

## ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO TOTAL DE FENOLES DE VARIOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PLANTAS MEDICINALES

### ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOL CONTENT OF VARIOUS ETHANOL EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS

ALEXANDER GUTIÉRREZ MOSQUERA\*, MSc QUÍMICO, NAYIVE PINO BENÍTEZ\*, MSc BIÓLOGA, JOSÉ ARIEL CUESTA LEMOS\*, BIOL

#### RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la capacidad antioxidante y el contenido total de fenoles de extractos etanólicos de cinco plantas medicinales colectadas en el Chocó.

**Materiales y métodos:** Para evaluar la actividad antioxidante se midió el potencial para estabilizar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y el contenido fenólico total se cuantificó utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu.

**Resultados:** Se encontraron valores entre 2.17-19.6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para la  $\text{IC}_{50}$ . Las especies *Bellucia pentamera* Naudin, *Vismia macrophylla* Kunth y *Zyzygium malaccensis*, mostraron mayor capacidad para estabilizar el radical DPPH, al comparar su actividad con la de la vitamina E, con  $\text{IC}_{50}$  de 2.17, 2.54 y 4.93  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectivamente. La correlación entre la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles fue  $R^2=0.9965$ .

**Conclusión:** Los extractos etanólicos de las hojas de *Bellucia pentamera*, *Vismia macrophylla* y *Zyzygium malaccensis*, presentaron mayor capacidad para estabilizar el radical DPPH que el patrón utilizado. A su vez, tuvieron el mayor contenido de compuestos fenólicos.

**Palabras clave:** Actividad antioxidante; Radical DPPH; Compuestos fenólicos.

#### ABSTRACT

**Objective:** We evaluated the antioxidant activity and total phenolic content in ethanolic extracts of five medicinal plants collected in the Chocó region.

**Materials and methods:** Antioxidant activity was evaluated by measuring extract's the potential to stabilize 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH), and total phenolic content was measured using Folin-Ciocalteu reagent.

**Results:** We found values of  $\text{IC}_{50}$  were in the range of 2,17 to 19,6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The species *Bellucia pentamera*, *Vismia macrophylla* and *Zyzygium malaccensis*, showed greater ability to stabilize the DPPH radical by comparing their activity with that of vitamin E, with  $\text{IC}_{50}$  values of 2,17, 2,54 and 4,93  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively. We found a strong linear correlation between contents and antioxidant activity of phenolic compounds. The correlation between antioxidant activity and total phenolic content was  $R^2=0.9965$ .

**Conclusion:** Ethanol extract of leaves *Bellucia pentamera*, *Vismia macrophylla* and *Zyzygium malaccensis* showed greater ability to stabilize the DPPH radical than the standard used. In turn, studied extracts had a high content of phenolic compounds.

**Keywords:** Antioxidant capacity; DPPH radical; Phenolic compounds.

#### INTRODUCCIÓN

La oxidación de biomoléculas se ha relacionado con el exceso de radicales libres en el organismo; este proceso oxidativo puede ocasionar efectos destructivos y/o mortales debido a la oxida-

ción de membranas lipídicas, proteínicas y ácidos nucleicos (Antolovich *et al.* 2002). Así, la oxidación de moléculas biológicas se ha asociado a diversas enfermedades degenerativas (Pratico y Delanty 2000) como cáncer, enfermedades cardíacas, inflamación, artritis, disfunción

\* Laboratorio de Productos Naturales, Programa de Biología y Química, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Colombia. Centro de Investigación de Excelencia CENIVAM.

e-mail: alexander.gutierrezm@gmail.com nayivepino@yahoo.com josea77@hotmail.com

Fecha de recibido: Diciembre 16, 2010

Fecha de aprobación: Abril 21, 2011

cerebral, aceleración del envejecimiento, cataratas, asma, bronquitis, aterosclerosis, entre otras (Finkel y Holbrook 2000, Ames *et al.* 1993, Franke 1991, Fraga *et al.* 1990). Además de provocar alteraciones perjudiciales en los organismos, la oxidación produce cambios en el sabor, el color, la textura y el valor nutricional de los alimentos (Madhavi *et al.* 1996, Jialal y Devaraj 1996). La oxidación es una de las principales causas del deterioro de pinturas, aceites lubricantes, fibras sintéticas, cauchos y plásticos (Nishiyama *et al.* 2001).

