

Análisis fitoquímico preliminar y actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa del extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. (Rutaceae)

Preliminary phytochemical analysis and antioxidant, antiinflammatory and antiproliferative activities of the bark ethanol extracts of *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. (Rutaceae)

Víctor Enrique Macías Villamizar,^I Ericsson David Coy Barrera,^{II} Luís Enrique Cuca Suárez^{III}

^I Magister en Ciencias Químicas. Grupo de Fitoquímica. Universidad del Magdalena. Santa Marta, Magdalena, Colombia.

^{II} Doctor en Ciencias Químicas. Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Militar Nueva Granada. Cundinamarca, Colombia.

^{III} Doctor en Ciencias Químicas. Grupo de Productos Naturales Vegetales. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

RESUMEN

Introducción: la especie *Z. fagara*, que presenta múltiples usos etnobotánicos y diversidad de metabolitos secundarios, se convierte en objeto de estudio promisorio a nivel fitoquímico y(o) farmacológico.

Objetivo: detectar la posible presencia de ciertos grupos de metabolitos secundarios mediante análisis fitoquímico preliminar y evaluar la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa del extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. (Rutaceae).

Métodos: el extracto de corteza se sometió a un análisis fitoquímico preliminar, evaluándose mediante ensayos de actividad antioxidante (DPPH, TBARS y peroxidación inducida con FeSO₄), antiinflamatoria (edema de oreja de ratón inducido con TPA) y antiproliferativa (se trataron células tumorales, y se usó proteína sulforrodamina B [SRB] en ensayo de microcultivo, se midió viabilidad y crecimiento celular).

Resultados: en el extracto se detectó la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos y terpenos, principalmente. La actividad antioxidante, a concentraciones de 10, 100 y 1 000 ppm, exhibió porcentajes de inhibición de 14,9; 84,5 y 92,5 %,

respectivamente (frente al DPPH); de 92,8 % (a 1 000 ppm) (prueba TBARS), y de 4,2; 47,1 y 93,9 %, respectivamente, en la peroxidación inducida con FeSO₄. La actividad antiinflamatoria mostró 45,3 %, y en el caso de la antiproliferación fue moderadamente activo contra las líneas celulares cancerosas K562, con valor de 55,5 %. En otras líneas evaluadas (U251, PC-3, HCT-15, MCF-7, y SKUL) el porcentaje fue inferior a 50 %.

Conclusiones: se evidenció la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos y terpenos. La capacidad antioxidante y antiinflamatoria fue representativa a concentraciones superiores a 100 ppm, mientras que la actividad antiproliferativa fue moderadamente efectiva contra líneas de células cancerosas leucémicas K562.

Palabras clave: análisis fitoquímico, actividad antioxidante, actividad antiproliferativa, actividad antiinflamatoria, *Zanthoxylum*, Rutaceae.

ABSTRACT

Introduction: the *Z. fagara* species having multiple ethnobotanical uses, and a variety of secondary metabolites becomes a promising object of study at phytochemical and/or pharmacological settings.

Objectives: to detect the possible presence of certain groups of secondary metabolites by means of a preliminary phytochemical analysis and to evaluate the antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activities of the ethanolic extract from *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. (Rutaceae) bark.

Methods: the bark extract underwent preliminary phytochemical analysis using tests to evaluate antioxidant action (DPPH, TBARS test and FeSO₄-induced peroxidation), anti-inflammatory activity (using mouse ear edema induced by acetate 12-*O*-tetradecanoylphorbol, TPA) and antiproliferative property (in treating tumor cells, sulphorodamine B protein (SRB) in microculture assay was used in addition to measuring cell viability and growth).

