

Potencial antioxidante de un extracto acuoso de hojas del *NIM* (*Azadirachta Indica* A. Juss)

Antioxidant potential of an aqueous leaf extract of Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss)

Lic. Onel Fong Lores, MSc. Clara Berenguer Rivas, Lic. Jorge de la Vega Acosta,¹ Lic. Nioslaymy Wawoe Díaz,^{Dr.} Edgar Puente Zapata

Centro de Toxicología y Biomedicina. Universidad de Ciencias Médicas. Santiago de Cuba, Cuba.

RESUMEN

Introducción: la planta medicinal *Azadirachta indica* A. Juss conocida ancestralmente como el Árbol del Nim ha sido empleada desde la antigüedad para el tratamiento de múltiples afecciones, sin embargo, es en la actualidad con el desarrollo tecnológico que se han realizado las investigaciones científicas de sus propiedades terapéuticas.

Objetivo: evaluar el potencial antioxidante de los extractos acuosos de hojas del Árbol del Nim.

Métodos: el extracto de las hojas secas del Nim se obtuvo empleando un equipo Soxhlet y fue caracterizado mediante un análisis fitoquímico preliminar y espectroscopia UV/VIS. El contenido de fenoles totales fue determinado por el ensayo de Folin-Ciocalteu y la determinación de la actividad antioxidante fue desarrollada por el método del reactivo de fosfomolibdeno.

Resultados: el espectro UV/VIS del extracto acuoso obtenido exhibe un máximo de absorción a las longitudes de onda 217 y 245 nm, característicos de los principios activos de la planta (azadiractina y nimbina). El contenido de fenoles del extracto de la planta expresados en equivalentes de ácido tánico fue de 54,87 mg/g y mostró una actividad antioxidante a través del ensayo del fosfomolibdeno (215,01 mmol/g), comparable al ácido ascórbico.

Conclusiones: los resultados obtenidos demuestran que las hojas Árbol del Nim son una fuente rica en compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes y un candidato potencial para el desarrollo de nuevos fitofármacos.

Palabras clave: Nim, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

ABSTRACT

Introduction: the medicinal plant *Azadirachta indica* A. Juss, traditionally known as neem tree, has been used since ancient times to treat numerous conditions. However, it is only at present and thanks to current technological development that scientific research has been conducted into its therapeutic properties.

Objective: evaluate the antioxidant potential of aqueous leaf extracts of the neem tree.

Methods: extract from neem dry leaves was obtained with a Soxhlet device and characterized by preliminary phytochemical analysis and UV/VIS spectroscopy. Total phenol content was determined by the Folin-Ciocalteu assay, and antioxidant activity by the phosphomolybdenum method.

Results: the UV/VIS spectrum of the aqueous extract exhibited an absorption peak at wavelengths of 217 and 245 nm, characteristic of the active principles in the plant (azadirachtin and nimbin). Phenol content expressed as tannic acid equivalents was 54.87 mg/g, revealing an antioxidant activity in the phosphomolybdenum assay of 215.01 mol/g, comparable to that of ascorbic acid.

Conclusions: the results obtained show that neem leaves are a rich source of phenolic compounds with antioxidant properties, and a potential candidate for the development of new phytomedicines.

Key words: neem, phenolic compounds, antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés en la búsqueda de antioxidantes naturales, generalmente constituidos por mezclas de compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica.¹ Hoy día son varias las sustancias con propiedades antioxidantes obtenidas de fuentes naturales que están bajo estudio. Uno de ellos son los flavonoides y los compuestos fenólicos, los cuales son metabolitos secundarios de muchas plantas, y juegan un papel fundamental en la variación de la actividad antioxidante.^{2,3}

Estos compuestos fenólicos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias que evidencian su rol protector sobre la salud humana. Se han clasificado en distintos grupos según el número de átomos de carbono y la estructura de su esqueleto base.⁴