La acción oxidativa que producen los radicales libres puede ser neutralizada por antioxidantes de origen natural o sintético (Wilms *et al.* 2005, Sierens *et al.* 2002, Da Silva *et al.* 2002). De fuentes naturales podemos mencionar sistemas enzimáticos como la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa, la lactoferrina, quinonas reductasas y hemoxigenasa, y de sistemas no enzimáticos, el ácido ascórbico, el  $\alpha$ -tocoferol, carotenoides, flavonoides, selenio y zinc (Yilmaz *et al.* 2003, Kim *et al.* 2003, Szeto *et al.* 2002). De origen sintético tenemos el butil hidroxitolueno (BHT), el butil hidroxianisol (BHA), la tert-butilhidroquinona (TBHQ) y el galato de propilo (PG), que son los antioxidantes de mayor uso en los productos alimenticios y farmacéuticos (Zainol *et al.* 2003, Pokorny *et al.* 2001, Fuchs 1998). Se ha informado que estas sustancias ocasionan efectos secundarios en humanos y animales, como el aumento del colesterol, hepatomegalia e inducción de cáncer hepático, entre otras (Stefanidou *et al.* 2003, Bush 1998, Ito *et al.* 1983). A causa de estos efectos es necesario encontrar nuevas y mejores sustancias con propiedades antioxidantes y que no tengan efectos citotóxicos ni genotípicos.

Una alternativa válida en la búsqueda de compuestos con capacidad antioxidante son los vegetales, porque contienen sustancias que estabilizan los radicales libres como las vitaminas,

los ácidos fenólicos, los flavonoides, las quinonas, las cumarinas, los lignanos, los estilbenos, los taninos, los alcaloides, las aminas e incluso ciertos terpenoides (Cai *et al.* 2006, Bandonien y Murkovicub, 2002, Parejo *et al.* 2000).

Entre las innumerables plantas de uso medicinal están *Bellucia pentamera*, *Vismia macrophylla*, *Zyzygium malaccensis*, *Sympmania globurifera* y *Manekia sydowii*, que se utilizan para el tratamiento de algunas enfermedades; por ejemplo, *V. macrophylla* Kunth se emplea para la diarrea y el dolor abdominal (Ruysschaert *et al.* 2009); *Z. malaccensis* se usa para tratar la anemia, la astringencia, la fiebre, el comezón, el catarrro pulmonar, la tos, el dolor de garganta, el dolor de cabeza, la disentería, la diabetes (Noreen *et al.* 1998, Dunstan *et al.* 1997, Campelo 1988, Pino 2009); *S. globurifera* se utiliza como laxante para mujeres embarazadas, tónico general y cicatrizar úlceras y abscesos en la piel (Aubreville 1950, Irvine 1961); *Bellucia pentamera* Naudin se emplea contra las afecciones de los ojos, la gastritis, paludismo y tifo (Ayala 2009, Murillo y Mosquera 2004); y *M. sydowii* se utiliza para el tratamiento de la erisipela, las hemorragias y la fiebre (Pino 2009, Muñoz *et al.* 2000).

El propósito de este estudio fue evaluar la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *B. pentamera*, *V. macrophylla*, *Z. malaccensis*, *S. globurifera* y *M. sydowii*, buscando nuevas fuentes naturales de sustancias con capacidad antioxidante y una posible relación entre el contenido fenólico y la actividad antioxidante.