Results: alkaloids, flavonoids, tannins and terpenes were found in the extract. The antioxidant activity at 10, 100 and 1000 ppm concentrations, exhibited inhibition percentages of 14.9; 84.5 and 92.5 % respectively [compared to DPPH]; 92.8 % (1 000 ppm) [TBARS test], and 4.2; 47.1; and 93.9 %, respectively, in the FeSO₄-induced peroxidation. The anti-inflammatory activity showed inhibition percentage of 45.3 %, and in the case of anti-proliferation, the extract was moderately active against cancer cell lines K562, being the inhibition percentage equals to 55.5 %. In the other tested lines (U251, PC-3, HCT-15, MCF-7, and Skule) the inhibition percentage was lower than 50 %.

Conclusions: the preliminary phytochemical testing showed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins and terpenes. Antioxidant and anti-inflammatory properties were observed at above 100 ppm extract concentrations, whereas the antiproliferative activity was moderately effective against leukemia cancer cell lines K562.

Key words: Phytochemical analysis, antioxidant action, antiproliferative activity, anti-inflammatory activity, *Zanthoxylum*, Rutaceae.

INTRODUCCIÓN

El género *Zanthoxylum* presenta un hábitat como arbustos o arbolillo caducifolio, de 4 a 6 m de altura como máximo, de tallos espinosos y ramillas de color marrón.¹ A nivel mundial, el género *Zanthoxylum* se encuentra distribuido en el continente americano y asiático; mantiene una elevada distribución en Colombia, con reportes de su presencia en 23 de los 32 departamentos que conforman su división política.²

En la medicina folclórica el género *Zanthoxylum* es muy usado, se citan algunos ejemplos: *Zanthoxylum xanthoxyloide*, que reporta usos contra la tos, fiebre, dolor de muela, mordedura de serpiente, enteritis, disentería, diarrea, uretritis y contra la estomatitis;^{3,4} *Zanthoxylum chalybeum*, con usos contra la malaria, resfriados, tos, dolor de muela, heridas, resfriados y neumonía;⁵ *Zanthoxylum usambarensense* (tratamiento del reumatismo);⁵ *Zanthoxylum tetraspermun* contra la diarrea, reumatismo y dispepsia;^{6,7} *Zanthoxylum integrifoliolum* que se utiliza como remedio en la mordedura de serpiente, dispepsia y tónico contra la fiebre;⁸ *Zanthoxylum hyemale* como antiespasmódico, astringente y agente tónico;⁹ y *Zanthoxylum liebmannianum* frecuentemente usado contra el dolor de estómago, amebiasis, anestésico local y parásitos de tipo intestinal.^{6,10} Algunos ejemplos de actividades biológicas comprobadas pueden ser mencionadas, las cuales se soportan por el gran uso que tienen estos en la medicina folclórica, a saber: *Zanthoxylum xanthoxyloides* (actividad antimicrobial);^{3,4,11} *Zanthoxylum budrunga* (citotóxica);^{12,13} *Zanthoxylum integrifoliolum* (antiagregación plaquetaria);⁶ *Zanthoxylum americanum* (actividad antitumoral y de letalidad hacia la *Artemia salina*);¹⁴ *Zanthoxylum syncarpum* (antiplasmodial);⁷ *Zanthoxylum simulans* (antiagregación plaquetaria);¹⁵ *Zanthoxylum chiloperone* (actividad leishmanicida);¹⁶ *Zanthoxylum liebmannianum* (amebicida);^{10,17} y *Zanthoxylum chalybeum* (actividad antibacterial y antiinflamatoria).^{18,19}

Los metabolitos secundarios más representativos del género *Zanthoxylum* son alcaloides, lignanos, amidas, cumarinas, terpenos, flavonoides, pero también pueden hallarse esteroides y cromonas.²⁰ De la especie *Z. fagara* se han encontrado metabolitos como: sinefrina,²¹ meridinol,²² escopoletina y skimmianina.²³ Así mismo, en su aceite esencial se ha encontrado citronellol, *cis*-3-hexenol, y el citronellal, como metabolitos mayoritarios entre otros.²⁴ De *Z. fagara* se reporta actividad antifúngica contra los microorganismos *Saccharomyces cerevisiae*, *Microsporium canis* y *Trichophyton mentagrophytes*.²⁵

MÉTODOS

Material vegetal

La muestra de la especie *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. (Rutaceae) fue recolectada en los Montes de María, del Departamento de Bolívar, por *Giovanni Montes Arrieta* y *Olimpo García*. Una muestra de herbario se encuentra en el Herbario de la Universidad del Magdalena bajo la codificación: "*Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg. Colombia. Bolívar. Montes de María, marzo de 2007. Y Montes y O. García No 04 (UTMC)".