Son muchos los estudios que han mostrado las diversas reacciones bioquímicas de nuestro cuerpo que generan especies reactivas de oxígeno, las cuales son capaces de dañar biomoléculas cruciales, tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Si estas especies no son captadas eficientemente por constituyentes celulares, pueden ocasionar enfermedades. Sin embargo, la acción deletérea de los radicales libres puede ser bloqueada por sustancias antioxidantes, las cuales captan los radicales libres en el organismo y pueden jugar un rol importante en la modulación de detoxificación enzimática, estimulación del sistema inmune, disminución de la agregación plaquetaria y modulación del metabolismo hormonal.^{2,4}

Algunas investigaciones recientes sobre los radicales libres han confirmado que los alimentos ricos en antioxidantes juegan un papel esencial en la prevención de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y cancerígenas, males como el de Parkinson y Alzheimer, así como también inflamaciones y trastornos ocasionados por el envejecimiento celular.⁴ En los últimos años, una de las áreas que más ha atraído la atención de la comunidad científica, es la búsqueda de nuevos antioxidantes naturales para el control de estas enfermedades, en las cuales está implicado el daño oxidativo. En este sentido, los extractos de plantas y diferentes clases de fitoquímicos han demostrado ser una fuente importante de compuestos con marcada actividad antioxidante, permitiendo el crecimiento acelerado de investigaciones en este campo.^{5,6}

El árbol del Neem o Nim, cuyo nombre científico es *Azadirachta indica* A. Jusses una planta medicinal muy versátil perteneciente a la familia *Meliaceae* y se encuentra extensamente distribuido en Asia, África y otras partes tropicales del mundo. Esta planta tiene un uso ancestral y ha sido utilizada en la medicina tradicional pues la misma posee un amplio espectro de propiedades medicinales, sin embargo las investigaciones científicas de sus propiedades terapéuticas se están realizando desde hace algunos años.⁷

Se han empleado extensivamente varias partes del Nim como son las hojas, las flores, la corteza, la fruta, aceite y la raíz, para tratar varias enfermedades.^{8,9} Muchos investigadores reportan la obtención de diferentes extractos y la purificación de distintas fracciones de estos, los cuales poseen significativas propiedades antioxidantes, hepatoprotectoras y quimiopreventivas contra el cáncer.^{8,10,11} Igualmente existe evidencia científica preliminar que demuestra que determinadas fracciones de diferentes extractos de esta planta poseen propiedades antidiabéticas, antiinflamatoria, y antiulcerosa.^{12,13} Otros sugieren que extractos de la planta *A. indica* poseen significativas propiedades antibacterianas, antivirales, antiparasitarias y antifúngicas.^{7,14}

En Cuba, el árbol del Nim se introdujo en la primera década del siglo de XX,¹⁵ pero empezó a generalizarse su cultivo en el país en la década de los 90. El Centro de Toxicología y Biomedicina inicia su estudio a través de dos proyectos territoriales aprobados por el CITMA, uno en el 2005 y el otro en el recién finalizado año 2012. Donde a través del mismo nos propusimos evaluar el potencial antioxidante de los extractos acuosos de esta planta, para de esta forma poder ampliar su uso en diferentes enfermedades donde los procesos oxidativos intervengan en la etiopatogenia de las mismas.

MÉTODOS

De la planta *A. indica* se recolectaron hojas que se encontraban en buen estado vegetativo al momento de la toma de muestra. El material vegetal se obtuvo de un cultivo controlado proveniente de un organopónico ubicado en el poblado "La República" en las inmediaciones de la ciudad de Santiago de Cuba, esta fue certificada y avalada en el Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) de Santiago de Cuba, depositándose un ejemplar en el herbario con número 20902.

Obtención de los extractos

El estudio se realizó con la parte aérea de la planta (hojas), en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. Estas fueron secadas a temperatura ambiente (27 ± 2 °C) y pulverizadas en un molino hasta obtener partículas finas. El extracto acuoso se obtuvo mediante extracción por Soxhlet hasta agotamiento total de la droga, el mismo fue filtrado, se concentró en un rota-evaporador y se almacenó a 4 °C hasta su utilización. Se determinó la concentración basándose en el contenido de sólidos totales.