## METODOLOGÍA

**Reactivos.** El 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH), la vitamina E (97%), reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico y etanol (96%) se adquirieron de SIGMA®.

Tabla 1

Familia, nombre científico, nombre vulgar y parte utilizada de la planta de las especies estudiadas

Familia	Nombre científico	Nombre vulgar	Parte utilizada de la planta	Nº Col
Clusiaceae	<i>Vismia macrophylla</i> Kunth	Manchara	Hojas	520026
Moraceae	<i>Zyzygium malaccensis</i> (L.) M. & P	Marañón	Hojas	520016
Clusiaceae	<i>Sympmania globurifera</i> L. F	Chucho Nuevo	Corteza	520024
Melastomataceae	<i>Bellucia pentamera</i> Naudin	Coronillo	Hojas y fruto maduro	522535
Piperaceae	<i>Manekia sidowii</i> (Trel) Arias, Callejas & Bornst		Hojas	520002

**Material vegetal.** Se trabajó con el extracto etanólico de *Bellucia pentamera*, *Vismia macrophylla*, *Zyzygium malaccensis*, *Sympmania globurifera* y *Manekia sidowii*, especies vegetales colectadas en el departamento del Chocó. Un ejemplar de cada una de ellas se envió al Herbario Nacional de Colombia, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, para su determinación taxonómica. El nombre científico, el vulgar, la parte utilizada de la planta, así como el código de referencia asignado en el herbario, aparecen consignados en la Tabla 1.

**Preparación del material vegetal y obtención de los extractos.** Las muestras vegetales se secaron a 40°C el mismo día de la recolección en un horno con aire circulante durante 72 horas. Después de secas, se cortaron en pequeños trozos y se mezclaron con etanol en una proporción 1:15 a temperatura ambiente. A partir de esta solución se dispusieron para la determinación de la actividad antioxidante y contenido total de fenoles.

**Actividad antirradical (Método del DPPH).** En este ensayo se aplicó el método descrito por Bounatirou *et al.* (2007), con algunas modificaciones. Se preparó una solución de DPPH 30 µg/ml en etanol, tres ml de esta solución se adicionaron a 1.5 ml del extracto vegetal a diferentes concentraciones (1-30 µg/ml). Después de 30 mi-

nutos de incubación a temperatura ambiente y en la oscuridad, se determinó la absorbancia a 517 nm, utilizando etanol como blanco. Las concentraciones de DPPH correspondientes a las absorbancias medidas, se determinaron mediante interpolación en una curva de calibración construida con soluciones de DPPH de 1-30 µg/ml. La concentración de DPPH remanente se determinó a través de la ecuación 1:

$$\text{Absorbancia} = 0.039 C_{\text{DPPH}} (\mu\text{g/ml}) - 0.012 \quad (r = 0.999)$$

La capacidad para estabilizar el radical se expresó en porcentaje, utilizando la ecuación 2:

$$\% \text{ CERL} = [(C_{\text{DPPH}} - C_{\text{muestra}})/C_{\text{DPPH}}] \times 100$$

donde:

CERL = capacidad estabilizadora de radicales libres

$C_{\text{muestra}}$  = concentración de la muestra

$C_{\text{DPPH}}$  = concentración del control

Los ensayos se realizaron por triplicado y se promediaron las lecturas. Con estos datos y aplicando regresión lineal, se determinó la concentración a la cual el extracto puede inhibir el 50% de las especies radicales presentes ( $CI_{50}$ ). La vitamina E se utilizó como referencia.

