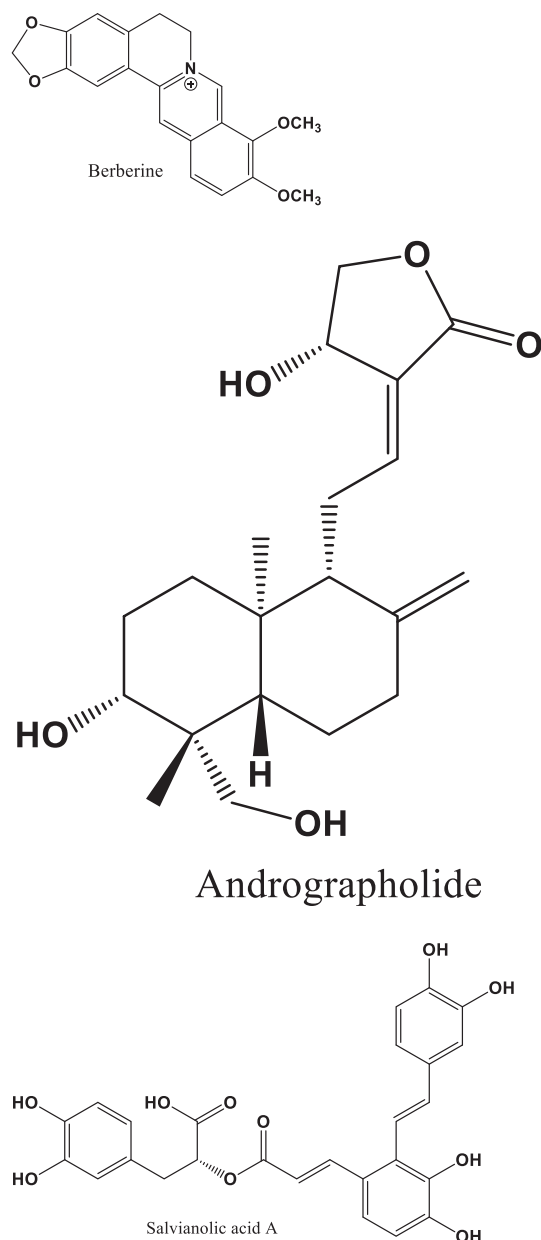


FIGURE 2 Active compounds of plants used in Alzheimer's disease

isoflavones from soya beans with estrogenic and antioxidant effects. Rice bran (*Oryza sativa*) may also be an interesting option against NDs as DLB for its antioxidant and anti-inflammatory properties (Table 5) (Behl et al., 2021).

3.3.3 | Mild cognitive impairment

Mild cognitive impairment (MCI) is characterised mainly by memory impairment beyond what is naturally expected for age and education, but it is not included in the dementia category. MCI is a disorder that can affect not only memory but also other cognitive areas, which means that this disease presents different clinical patterns related to

distinct aetiologies (neurodegenerative, vascular and metabolic disorders, psychiatric diseases, etc.). Pharmacological intervention is currently very limited (Brem & Sensi, 2018), thus, medicinal plants and their extracts may be an alternative to prevent or delay MCI and its transformation into other NDs like AD, whose early stage may be MCI. Although many authors still consider this disorder as the incipient phase of other age-related dementias, MCI is now classified as a distinct disease (Chandra et al., 2019; Petersen, 2016), and specific phytotherapeutic proposals have been made. Rai, Mishra, Singh, Vamanu, and Singh (2021) reported that the mushroom *Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Karst is neuroprotective, reduces neuronal degeneration, regulates neurotrophin ageing-related genes and protects against MCI. The substances present in the fruiting body of this mushroom include psilocybin, triterpenoids, nucleotides, sterols and steroids. Howes et al. (2020) mentioned that there is sufficient scientific evidence to conclude about the benefits of cocoa flavanols on cognitive functions in older people with MCI, but they caution that the conclusions of the consulted research works are heterogeneous. Quantitative and qualitative variations in cocoa flavanols may partly explain the contradictory results obtained about cocoa benefits for cognitive functions. In addition, cocoa, tea and coffee are sources of caffeine with known effects on the CNS. Caffeine (Figure 4) has been shown to play a role in long-term neuroprotection against neurotoxicity and in improving cerebral blood flow, but its ability to modulate cognitive functions cannot be confirmed because no clinical studies are available (Howes et al., 2020). This substance is an adenosine A_{2A} receptor antagonist that inhibits glutamate release by favouring neuroprotection, and it reduces A β . All these findings suggest that caffeine may act through different mechanisms to preserve or improve cognitive functions. Although no clinical trials are available, epidemiological evidence suggests that coffee or caffeine intake may preserve cognitive function with age, and some studies associate high serum caffeine levels with slower dementia progression in older people with MCI. Only a few human studies support saffron in its benefit for treating dementia. One clinical trial concluded that 1-year saffron supplementation improves cognitive function in MCI patients, but the study included only 35 participants, the trial design was unclear and it provided no details on the administered saffron supplementation (Tsolaki et al., 2016). Another study has evaluated saffron in combination with *G. biloba* and *P. ginseng*, a formula known as Sailuotong, which has already obtained positive results in vascular dementia. However, the clinical trial in MCI patients is yet incomplete. Based on the background, Howes et al. (2020) conclude that antioxidant-rich foods, such as walnuts, grapes and cherries, and supplementation with fatty acids, mainly n-3 polyunsaturated fatty acids, improve specific cognitive domains in MCI. Unfortunately, there are no conclusive data for other promising foods like turmeric, grapes (red wine) and coffee. Lau et al. (2020) published the results of the double-blind, randomised and placebo-controlled trial conducted to evaluate MCI treatment with *Persicaria minor* (Huds.) Opiz. The extract of this species was used (250 mg/day) for 6 months in older adults with MCI. After evaluating the study data, they reported an improvement in MCI symptoms such as visuospatial memory, tension, anger, confusion, total negative

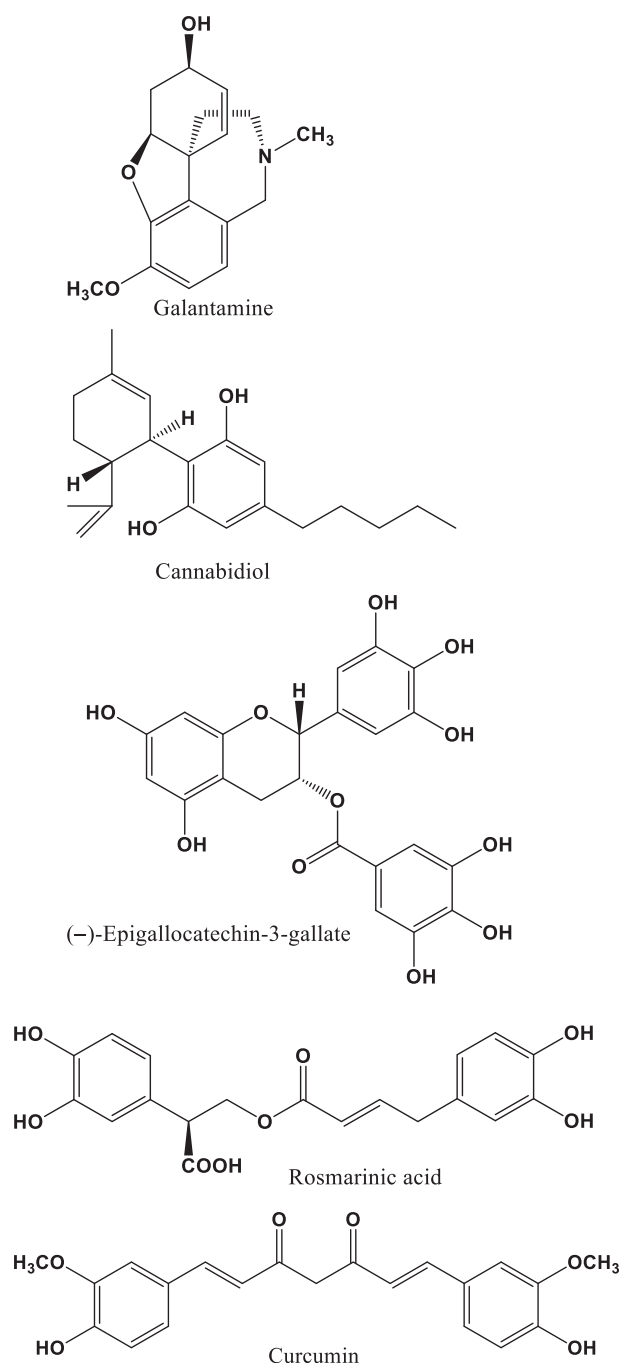


FIGURE 3 Chemical structure of natural products from neuroprotective plants used for Dementia with Lewy bodies

subscales and even triglycerides. However, the authors are self-critical of their small study sample size. They concluded that the results should be considered preliminary and a study with more participants is necessary.

3.4 | Insomnia and neurodegenerative diseases

Sleep disorders are frequently related to many NDs (Bah, Goodman, & Iliff, 2019), and there is clear evidence for an association between

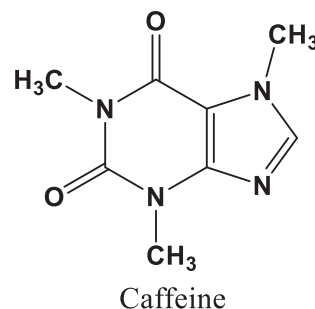


FIGURE 4 Structure of caffeine, a potentially useful substance for Mild Cognitive Impairment

sleep disorders and cognitive impairment. However, insomnia is also associated with an increased risk of dementia in older adults (Almondes, Costa, Malloy-Diniz, & Diniz, 2016; Shi et al., 2018). In addition, prospective studies identify female gender, depressed mood and physical illness as general risk factors for future sleep disturbances, but no specific physiological pathways have yet been established (Smagula, Stone, Fabio, & Cauley, 2016).

Common sleep disorders include insomnia, hypersomnia, sleep apnea, restless legs syndrome, circadian rhythm disorders, rapid eye movement and sleep behaviour disorder NDs (Chan, Lee, Hong, Hu, & Wu, 2018; Malhotra, 2018). These disorders can be the consequence of NDs and act as primary symptoms or may be generated by alterations in sleep-controlling centres in the brain by modifying the cellular clearance of misfolded neurotoxin proteins like Lewy bodies, α -synuclein, amyloid- β and tau, which are involved in different NDs (Bishir et al., 2020; Chan et al., 2018; Malhotra, 2018). There is evidence that sleep deficiency in AD and PD affects circadian physiology and negatively impacts the brain and behavioural functions (Lim, Gerstner, & Holtzman, 2014; Zhong, Naismith, Rogers, & Lewis, 2011). This process occurs in the dorsomedial hypothalamic nucleus, which transmits an excitatory glutamatergic projection to the wake-promoting neurons of the ascending arousal system, and inhibits gamma-aminobutyric acid (GABA) projection to the sleep-promoting neurons of the ventrolateral pre-optic nucleus (Zhong et al., 2011).

The pharmacological treatments for these events are the same as those used for treating primary sleep disorders but need to be paid special attention because they can cause or increase sedation and falls in demented and older people. Other therapies, such as melatonin or bright light therapy, can serve as a possible treatment for sleep disorders in these people (Deschenes & McCurry, 2009; Ooms & Ju, 2016). Complementary medicine may also be a good way to treat insomnia (Sarris & Byrne, 2011), and the principal phytochemicals used for treating sleep disorders are lemon balm, neroli oil, lavender, valerian, hops and passionflower. Other medicinal plants, such as goldshower (*Galphimia glauca*), have been employed for the same purposes, but no relevant clinical trials with patients suffering NDs have been performed (Herrera-Arellano et al., 2007; Herrera-Arellano et al., 2012).

Therefore, in the NDs context, it is interesting to indicate phytotherapeutic alternatives for important symptoms in such diseases,

such as insomnia and anxiety. Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) is a widely used sedative-hypnotic that strengthens memory and relieves stress-induced headaches, among others (Moradkhani, Sargsyan, Bibak, Naseri, & Sadat-Hosseini, 2010). Haybar et al. (2018) conducted a clinical trial with patients suffering from cardiovascular diseases with high levels of depression, anxiety, stress and insomnia. The results were evaluated before and after treatment and the levels of depression, anxiety and stress, and total sleep disturbance, of the patients treated with lemon balm were lower than for the placebo group (Table 6). Besides, lemon balm can be used as protection in ischemia mediated by the inhibition of hypoxia-inducible factor 1- α (HIF-1 α) and oxidative stress (Table 7) (Bayat et al., 2012).

Neroli oil (*Citrus $\times$ aurantium* L.) is employed as a sedative to treat anxiety (Borrás, Martínez-Solís, & Ríos, 2021). Different properties have been proposed for neroli oil (Dosoky & Setzer, 2018). Indeed, there are reports of it acting as an effective agent for reducing anxiety before colonoscopy and in postmenopausal women (Table 6) (Abbaspoor et al., 2022; Hu et al., 2010). Arabfirouzjaei et al. (2019) reported a clinical trial applied to elderly patients with heart failure. Sleep quality was assessed before and after intervention and it was observed that enhanced the sleep quality (Table 6). These effects occur through the regulation of serotonergic receptors (5-HT_{1A}) (Table 8) (Costa et al., 2013) whereas antioxidant effects are implicated in neuroprotection (Ammar et al., 2012; Stohs, 2017).

Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) is helpful for treating insomnia and anxiety (Table 6) (Kasper et al., 2010). Dos Reis Lucena et al. (2021) carried out a clinical trial in that patients inhaled a lavender essential oil. It observed an improvement in lavender-treated patients: wake after sleep onset, sleep pattern, sleep quality and sleep efficiency (Table 6). In a meta-analysis, Von Känel et al. (2021) investigated the therapeutic effects of Silexan (80 mg) on the somatic symptoms, insomnia/fatigue and physical health of patients with anxiety disorders. Their results confirmed that Silexan may be used for anxiety and for enhancing somatic symptoms, including pain and insomnia. Lavender is also cited as a neuroprotective agent (Koulivand, Khaleghi Ghadiri, & Gorji, 2013). Hancianu et al. (2013) described that these effects are due to the antioxidant and antiapoptotic activities of lavender (Table 2). Another study suggests that lavender oil neuroprotection can be generated by the inhibition of protein oxidation and lipid peroxidation (Table 8) (Wang et al., 2012).

Passionflower (*Passiflora edulis* Sims) is used to treat anxiety and insomnia (Miroddi, Calapai, Navarra, Minciullo, & Gangemi, 2013). Ngan and Conduit (2011) indicated that a low dose of passionflower yields short-term subjective sleep benefits for healthy subjects with mild fluctuations in sleep quality (Table 6). Another clinical trial demonstrates the positive effects of passionflower on objective sleep parameters in adult patients with insomnia disorder using a total sleep time by polysomnography (Table 6) (Lee et al., 2020). A systematic review by Janda, Wojtkowska, Jakubczyk, Antoniewicz, and Skonieczna-Żydecka (2020) includes nine clinical trials and reports the lowering of anxiety levels in patients treated with passionflower preparations, with less evident effects in people with mild anxiety

symptoms. These findings demonstrate its capacity to reduce symptoms of neuropsychiatric origin with no adverse effects. The anti-anxiety effect of passionflower is comparable to standard benzodiazepines, and its use can be safe and effective in diminishing stress reactivity, anxiety and depression-like behaviours and, consequently, to treat insomnia. The different compounds present in passionflower have been implicated in its sedative effects. For example, preclinical experiments demonstrate that flavonoid chrysin (Figure 5) has similar anxiolytic properties to midazolam, an effect that is due to the modulation of GABA receptor activity (Table 8) (Brown et al., 2007). Recently, Zhang et al. (2021) studied the effects of chrysin nanoparticles on oxidative stress, neuronal apoptosis and nuclear factor erythroid (Nrf2) (Table 8). These authors report that the flavonoid can counteract oxidative stress, reduce neuronal apoptosis and up-regulate Nrf2. All this can account for the role of this flavonoid in the pharmacological passionflower profile. Alkaloids harmine and harmaline (Figure 5) may be partly responsible for passionflower anxiolytic and sedative properties (Al-Mamoori, Al-windy, Al-kuraishy, & Al-Gareeb, 2019).

Valerian (*V. officinalis*) is widely used as a sedative, hypnotic and anticonvulsant (Plushner, 2000). Ziegler et al. (2002) studied the hypnotic effect of valerian showing a similar effect when patients received valerian or oxazepam (Table 6). Stevinson and Ernst (2000) carried out a meta-analysis with nine clinical trials to determine the

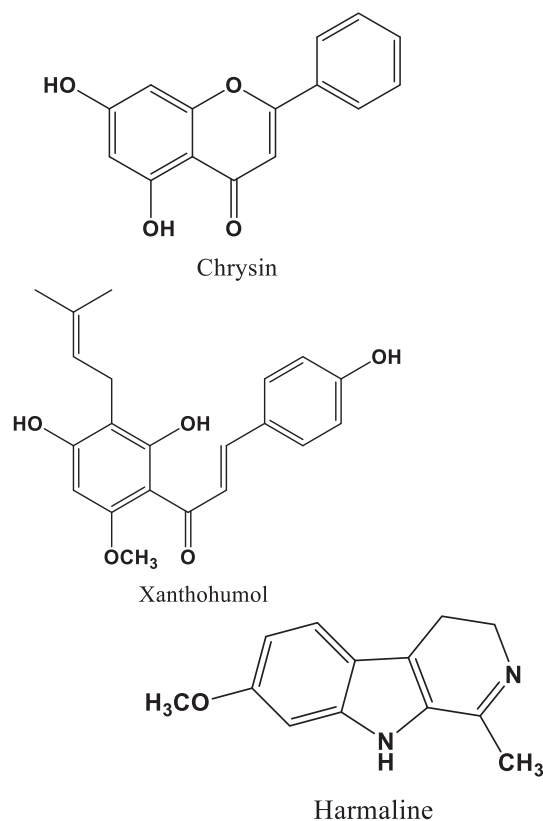


FIGURE 5 Active plant compounds for insomnia in neurodegenerative dementias

beneficial effects of valerian on patients with insomnia. Clear sedative effects and significant differences appear between the methodologies of the evaluated clinical trials. Fernández-San Martín et al. (2010) performed three meta-analyses and the outcomes indicate that valerian enhances sleep quality with the dichotomous variable. However, valerian does not improve the latency time in sleep quality according to visual analogical scales. On the valerian properties in neuroprotection, Malva et al. (2004) suggested them being due to its long-term effects against amyloid- β toxicity and possibly preventing neuronal degeneration in ageing or NDs.

Hops (*Humulus lupulus* L.) have been used for anxiety and mood disorders (Borrás et al., 2021). In a clinical trial, Kyrrou et al. (2017) report enhanced symptoms in patients with anxiety, stress and depression, and reduced insomnia associated with these effects (Table 3). Hops contain chalcone xanthohumol (Figure 5), which is cited as being responsible for different plant properties (Vazquez-Cervantes et al., 2021). For example, in a preclinical trial, Rancán et al., 2017 demonstrated that xanthohumol exerted a protective effect on damage induced by ageing and by reducing insomnia.

Ashwagandha (*Withania somnifera* [L.] Dunal) is a traditional herb used in Ayurvedic medicine. It has been used to treat neuropsychiatric effects, particularly stress, anxiety, depression, and insomnia. This species spreads widely due to an adaptogen (Speers, Cabey, Soumyanath, & Wright, 2021). Langade et al. (2021) designed a clinical trial and showed an improvement in sleep quality in healthy subjects and in patients with insomnia (Table 6). Deshpande et al. (2020) demonstrated the enhancement of sleep quality in healthy patients (Table 6). Ashwagandha is also used for neurodegenerative diseases (Dar & Ahmad, 2020). Withanolide-A can induce neuroprotective effects against glutamate-induced excitotoxicity by mitigating neuronal dysfunction and oxidative stress through PI3K and Akt-dependent mechanisms (Table 7) (Dar et al., 2018). In a preclinical trial, Kaur and Kaur (2017) showed the anxiolytic and anti-neuroinflammatory potential in diet-induced obesity (Table 8).

The principal combination of interest for treating insomnia is valerian/hops. Koetter et al. (2007) studied the efficacy of an extract composed of valerian/hops in patients with non-organic insomnia (Table 9). The outcomes show that the valerian/hops mixture is more effective than valerian alone. Nevertheless, no differences appear between the valerian and placebo groups. In another study, Dimpfel and Suter (2008) observed an enhancement in the patients who took a single valerian/hops fluid extract administration (Table 9). Morin et al. (2005) investigated the hypnotic effect of valerian/hops versus an antihistamine drug. The outcomes confirm that the valerian/hops mixture can be used to treat mild insomnia (Table 9).

After reviewing the limited clinical trials conducted with sedative and hypnotic species, these medicinal plants can be used to treat sleep disorders. They may also have neuroprotective effects on different NDs given their antioxidant and anti-inflammatory properties, as several studies demonstrate. Although very few clinical trials have confirmed the sedative properties of these plants, numerous preclinical trials back their potential use (Grundmann, Wang, McGregor, & Butterweck, 2008; Hattesoehl et al., 2008).

4 | DISCUSSION AND THERAPEUTIC PROPOSALS: RESEARCH PERSPECTIVES AND IMPROVEMENTS

In a normal population, some cognitive functions decline upon ageing with a certain degree of forgetfulness, and the diminished ability to concentrate and solve problems, which are not considered pathological. Biomarkers of the normal brain ageing process have not been extensively investigated, but oxidative stress, mitochondrial dysfunction, apoptosis and telomeric DNA depletion are implicated (Van Ginneken, 2017), as are increased white matter lesions, A β plaques, NFTs and tau pathology, Lewy bodies, α -synucleinopathy, decreased neurotransmitter systems, including cholinergic ones, vascular lesions and cortex shrinkage, especially the hippocampus. All these changes increase in NDs (Howes et al., 2020), and each is associated with specific disorders. No curative treatment for NDs exists. Treatment is specific and personalised according to dementia type, disease stage, and the characteristics of both patient and drug. For AD, MCI and PD, treatments are often established on several fronts, with drugs that improve cholinergic function and reduce oxidative stress; anti-parkinsonian and anti-dementia drugs are also used, and sometimes a miscellany of natural substances (Martin, 2008). Information is available from clinical and preclinical studies, especially the latter, on the potential of medicinal plants and their phytochemicals in the therapy of dementias, including NDs. However, we must comment that, despite this information, we cannot be sure that in all cases the improvement in cognition achieved in the elderly population with dementia is substantially greater than that achieved by the drugs currently used. It should also be noted that one of the points of agreement in clinical and observational trials and in many pre-clinical studies is the need for further research to confirm the effects of plants and phytochemicals, to obtain an effective and safe treatment regimen. What we can say, however, is that medicinal plants and their isolated active principles show promise in the treatment of NDs, especially given the limited pharmacological arsenal, the chronic nature of the treatments and the need for personalised treatments for optimal results.

Folk medicine is a source of knowledge about the use of plants to treat dementia. In traditional European medicine (Perry & Howes Jr, 2011), the most frequently used plants include *M. officinalis* and several *Salvia* species, as resources to treat memory problems in particular. Some clinical studies support the traditional use and preclinical studies explain the activity of plants. Except for one species, *Vinca minor* L., whose activity relates more to cerebral blood flow, others contain several substances that act not only as AChE but also as anti-oxidants through mechanisms that are not always known. In all cases, the effect noted in clinical trials is improved cognition maintenance at several levels, especially memory. In traditional Chinese medicine (Perry & Howes Jr, 2011), the species used and scientifically proven to ameliorate the deterioration associated with ageing include *G. biloba* and *P. ginseng*. These plants have several active principles capable of acting via very different mechanisms on oxidative stress: AChE, A β and its toxicity, the protein profile and so forth. In clinical

trials, improvement in disease appears in all cases, although these studies are neither definitive nor comparable given their different designs, numbers of patients and so forth. Of all these active ingredients, we highlight two authorised drugs to treat the cognitive symptoms of dementia: galantamine and rivastigmine. This supports the interest shown in, and the need for, further research in the plant-derived substances field to treat NDs. Ayurvedic medicine also cites some botanical species used against dementia. They include *W. somnifera*, *C. longa*, *B. monnieri* and *Centella asiatica* (L.) Urb., which reduces brain ageing, induces anti-oxidative stress and memory-enhancing effects and helps to regenerate neural tissue. They also induce anti-inflammatory, anti-amyloidogenic nutritional and immune-supporting effects on humans. The extracts or some of the active ingredients from cited species are interesting as adjuvants for treating some NDs, for example, AD (Farooqui, Farooqui, Madan, Ong, & Ong, 2018). According to Wong et al. (2021), there is ample evidence for the potential role of *C. asiatica* in treating brain ageing, PD and AD. These authors provide evidence for activity on mitochondrial dysfunction and an anti-neuroinflammatory effect but provide neither detailed information about the chemical profile of extracts or plants nor the mechanisms of action of active principles. These data are necessary to understand and manage pharmacological activity for possible treatment. Nevertheless, *C. asiatica* is still a promising alternative for NDs. Thai medicinal plants include some that are cited as possessing activity against glutamate degeneration and related toxicity (Prasansuklab et al., 2020), which might prove beneficial for many NDs. However, chemical tests and in-depth studies on their active principles and mechanisms of action are lacking. Although the information derives from traditional medicine is incomplete and more research is necessary, we note that all the species (and substances) recommended in different folk medicines are the same as those we find in the clinical and preclinical background on phytotherapy with applications in different NDs. Once again, the richness of ethnobotany, ethnopharmacology and ethnomedicine is evidenced. These should be the starting point to search for active molecules to treat diseases when a poor pharmacological arsenal is available.