El extracto fue sometido a un análisis fitoquímico preliminar, con el empleo de técnicas simples, rápidas y selectivas para la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios de mayor relevancia presentes en él mismo. Se utilizó el sistema de cruces como criterio de medida para especificar la cualificación de estos metabolitos secundarios según lo establecido por Miranda¹⁶ y la Guía Metodológica para la Investigación Fitoquímica de Plantas Medicinales del Ministerio de Salud Pública.¹⁷

Además el extracto obtenido fue caracterizado por espectroscopia UV/VIS empleando un espectrofotómetro de la firma comercial PG Instruments modelo T60 U.

Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron grado reactivo analítico. Los compuestos carbonato de sodio, ácido tánico, ácido ascórbico, quercetina y el reactivo de Folin-Ciocalteu fueron obtenidos de Sigma Chemical Co.

Determinación de contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (FC) (solución de ácido fosfomolibdico y ácido fosfowolfrámico) según Ghimeray y colaboradores en el año 2009.¹⁸ El mismo oxida los compuestos polifenólicos a fenolatos en medio alcalino, formando un complejo de molibdeno - tungsteno de color azul. Se mide la absorbancia usando un Espectrofotómetro UV/VIS de la firma PG Instruments modelo T60, mediante la construcción de una curva patrón usando como estándar ácido tánico. Se tomaron 200 µL de muestra que fue mezclada con 2 mL de reactivo FC y se esperaron 20 minutos. La mezcla es homogenizada y calentada a 45 °C, y posteriormente fueron leídas a una longitud de onda de 750 nm en el Espectrofotómetro. Se cuantificó la cantidad de compuestos fenólicos solubles totales presentes en el extracto. Los resultados se expresaron como mg en equivalente de ácido tánico/ gramos de sólidos totales del extracto. Tanto los puntos de la curvas como las muestras fueron analizados por triplicado.

Determinación del contenido de flavonoides

La cuantificación del contenido de flavonoides totales se realizó empleando el método $\text{NaNO}_2 - \text{AlCl}_3$, con modificaciones según Jia y colaboradores en el año 1999.¹⁹ Las muestras son mezcladas con AlCl_3 y NaNO_2 , formándose un complejo flavonoide- aluminio de color rosado en medio alcalino. La solución se obtiene a partir del 30 µl de NaNO_3 (10 %), 60 µl de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 %), 200 µl de NaOH (1M) y 400 µl de agua son agregados a 100 µl de cada muestra, las lecturas de

absorbancia se realizaron a 510 nm, 5 minutos después de la adición de la muestra, cada 20 s durante 1 minuto.

El contenido de flavonoides total se determinó por extrapolación en una curva de calibración, utilizando como patrón quercetina a diferentes concentraciones y se expresó en mg de quercetina/gramos de sólidos totales del extracto. Las determinaciones se hicieron por triplicado.

Determinación de Capacidad Antioxidante Total (CAT). Método del fosfomolibdico

La capacidad antioxidante total de los extractos de la planta se evalúa por el método del fosfomolibdico, descrito por Prieto y colaboradores en el año 1999.²⁰ Para cada extracto se expresará la capacidad antioxidante total en equivalentes de ácido ascórbico (mmol/g).

Se midió la CAT de las muestras. Los valores de absorbancia se interpolaron en una curva de calibración preparada con ácido ascórbico (25-500 $\mu\text{mol/mL}$). Las determinaciones se hicieron por triplicado y los resultados obtenidos se expresaron como micromoles equivalentes de ácido ascórbico por gramo de sólidos totales ($\mu\text{mol EAA/g}$), mediante la siguiente ecuación:

$$\text{CAT} = \frac{\text{LIC}(\mu\text{mol /mL}) \times \text{VTE (mL)}}{\text{Sólidos totales (g)}}$$

Sólidos totales (g)

Donde:

CAT: Capacidad Antioxidante Total ($\mu\text{mol EAA/g}$)

LIC: Lectura Interpolada en la Curva de calibración

VTE: Volumen Total de Extracto

Para el cálculo final debe tenerse en cuenta el factor de dilución.