**Contenido fenólico total.** El contenido total de compuestos fenólicos en los extractos se deter-

**Tabla 2**  
**Capacidad estabilizadora del radical DPPH a diferentes concentraciones y concentración inhibitoria de los extractos vegetales y vitamina E**

Muestra	Concentraciones ( $\mu\text{g/ml}$ )					$\text{CI}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
	1	5	10	20	30	
Vitamina E	36,82 $\pm$ 0,33	42,44 $\pm$ 0,51	52,46 $\pm$ 0,49	72,19 $\pm$ 0,10	89,24 $\pm$ 0,10	8,53
<i>Bellucia pentamera</i> Naudin (hojas)	41,32 $\pm$ 1,31	58,80 $\pm$ 0,20	64,32 $\pm$ 0,23	89,99 $\pm$ 0,27	92,59 $\pm$ 0,36	2,17
<i>Bellucia pentamera</i> Naudin (fruto maduro)	42,57 $\pm$ 0,25	43,53 $\pm$ 0,19	48,95 $\pm$ 0,74	49,17 $\pm$ 0,89	53,89 $\pm$ 0,65	19,6
<i>Vismia macrophylla</i> Kunth (fruto maduro)	40,99 $\pm$ 0,46	55,02 $\pm$ 2,19	77,40 $\pm$ 1,87	83,53 $\pm$ 0,63	88,63 $\pm$ 0,13	2,54
<i>Symponia globurifera</i> LF (corteza)	37,17 $\pm$ 0,30	42,42 $\pm$ 0,19	46,70 $\pm$ 0,29	56,24 $\pm$ 0,33	63,34 $\pm$ 0,38	14,14
<i>Manekia sydowii</i> (ramas)	48,98 $\pm$ 0,07	49,27 $\pm$ 0,11	49,57 $\pm$ 0,06	50,26 $\pm$ 0,04	51,28 $\pm$ 0,16	15,06
<i>Syzygium malaccensis</i> (hojas) (L) M & P	43,63 $\pm$ 0,72	49,18 $\pm$ 2,41	59,21 $\pm$ 2,25	77,30 $\pm$ 1,85	95,12 $\pm$ 1,02	4,93

Los datos mostrados son promedios  $\pm$  DE (desviación estándar) de determinaciones por triplicado

minó con el reactivo de Folin-Ciocalteu, de acuerdo con el procedimiento descrito por Erdemoglu *et al.* (2009). Un ml del extracto de la muestra vegetal preparado a 40 mg/l se aforó con agua a 50 ml. Un ml de esta solución se mezcló con 2.5 ml del reactivo Folin-Ciocalteu. Después de cinco minutos de incubación a temperatura ambiente, se añadió 1.5 ml de carbonato de sodio al 7.5% y se dejó dos horas en la oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente, la absorbancia se midió a 760 nm y se interpoló en una curva de calibrado preparada con ácido gálico (1-40 mg/l). La concentración total fenólica se determinó usando la ecuación 3:

$$\text{Absorbancia} = 0.002 \text{ acido gálico (mg/l)} + 0.005 \quad (r = 0.998)$$

El contenido fenólico de los extractos se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de vegetal (mg EAG/g). Los datos son expresados como medias de las pruebas hechas por triplicado.

## RESULTADOS

La Tabla 2 muestra los valores obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante, expresados como porcentajes de «Capacidad Estabilizadora de Radicales Libres» (CERL), así

como también la Concentración Inhibitoria ( $\text{CI}_{50}$ ) de los diferentes extractos vegetales y vitamina E, frente al radical DPPH. En la Tabla 3 hace lo propio con los resultados de contenido fenólico total que son expresados en mg de ácido gálico/g de muestra vegetal seca.

## DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se observa que todos los extractos etanólicos tuvieron una actividad antioxidante significativa, especialmente los de las hojas de *B. pentamera*, *V. macrophylla* y *Z. malaccensis*, porque presentaron mejor actividad antioxidante que la vitamina E, utilizada como patrón. En estos mismos extractos vegetales se detectaron los niveles más altos de fenoles (Tabla 3).