The problem with many phytochemicals, as with other types of substances, is that they do not always easily pass through the human BBB and are, therefore, not effective in patients, even if they come over in preclinical studies as promising candidates. Ovais et al. (2018) present encouraging work on future opportunities to treat NDs, mainly AD, based on the combined use of natural substances and nanoparticles. These authors report an exhaustive review of potential anti-AD substances, which coincides with those highlighted in our review and can be useful for treating several NDs with a similar aetiology. They mention the withanolides and withanamides from *W. somnifera* and how they effectively inhibit the BACE1 and AChE. They also include curcumin from *C. longa* because it binds to the active motif of A β , protects neuronal cells from A β -induced cell damage, prevents fibril formation, effectively inhibits the formation of A β oligomers and fibrils in the brain, and reduces some astrocytic markers and plaque burden. Asiaticosides from *C. asiatica* also inhibit the A β level in the brain. Other substances from several plants that also act

on A β and its toxic effects include crocin from *C. sativus*, bacosides and reserpine from *B. monnieri*, and *S*-allylcysteine from *Allium sativum* L. Another constant of the plant drugs cited by these authors is their effect on the cholinergic system, such as ginsenosides from *P. ginseng* and the previously cited bacosides and reserpine. Activity on protein and enzyme profiles is also highlighted through either direct or indirect effects. The substances with this activity include catechins, ginsenosides and caffeine, among others. These authors also highlight effects on neuroinflammation, especially of glycyrrhizin, and neuronal maintenance and even regeneration, especially of bilobalides and ginkgolides. All these substances, their effects and properties, are the same as those that appear in the current literature. All the substances that are presented as plausible alternatives to treat NDs must have adequate pharmacokinetic properties to reach their target site, namely the brain. However, their pharmacokinetic characteristics do not always allow them easy access to the brain, and so, they do not show expected activity in clinical studies, whose results are heterogeneous and inconclusive. To avoid pharmacokinetic problems, employing nanoparticles can be very useful for administering the four essential types of phytochemicals for NDs: substances that modulate neurotransmitters; anti-protein aggregates; oxidative stress reducers; inhibitors of neuroinflammation. Based on the results of the experiments in Ovais et al. (2018), this system seems effective in crossing the BBB and gaining access to the brain, where active principles must exert their action. However, we note that further preclinical and clinical research is necessary for this area. Perhaps an alternative to nanotechnology would be to redesign phytochemicals to improve their pharmacokinetic properties (pharmacomodulation) and to check that they have not lost their pharmacological activity. On the other hand, it would also be interesting to investigate the use of extracts instead of isolated active ingredients because the non-active compounds that accompany active ingredients can sometimes act as adjuvants to improve their bioavailability.

Despite pharmacokinetic problems with some phytochemicals, and as chemical profiles of the extracts of many botanical species, knowledge about specific mechanisms of action and, above all, clinical trials supporting the use of phytochemicals and/or plant extracts are lacking, we wish to put forward a proposal that can be the basis for future research. We consider that employing medicinal plants and their phytochemicals could follow a strategy, which should be based on the characteristics of each disease and its evolution, the properties and mechanisms of plant extracts or phytochemicals, and the characteristics of phytochemicals and existing data from clinical trials. To develop our proposal, Table 10 summarises the actions of the medicinal plants tested in each reviewed ND. Protein abnormalities in NDs occur and lead to the formation of intra- or extra-neuronal aggregates. These aggregates differ in each disease, but are favoured by oxidative stress in all cases, and lead to neuroinflammation and apoptosis in many cases. Using plants or their phytochemicals with antioxidant properties can reduce or delay the formation of aggregates, neuroinflammation and apoptosis. This is particularly interesting in the early stages of AD and MCI, and of dementias characterised by the presence of Lewy bodies, such as DLB and PD. HD differs in aggregate

TABLE 10 Medicinal plants with properties on neurodegenerative dementia disorders and associated anxiety, depression and sleep disturbances

Disturbances	Alzheimer's disease	Parkinson's disease	Huntington's disease	Dementia with Lewy bodies	Mild cognitive impairment	Dementia-associated depression/anxiety/sleep disturbance
Aggregates and/or their effects	A. paniculata B. bonniieri C. longa G. biloba H. erinaceus L. origanoides P. ginseng S. Miltiorrhiza S. officinalis W. somnifera			Vaccinium sp pl		V. officinalis
Neuroinflammation	A. paniculata B. monnieri C. sativus C. longa J. regia N. sativa P. harmala V. faba	B. monnieri C. sativus C. longa J. regia N. sativa P. harmala V. faba	C. officinalis	O. sativa		H. lupulus
Apoptosis dysregulation			P. ginseng		G. lucidum	H. lupulus L. angustifolia P. edulis
Oxidative stress Mitochondrial dysfunction	B. bonniieri C. asiatica C. sativus C. longa G. biloba H. erinaceus J. regia L. origanoides N. sativa O. majorana P. ginseng P. harmala S. officinalis V. faba V. vinifera W. somnifera	B. monnieri C. sativus C. longa J. regia N. sativa P. harmala V. faba	A. asphodeloides C. officinalis C. paniculatus C. asiatica C. Pluricaulis F. religiosa L. divaricata P. quinquefolius P. dactylifera C. Corylifolium P. granatum W. somnifera Z. officinale	C. sinensis Citrus sp pl C. arabica C. sativus O. sativa T. cacao V. vinifera Vaccinium sp pl	C. sativus J. regia T. cacao V. vinifera	C. aurantium L. angustifolia M. officinalis P. edulis
Disturbances of GABAergic system			P. quinquefolius			P. edulis
Disturbances of MAO		B. monnieri C. longa				

TABLE 10 (Continued)

Disturbances	Alzheimer's disease	Parkinson's disease	Huntington's disease	Dementia with Lewy bodies	Mild cognitive impairment	Dementia-associated depression/anxiety/sleep disturbance
Synapsis disturbances	A. sativum A. annua G. glabra H. erinaceus L. pubescens L. origanoides P. ginseng P. Khinjuk S. officinalis Thymus sp	C. sativus J. regia N. sativa P. harmala V. faba	L. divaricata Z. officinale			
	G. biloba M. pruriens	C. officinalis C. Pluricaulis F. religiosa P. quinquefolius W. somnifera Z. officinale				
Disturbances of dopaminergic system, movements						
Disturbances of glutaminergic system, memory and learning					P. minor	
Decrease in serotonin						C. aurantium
Disturbance of estrogenic protection						

formation terms because the huntingtin protein is difficult to modulate as its origin lies in a genetic mutation, and not in the cellular ageing effect. However, antioxidants can counteract the effect of the aggregates of this protein. The species with antioxidant, anti-neuroinflammatory and anti-aggregate properties, and backed by sufficient data to support their efficacy and safety, include *W. somnifera*, *B. monnieri*, *C. longa*, *G. biloba*, *C. sativus*, *C. asiatica*, *V. vinifera* and *P. ginseng*. In more advanced dementia stages, neuronal connections fail as synapses become less effective. Hence employing plants with AChE inhibitory activity, such as *P. ginseng* and *Zingiber officinale* Roscoe, may be interesting, especially in AD. Other species are also effective in modulating different neurotransmitters. Then, *G. biloba*, *Panax quinquefolius* L., *W. somnifera* and *Z. officinale* act on the dopaminergic system by affecting movement and, therefore, have been investigated in PD and HD. *P. quinquefolius* is a good option for glutaminergic system disturbances affecting memory and learning, and it could be explored for MCI. *C. aurantium* acts against serotonin depletion observed in some NDs; in addition, this species stands out in the treatment of insomnia and anxiety related to NDs, as well as *V. officinalis*, *H. lupulus* and *P. edulis*, due to the multiple effects that also improve other symptoms of the disease.

The main conclusions that can be drawn from the present work are, firstly, the importance of ethnopharmacological knowledge as a first source of information for research into future treatments for NDs; secondly, the therapeutic potential of plant species already investigated; and thirdly, the need to conduct clinical trials with homogeneous and compatible designs, as well as with sufficiently large population samples. In any case, once again, the importance of information derived from ethnopharmacological research and Traditional Medicine is highlighted. This information is necessary to open up new research lines in order to confirm the medicinal properties of plants and to search for active plant molecules. This is particularly interesting in the case of NDs, as there is currently no broad therapeutic arsenal available to meet the specific needs of each dementia and each patient.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors have been involved in the design of the study and the systematic background investigation procedure. Nuria Acero reviewed the state of the art and wrote the introduction, marking the beginning of the article. Teresa Ortega and Victoria Villagrasa have developed the part on Alzheimer's disease and research in the phytotherapy field. Gemma León and Dolores Muñoz-Mingarro have developed the part on Parkinson's disease and natural products' and medicinal plants' alternatives. Encarna Castillo and M. Eugenia González-Rosende have taken care of the review of the potential of medicinal plants in Huntington's disease, also the references section as well as the bibliographic citations throughout the document. José Luis Ríos and Silvia Borrás have investigated the background of insomnia and anxiety linked to neurodegenerative dementias and the use of medicinal plants. Francisco Bosch-Morell and Isabel Martínez-Solis reviewed the scientific background of medicinal plants and their phytochemicals in the case of Dementia with Lewy bodies and Mild Cognitive Impairment. They have also coordinated the work in order to obtain a

harmonious and unified manuscript based on the contributions of the authors. They have also prepared the discussion, reflecting on the available information. The manuscript has been revised and corrected by all the authors and includes their suggestions.

FUNDING INFORMATION

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial or not-for-profit sectors.

CONFLICT OF INTEREST

The authors affirm that there is no conflict of interest whatsoever with the publication of the manuscript or an institution or product.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

No data has been generated. All information used is from the articles cited in the references section.

ORCID

Isabel Martínez-Solis  <https://orcid.org/0000-0001-8913-6198>

REFERENCES

- Abbaspoor, Z., Siahposh, A., Javadifar, N., Faal Siahkal, S., Mohaghegh, Z., & Sharifipour, F. (2022). The effect of *citrus Aurantium* aroma on the sleep quality in postmenopausal women: A randomized controlled trial. *International Journal of Community Based Nursing & Midwifery*, 10, 86–95.
- Abd Rashed, A., Abd Rahman, A. Z., & Rathi, D. N. G. (2021). Essential oils as a potential neuroprotective remedy for age-related neurodegenerative diseases: A review. *Molecules*, 26(4), 1107. <https://doi.org/10.3390/molecules26041107>
- Abdel-Salam, O. M. E., & Heman, R. (2018). Capsicum protects against rotenone-induced toxicity in mice brain via reduced oxidative stress and 5-lipoxygenase activation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology Research*, 2(3), 60–77. <https://doi.org/10.26502/jppr.0011>
- Abdel-Sattar, E., Mahrous, E. A., Thabet, M. M., DMY, E., Youssef, A. M., Elhawary, R., ... Mekky, R. H. (2021). Methanolic extracts of a selected Egyptian *Vicia faba* cultivar mitigate the oxidative/inflammatory burden and afford neuroprotection in a mouse model of Parkinson's disease. *Inflammopharmacology*, 29(1), 221–235. <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00768-6> [Published correction appears in *Inflammopharmacology* 2022, 30(2): 683].
- Abu-lzneid, T., Rauf, A., Khalil, A. A., Olatunde, A., Khalid, A., Alhumaydhi, F. A., ... Rengasamy, K. R. R. (2020). Nutritional and health beneficial properties of saffron (*Crocus sativus* L.): A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 17, 1–24. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1857682>
- Adebayo, O. G., Aduema, W., Emmanuel, M. U., Ben-Azu, B., Orji, B. O., Akpakpan, E., ... Ajayi, A. M. (2022). The anti-Parkinson potential of *Ginkgo biloba*-supplement mitigates cortico-cerebellar degeneration and neuropathobiological alterations via inflammatory and apoptotic mediators in mice. *Neurochemical Research*, 47(8), 2211–2229. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03600-5>
- Agatonovic-Kustrin, S., Kustrin, E., & Morton, D. W. (2019). Essential oils and functional herbs for healthy aging. *Neural Regeneration Research*, 14(3), 441–445. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.245467>
- Ahmad, H., Khan, I., & Wahid, A. (2012). Antiglycation and antioxidation properties of *Juglans regia* and *Calendula officinalis*: Possible role in reducing diabetic complications and slowing down ageing. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 32(3), 411–414. [https://doi.org/10.1016/s0254-6272\(13\)60047-3](https://doi.org/10.1016/s0254-6272(13)60047-3)