RESULTADOS

Tamizaje fitoquímico

La metodología aplicada para la identificación de los principales metabolitos secundarios, permitió observar la presencia de carbohidratos reductores (Benedict) y compuestos de naturaleza fenólica, tales como polifenoles (Folin-Ciocalteu), flavonoides (Shinoda), fenoles y taninos condensados (FeCl_3 , Gelatina-Sal). La presencia de alcaloides pudo ser establecida (Dragendorff, Wagner). (Tabla 1)

El espectro UV/VIS del extracto acuoso de la planta muestra dos máximos de absorción en el rango ultravioleta del espectro: 215 y 240 nm respectivamente (Figura 1). Por su parte en la región del espectro visible solamente aparecen pequeños picos a los 530 y 660 nm.

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de las partes aéreas de *A. indica*

Grupo de compuestos	Ensayo	Extractos acuoso
Saponinas	Espuma	-
Principios amargos y astringentes	Sabor	++
Alcaloides	<i>Dragendorff</i>	+++
	<i>Wagner</i>	++
Aminoácidos y aminas	Ninhidrina	+
Azúcares reductores	<i>Fehling</i>	+
Fenoles y taninos	FeCl ₃	+++
	Gelatina	+++
Flavonoides	<i>Shinoda</i>	+++
Mucílagos	Al tacto	-
Aceites esenciales y grasas	Papel blanco sin reactivo	-
Quinonas	<i>Bornträger</i>	-
Resinas		+

(-) Ausencia (+) Presencia (++) ó (+++) Abundancia

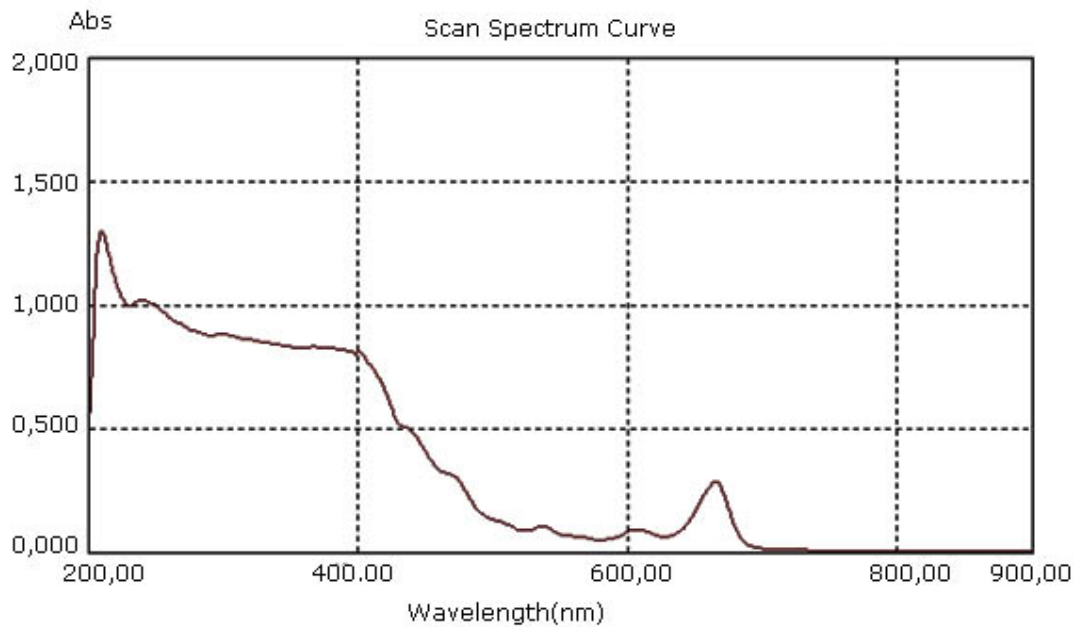


Fig. 1. Espectro de absorción UV/VIS del extracto acuoso de las hojas de *A. indica*.