Obtención del extracto

La corteza seca y molida (700 g) se sometió a extracción por percolación con etanol a 96 %; el extracto fue concentrado por remoción del solvente en un rotaevaporador Laborata 4000 (Heidolph) a presión reducida; se obtuvieron 28 g de extracto.

Ensayo fitoquímico preliminar

1,02 g del extracto etanólico de la corteza de *Zanthoxylum fagara* se utilizó para la determinación fitoquímica preliminar de acuerdo con lo descrito por *Siddiqui* y otros.²⁶

Ensayo de actividad antioxidante

Para la reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) se siguieron los protocolos propuestos por *Gámez*²⁷ y *Cavin*,²⁸ donde se tomaron 50 µL de extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara* y se ensayaron a concentraciones de 10, 100 y 1 000 ppm. La prueba de peroxidación de lípidos en cerebro de rata (TBARS) se basó en el protocolo propuesto por *Barrier* y otros,²⁹ así como el de *Floid* y *Hensley*.³⁰

Ensayo de actividad antiinflamatoria

El ensayo de actividad antiinflamatoria se realizó siguiendo el protocolo de *Payá* y otros,³¹ en el cual el edema de oreja de ratón es inducido con acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA), con el empleo de ratones hembras con peso de 20 a 30 g; el incremento de peso de la muestra derecha con respecto a la de la izquierda representa el edema.

Ensayo de actividad antiproliferativa de células tumorales

Se llevó a cabo utilizando el ensayo de actividad antiproliferativa de *Monks* y otros,³² en el cual los ensayos de inhibición se determinaron después del tratamiento de las células tumorales (U251 [sistema nervioso central], PC-3 [próstata], K562 [leucemia], HCT-15 [colon], MCF-7 [mama] y SKUL [pulmón], provistas por el Instituto Nacional del Cáncer de los EE. UU.); se usó como control positivo doxorubicina (sigma).

RESULTADOS

Análisis fitoquímico preliminar

Se representan los resultados con signo positivo (+) para aquellas sustancias que están presentes, y con signo negativo (-) aquellas ausentes (tabla 1).

Tabla 1. Resultados del análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*

Sustancia	Prueba	HCl 5 %	Solubles en CHCl ₃	Solubles en CHCl ₃ -EtOH	Alcaloides fenólicos	Amonio 4° u óxidos de amina
Alcaloides	Dragendorff	+	+	+	-	+
	Mayer	+	-	+	+	+
	Valser	+	+	+	-	+
	Reineckato	+	-	+	-	+
Flavonoides	Cianidina	+	+	-	-	-
	HCl 10 %	+	+	+	-	-
Naftoquinonas	Bornträger-Kraus	-	-	-	-	-
Taninos	Gelatina-sal	+	+	-	-	-
	FeCl ₃	+	-	-	-	-
Saponinas	Hemólisis	-	-	-	-	-
	Espuma	-	-	-	-	-
Esteroides y(o) triterpenoides	CCD Liebermann-Burchard	+	-	-	-	-
		Placa W Vainillina	Placa X Hidroxamato	Placa Y Raymond	Placa Z Vainillina	
Cumarinas		-	-	-	-	
Cardiótónicos		-	-	+	-	
Lactonas terpénicas		+	+	+	+	

Actividad antioxidante

Los valores de porcentaje de reducción del DPPH se presentan en la tabla 2. Los resultados de la peroxidación de lípidos de cerebro de rata (TBARS), utilizando como vehículo 25 µL de DMSO, se muestran en la tabla 3. Los resultados de la peroxidación inducida con FeSO₄ se muestran en la tabla 4.