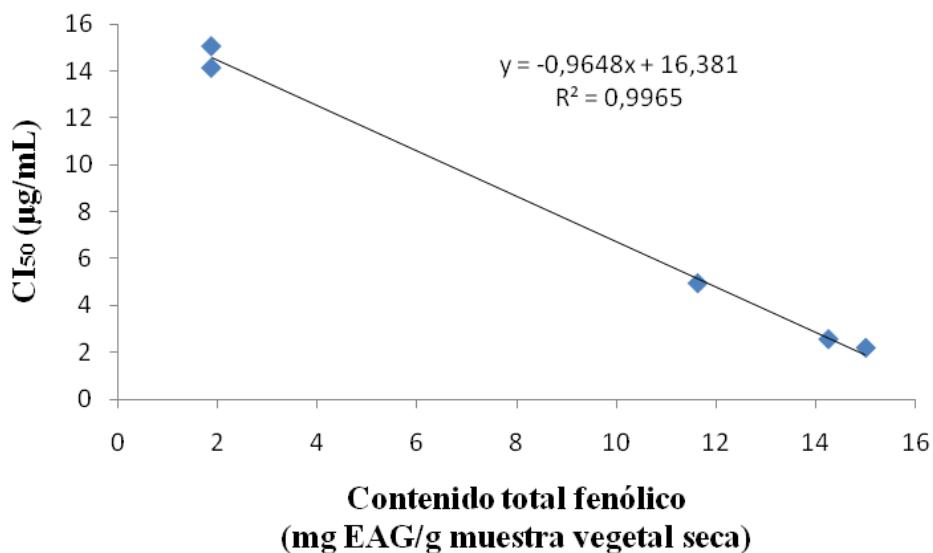
La regresión lineal entre  $\text{CI}_{50}$  y el contenido fenólico total presentaron una correlación estadísticamente significativa  $R^2=0.9965$ ,  $Y=-0.9648x+16.381$  (Figura 1). Este resultado sugiere que 99.6% de la capacidad antioxidante de los extractos es ocasionado por los compuestos fenólicos. El porcentaje restante puede provenir de la presencia de otros metabolitos antioxidantes, tales como vitaminas y alcaloides, entre otros.

La correlación entre la actividad antioxidante y

**Tabla 3**  
**Contenido fenólico total de los diferentes extractos vegetales**

Extractos	Contenido de fenoles totales (mg EAG/g muestra planta seca)
<i>Bellucia pentamera</i> Naudin (hojas)	15,00 ± 0,66
<i>Vismia macrophylla</i> Kunth	14,25 ± 1,16
<i>Zyzygium malaccensis</i> (L.) M & P	11,63 ± 0,57
<i>Symphonia globurifera</i> LF	1,88 ± 0,57
<i>Manekia sydowii</i>	1,88 ± 0,89
<i>Bellucia pentamera</i> Naudin (fruto maduro)	nd

nd: no detectada Los datos mostrados son promedios ± DE (desviación estándar) de determinaciones por triplicado



**Figura 1.** Correlación de la capacidad antioxidante con respecto al contenido fenólico total.

el contenido de fenoles ha sido ampliamente reportada en la literatura (Wong *et al.* 2006, Huang *et al.* 2005, Wang y Lin 2000, Imeh y Khokhar 2002, Wada y Ou 2002, Pinelo *et al.* 2004, Roberts y Gordon 2003).

Los compuestos fenólicos tales como las quercetinas, catequinas, tocoferoles y los ácidos caféico, ferúlico, vainílico, ácidos gálico y ácidos clorogénico, entre otros, son componentes vegetales altamente reconocidos por su capacidad antioxidante (Sokmen *et al.* 2005, Pyo *et al.* 2004, Croft 1998, Paganga *et al.* 1999).

La actividad antioxidante de los fitofenoles se debe sobre todo a sus propiedades redox, que les permiten actuar como agentes reductores, donadores de hidrógenos y estabilizadores de radicales oxigenados. También presenta la habilidad para quelar metales, aunque se considera el mecanismo menos influyente en su acción como antioxidante (Rice-Evans 1995, Pardo *et al.* 2005, Sokmen *et al.* 2005).