- Ahmed, S., Khan, S. T., Zargaham, M. K., Khan, A. U., Khan, S., Hussain, A., ... Al-Harrasi, A. (2021). Potential therapeutic natural products against Alzheimer's disease with reference of acetylcholinesterase. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111609. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111609>
- Akhondzadeh, S., Noroozian, M., Mohammadi, M., Ohadinia, S., Jamshidi, A. H., & Khani, M. (2003). *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: A double blind, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 28(1), 53–59. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2710.2003.00463>
- Aldosary, S. K., El-Rahman, S. N. A., Al-Jameel, S. S., & Alromihi, N. M. (2021). Antioxidant and antimicrobial activities of *Thymus vulgaris* essential oil contained and synthesis thymus (vulgaris) silver nanoparticles. *Brazilian Journal of Biology*, 83, e244675. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.244675>
- Ali, S. K., Hamed, A. R., Soltan, M. M., Hegazy, U. M., Elgorashi, E. E., El-Garf, I. A., & Hussein, A. A. (2013). *In-vitro* evaluation of selected Egyptian traditional herbal medicines for treatment of Alzheimer disease. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 121. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-121>
- Almondes, K. M., Costa, M. V., Malloy-Diniz, L. F., & Diniz, B. S. (2016). Insomnia and risk of dementia in older adults: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychiatric Research*, 77, 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.02.021>
- Al-Mamoori, F., Al-Windy, S., Al-kuraishy, H. M., & Al-Gareeb, A. (2019). Beneficial neuro pharmacological effect of passion flower (*Passiflora incarnata* L.). *The Journal of Neuroscience*, 1, 22–26.
- Al-Sabahi, B. N., Fatope, M. O., Essa, M. M., Subash, S., Al-Busafi, S. N., Al-Kusaibi, F. S., & Manivasagam, T. (2017). Pomegranate seed oil: Effect on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in PC12 cells and elucidation of unsaturated fatty. *Nutritional Neuroscience*, 20, 40–48. <https://doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000155>
- Ammar, A. H., Lebrihi, A., Mathieu, F., Romdhane, M., & Zagrouba, F. (2012). Chemical composition and *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus aurantium* L. flowers essential oil (neroli oil). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(21), 1034–1040. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.1034.1040>
- Amro, M. S., Teoh, S. L., Norzana, A. G., & Srijit, D. (2018). The potential role of herbal products in the treatment of Parkinson's disease. *Clinical Therapeutics*, 169(1), e23–e33. <https://doi.org/10.7417/T.2018.2050>
- Antala, B. V., Patel, M. S., Bhuva, S. V., Gupta, S., Rabadiya, S., & Lahkar, M. (2012). Protective effect of methanolic extract of *Garcinia indica* fruits in 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. *Indian Journal of Pharmacology*, 44(6), 683–687. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.103242>
- Antara Banerjee, M. S., Pavane, M. S., Banu, L. H., Gopikar, A. S. R., Elizabeth, K. R., & Pathak, S. (2021). Chapter 20 - traditional medicine for aging-related disorders: Implications for drug discovery. In S. Pathak & A. Banerjee (Eds.), *Stem cells and aging* (Vol. 2021, pp. 281–297). Cambridge, MA: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820071-1.00004-9>
- Hosamani, R., Krishna, G., & Muralidhara. (2016). Standardized *Bacopa monnieri* extract ameliorates acute paraquat-induced oxidative stress, and neurotoxicity in prepubertal mice brain. *Nutritional Neuroscience*, 19(10), 434–446. <https://doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000149>
- Arabfirouzjaei, Z., Ilali, E., Taraghi, Z., Mohammadpour, R. A., Amin, K., & Habibi, E. (2019). The effect of *Citrus aurantium* aroma on sleep quality in the elderly with heart failure. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 21, 181–187.
- Ardid-Ruiz, A., Harazin, A., Barna, L., Walter, F. R., Bladé, C., Suárez, M., ... Aragonés, G. (2020). The effects of *Vitis vinifera* L. phenolic compounds on a blood-brain barrier culture model: Expression of leptin receptors and protection against cytokine-induced damage. *Journal of Ethnopharmacology*, 247, 112253. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112253>
- Armstrong, M. J., & Okun, M. S. (2020). Diagnosis and treatment of Parkinson disease: A review. *JAMA*, 323(6), 548–560. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.22360>
- Astray, G., Gullón, P., Gullón, B., Munekata, P. E. S., & Lorenzo, J. M. (2020). *Humulus lupulus* L. as a natural source of functional biomolecules. *Applied Sciences*, 10, 5074. <https://doi.org/10.3390/app10155074>
- Bah, T. M., Goodman, J., & Iliff, J. J. (2019). Sleep as a therapeutic target in the aging brain. *Neurotherapeutics*, 16(3), 554–568. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00769-6>
- Bakhtiyari, E., Ahmadian-Attari, M. M., Salehi, P., Khallaghi, B., Dargahi, L., Mohamed, Z., ... Ahmadiani, A. (2017). Non-polyphenolic compounds of a specific kind of dried grape (Maviz) inhibit memory impairments induced by beta-amyloid peptide. *Nutritional Neuroscience*, 20, 469–477. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2016.1183986>
- Bayat, M., Azami Tameh, A., Hossein Ghahremani, M., Akbari, M., Mehr, S. E., Khanavi, M., & Hassanzadeh, G. (2012). Neuroprotective properties of *Melissa officinalis* after hypoxic-ischemic injury both *in vitro* and *in vivo*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 42. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-42>
- Behl, T., Kumar, S., Sehgal, A., Singh, S., Kumari, S., Brisc, M. C., ... Bungau, S. (2021). Rice bran, an off-shoot to newer therapeutics in neurological disorders. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 140, 111796. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111796>
- Bhangale, J. O., Acharya, N. S., & Acharya, S. R. (2015). Neuroprotective effect of pet ether extract of *Ficus religiosa* (L.) leaves in 3-nitropropionic acid induced Huntington. *International Journal of PharmTech Research*, 8(10), 57–69.
- Bhangale, J. O., Acharya, N. S., & Acharya, S. R. (2016). Protective effect of *Ficus religiosa* (L.) against 3-nitropropionic acid induced Huntington disease. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 16, 165–174. <https://doi.org/10.1007/s13596-016-0237-7>
- Bishir, M., Bhat, A., Essa, M. M., Ekpo, O., Ihunwo, A. O., Veeraraghavan, V. P., ... Ojcius, D. M. (2020). Sleep deprivation and neurological disorders. *BioMed Research International*, 2020, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2020/5764017>
- Borrás, S., Martínez-Solís, I., & Ríos, J. L. (2021). Medicinal plants for insomnia related to anxiety: An updated review. *Planta Medica*, 87(10–11), 738–753. <https://doi.org/10.1055/a-1510-9826>
- Braak, H., del Tredici, K., Rub, U., de Vos, R. A., Jansen Steur, E. N., & Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*, 24(2), 197–211. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(02\)00065-9](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(02)00065-9)
- Brem, A. K., & Sensi, S. L. (2018). Towards combinatorial approaches for preserving cognitive fitness in aging. *Trends in Neurosciences*, 41, 885–897. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.09.009>
- Brown, E. W., Hurd, N. S., McCall, S., & Ceremuga, T. E. (2007). Evaluation of the anxiolytic effects of chrysin, a *Passiflora incarnata* extract, in the laboratory rat. *AANA Journal*, 75(5), 333–337.
- Cabanting, R. M., & Perez, L. M. (2016). An ethnobotanical study of traditional rice landraces (*Oryza sativa* L.) used for medical treatment in selected local communities of The Philippines. *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 767–773. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.021>
- Chan, P. C., Lee, H. H., Hong, C. T., Hu, C. J., & Wu, D. (2018). REM sleep behavior disorder (RBD) in dementia with Lewy bodies (DLB). *Behavioural Neurology*, 2018, 9421098. <https://doi.org/10.1155/2018/9421098>
- Chandra, A., Valkimadi, P. E., Pagano, G., Cousins, O., Dervenoulas, G., & Politis, M. (2019). Alzheimer's disease neuroimaging initiative. Applications of amyloid, tau, and neuroinflammation PET imaging to Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Human Brain Mapping*, 40(18), 5424–5442. <https://doi.org/10.1002/hbm.24782>

- Chee, S. E. J., & Solito, E. (2021). The impact of ageing on the CNS immune response in Alzheimer's disease. *Frontiers in Immunology*, 12, 738511. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.738511>
- Chen, S. X., Xiang, J. Y., Han, J. X., Li, H. Z., Chen, H., & Xu, M. (2021). Essential oils from spices inhibit cholinesterase activity and improve behavioral disorder in AlCl_3 induced dementia. *Chemistry & Biodiversity*, 19(1), e2100443. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100443>
- Cheon, S. M., Jang, I., Lee, M. H., Kim, D. K., Jeon, H., & Cha, D. S. (2017). *Sorbus alnifolia* protects dopaminergic neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 481–486. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1251468>
- Choi, J. G., Park, G., Kim, H. G., Oh, D. S., Kim, H., & Oh, M. S. (2016). In vitro and in vivo neuroprotective effects of walnut (*Juglandis semen*) in models of Parkinson's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1), 108. <https://doi.org/10.3390/ijms17010108>
- Chonpathompikunlert, P., Boonruamkaew, P., Sukketsiri, W., Hutamekalin, P., & Sroyraya, M. (2018). The antioxidant and neurochemical activity of *Apium graveolens* L. and its ameliorative effect on MPTP-induced Parkinson-like symptoms in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2166-0>
- Chun, H. S., Kim, J.-M., Choi, E. H., & Chang, N. (2008). Neuroprotective effects of several Korean medicinal plants traditionally used for stroke remedy. *Journal of Medicinal Food*, 11, 246–251. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.542>
- Church, F. C. (2021). Treatment options for motor and non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Biomolecules*, 11(4), 612. <https://doi.org/10.3390/biom11040612>
- Cilia, R., Laguna, J., Cassani, E., Cereda, E., Pozzi, N. G., Isaías, I. U., ... Pezzoli, G. (2017). *Mucuna pruriens* in Parkinson disease: A double-blind, randomized, controlled, crossover study. *Neurology*, 89(5), 432–438. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004175>
- Coleta, M., Campos, M. G., Cotrim, M. D., & Proença da Cunha, A. (2001). Comparative evaluation of *Melissa officinalis* L., *Tilia europaea* L., *Passiflora edulis* Sims. And *Hypericum perforatum* L. in the elevated plus maze anxiety test. *Pharmacopsychiatry*, 34, 20–21. <https://doi.org/10.1055/s-2001-15460>
- Costa, C. A. R. A., Cury, T. C., Cassettari, B. O., Takahira, R. K., Flório, J. C., & Costa, M. (2013). *Citrus aurantium* L. essential oil exhibits anxiolytic-like activity mediated by 5-HT 1A-receptors and reduces cholesterol after repeated oral treatment. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 42. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-42>
- Courtes, A. A., Arantes, L. P., Barcelos, R. P., da Silva, I. K., Boligon, A. A., Athayde, M. L., ... Soares, F. A. (2015). Protective effects of aqueous extract of *Luehea divaricata* against behavioral and oxidative changes induced by 3-nitropropionic acid in rats. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 723431. <https://doi.org/10.1155/2015/723431>
- Dabeer, S., Rather, M. A., Rasool, S., Rehman, M. U., Alshahrani, S., Jahan, S., ... Khan, A. (2022). History and traditional uses of black seeds (*Nigella sativa*). In A. Khan & M. Rehman (Eds.), *Black Seeds (Nigella Sativa)* (pp. 1–28). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824462-3.00016-0>
- Dar, N. J., & Ahmad, M. (2020). Neurodegenerative diseases and *Withania somnifera* (L.): An update. *Journal of Ethnopharmacology*, 256, 112769.
- Dar, N. J., Satti, N. K., Dutt, P., Hamid, A., & Ahmad, M. (2018). Attenuation of glutamate-induced excitotoxicity by withanolide-a in neuron-like cells: Role for PI3K/Akt/MAPK signaling pathway. *Molecular Neurobiology*, 55, 2725–2739.
- Darbinyan, L. V., Hambardzumyan, L. E., Simonyan, K. V., Chavushyan, V. A., Manukyan, L. P., Badalyan, S. A., ... Sarkisian, V. H. (2017). Protective effects of curcumin against rotenone-induced rat model of Parkinson's disease: in vivo electrophysiological and behavioral study. *Metabolic Brain Disease*, 32(6), 1791–1803. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0060-y>
- De Bock, M., Wang, N., Decrock, E., Bol, M., Gadicherla, A. K., Culot, M., Cecchelli, R., Bultynck, G., & Leybaert, L. (2013). Endothelial calcium dynamics, connexin channels and blood-brain barrier function. *Progress in Neurobiology*, 108, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.06.001>
- de Oliveria, D. M., Barreto, G., de Andrade, D. V., Saraceno, E., Aon-Bertolino, L., Capani, F., ... Giraldez, L. D. (2009). Cytoprotective effect of *Valeriana officinalis* extract on an in vitro experimental model of Parkinson disease. *Neurochemical Research*, 34(2), 215–220. <https://doi.org/10.1007/s11064-008-9749-y>
- Deng, J., Zhou, Y., Bai, M., Li, H., & Li, L. (2010). Anxiolytic and sedative activities of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 128, 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.12.043>
- Deschenes, C. L., & McCurry, S. M. (2009). Current treatments for sleep disturbances in individuals with dementia. *Current Psychiatry Reports*, 11(1), 20–26. <https://doi.org/10.1007/s11920-009-0004-2>
- Deshpande, A., Irani, N., Balkrishnan, R., & Benny, I. R. (2020). A randomized, double blind, placebo controlled study to evaluate the effects of ashwagandha (*Withania somnifera*) extract on sleep quality in healthy adults. *Sleep Medicine*, 72, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2020.03.012>
- Dhage, P. A., Sharbidre, A. A., Dakua, S. P., & Balakrishnan, S. (2021). Leveraging hallmark Alzheimer's molecular targets using phytoconstituents: Current perspective and emerging trends. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111634. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111634>
- Dhawan, K., Dhawan, S., & Sharma, A. (2004). *Passiflora*: A review update. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.023>
- di Meo, F., Valentino, A., Petillo, O., Peluso, G., Filosa, S., & Crispì, S. (2020). Bioactive polyphenols and neuromodulation: Molecular mechanisms in neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2564. <https://doi.org/10.3390/ijms21072564>
- Dillinger, T. L., Barriga, P., Escárcega, S., Jimenez, M., Lowe, D. S., & Grivetti, L. E. (2000). Food of the gods: Cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. *The Journal of Nutrition*, 130, 2057 S–2072 S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2057>
- Dimpfel, W., & Suter, A. (2008). Sleep improving effects of a single dose administration of a valerian/hops fluid extract—a double blind, randomized, placebo-controlled sleep-EEG study in a parallel design using electrohypnograms. *European Journal of Medical Research*, 13, 200–204.
- Dong, J., Zhang, X., Wang, S., Xu, C., Gao, M., Liu, S., ... Han, Y. (2021). Thymoquinone prevents dopaminergic neurodegeneration by attenuating oxidative stress via the Nrf2/ARE pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 615598. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.615598>
- dos Reis Lucena, L., dos Santos-Junior, J. G., Tufik, S., & Hachul, H. (2021). Lavender essential oil on postmenopausal women with insomnia: Double-blind randomized trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 59, 102726. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2021.102726>
- Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. (2018). Biological activities and safety of citrus spp. essential oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1966. <https://doi.org/10.3390/ijms19071966>
- Dugger, B. N., & Dickinson, D. W. (2017). Pathology of neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(7), a028035. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028035>
- Elaheebocus, N., & Mahomoodally, M. F. (2017). Ayurvedic medicine in Mauritius: Profile of Ayurvedic outlet, use, sale, distribution, regulation and importation. *Journal of Ethnopharmacology*, 197, 195–210. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.07.031>
- Elobeid, A., Libard, S., Leino, M., Popova, S. N., & Alafuzoff, I. (2016). Altered proteins in the aging brain. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 75, 316–325. <https://doi.org/10.1002/glia.23112>
- El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., El-Mleeh, A., Abdel-Daim, M. M., & Prasad Devkota, H. (2020). Traditional uses, bioactive

- chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae). *Biomolecules*, 10(3), 352. <https://doi.org/10.3390/biom10030352>
- Essa, M. M., Singh, V., Guizani, N., Manivasagam, T., Thenmozhi, A. J., Bhat, A., ... Chidambaram, S. B. (2019). *Phoenix dactylifera* L. fruits date fruit ameliorate oxidative stress in 3-NP intoxicated PC12 cells. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 9, 41–47. https://doi.org/10.4103/ijnpnd.ijnpnd_51_18
- Farokhnia, M., ShafieeSabet, M., Iranpour, N., Gougol, A., Yekhehtaz, H., Alimardani, R., ... Akhondzadeh, S. (2014). Comparing the efficacy and safety of *Crocus sativus* L. with memantine in patients with moderate to severe Alzheimer's disease: A double-blind randomized clinical trial. *Human Psychopharmacology*, 29(4), 351–359. <https://doi.org/10.1002/hup.2412>
- Farooqui, A. A., Farooqui, T., Madan, A., Ong, J. H., & Ong, W. Y. (2018). Ayurvedic medicine for the treatment of dementia: Mechanistic aspects. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 2481076. <https://doi.org/10.1155/2018/2481076>
- Fernández-Espejo, E. (2020). Microorganismos relacionados con un mayor riesgo de presentar la enfermedad de Parkinson. *Neurología*, 2020, 9 pages. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2020.08.020>
- Fernández-San Martín, M. I., Masa-Font, R., Palacios-Soler, L., Sancho-Gómez, P., Calbó-Caldentey, C., & Flores-Mateo, G. (2010). Effectiveness of valerian on insomnia: A meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Sleep Medicine*, 11(6), 505–511. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2009.12.009>
- Frank-Cannon, T. C., Alto, L. T., McAlpine, F. E., & Tansey, M. G. (2009). Does neuroinflammation fan the flame in neurodegenerative diseases? *Molecular Neurodegeneration*, 4, 47. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-4-47>
- Ge, S., Duo, L., Wang, J., Zhula, G., Yang, J., Li, Z., & Tu, Y. (2021). A unique understanding of traditional medicine of pomegranate, *Punica granatum* L. and its current research status. *Journal of Ethnopharmacology*, 271, 113877. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113877>
- Generoso, J. S., Giridharan, V. V., Lee, J., Macedo, D., & Barichello, T. (2021). The role of the microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric disorders. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 43(3), 293–305. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2020-0987>
- Ghajarbeygi, P., Hajhoseini, A., Hosseini, M. S., & Sharifan, A. (2019). An *in vitro* and *in vivo* cholinesterase inhibitory activity of *Pistacia khinjuk* and *Allium sativum* essential oils. *Journal of Pharmacopuncture*, 22(4), 231–238. <https://doi.org/10.3831/KPI.2019.22.031>
- Gregory, J., Vengalasetti, Y. V., Bredesen, D. E., & Rao, R. V. (2021). Neuroprotective herbs for the management of Alzheimer's disease. *Biomolecules*, 11(4), 543. <https://doi.org/10.3390/biom11040543>
- Grewal, A. K., Singh, T. G., Sharma, D., Sharma, V., Singh, M., Rahman, M. H., ... Abdel-Daim, M. M. (2021). Mechanistic insights and perspectives involved in neuroprotective action of quercetin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 140, 111729. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111729>
- Gruca, M., Blach-Overgaard, A., & Balslev, H. (2015). African palm ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 165, 227–237. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.050>
- Grundmann, O., Wang, J., McGregor, G. P., & Butterweck, V. (2008). Anxiolytic activity of a phytochemically characterized *Passiflora incarnata* extract is mediated via the GABAergic system. *Planta Medica*, 74, 1769–1773. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088322>
- Guo, S., Wang, H., & Yin, Y. (2022). Microglia polarization from M1 to M2 in neurodegenerative diseases. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14, 815347. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.815347>
- Haghighijoo, Z., Zamani, L., Moosavi, F., & Emami, S. (2022). Therapeutic potential of quinazoline derivatives for Alzheimer's disease: A comprehensive review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 227, 113949. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113949>
- Hampel, H., Vassar, R., de Strooper, B., Hardy, J., Willem, M., Singh, N., ... Vergallo, A. (2021). The β -secretase BACE1 in Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*, 89(8), 745–756. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.02.001>
- Han, F. Y., Song, X. Y., Chen, J. J., Yao, G. D., & Song, S. J. (2018). Timosaponin AIII: A novel potential anti-tumor compound from *Anemarrhena asphodeloides*. *Steroids*, 140, 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2018.09.014>
- Hancianu, M., Cioanca, O., Mihasan, M., & Hritcu, L. (2013). Neuroprotective effects of inhaled lavender oil on scopolamine-induced dementia via anti-oxidative activities in rats. *Phytomedicine*, 20(5), 446–452. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.12.005>
- Hatteso, M., Feistel, B., Sievers, H., Lehnfeld, R., Hegger, M., & Winterhoff, H. (2008). Extracts of *Valeriana officinalis* L. s.l. show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties. *Phytomedicine*, 15, 2–15.
- Haybar, H., Javid, A. Z., Haghighizadeh, M. H., Valizadeh, E., Mohaghegh, S. M., & Mohammadzadeh, A. (2018). The effects of *Melissa officinalis* supplementation on depression, anxiety, stress, and sleep disorder in patients with chronic stable angina. *Clinical Nutrition ESPEN*, 26, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2018.04.015>
- He, H. J., Xiong, X., Zhou, S., Zhang, X. R., Zhao, X., Chen, L., & Xie, C. L. (2022). Neuroprotective effects of curcumin via autophagy induction in 6-hydroxydopamine Parkinson's models. *Neurochemistry International*, 155, 105297. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105297>
- Heo, J. H., Lee, S. T., Chu, K., Oh, M. J., Park, H. J., Shim, J. Y., & Kim, M. (2008). An open-label trial of Korean red ginseng as an adjuvant treatment for cognitive impairment in patients with Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*, 15(8), 865–868. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02157>
- Herrera-Arellano, A., Jiménez-Ferrer, J. E., Zamilpa, A., García-Alonso, G., Herrera-Alvarez, S., & Tortoriello, J. (2012). Therapeutic effectiveness of *Galphimia glauca* vs. lorazepam in generalized anxiety disorder. A controlled 15-week clinical trial. *Planta Medica*, 78, 1529–1535.
- Herrera-Arellano, A., Jiménez-Ferrer, J. E., Zamilpa, A., Morales-Valdez, A., García-Valencia, C. E., & Tortoriello, J. (2007). Efficacy and tolerability of a standardized herbal product from *Galphimia glauca* on generalized anxiety disorder. A randomized, double-blind clinical trial controlled with lorazepam. *Planta Medica*, 73, 713–717.
- Hori, Y., Tsutsumi, R., Nasu, K., Boateng, A., Ashikari, Y., Sugiura, M., ... Seki, T. (2021). Aromatic-turmerone analogs protect dopaminergic neurons in midbrain slice cultures through their neuroprotective activities. *Cell*, 10(5), 1090. <https://doi.org/10.3390/cells10051090>
- Hornedo-Ortega, R., Cerezo, A. B., de Pablos, R. M., Krisa, S., Richard, T., García-Parrilla, M. C., & Troncoso, A. M. (2018). Phenolic compounds characteristic of the Mediterranean diet in mitigating microglia-mediated neuroinflammation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12, 373. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00373>
- Howes, M. R., Perry, N. S. L., Vázquez-Londoño, C., & Perry, E. K. (2020). Role of phytochemicals as nutraceuticals for cognitive functions affected in ageing. *British Journal of Pharmacology*, 177, 1294–1315. <https://doi.org/10.1111/bph.14898>
- Hu, P. H., Peng, Y. C., Lin, Y. T., Chang, C. S., & Ou, M. C. (2010). Aromatherapy for reducing colonoscopy related procedural anxiety and physiological parameters: A randomized controlled study. *Hepato-Gastroenterology*, 57, 1082–1086.
- Hussin, M., Abdul Hamid, A., Abas, F., Ramli, N. S., Jaafar, A. H., Roowi, S., ... Pak Dek, M. S. (2019). NMR-based metabolomics profiling for radical scavenging and anti-aging properties of selected herbs. *Molecules*, 24, 3208. <https://doi.org/10.3390/molecules24173208>
- Im, A. R., Chae, S. W., Zhang, G. J., & Lee, M. Y. (2014). Neuroprotective effects of *Psoralea corylifolia* Linn seed extracts on mitochondrial dysfunction induced by 3-nitropropionic acid. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 370–377. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-370>
- Inoue, E., Suzuki, T., Shimizu, Y., Sudo, K., Kawasaki, H., & Ishida, N. (2021). Saffron ameliorated motor symptoms, short life span and