Tabla 2. Resultados de los ensayos de reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Muestra	Concentración (ppm)	λ (517 nm)	% de reducción del DPPH
DPPH (100 µM)	-	0,620	-
ECZf	10	0,57	14,9
	100	0,096	85,5
	1 000	0,045	92,5

ECZf: extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*

Tabla 3. Resultados de la peroxidación espontánea por 4 h a 37 °C de lípidos en cerebro de rata (TBARS) del extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*

Muestra	Concentración (ppm)	TBARS			
		DO 640 nm	µM	mmol/mg proteína	Inhibición (%)
Control (4 h+DMSO)	-	0,585	7,582	7,592	0,00
ECZf	1 000	0,033	0,546	0,546	92,8

ECZf: extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*.

Tabla 4. Resultados de la peroxidación inducida con FeSO₄ del extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*

Muestra	Concentración (ppm)	TBARS			
		DO 640 nm	µM	mmol/mg proteína	Inhibición (%)
Basal	-	0,123	1,747	1,747	76,4
FeSO ₄ (10 µ L)	-	0,630	8,448	8,448	14,3
FeSO ₄ + vehículo (Control)	-	0,550	7,393	7,393	0,00
ECZf	10	0,527	7,085	7,085	4,2
	100	0,287	3,910	3,910	47,1
	1 000	0,025	0,450	0,450	93,9

ECZf: extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*. DMSO: dimetil sulfóxido.

Actividad antiinflamatoria

Los resultados de la actividad antiinflamatoria usando el modelo de edema de oreja de ratón, se relacionan en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*

Dosis	Réplica	Control	Tratado	Edema	% de inhibición
		Oreja (mg)	Oreja (mg)	T-C (mg)	
1 mg de ECZf/oreja	1	8,6	18,6	10	39,6
	2	7,9	8,4	0,5	33,9
	3	8,1	21,7	13,6	62,5

ECZf: extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*.

Actividad antiproliferativa de células tumorales

Los resultados del ensayo antiproliferativo con un panel de 6 líneas celulares tumorales se puede observar en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados del ensayo antiproliferativo del extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*

Línea celular tumoral		% de inhibición (20 µg/mL de ECZf)
U251	Sistema nervioso central	35,6
PC-3	Próstata	29,1
K562	Leucemia	55,5
HCT-15	Colon	15,6
MCF-7	Mama	15,1
SKUL	Pulmón	30,0

ECZf: extracto etanólico de corteza de *Zanthoxylum fagara*.

DISCUSIÓN

El análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico de la corteza de *Z. fagara* evidenció la posible presencia de alcaloides, lo que es muy común en especies del género *Zanthoxylum*. También se encontraron resultados positivos para flavonoides (que mostraron una tonalidad violeta, propia de la ν -pirona), taninos (que se evidenciaron por la coloración de un precipitado azul) y terpenos (lactonas terpénicas), por la tonalidad rojiza y azul-verdosa observada. La actividad antioxidante concuerda con la presencia de metabolitos detectada, en la que el antioxidante puede donar un electrón al radical peroxilo o a cualquier otra especie oxidante, formando entre los productos un catión radical del antioxidante ($ArO\cdot+$).³³ Dicha actividad presenta valores comprendidos entre 15 y 93 % (indicando que la actividad es dependiente de la dosis utilizada) para el ensayo DPPH; 93 % y 4-94 % para el ensayo TBARS y para la peroxidación inducida respectivamente; se encuentra una muy buena correlación entre los 3 ensayos con diferencias absolutas menores que 2 %. Esta actividad puede deberse a la presencia de algunos metabolitos de tipo flavonoide, que al reaccionar con el radical (por ejemplo el DPPH), el grupo hidroxilo del anillo aromático del flavonoide estabiliza el radical resultante por donación de electrones y aumenta por tanto la capacidad antioxidante.³⁴ Dentro de estos flavonoides se pueden citar hiperina,^{35,10} quercetrina,³⁶ 3,5-diacetiltambulina,³⁷ (2S)-naringenina,³⁸ quercetina, foeniculina, isorhamnetina o rutina,³⁵ entre otros flavonoides comunes en el género, los cuales han presentado buena actividad antioxidante. No obstante, la capacidad antioxidante puede deberse también a la presencia de lignanos, como por ejemplo la cubebina; o lignanos tipo butirolactonas^{39,40} e incluso alcaloides, especialmente del tipo quinolínicos como la schinifolina.⁴¹