Potencial antioxidante

El contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante total se muestran en la [tabla 2](#). El contenido de fenoles totales se expresa como mg de ácido tánico por gramos de sólidos totales del extracto acuoso, el contenido de flavonoides se expresa como mg de quercetina por gramos de sólidos totales del

extracto, mientras que la capacidad antioxidante total se expresa en mmol equivalentes de ácido ascórbico por gramos de sólidos totales del extracto. Se representan los valores de la media y la desviación estándar de las muestras por triplicado.

Tabla 2. Valores de fenoles totales, contenido de flavonoides y capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de *A. indica*

Muestra	Fenoles totales (mg Ac. Tánico/g)	Flavonoides (mg Quercetina/g)	Capacidad Antioxidante (μ mol Ac. Ascórbico/g)
Extracto acuoso	54,87 \pm 1,82	9,85 \pm 1,00	215,01 \pm 2,40

DISCUSIÓN

El análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso de la planta *A. indica* evidenció la presencia de metabolitos secundarios, especialmente aquellos de naturaleza fenólica como polifenoles, flavonoides y taninos compuestos que se encuentran ampliamente difundidos en el reino vegetal y son importantes constituyentes de las plantas. Según la teoría esta apreciación es prueba positiva para sustancias que poseen en su estructura el núcleo de la g-benzopirona (flavonas, flavonoles, flavononas, flavononoles, isoflavonoides y xantonas). La comunidad científica les atribuye propiedades biológicas tales como la acción antimutagénica y anticarcinogénica, cardioprotectora y antimicrobiana, así como poder antioxidante. La actividad antioxidante concuerda con la presencia de metabolitos detectada debido a su habilidad para secuestrar radicales libres, la que está relacionada a la presencia de su grupo hidroxilo.⁴

Además resultó ser positivo para alcaloides, sin embargo estas pruebas no sirven para determinar el tipo de alcaloide presente en los extractos; sólo permiten dar un indicio de la presencia de varios grupos de alcaloides, o de grupos que contienen nitrógeno dentro de su estructura. Estos resultados coinciden con lo reportado por otros investigadores los cuales evaluaron la composición de extractos acuosos y alcohólicos de las hojas de esta planta.²¹

Al analizar el espectro UV/VIS del extracto se pudieron observar dos picos bien definidos en el rango ultravioleta. El máximo de absorción observado a los 215 nm corresponde a la azadirachtina, el cual es el principal principio activo de esta planta. La azadirachtina es un triterpenoidetetracíclico (Figura 2) de fórmula molecular C₃₅-H₄₄-O₁₆, cuyas propiedades espectrales reportan un máximo de absorción a los 217 nm. Por su parte el máximo de absorción observado a 240 nm corresponde a la nimbina, que es triterpenoide cuyas propiedades espectrales reportan un máximo de absorción a los 245 nm.²²

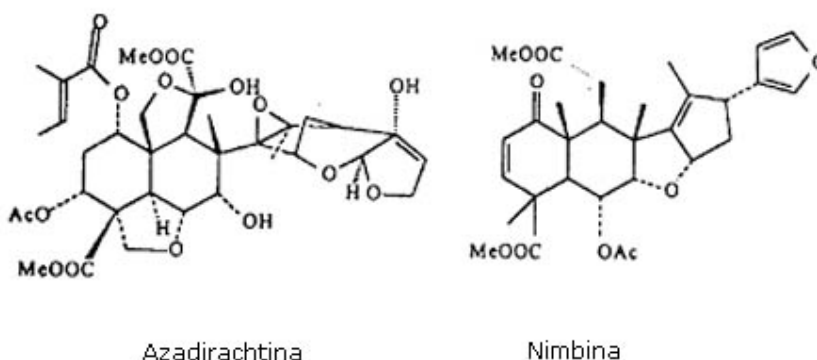


Fig. 2. Estructuras químicas de los triterpenoides Azadirachtina y Nimbina. (Tomado de Atawodi 2009).⁷