Estudios fitoquímicos han demostrado que las plantas evaluadas presentan compuestos fenólicos, como por ejemplo, *V. macrophylla* contie-

ne flavonoides, taninos (Pino y Córdoba 2007); *Z. malaccensis* contiene antocianinas, catequinas, mirciatricinas, quercitinas, miracetinas, antocianinas, ácido elágico (Augusta *et al.* 2010, Forti *et al.* 2009); *S. globurifera* contiene flavonoides, taninos, xantonas (Pino 2009, Agustín *et al.* 2002); la *M. sidowii* contiene taninos, cumarinas (Pino 2009) y la *B. pentamera* contiene taninos, cumarinas, flavonoides (Pino 2009, Isaza *et al.* 2007).

## CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de las hojas de *Bellucia pentamera*, *Vismia macrophylla* y *Zyzzygium malaccensis*, presentaron mayor capacidad para estabilizar el radical DPPH que el patrón utilizado. A su vez, tuvieron el mayor contenido de compuestos fenólicos.

Existe una relación lineal entre la actividad antioxidante y el contenido fenólico total de los extractos evaluados, lo que indica que los compuestos fenólicos son los principales contribuyentes a las propiedades antioxidantes de estos vegetales.

La actividad que mostraron los vegetales podría fundamentarse no solo en los diferentes mecanismos ejercidos por compuestos fenólicos, sino además al efecto sinergístico o inhibidor del conjunto de metabolitos presentes en las plantas.

Las especies que presentaron mejor actividad podrían ser fuentes naturales importantes de sustancias con capacidad antioxidante y ameritan un proceso de aislamiento e identificación de los metabolitos activos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Chocó, a Colciencias por su apoyo financiero, al Centro de Investiga-

ción de Excelencia CENIVAM, a la Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia y al Grupo de Investigación en Productos Naturales (GIPRONUT) de la Universidad del Tolima.

## NOMENCLATURA

°C = grados centígrados  
EAG = equivalentes de ácido gálico  
g = gramos  
mg = miligramos  
ml = mililitros  
r = Coeficiente de correlación  
R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinación  
μg = microgramos  
% = porcentajes

## LITERATURA CITADA

- Ames B, Shigenaga M, Hagen T. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging. *Proc Natl Acad Sci USA.* 90: 7915-22.
- Antolovich M, Prenzler P, Patsalides E, McDonald S, Robards K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst.* 127: 183-98.
- Aubreville A. 1950. *Flore Forestière Soudano-Guinéenne A. O. F. Cameroun.* AEF Paris: Société d' Edition Géographique Maritime et Coloniale; p. 1597-1601.
- Augusta I, Resende J, Borges S, Antun M, Peixoto M. 2010. Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merril & Perry) *Ciênc Tecnol Aliment.* 30 (4): 928-32.
- Ayala A. 2009. *Análisis fitoquímico preliminar y formas de uso de Bellucia pentamera Naudin.* (Trabajo de grado). Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Chocó. 57 p.
- Bandonien D, Murkovicub M. 2002. The detection of radical scavenging compounds in crude extract of borage (*Borago officinalis* L.) by using an on-line HPLC-DPPH method. *J Biochem Biophys Methods.* 53 (1-3): 65-70.
- Bounatirou S, Smiti S, Miguel M, Faleiro L, Reje M, Costa M, *et al.* 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chem.* 105: 146-55.
- Bush R, Taylor S. 1998. *Adverse reactions to food and*