En la actividad biológica antiinflamatoria, se mostro una acción moderadamente efectiva contra la inflamación con un valor promedio de 45,3 % de inhibición. Una vía de acción podría ser mediante la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos, que involucra la acción de las ciclooxigenasas,⁴²⁻⁴⁵ lo cual podría ser confirmado en ensayos de actividad de inhibición enzimática. La actividad

antiinflamatoria mostró un valor comparable al reportado en la literatura (77,7 %), cuando se utilizó en una dosis doble.⁴⁶

En la actividad biológica antiproliferativa, el extracto resultó razonablemente eficiente a la concentración utilizada (20 µg/mL) en la inhibición del crecimiento de células de leucemia K562 con porcentaje de inhibición de 55,5 %, que mostró una selectividad marcada, puesto que para otras líneas celulares se obtuvo un porcentaje de inhibición inferior a 50 %, en un intervalo de 15 a 36 %. Este resultado abre la posibilidad dirigida al uso potencial de este extracto en estudios posteriores en casos de leucemia, con la finalidad de encontrar los principios activos responsables de la actividad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Figueiredo-Melo M, Zickel CS. Os gêneros *Zanthoxylum* L. e *Esenbeckia* Kunth (Rutaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. *Acta Bot Bras.* 2004;18:73-90.
2. Cronquist A. The evolution and classification of flowering. New York: Botanical Garden Bronx; 1988. p. 551-60.
3. Ngonu A, Biyitia L, Amvam PH, Bouche PH. Evaluation antifungal activity of extracts of two cameroonian Rutaceae: *Zanthoxylum leprieurii* Guill et Perr and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Waterm. *J Ethnopharmacol.* 2000;70:335-42.
4. Tatsadjieu LN, Essia-Ngang JJ, Ngassoum MB, Etoa FX. Antibacterial and antifungal activity of *Xylopiya aethiopyca*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. *Fitoterapia.* 2003;74:469-72.
5. Matu EN, Staden J. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for Medicinal Purposes in Kenya. *J Nat Prod.* 2003;87:35-41.
6. Nissanka A, Karunaratne V, Ratnayake-Bandara B, Kumar V, Nakanishi T, Nishi M, et al. Antimicrobial alkaloids from *Zanthoxylum tetraspermun* and *Zanthoxylum caudatum*. *Phytochemistry.* 2001;56:857-61.
7. Ross S, Sultana G, Burandt C, Elsohly M, Mavais J, Ferreira D. Syncarpamida, a new antiplasmodial (+)-norepinephrine derivative from *Zanthoxylum syncarpum*. *J Nat Prod.* 2004;67:88-90.
8. Sian-Ling L. Bishordeninyl terpene alkaloids from *Zanthoxylum integrifolium*. *J Chin Chem Soc.* 2000;47:571-4.
9. De Moura F, Ribeiro H, Machado E, Ethur E, Zanatta N, Morel A. Alkaloids, amides and antispasmodic activity of *Zanthoxylum heymale*. *Planta Med.* 2002;68:534-8.
10. Arrieta J, Reyes B, Calzada F, Cedillo-Rivera R, Navarrete A. Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of *Zanthoxylum liebmannianum*. *Fitoterapia.* 2001;72:295-7.