Potencial antioxidante

La extracción de compuestos antioxidantes de las plantas depende en gran medida de la naturaleza de los solventes que se emplean en este proceso. Los solventes polares son los más empleados para el caso de la extracción de los polifenoles de las plantas, fundamentalmente los alcoholes, ya que se ha demostrado su eficacia en la extracción de grandes concentraciones de estos compuestos.²³

El contenido de fenoles totales y flavonoides del extracto acuoso de la planta mostró resultados similares a estudios realizados en *A. indica* de Nepal y la India empleando solventes alcohólicos.¹⁸

Cai y colaboradores sugieren que el contenido de fenoles totales y de flavonoides determina la capacidad antioxidante de la planta por lo que la actividad antioxidante de algunos extractos polares es debida, al menos en parte, a la presencia de sustancias con grupos hidroxilos como los polifenoles, los cuales ejercen su acción por donación de protones (capacidad secuestrante de radicales libres), o bien por interacción, adición o combinación de radicales o por reacciones redox (transferencia de electrones). En cualquier caso es importante la estructura planar y espacial del compuesto antioxidante presente en el extracto.²⁴

Las propiedades reductoras de un producto natural están generalmente asociadas con la presencia de agentes antioxidantes capaces de interrumpir las reacciones en cadena de los radicales libres por donación de átomos de hidrógeno.²⁵ El método empleado en este trabajo para evaluar la CAT mide la habilidad reductora de metales de transición (Molibdeno).

En general se afirma que los compuestos fitofenólicos exhiben actividad antioxidante/prooxidante, dependiendo de factores como el potencial reductor de metales, el comportamiento quelante, el pH, las características de solubilidad, de su conformación estructural, de la cantidad de grupos hidroxilos disponibles en la molécula.⁴

Por otro lado, los alcaloides constituyen un gran grupo de metabolitos secundarios de carácter básico con uno o varios átomos de nitrógeno, que por lo general, están incorporados en una estructura cíclica; a menudo presentan múltiples actividades fisiológicas, de ahí su amplio uso en la medicina. Se ha reconocido que los alcaloides y flavonoides muestran actividad antioxidante, y que sus efectos sobre la

salud y la nutrición humana es considerable.²⁶ Para algunos autores el mecanismo de acción de los alcaloides se efectúa a través de la inhibición de la peroxidación.²⁷ El contenido del átomo de nitrógeno convierte a la mayoría de los alcaloides en compuestos capaces de donar electrones y, en consecuencia, capturar radicales libres. Si la molécula del alcaloide contiene grupos funcionales adyacentes que cedan electrones, como por ejemplo los grupos alquilo, la disponibilidad de los electrones del átomo de nitrógeno aumenta. De esta forma, se puede afirmar que la acción conjunta de fitofenoles y alcaloides contenidos en los extractos de hojas de *A. indica*, dan soporte a la actividad antioxidante manifestada por esta planta, pudiendo sentar las bases para la elaboración y futuro registro de un nuevo producto farmacéutico con estas propiedades terapéuticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aruoma OI, Bahorun T, Jen LS. Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. *Mutat. Res.* 2003;544(23):203-215.
2. Valle H, Ospina S, Galeano E, Martínez A, Márquez M, López J. Componentes de la fracción antimutagénica del extracto etanólico de la macroalga *Digenia simplex*. *Vitae.* 2008;15(1):141-149.
3. Robledo D, Freile-Pelegrin Y, Chan-Bacab MJ, Ortega BO. Antileishmanial properties of tropical marine algae extracts. *Fitoterapia.* 2008;79(5):374-77.
4. Arts ICW, Hollman PCH. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2005;81(suppl):31-325.
5. Baydar NG, Özkan G, Yasar S. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food Control.* 2007;18(9):1131-36.
6. Tepe B, Sokmen A. Screening of the antioxidative properties and total phenolic contents of three endemic *Tanacetum* subspecies from Turkish flora. *Bioresource Technol.* 2007;(98):3076-3079.
7. Atawodi SE, Atawodi JC. *Azadirachta indica* (neem): a plant of multiple biological and pharmacological activities. *Phytochem Rev.* 2009(8):601-620.
8. Chattopadhyay RR. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract: Part II. *Journal of Ethnopharmacology.* 2003;89(2-3):217-219.
9. Chaisawangwong W, Gritsanapan W. Quality assessment and scavenging activity of Siamese neem flower extract. *Nat Prod Res.* 2013;27(4-5):394-401.
10. Manikandan P, Letchoumy PV, Gopalakrishnan M, Nagini S. Evaluation of *Azadirachta indica* leaf fractions for in vitro antioxidant potential and in vivo modulation of biomarkers of chemoprevention in the hamster buccal pouch carcinogenesis model. *Food and Chemical Toxicology.* 2008(46):2332-2343.
11. Roy MK, Kobori M, Takenaka M, Nakahara K, Shinmoto H, Isobe S, et al. Antiproliferative effect on human cancer cell lines after treatment with nimbolide extracted from an edible part of the neem tree (*Azadirachta indica*). *Phytother. Res.* 2007;(21):245-250.