- retinal degeneration in Parkinson's disease fly models. *Gene*, 799, 145811. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145811>
- Iranshahy, M., & Javadi, B. (2019). Diet therapy for the treatment of Alzheimer's disease in view of traditional Persian medicine: A review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(10), 1102–1117. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.36505.8694>
- Iriti, M., Vitalini, S., Fico, G., & Faoro, F. (2010). Neuroprotective herbs and foods from different traditional medicines and diets. *Molecules*, 15(5), 3517–3555. <https://doi.org/10.3390/molecules15053517>
- Jahromy, M. H., Jalili, M., Mohajer, A. J., Poor, F. K., & Dara, S. M. (2014). Effects of *Nigella sativa* seed extract on perphenazine-induced muscle rigidity in male mice. *World Journal of Neuroscience*, 4, 313–318. <https://doi.org/10.4236/wjns.2014.44035>
- Janda, K., Wojtkowska, K., Jakubczyk, K., Antoniewicz, J., & Skonieczna-Żydecka, K. (2020). *Passiflora incarnata* in neuropsychiatric disorders—a systematic review. *Nutrients*, 12(12), 3894. <https://doi.org/10.3390/nu12123894>
- Jang, M., Lee, M. J., Kim, C. S., & Cho, I. H. (2013). Korean red ginseng extract attenuates 3-nitropropionic acid-induced Huntington's-like symptoms. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1–17. <https://doi.org/10.1155/2013/237207>
- Jankovic, J., & Tan, E. K. (2020). Parkinson's disease: Etiopathogenesis and treatment. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 91(8), 795–808. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-322338>
- Jayaraj, R. L., Beiram, R., Azimullah, S., Mf, N. M., Ojha, S. K., Adem, A., & Jalal, F. Y. (2020). Valeric acid protects dopaminergic neurons by suppressing oxidative stress, neuroinflammation and modulating autophagy pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7670. <https://doi.org/10.3390/ijms21207670>
- Jimbo, D., Kimura, Y., Taniguchi, M., Inoue, M., & Urakami, K. (2009). Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics*, 9(4), 173–179. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8301.2009.00299.x>
- Jimenez-Sanchez, M., Licitra, F., Underwood, B. R., & Rubinsztein, D. C. (2017). Huntington's disease: Mechanisms of pathogenesis and therapeutic strategies. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 7(7), a024240. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024240>
- Kasper, S., Gastpar, M., Müller, W. E., Volz, H. P., Möller, H. J., Dienel, A., & Schläpke, S. (2010). Silexan, an orally administered *Lavandula* oil preparation, is effective in the treatment of 'subsyndromal' anxiety disorder: A randomized, double-blind, placebo controlled trial. *International Clinical Psychopharmacology*, 25(5), 277–287. <https://doi.org/10.1097/YIC.0b013e32833b3242>
- Kaufmann, D., Dogra, A. K., & Wink, M. (2011). Myrtenal inhibits acetylcholinesterase, a known Alzheimer target. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(10), 1368–1371. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01344.x>
- Kaur, M., Prakash, A., & Kalia, A. N. (2016). Neuroprotective potential of antioxidant potent fractions from *convolvulus pluricaulis* Choisy. in 3-nitropropionic acid challenged rats. *Nutritional Neuroscience*, 19, 70–78. <https://doi.org/10.1179/1476830515Y.0000000022>
- Kaur, T., & Kaur, G. (2017). *Withania somnifera* as a potential candidate to ameliorate high fat diet-induced anxiety and neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 14, 201. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0975-6>
- Kellogg, J., Wang, J., Flint, C., Ribnick, D., Kuhn, P., de Mejia, E. G., ... Lila, M. A. (2010). Alaskan wild berry resources and human health under the cloud of climate change. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 3884–3900. <https://doi.org/10.1021/jf902693r>
- Khatri, D. K., & Juvekar, A. R. (2015). Erratum to: Propensity of *Hyoscyamus Niger* seeds methanolic extract to allay stereotaxically rotenone-induced Parkinson's disease symptoms in rats. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 15, 387–388. <https://doi.org/10.1007/s13596-015-0216-4>
- Khatri, D. K., & Juvekar, A. R. (2016). Neuroprotective effect of curcumin as evinced by abrogation of rotenone-induced motor deficits, oxidative and mitochondrial dysfunctions in mouse model of Parkinson's disease. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 150–151, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2016.09.002>
- Khazdair, M. R., Kianmehr, M., & Anaeigoudari, A. (2021). Effects of medicinal plants and flavonoids on Parkinson's disease: A review on basic and clinical evidences. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 11(2), 224–232. <https://doi.org/10.34172/apb.2021.026>
- Kim, H. G., Park, G., Piao, Y., Kang, M. S., Pak, Y. K., Hong, S. P., & Oh, M. S. (2014). Effects of the root bark of *Paeonia suffruticosa* on mitochondria-mediated neuroprotection in an MPTP-induced model of Parkinson's disease. *Food and Chemical Toxicology*, 65, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.037>
- Knöss, W., & Wiesner, J. (2019). The globalization of traditional medicines: Perspectives related to the European Union regulatory environment. *Engineering*, 5(1), 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.012>
- Kochan, E., & Chmiel, A. (2014). Callus of American ginseng (*Panax quinquefolius*) as a source of ginsenosides – Medicinal secondary metabolites. *Biology Letters*, 50(1), 27–34. <https://doi.org/10.2478/biolet-2013-0002>
- Koetter, U., Schrader, E., Käufeler, R., & Brattström, A. (2007). A randomized, double blind, placebo-controlled, prospective clinical study to demonstrate clinical efficacy of a fixed valerian hops extract combination (Ze 91019) in patients suffering from non-organic sleep disorder. *Phytotherapy Research*, 21, 847–851. <https://doi.org/10.1002/ptr.2167>
- Komaki, A., Hoseini, F., Shahidi, S., & Baharlouei, N. (2016). Study of the effect of extract of *Thymus vulgaris* on anxiety in male rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6, 257–261. <https://doi.org/10.1016/j.jtcm.2015.01.001>
- Koulivand, P. H., Khaleghi Ghadiri, M., & Gorji, A. (2013). Lavender and the nervous system. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 681304. <https://doi.org/10.1155/2013/681304>
- Kovacs, G. G. (2016). Molecular pathological classification of neurodegenerative diseases: Turning towards precision medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2), 189. <https://doi.org/10.3390/ijms17020189>
- Kovacs, G. G. (2017). Concepts and classification of neurodegenerative diseases. *Handbook of Clinical Neurology*, 145, 301–307. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802395-2.00021-3>
- Kovacs, G. G., & Budja, H. (2010). Current concepts of neuropathological diagnostics in practice. *Neurodegenerative diseases. Clinical Neuropathology*, 29, 271–288. <https://doi.org/10.5414/npp29271>
- Kumar, A., Konar, A., Garg, S., Kaul, S. C., & Wadhwa, R. (2021). Experimental evidence and mechanism of action of some popular neuro-nutraceutical herbs. *Neurochemistry International*, 149, 105124. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105124>
- Kumar, P., & Kumar, A. (2009). Possible neuroprotective effect of *Withania somnifera* root extract against 3-nitropropionic acid-induced behavioral, biochemical, and mitochondrial dysfunction in an animal model of Huntington's disease. *Journal of Medicinal Food*, 12, 591–600. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0028>
- Kyrou, I., Christou, A., Panagiotakos, D., Stefanaki, C., Skenderi, K., Katsana, K., & Tsigos, C. (2017). Effects of a hops (*Humulus lupulus* L.) dry extract supplement on self-reported depression, anxiety and stress levels in apparently healthy young adults: A randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover pilot study. *Hormones (Athens, Greece)*, 16(2), 171–180. <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1738>
- Langade, D., Thakare, V., Kanchi, S., & Kelgane, S. (2021). Clinical evaluation of the pharmacological impact of ashwagandha root extract on sleep in healthy volunteers and insomnia patients: A double-blind, randomized, parallel-group, placebo-controlled study. *Journal of Ethnopharmacology*, 264, 113276.
- Lau, H., Shahar, S., Mohamad, M., Rajab, N. F., Yahya, H. M., Din, N. C., & Hamid, H. A. (2020). The effects of six months *Persicaria minor* extract supplement among older adults with mild cognitive impairment: A

- double-blinded, randomized, and placebo-controlled trial. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 315. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03092-2>
- Lee, J., Jung, H. Y., Lee, S. I., Choi, J. H., & Kim, S. G. (2020). Effects of *Passiflora incarnata* Linnaeus on polysomnographic sleep parameters in subjects with insomnia disorder: A double-blind randomized placebo-controlled study. *International Clinical Psychopharmacology*, 35(1), 29–35. <https://doi.org/10.1097/YIC.0000000000000291>
- Lee, J., Torosyan, N., & Silverman, D. H. (2017). Examining the impact of grape consumption on brain metabolism and cognitive function in patients with mild decline in cognition: A double-blinded placebo controlled pilot study. *Experimental Gerontology*, 87(Pt A), 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.10.004>
- Lee, T. K., & Yankee, E. L. (2021). A review on Parkinson's disease treatment. *Neuroimmunology and Neuroinflammation*, 8, 222–244. <https://doi.org/10.20517/2347-8659.2020.58>
- Leporatti, M. L., & Ghedira, K. (2009). Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5, 31. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-5-31>
- Leyva-Jiménez, F. J., Lozano-Sánchez, J., Cádiz-Gurrea, M. D. L. L., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2019). Functional ingredients based on nutritional Phenolics. A case study against inflammation: *Lippia* genus. *Nutrients*, 11, 1646. <https://doi.org/10.3390/nu11071646>
- Lian, X. Y., Zhang, Z., & Stringer, J. L. (2005). Protective effects of ginseng components in a rodent model of neurodegeneration. *Annals of Neurology*, 57, 642–648. <https://doi.org/10.1002/ana.20450>
- Lim, M. M., Gerstner, J. R., & Holtzman, D. H. (2014). The sleep-wake cycle and Alzheimer's disease: What do we know? *Neurodegenerative Disease Management*, 4(5), 351–362. <https://doi.org/10.2217/nmt.14.33>
- Lin, S. K., Wang, P. H., Huang, C. H., Kuo, Y. H., Lai, J. N., & Wei, J. C.-C. (2021). Association between traditional Chinese medicine and a lower risk of dementia in patients with major depression: A case-control study. *Journal of Ethnopharmacology*, 278, 114291. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114291>
- Liu, W., Zhu, Y., Wang, Y., Qi, S., Wang, Y., Ma, C., ... Wang, C. (2017). Anti-amnesic effect of extract and alkaloid fraction from aerial parts of *Peganum harmala* on scopolamine-induced memory deficits in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 204, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.04.019>
- Livingston, G., Huntley, J., Sommerlad, A., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., ... Mukadam, N. (2020). Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the lancet commission. *Lancet*, 396(10248), 413–446. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30367-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30367-6)
- Lu, B. W., Baum, L., So, K. F., Chiu, K., & Xie, L. K. (2019). More than anti-malarial agents: Therapeutic potential of artemisinins in neurodegeneration. *Neural Regeneration Research*, 14(9), 1494–1498. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.255960>
- Lum, P. T., Sekar, M., Gan, S. H., Bonam, S. R., & Shaikh, M. F. (2021). Protective effect of natural products against Huntington's disease: An overview of scientific evidence and understanding their mechanism of action. *ACS Chemical Neuroscience*, 12, 391–418. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.0c00824>
- Ma, X. W., & Guo, R. Y. (2017). Dose-dependent effect of *Curcuma longa* for the treatment of Parkinson's disease. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 13(5), 1799–1805. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4225>
- Mahdy, H. M., Tadros, M. G., Mohamed, M. R., Karim, A. M., & Khalifa, A. E. (2011). The effect of *Ginkgo biloba* extract on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rats. *Neurochemistry International*, 59(6), 770–778. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.07.012>
- Mahjoub, F., Akhavan Rezayat, K., Yousefi, M., Mohebbi, M., & Salari, R. (2018). *Pistacia atlantica* Desf. A review of its traditional uses, phytochemicals and pharmacology. *Journal of Medicine and Life*, 11, 180–186. <https://doi.org/10.25122/jml-2017-0055>
- Malhotra, R. K. (2018). Neurodegenerative disorders and sleep. *Sleep Medicine Clinics*, 13(1), 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.jsmc.2017.09.006>
- Malik, J., Choudhary, S., & Kumar, P. (2015). Protective effect of *Convolvulus pluricaulis* standardized extract and its fractions against 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rats. *Pharmaceutical Biology*, 53, 1448–1457. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.984856>
- Malik, J., Karan, M., & Dogra, R. (2017). Ameliorating effect of *Celastrus paniculatus* standardized extract and its fractions on 3-nitropropionic acid induced neuronal damage in rats: Possible antioxidant mechanism. *Pharmaceutical Biology*, 55, 980–990. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1285945>
- Malva, J. O., Santos, S., & Macedo, T. (2004). Neuroprotective properties of *Valeriana officinalis* extracts. *Neurotoxicity Research*, 6(2), 131–140. <https://doi.org/10.1007/BF03033215>
- Manoharan, S., Guillemin, G. J., Abiramasundari, R. S., Essa, M. M., Akbar, M., & Akbar, M. D. (2016). The role of reactive oxygen species in the pathogenesis of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and Huntington's disease: A mini review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 8590578. <https://doi.org/10.1155/2016/8590578>
- Martin, M. (2008). *Consenso Español sobre demencias* (2nd ed.). Madrid: Sociedad Española de Psiquiatría.
- Martins, W. B., Rodrigues, S. A., Silva, H. K., Dantas, C. G., Júnior Wde, L., Filho, L. X., ... Gones, M. Z. (2016). Neuroprotective effect of *Portulaca oleracea* extracts against 6-hydroxydopamine-induced lesion of dopaminergic neurons. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88(3), 1439–1450. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201620150574>
- McKeith, I. G., Boeve, B. F., Dickson, D. W., Halliday, G., Taylor, J. P., Weintraub, D., ... Kosaka, K. (2017). Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Fourth consensus report of the DLB consortium. *Neurology*, 89(1), 88–100. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004058>
- Mehla, J., Gupta, P., Pahuja, M., Diwan, D., & Diksha, D. (2020). Indian medicinal herbs and formulations for Alzheimer's disease, from traditional knowledge to scientific assessment. *Brain Sciences*, 10(12), 964. <https://doi.org/10.3390/brainsci10120964>
- Mirheidary, R., Esmaeili Saber, S. S., Shaeiri, M. R., & Gholami Fesharaki, M. (2020). The effect of 'maviz' on memory improvement in university students: A randomized open-label clinical trial. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 10, 352–364.
- Miroddi, M., Calapai, G., Navarra, M., Minciullo, P. L., & Gangemi, S. (2013). *Passiflora incarnata* L.: Ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials. *Journal of Ethnopharmacology*, 150, 791–804. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.047>
- Moradkhani, H., Sargsyan, E., Bibak, H., Naseri, B., & Sadat-Hosseini, M. (2010). *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. *Journal of Medicinal Plant Research: Planta Medica*, 4, 2753–2759.
- Morillas-Ruiz, J. M., Rubio-Pérez, J. M., Albaladejo, M. D., Zafrilla, P., Parra, S., & Vidal-Guevara, M. L. (2010). Effect of an antioxidant drink on homocysteine levels in Alzheimer's patients. *Journal of the Neurological Sciences*, 299(1–2), 175–178. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2010.08.050>
- Morin, C. M., Koetter, U., Bastien, C., Ware, J. C., & Wooten, V. (2005). Valerian-hops combination and diphenhydramine for treating insomnia: A randomized placebo-controlled clinical trial. *Sleep*, 28(11), 1465–1471. <https://doi.org/10.1093/sleep/28.11.1465>
- Mossa, A. T. H., & Nawwar, G. (2011). Free radical scavenging and anticholinesterase activities of *Origanum majorana* L. essential oil. *Human & Experimental Toxicology*, 30, 1501–1513. <https://doi.org/10.1177/0960327110391686>
- Nandhini, S., Narayanan, K. B., & Ilango, K. (2018). *Valeriana officinalis*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Asian*

- Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11, 36. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i1.22588>
- Natarajan, S., Shunmugiah, K. P., & Kasi, P. D. (2013). Plants traditionally used in age-related brain disorders (dementia): An ethnopharmacological survey. *Pharmaceutical Biology*, 51, 492–523. <https://doi.org/10.3109/13880209.2012.738423>
- Newman, A. B., & Murabito, J. M. (2013). The epidemiology of longevity and exceptional survival. *Epidemiologic Reviews*, 35, 181–197. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxs013>
- Ngan, A., & Conduit, R. (2011). A double-blind, placebo-controlled investigation of the effects of *Passiflora incarnata* (passionflower) herbal tea on subjective sleep quality. *Phytotherapy Research*, 25(8), 1153–1159. <https://doi.org/10.1002/ptr.3400>
- Niccoli, T., & Partridge, L. (2012). Ageing as a risk factor for disease. *Current Biology*, 22(17), R741–R752. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.07.024>
- Noguchi-Shinohara, M., Ono, K., Hamaguchi, T., Nagai, T., Kobayashi, S., Komatsu, J., ... Yamada, M. (2020). Safety and efficacy of *Melissa officinalis* extract containing rosmarinic acid in the prevention of Alzheimer's disease progression. *Scientific Reports*, 10(1), 18627. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73729-2>
- Noori, T., Dehpour, A. R., Sureda, A., Sobarzo-Sanchez, E., & Shirooie, S. (2021). Role of natural products for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology*, 898, 173974. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173974>
- Nowak, A., Kojder, K., Zielonka-Brzezicka, J., Wróbel, J., Bosiacki, M., Fabiańska, M., ... Klimowicz, A. (2021). The use of *Ginkgo biloba* L. as a neuroprotective agent in the Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 775034. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.775034>
- Ogunmoyole, T., Ola-Awe, A. M., & Fatile, O. G. (2021). Ethanolic extract of *Mucuna pruriens* leaves ameliorates carbon tetrachloride and rifampicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in Wistar albino rat. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), 282. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03455-3>
- Ogunruku, O. O., Ogunyemi, B. O., Obboh, G., Babatunde, O. O., & Boligon, A. A. (2019). Modulation of dopamine metabolizing enzymes and antioxidant status by *Capsicum annum* L. in rotenone-intoxicated rat brain. *Toxicology Reports*, 6, 795–802. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.07.012>
- Ojha, R. P., Rastogi, M., Devi, B. P., Agrawal, A., & Dubey, G. P. (2012). Neuroprotective effect of curcuminoids against inflammation-mediated dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 7(3), 609–618. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9363-2>
- Oliveira, D. R., Leitão, G. G., Fernandes, P. D., & Leitão, S. G. (2014). Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(2), 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.03.001>
- Ooms, S., & Ju, Y. E. (2016). Treatment of sleep disorders in dementia. *Current Treatment Options in Neurology*, 18(9), 40. <https://doi.org/10.1007/s11940-016-0424-3>
- Ovais, M., Zia, N., Ahmad, I., Khalil, A. T., Raza, A., Ayaz, M., ... Shinwari, Z. K. (2018). Phyto-therapeutic and nanomedicinal approaches to cure Alzheimer's disease: Present status and future opportunities. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 28. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00284>
- Pasqualetti, G., Brooks, D. J., & Edison, P. (2015). The role of neuroinflammation in dementias. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 15(4), 17. <https://doi.org/10.1007/s11910-015-0531-7>
- Patay, É. B., Bencsik, T., & Papp, N. (2016). Phytochemical overview and medicinal importance of *Coffea* species from the past until now. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(12), 1127–1135. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.11.008>
- Paul, A. K., Jahan, R., Paul, A., Mahboob, T., Bondhon, T. A., Jannat, K., ... Rahmatullah, M. (2022). The role of medicinal and aromatic plants against obesity and arthritis: A review. *Nutrients*, 14, 985. <https://doi.org/10.3390/nu14050985>
- Perry, E., & Howes, M., Jr. (2011). Medicinal plants and dementia therapy: Herbal hopes for brain aging? *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 17, 683–698. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00202.x>
- Perry, N., Court, G., Bidet, N., Court, J., & Perry, E. (1996). European herbs with cholinergic activities: Potential in dementia therapy. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 11, 1063–1069.
- Petersen, R. C. (2016). Mild cognitive impairment. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 22(2 dementia), 404–418. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000313>
- Peterson, C. T. (2020). Dysfunction of the microbiota-gut-brain axis in neurodegenerative disease: The promise of therapeutic modulation with prebiotics, medicinal herbs, probiotics, and synbiotics. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 25, 2515690X20957225. <https://doi.org/10.1177/2515690X20957225>
- Piowar, A., Rembiałkowska, N., Rorbach-Dolata, A., Garbiec, A., Ślusarczyk, S., Dobosz, A., ... Sączko, J. (2020). *Anemarrhenae rhizoma* extract enriched in mangiferin protects PC12 cells against a neurotoxic agent-3-nitropropionic acid. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2510. <https://doi.org/10.3390/ijms21072510>
- Plushner, S. L. (2000). Valerian: *Valeriana officinalis*. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 57, 328–335.
- Poewe, W., Seppi, K., Tanner, C. M., Halliday, G. M., Brundin, P., Volkmann, J., ... Lang, A. E. (2017). Parkinson disease. *Nature Reviews. Disease Primers*, 3, 17013. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>
- Postu, P. A., Gorgan, D. L., Cioanca, O., Russ, M., Mikkat, S., Glocker, M. O., & Hritcu, L. (2020). Memory-enhancing effects of *Origanum majorana* essential oil in an Alzheimer's amyloid beta1-42 rat model: A molecular and behavioral study. *Antioxidants (Basel)*, 9(10), 919. <https://doi.org/10.3390/antiox9100919>
- Prasansuklab, A., Brimson, J. M., & Tencomnao, T. (2020). Potential Thai medicinal plants for neurodegenerative diseases: A review focusing on the anti-glutamate toxicity effect. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 10(3), 301–308.
- Pérez-Hernández, J., Zaldívar-Machorro, V. J., Villanueva-Porras, D., Vega-Ávila, E., & Chavarria, A. (2016). A potential alternative against neurodegenerative diseases: Phytochemicals. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 8378613. <https://doi.org/10.1155/2016/8378613>
- Rabiei, Z., Solati, K., & Amini-Khoei, H. (2019). Phytotherapy in treatment of Parkinson's disease: A review. *Pharmaceutical Biology*, 57(1), 355–362. <https://doi.org/10.1080/13880209.2019.1618344>
- Rahman, M. H., Bajgai, J., Fadrique, A., Sharma, S., Trinh, T. T., Akter, R., ... Lee, K. J. (2021). Therapeutic potential of natural products in treating neurodegenerative disorders and their future prospects and challenges. *Molecules*, 26(17), 5327. <https://doi.org/10.3390/molecules26175327>
- Rai, S. N., Mishra, D., Singh, P., Vamanu, E., & Singh, M. P. (2021). Therapeutic applications of mushrooms and their biomolecules along with a glimpse of in silico approach in neurodegenerative diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, 111377. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111377>
- Ramírez-Moreno, J., Salguero Bodes, I., Romaskevych, O., & Duran-Herrera, M. C. (2015). Broad bean (*Vicia faba*) consumption and Parkinson's disease: A natural source of L-Dopa to consider. *Neurología*, 30, 375–376.
- Rancán, L., Paredes, S. D., García, I., Muñoz, P., García, C., López de Hontañar, G., ... Trasguerras, J. A. F. (2017). Protective effect of xanthohumol against age related brain damage. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 49, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.07.011>
- Ransohoff, R. M. (2016). How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science*, 353, 777–783. <https://doi.org/10.1126/science.aag2590>