- drug additives, in allergy: principles and practice. 5th Edition. Missouri: Ed. Mosby.
- Cai Y, Sun M, Xing J, Luo Q, Corke H. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci.* 78 (25): 2872-88.
- Campelo C. 1988. Contribuição ao estudo das plantas medicinais no Estado de Alagoas V. *Acta-Amazonica 18 (Supl)*: 305-12.
- Croft K. 1998. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann NY Acad Sci.* 854: 435-42.
- Da Silva J, Herrmann S, Heuser V, Peres W, Possa M, González-Gallego J. 2002. Evaluation of the genotoxic effect of rutin and quercetin by comet assay and micronucleus test. *Food Chem Toxicol.* 40: 941-7.
- Dunstan C, Noreen Y, Serrano G, Cox P, Perera P, Bohlin L. 1997. Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rat ear oedema assays. *J Ethnopharmacol.* 57: 35-56.
- Erdemoglu N, Turanb N, Akkol E, Senera B, Abacýoglu N. 2009. Estimation of anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities on *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. *Minus* *J Ethnopharmacol.* 121: 318-23.
- Finkel T, Holbrook N. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 408: 239-47.
- Forti S, Neves E, Alves L, Dias N, Nascimento A. 2009. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acarí: Ixodidae) em laboratorio. *Rev Bras Parasitol Vet.* 18 (4): 44-8.
- Fraga C, Shigenaga M, Park J, Degan P, Ames B. 1990. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-20-deoxyguanosine in rat organ DNA and Urine. *Proc Natl Acad Sci USA.* 87: 4533-7.
- Franke E. 1991. Review. Recent advances in lipid oxidation. *J Sci Food Agric.* 54: 495-511.
- Fuchs J. 1998. Potentials and limitations of the natural antioxidants  $\alpha$ -tocopherol, L-ascorbic acid and  $\beta$ -caroteno in cutaneus photoprotection. *Free Radic Biol Med.* 25 (7): 848-73.
- Huang D, Ou B, Prior R. 2005. Review. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem.* 53: 1841-56.
- Imeh U, Khokhar S. 2002. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *J Agric Food Chem* 50: 6301-6.
- Irvine F. 1961. *Woody plants of Ghana*. London: Oxford University Press; p. 150-1.
- Ito N, Fukushima S, Hasegawa A, Shibata M, Ogiso T. 1983. Carcinogenecity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J Natl Cancer Inst.* 70: 343-7.
- Isaza J, Veloza L, Ramírez L, Guevara C. 2007. Estimación espectrofotométricaa de taninos hidrolizables y condensados en plantas melastomatáceas. *Sci Tech. XIII* (33): 261-6.
- Jialal I, Devaraj S. 1996. Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants and atherosclerosis: A clinical biochemistry perspective. *Clin Chem.* 42: 498-506.
- Kim K, Lee S, Lee Y, Jung S, Parque Y, et al. 2003. Antioxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. *J Ethnopharmacol.* 85 (1): 69-72.
- Madhavi D, Deshpande S, Salunkhe D. 1996. *Food antioxidants, technological, toxicological and health perspectives*. New York: Ed. Marcel Decker Inc; p. 1-75.
- Muñoz V, Sauvain M, Bourdy G. 2000. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach: Part III. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by Alteños Indians. *J Ethnopharmacol.* 71: 123-31.
- Murillo V, Mosquera B. 2004. *Estudio etnobotánico y análisis bromatológico de la especie *Bellucia axinanthera* «coronillo» en bosques pluvial tropical del municipio de Condoto, corregimiento de Opogodó, Chocó, Colombia*. (Trabajo de grado). Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Tecnológica del Chocó, Opogodó, Chocó. 122 p.
- Nishiyama T, Sugimoto T, Andoh Y. 2001. Antioxidant activity of phenols in intramolecularly cooperating stabilizing systems. *Polym Degrad Stab.* 74: 189-93.
- Noreen Y, Serrano G, Perera P, Bohlin L. 1998. Flavan-3-ols isolated from some medicinal plants inhibiting COX- 1 and COX-2 catalysed prostaglandin biosynthesis. *Planta Med* 64: 520-4.
- Nkengfack A, Mkounga P, Meyer M, Fomumy Z. 2002. Globulixanthones C, D y E: tres xantonas prenylados con propiedades antimicrobianas de la corteza de la raíz del *Sympodia globulifera*. *Fitoquímica.* 6 (2): 187-7.
- Pardo G, Delgado R, Velho J, Inada N, Curti C, Vercesi A. 2005. *Mangifera indica* L. extract (Vimang) inhibits  $Fe^{2+}$ -citrate-induced lipoperoxidation in isolated rat liver mitochondria. *Pharmacol Res.* 51 (5): 427-35.
- Paganga G, Miller N, Rice-Evans C. 1999. The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving consti-