11. Hounzangbe-Adote M, Paolini V, Fouraste I, Moutairou K, Hoste H. *In vitro* effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. *Res Vet Sci*. 2000;78:155-60.
12. Islam A, Sayeed A, Bhuiyan M, Mosaddik M, Islam M, Khan G. Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Zanthoxylum budrunga*. *Fitoterapia*. 2001;72:428-30.
13. Ahmad M, Rahman M, Huq E, Chowdhury R. Alkaloids of *Zanthoxylum budrunga*. *Fitoterapia*. 2003;74:191-3.
14. Saquib Q, Hui Y, Anderson J, Mclaughlin J. Bioactive furanocoumarins from the berries of *Zanthoxylum americanum*. *Phytother Res*. 1999;4:216-9.
15. Yang YP, Cheng MJ, Teng CM, Chang YL, Tsai IL, Chen IS. Chemical and antiplatelet constituents from Kormosan *Zanthoxylum simulans*. *Phytochemistry*. 2002;61:567-72.
16. Ferreira M, Rojas A, Torres S, Inchausti A, Nakayama H, Thouvenel C, et al. Leishmanicidal activity of two canthin-6-one alkaloids, two major constituents of *Zanthoxylum chiloperone* Var. *angustifolium*. *J Ethnopharmacol*. 2002;80:199-202.
17. Navarrete A, Hong E. Anthelmintic properties of β -sanshool from *Zanthoxylum liebmannianum*. *Planta Med*. 1996;62:250-1.
18. Addae-Mensah I, Munenege R, Guantai A. Comparative examination of two *Zanthoxylum* benzophenanthridine alkaloids for cardiovascular effects in rabbits. *Phytother Res*. 1989;3:165-9.
19. Kato A, Moriyasu M, Ichimaru M, Nishiyama Y, Juma F, Nganga J, et al. Isolation of alkaloidal constituents of *Zanthoxylum usambarensis* and *Zanthoxylum chalybeum* Using Ion-Pair HPLC. *J Nat Prod*. 1996;59:316-9.
20. Waterman P, Grudon M. Chemistry and chemical taxonomy of the Rutales. London: Academic Press; 1983. p.11-12 y 301-8.
21. Stermitz F, Caolo M, Swinehart J. Alkaloids and other constituents of *Zanthoxylum williamsii*, *Z. monophyllum* and *Z. fagara*. *Phytochemistry*. 1980;19:1469-72.
22. Amaro-Luis J, Fronczek F, Massanet G, Pando E, Rodríguez-Luis F, Watkins S, et al. Meridinol, a lignan from *Zanthoxylum fagara*. *Phytochemistry*. 1988;27:3933-5.
23. Dreyer D, Brenner RC. Alkaloids of some Mexican *Zanthoxylum* species. *Phytochemistry*. 1980;19:935-9.
24. Setzer W, Noletto J, Lawton R, Haber W. Leaf essential oil composition of five *Zanthoxylum* species from Monteverde, Costa Rica. *Mol Divers*. 2005;9:3-13.
25. Diéguez-Hurtado R, Garrido-Garrido G, Prieto-González S, Iznaga Y, González L, Molina-Torres J, et al. Antifungal activity of some Cuban *Zanthoxylum* species. *Fitoterapia*. 2003;74:384-6.
26. Siddiqui S, Verma A, Rather AA, Jabeen F, Meghvansi K. Preliminary phytochemical analysis of some important and aromatic plants. *Adv Biol Res*. 2009;3:188-95.