- Ren, Z. X., Zhao, Y. F., Cao, T., & Zhen, X. C. (2016). Dihydromyricetin protects neurons in an MPTP-induced model of Parkinson's disease by suppressing glycogen synthase kinase-3 beta activity. *Acta Pharmacologica Sinica*, 37(10), 1315–1324. <https://doi.org/10.1038/aps.2016.42> [published correction appears in *Acta Pharmacol Sin.* 2017; 38(5), 733].
- Rezaei, M., Nasri, S., Roughani, M., Niknami, Z., & Ziai, S. A. (2016). *Peganum Harmala* L. extract reduces oxidative stress and improves symptoms in 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's disease in rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 15(1), 275–281.
- Rietdijk, C. D., Perez-Pardo, P., Garssen, J., van Wezel, R. J. A., & Kraneveld, A. D. (2017). Exploring Braak's hypothesis of Parkinson's disease. *Frontiers in Neurology*, 8, 37. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00037>
- Rodríguez-Cruz, A., Romo-Mancilla, A., Mendiola-Precoma, J., Escobar-Cabrera, J. E., García-Alcocer, G., & Berumen, L. C. (2019). Effect of valerenic acid on neuroinflammation in a MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. *IBRO Reports*, 8, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.ibror.2019.12.002>
- Roychoudhury, S., Chakraborty, S., Das, A., Guha, P., Agarwal, A., & Henkel, R. (2021). Chapter 5.4.5 - herbal medicine use to treat andrological problems: Asian and Indian subcontinent: Ginkgo biloba, Curcuma longa, and Camellia sinensis. In R. Henkel & A. Agarwal (Eds.), *Herbal Medicine in Andrology* (pp. 129–146). Cambridge, MA: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815565-3.00019-9>
- Ríos, J. L., Onteniente, M., Picazo, D., & Montesinos, M. C. (2016). Medicinal plants and natural products as potential sources for antiparkinson drugs. *Planta Medica*, 82(11–12), 942–951. <https://doi.org/10.1055/s-0033-135093410.1055/s-0042-107081>
- Sarris, J., & Byrne, G. J. (2011). A systematic review of insomnia and complementary medicine. *Sleep Medicine Reviews*, 15(2), 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2010.04.001>
- Sedaghat, R., Roghani, M., & Khalili, M. (2014). Neuroprotective effect of thymoquinone, the *Nigella sativa* bioactive compound, in 6-hydroxydopamine-induced hemi-parkinsonian rat model. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 227–234.
- Semwal, D. K., Kumar, A., Semwal, R. B., & Andola, H. C. (2021). Chapter 3.2.19 - *Convolvulus prostratus*. In T. Belwal, S. M. Nabavi, S. F. Nabavi, A. R. Dehpour, & S. Shirooie (Eds.), *Naturally occurring chemicals against Alzheimer's disease* (pp. 409–424). London, UK: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819212-2.00035-9>
- Sharma, M., Sharma, N., & Sharma, R. (2012). Neuroprotective effect of *Zingiber officinale* in 3-NP-induced Huntington disease. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2, 61–70. <https://doi.org/10.9790/3013-26206170>
- Sharma, R., & Martins, N. (2020). Telomeres, DNA damage and ageing: Potential leads from Ayurvedic Rasayana (anti-ageing) drugs. *Journal of Clinical Medicine*, 9, 2544. <https://doi.org/10.3390/jcm9082544>
- Shen, C. Y., Jiang, J. G., Yang, L., Wang, D. W., & Zhu, W. (2017). Anti-ageing active ingredients from herbs and nutraceuticals used in traditional Chinese medicine: Pharmacological mechanisms and implications for drug discovery. *British Journal of Pharmacology*, 174(11), 1395–1425. <https://doi.org/10.1111/bph.13631>
- Shen, Y., Chen, B. L., Zhang, Q. X., Zheng, Y. Z., & Fu, Q. (2019). Traditional uses, secondary metabolites, and pharmacology of *Celastrus* species - a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 241, 111934. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111934>
- Shi, L., Chen, S. J., Ma, M. Y., Bao, Y. P., Han, Y., Wang, Y. M., ... Lu, L. (2018). Sleep disturbances increase the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*, 40, 4–16. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2017.06.010>
- Shinomol, G. K., Ravikumar, H., & Muralidhara. (2010). Prophylaxis with *Centella asiatica* confers protection to prepubertal mice against 3-nitropropionic-acid-induced oxidative stress in brain. *Phytotherapy Research*, 24, 885–892. <https://doi.org/10.1002/ptr.3042>
- Shivasharan, B. D., Nagakannan, P., Thippeswamy, B. S., Veerapur, V. P., Bansal, P., & Unnikrishnan, M. K. (2013). Protective effect of *Calendula officinalis* Linn. Flowers against 3-nitropropionic acid induced experimental Huntington's disease in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 36, 466–473. <https://doi.org/10.3109/01480545.2013.776583>
- Singh, A. K., Rai, S. N., Maurya, A., Mishra, G., Awasthi, R., Shakya, A., ... Singh, M. P. (2021). Therapeutic potential of phytoconstituents in management of Alzheimer's disease. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 5578574. <https://doi.org/10.1155/2021/5578574>
- Singh, B., Pandey, S., Rumman, M., & Mahdi, A. A. (2020). Neuroprotective effects of *Bacopa monnieri* in Parkinson's disease model. *Metabolic Brain Disease*, 35(3), 517–525. <https://doi.org/10.1007/s11011-019-00526-w>
- Singh, B., Pandey, S., Rumman, M., Kumar, S., Kushwaha, P. P., Verma, R., & Mahdi, A. A. (2021). Neuroprotective and neurorescue mode of action of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced Parkinson's disease: An in silico and in vivo study. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 616413. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.616413>
- Singh, B., Singh, H., Singh, B., Kumar, N., Rajput, A., Sidhu, D., ... Kaur, S. (2021). A comprehensive review on medicinal herbs and novel formulations for the prevention of Alzheimer's disease. *Current Drug Delivery*, 19(2), 212–228. <https://doi.org/10.2174/156720181866211015152733>
- Singh, V., Essa, M. M., Guizani, N., Balakrishnan, R., Hemalatha, T., Manivasagam, T., ... Velusamy, T. (2018). Protective effect of *Zizyphus spinachristi* on MPP+ induced oxidative stress. *Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)*, 10(2), 285–299. <https://doi.org/10.2741/s516>
- Smagula, S. F., Stone, K. L., Fabio, A., & Cauley, J. A. (2016). Risk factors for sleep disturbances in older adults: Evidence from prospective studies. *Sleep Medicine Reviews*, 25, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2015.01.003>
- Smita, S. S., Raj Sammi, S., Laxman, T. S., Bhatta, R. S., & Pandey, R. (2017). Shatavarin IV elicits lifespan extension and alleviates parkinsonism in *Caenorhabditis elegans*. *Free Radical Research*, 51(11–12), 954–969. <https://doi.org/10.1080/10715762.2017.1395419>
- Solanki, I., Parihar, P., & Parihar, M. S. (2016). Neurodegenerative diseases: From available treatments to prospective herbal therapy. *Neurochemistry International*, 95, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.11.001>
- Solfrizzi, V., Agosti, P., Lozupone, M., Custodero, C., Schilardi, A., Valiani, V., ... Panza, F. (2018). Nutritional interventions and cognitive-related outcomes in patients with late-life cognitive disorders: A systematic review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 95, 480–498. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.10.022> Erratum in: *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2020, 108, 889. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.11.022>
- Souza, L. C., Andrade, M. K., Azevedo, E. M., Ramos, D. C., Bail, E. L., & Vital, M. A. B. F. (2022). Andrographolide attenuates short-term spatial and recognition memory impairment and neuroinflammation induced by a streptozotocin rat model of Alzheimer's disease. *Neurotoxicity Research*, 40(5), 1440–1454. <https://doi.org/10.1007/s12640-022-00569-5>
- Speers, A. B., Cabey, K. A., Soumyanath, A., & Wright, K. M. (2021). Effects of *Withania somnifera* (Ashwagandha) on stress and the stress-related neuropsychiatric disorders anxiety, depression, and insomnia. *Current Neuropharmacology*, 19, 1468–1495. <https://doi.org/10.2174/1570159X19666210712151556>
- Spelman, K., Sutherland, E., & Bagade, A. (2017). Neurological activity of Lion's mane (*Hericium erinaceus*). *Journal of Restorative Medicine*, 6, 19–26. <https://doi.org/10.14200/JRM.2017.6.0108>
- Stevinson, C., & Ernst, E. (2000). Valerian for insomnia: A systematic review of randomized clinical trials. *Sleep Medicine*, 1(2), 91–99. [https://doi.org/10.1016/s1389-9457\(99\)00015-5](https://doi.org/10.1016/s1389-9457(99)00015-5)

- Stohs, S. J. (2017). Safety, efficacy, and mechanistic studies regarding *Citrus aurantium* (bitter Orange) extract and p-synephrine. *Phytotherapy Research*, 31, 1463–1474. <https://doi.org/10.1002/ptr.5879>
- Subedi, L., Gaire, B. P., Parveen, A., & Kim, S. Y. (2021). Nitric oxide as a target for phytochemicals in anti-neuroinflammatory prevention therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4771. <https://doi.org/10.3390/ijms22094771>
- Surguchov, A., Bernal, L., & Surguchev, A. A. (2021). Phytochemicals as regulators of genes involved in synucleinopathies. *Biomolecules*, 11(5), 624. <https://doi.org/10.3390/biom11050624>
- Taka, E., Mazzio, E. A., Goodman, C. B., Redmon, N., Flores-Rozas, H., Reams, R., ... Soliman, K. F. (2015). Anti-inflammatory effects of thymoquinone in activated BV-2 microglial cells. *Journal of Neuroimmunology*, 286, 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.06.011>
- Tewari, D., Stankiewicz, A. M., Mocan, A., Sah, A. N., Tzvetkov, N. T., Huminiecki, L., ... Atanasov, A. G. (2018). Ethnopharmacological approaches for dementia therapy and significance of natural products and herbal drugs. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, 3. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00003>
- Thapa, K., Khan, H., Sharma, U., Grewal, A. K., & Singh, T. G. (2021). Poly (ADP-ribose) polymerase-1 as a promising drug target for neurodegenerative diseases. *Life Sciences*, 267, 118975. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118975>
- Tiwari, P., Ansari, V. A., Mahmood, T., & Ahsan, F. (2019). A review on taxonomical classification, phytochemical constituents and therapeutic potential of *Ficus religiosa* (Peepal). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(11), 5614–5620.
- Tsolaki, M., Karathanasi, E., Lazarou, I., Dovas, K., Verykoui, E., Karacostas, A., ... Sinakos, Z. (2016). Efficacy and safety of *Crocus sativus* L. in patients with mild cognitive impairment: One year single-blind randomized, with parallel groups, clinical trial. *Journal of Alzheimer's Disease*, 54(1), 129–133. <https://doi.org/10.3233/JAD-160304>
- Uddin, M. S., Kabir, M. T., Rahman, M. S., Behl, T., Jeandet, P., Ashraf, G. M., ... Abdel-Daim, M. M. (2020). Revisiting the amyloid cascade hypothesis: From anti-A β therapeutics to auspicious new ways for Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5858. <https://doi.org/10.3390/ijms21165858>
- Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., & Mahajan, R. T. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology* 2009, 7(1), 65–74. <https://doi.org/10.2174/157015909787602823>
- van Ginneken, V. (2017). Are there any biomarkers of aging? Biomarkers of the brain. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 1(1), 145–152. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2017.01.000151>
- Vazquez-Cervantes, G. I., Ortega, D. R., Blanco Ayala, T., de la Pérez Cruz, V., Esquivel, D. F. G., Salazar, A., & Pineda, B. (2021). Redox and anti-inflammatory properties from hop components in beer-related to neuroprotection. *Nutrients*, 13(6), 2000. <https://doi.org/10.3390/nu13062000>
- von Känel, R., Kasper, S., Bondolfi, G., Holsboer-Trachsler, E., Hättenschwiler, J., Hatzinger, M., ... Seifritz, E. (2021). Therapeutic effects of Silexan on somatic symptoms and physical health in patients with anxiety disorders: A meta-analysis. *Brain and Behavior: A Cognitive Neuroscience Perspective*, 11(4), e01997. <https://doi.org/10.1002/brb3.1997>
- Wachtel-Galor, S., Tomlinson, B., & Benzie, I. F. (2004). *Ganoderma lucidum* ('Lingzhi'), a Chinese medicinal mushroom: Biomarker responses in a controlled human supplementation study. *The British Journal of Nutrition*, 91(2), 263–269. <https://doi.org/10.1079/BJN20041039>
- Wahab, S., Annadurai, S., Abullais, S. S., Das, G., Ahmad, W., Ahmad, M. F., ... Amir, M. (2021). *Glycyrrhiza glabra* (Licorice): A comprehensive review on its phytochemistry, biological activities, clinical evidence and toxicology. *Plants*, 10, 2751. <https://doi.org/10.3390/plants10122751>
- Wang, D., Yuan, X., Liu, T., Liu, L., Hu, Y., Wang, Z., & Zeng, Q. (2012). Neuroprotective activity of lavender oil on transient focal cerebral ischemia in mice. *Molecules*, 7(8), 9803–9817. <https://doi.org/10.3390/molecules7089803>
- Wong, J. H., Barron, A. M., & Abdullah, J. M. (2021). Mitoprotective effects of *Centella asiatica* (L.) Urb.: Anti-inflammatory and neuroprotective opportunities in neurodegenerative disease. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 687935.
- Wyant, K. J., Ridder, A. J., & Dayalu, P. (2017). Huntington's disease—update on treatments. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 17(4), 33. <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0739-9>
- Wyss-Coray, T. (2016). Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature*, 539(7628), 180–186. <https://doi.org/10.1038/nature20411>
- Xu, P., Wang, K., Lu, C., Dong, L., Gao, L., Yan, M., ... Liu, X. (2017). The protective effect of lavender essential oil and its main component linalool against the cognitive deficits induced by D-galactose and aluminum trichloride in mice. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 7426538. <https://doi.org/10.1155/2017/7426538>
- Yin, R., Xue, J., Tan, Y., Fang, C., Hu, C., Yang, Q., ... Qi, D. (2021). The positive role and mechanism of herbal medicine in Parkinson's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 9923331. <https://doi.org/10.1155/2021/9923331>
- Yuan, C., Shin, M., Park, Y., Choi, B., Jang, S., Lim, C., ... Cho, K. S. (2021). Linalool alleviates A β 42-induced neurodegeneration via suppressing ROS production and inflammation in fly and rat models of Alzheimer's disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 8887716. <https://doi.org/10.1155/2021/8887716>
- Zhang, G. F., Zhang, Y., & Zhao, G. (2015). Crocin protects PC12 cells against MPP(+)-induced injury through inhibition of mitochondrial dysfunction and ER stress. *Neurochemistry International*, 89, 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.07.011>
- Zhang, S., Kou, X., Zhao, H., Mak, K.-K., Balijepalli, M. K., & Pichika, M. R. (2022). *Zingiber officinale* var. *rubrum*: Red Ginger's medicinal uses. *Molecules*, 27, 775. <https://doi.org/10.3390/molecules27030775>
- Zhang, X. Z., Qian, S. S., Zhang, Y. J., & Wang, R. Q. (2016). *Salvia miltiorrhiza*: A source for anti-Alzheimer's disease drugs. *Pharmaceutical Biology*, 54, 18–24. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1027408>
- Zhang, Y., Zhao, J., Afzal, O., Kazmi, I., Al-Abbasi, F. A., Altamimi, A. S. A., & Yang, Z. (2021). Neuroprotective role of chrysin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticle against kindling-induced epilepsy through Nrf2/ARE/HO-1 pathway. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35(2), e22634. <https://doi.org/10.1002/jbt.22634>
- Zhong, G., Naismith, S. L., Rogers, N. L., & Lewis, S. J. (2011). Sleep-wake disturbances in common neurodegenerative diseases: A closer look at selected aspects of the neural circuitry. *Journal of the Neurological Sciences*, 15(1–2), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2011.04.020>
- Ziegler, G., Ploch, M., Miettinen-Baumann, A., & Collet, W. (2002). Efficacy and tolerability of valerian extract LI 156 compared with oxazepam in the treatment of non-organic insomnia – A randomized, double-blind, comparative clinical study. *European Journal of Medical Research*, 7(11), 480–486.

How to cite this article: Acero, N., Ortega, T., Villagrasa, V., Leon, G., Muñoz-Mingarro, D., Castillo, E., González-Rosende, M. E., Borrás, S., Rios, J. L., Bosch-Morell, F., & Martínez-Solís, I. (2023). Phytotherapeutic alternatives for neurodegenerative dementias: Scientific review, discussion and therapeutic proposal. *Phytotherapy Research*, 1–36. <https://doi.org/10.1002/ptr.7727>