- tute? *Free Radic Res.* 30:153-62.
- Parejo I, Codina C, Petrakis C, Kefalas, P. 2000. Evaluation of scavenging activity assessed by Co (II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)free radical assay. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 44 (3): 435-8.
- Pinelo M, Monzocco L, Nuñez M, Nicoli M. 2004. Interaction among phenolics in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity. *J Agric Food Chem.* 52: 1177-80.
- Pino N. 2009. *Plantas útiles en el departamento del Chocó. Parte: I Extractos.* Medellín: Editorial Uryco Ltda; 312 p.
- Pino N, Córdoba Y. 2007. Actividad antimicrobiana y fitoquímica preliminar de plantas utilizadas como colorantes en el municipio de Quibdó, Chocó. *Sci Tech. XIII* (33): 387-90.
- Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. 2001. *Antioxidants in food: Practical applications.* Cambridge: CRC Press, Woodhead Publishing Limited; 380 p.
- Pratico D, Delanty N. 2000. Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease. *Am J Med* 109: 577-85.
- Pyo Y, Lee T, Logendra L, Rosen R. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chem.* 85 (19): 19-26.
- Rice-Evans C, Miller N, Bolwell P, Bramley P, Pridham J. 1995. The relative antioxidant activities of plantderived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res.* 22: 375-83.
- Roberts W, Gordon M. 2003. Determination of the antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. *J Agric Food Chem.* 51: 1486-93.
- Sierens J, Hartley J, Campbell M, Leatherman A. 2002. *In vitro* isoflavone supplementation reduces hydrogen peroxide induced DNA damage in sperm. *Teratog* *Carcinog Mutagen.* 22: 227-34.
- Sokmen M, Angelova M, Krumova E, Pashova S, Ivancheva S, Sokmen A, *et al.* 2005. *In vitro* antioxidant activity of polyphenol extracts with antiviral properties from *Geranium sanguineum* L. *Life Sci.* 76 (25): 2981-93.
- Stefanidou M, Aleviopoulos G, Chatzioannou A, Koutselinis A. 2003. Assessing food additive toxicity using a cell model. *Vet Human Toxicol.* 45: 103-5.
- Szeto Y, Collins A, Benzie L. 2002. Effects of dietary antioxidants on DNA damage in lysed cells using a modified comet assay procedure. *Mutat Res.* 500: 31-8.
- Wada L, Ou B. 2002. Antioxidant activity and phenolic content of Oregon Caneberries. *J Agric Food Chem.* 50: 3495-500.
- Wang S, Lin H. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and development stage. *Chem J Agric Food Chem.* 48: 140-6.
- Wilms L, Hollman P, Boots A, Leijen J. 2005. Protection by quercetin and quercetin rich juice against induction of oxidative DNA damage and formation of BPDE-DNA adducts in human lymphocytes. *Mutat Res.* 582: 155-62.
- Wong C, Li H, Cheng K, Chen F. 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 97: 705-11.
- Yilmaz S, Ozan S, Benzer F, Canatan H. 2003. Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. *Cell Biochem Funct.* 21: 325-40.
- Zainol M, Abd-hamid A, Yusof S, Muse R. 2003. Antioxidant activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.) urban. *Food Chem.* 81 (4): 575-91.