27. Gámez E. Antioxidant flavonoid glycosides from *Daphniphyllum calycinum*. *J Nat Prod*. 1998;61:706-8.
28. Cavin A. Antioxidant and Liophilic constituents of *Tinospora crispa*. *Planta Med*. 1998;64:393-6.
29. Barrier L, Page G, Fauconneau B, Juin F, Tallineau C. Autoxidation of rat brain homogenate: Evidence for spontaneous lipid peroxidation. comparison with the characteristics of Fe²⁺- and ascorbic acid-stimulated lipid peroxidation. *Free Radic Res*. 1998;28:411-22.
30. Floid R, Hensley K. Oxidative stress in brain aging. Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases. *Neurobiol Aging*. 2002;23:795-807.
31. Payá M, Ferrándiz M, Erradia F, Terencio M, Kijjoa A, Pinto M, et al. Inhibition of inflammatory responses by series of novel dolabrane derivatives. *Eur J Pharmacol*. 1996;312:97-105.
32. Monks A, Scudiero D, Skehan P, Shoemaker R, Paul K, Vistica D, et al. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J Natl Cancer Inst*. 1991;83:757-66.
33. Rojano B, Gaviria C, Gil M, Sáez J, Schinella G, Tournier H. Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. *Vitae*. 2008;15:173-81.
34. Yamazaki E, Inagaki M, Kurita O, Inoue T. Antioxidant activity of *Japanese Pepper (Zanthoxylum piperitum DC.)* fruit. *Food Chem*. 2007;100:171-7.
35. Xiong Q, Shi D, Yamamoto H, Mizuno M. Alkylamides from pericarps of *Zanthoxylum bungeanum*. *Phytochemistry*. 1997;46:1123-6.
36. Cuca L, Martínez J, Delle-Monache F. 7,9'-Epoxy lignan and other constituents of *Zanthoxylum culantrillo*. *Phytochemistry*. 1998;47:1437-9.
37. Chen I, Chen T, Chang Y, Teng C, Lin W. Chemical constituents and biological activities of the fruit of *Zanthoxylum integrifoliolum*. *J Nat Prod*. 1999;62:833-7.
38. Angulo A, Cuca L. Nuevo esteroide y otros constituyentes de *Zanthoxylum setulosum*. *Rev Colomb Quim*. 2002;31:87-92.
39. Bastos J, Albuquerque S, Silva M. Evaluations of the trypanocidal activity of lignans isolated from the leaves of *Zanthoxylum naranjillo*. *Planta Med*. 1999;65:541-544.
40. Min B, Na M, Oh S, Ahn K, Jeong G, Li G, et al. New furofuran and butyrolactone lignans with antioxidant activity from the stem bark of *Styrax japonica*. *J Nat Prod*. 2004;67:1980-4.
41. Chung H, Woo S. A quinolone alkaloid with antioxidant activity from the aleurone layer of anthocyanin-pigmented rice. *J Nat Prod*. 2001;64:1579-80.
42. Matu EN, Staden J. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. *J Nat Prod*. 2003;87:35-41.

43. Cho EJ, Yokozawa T, Rhyu DY, Kim SC, Shibahara N, Park JC. Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine*. 2003;10:544-51.
44. Manual de Técnicas de Investigación. Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo. Subprograma X. Química Fina Farmacéutica. Proyecto X-1: Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas de la Región. Madrid, España: CYTED; 1995. p. 47, 63, 71, 83, 109, 116 y 126.
45. Ahmad R, Ali AM, Israf DA, Ismail NH, Shaari K, Lajis NH. Antioxidant, radical-scavenging, anti-inflammatory, cytotoxic and antibacterial activities of methanolic extracts of some *Hedyotis* species. *Life Sci*. 2005;76:1953-64.
46. Márquez L, Agüero J, Hernández I, Garrido G, Martínez I, Diéguez R, et al. Anti-inflammatory evaluation and phytochemical characterization of some plants of the *Zanthoxylum* genus. *Acta Farm Bonaer*. 2005;24:325-30.

Recibido: 6 de agosto de 2010.

Aprobado. 30 de diciembre de 2010.

Víctor Enrique Macías Villamizar. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad del Magdalena. Carrera 32 No 22-08. PBX: 4217940-4301292. AP 2-1-21630. Santa Marta D.T.C.H., Colombia. Correo electrónico: vemaciasv@unal.edu.co