12. Chattopadhyay RR, Bandyopadhyay M. Effect of *Azadirachta indica* leaf extract on serum lipid profile changes in normal and streptozotocin induced diabetic rats. African Journal of Biomedical Research. 2005;(8):101-4.
13. Chattopadhyay I, Nandi B, Chatterjee R, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee RK. Mechanism of antiulcer effect of Neem (*Azadirachta indica*) leaf extract: effect on H⁺-K⁺-ATPase, oxidative damage and apoptosis. Inflammopharmacology. 2004;12(2): 153-76.
14. Mossini SA, de Oliveira KP, Kemmelmeier C. Inhibition of patulin production by *Penicillium expansum* cultured with neem (*Azadirachta indica*) leaf extracts. J Basic Microbiol. 2004;44(2):106-13.
15. Betancourt A. Paraíso de la India (*Azadirachta indica* Juss). Desarrollo alcanzado en Cuba por dicha especie. Revista Baracoa. 1972;2(3-4):17-23.
16. Miranda M, Cuellar A, Pérez MB. Tamizaje fitoquímico. Manual de prácticas de laboratorio de análisis farmacognóstico. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana; 1992.p 20-3.
17. Ministerio de Salud Pública (MINSAP). Guía metodológica para la investigación en plantas medicinales. La Habana: Editorial Pueblo y Educación; 1997.
18. Ghimeray AK, Jin CW, Ghimire BK, Cho DH. Antioxidant activity and quantitative estimation of azadirachtin and nimbin in *Azadirachta Indica* A. Juss grown in foothills of Nepal. African Journal of Biotechnology. 2009;8(13):3084-91.
19. Jia Z, Tang M, Wu J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 1999;64(4):555-9.
20. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry. 1999;269:337-41.
21. Ayeni KE, Yahaya SA. Phytochemical screening of three medicinal plants: Neemleaf (*Azadirachta indica*), Hibiscus leaf (*Hibiscus rosasinensis*) and spear grass leaf (*Imperata cylindrica*). Continental J. Pharmaceutical Sciences. 2010;4(1):47-50.
22. O'Neil MJ. The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 13th Edition. Whitehouse Station NJ, USA: Merck and Co. Inc; 2001.
23. Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. Molecules. 2009;14(6):2167-80.
24. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Science. 2004;74(17):2157-84.
25. Hudson B. Food antioxidants. London, UK: Elsevier Applied Science; 1990.

26. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African J Biotechnology. 2006;5(11):1142-5.
27. Kumar PS, Sucheta S, Deepa VS, Selvamani P, Latha S. Antioxidant activity in some selected Indian medicinal plants. African J Biotechnology. 2008;7(12):1826-8.

Recibido: 4 de julio 2013.
Aprobado: 10 de febrero 2014.

Lic. Onel Fong Lores. Centro de Toxicología y Biomedicina. Dirección: Autopista Nacional, Km 11/2, Apartado postal 4033, Santiago de Cuba, Cuba. Teléfonos: 53 (22) 64 3796. Correo electrónico: onel.fong@medired.scu.sld.cu