

Actividad antioxidante en infusiones, tinturas y aceites esenciales de especies nativas de la Patagonia Argentina

Antioxidant activity in teas, tinctures and essential oils of native species from Patagonia Argentina

Bruno Gastaldi,^{I,II} Yanina Assef,^I Catalina van Baren,^{III} Paola Di Leo Lira,^{III} Daiana Retta,^{III} Arnaldo Luis Bandoni,^{III} Silvia Beatriz González^I

^I Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Esquel, Chubut, Argentina.

^{II} Cátedra de Química Orgánica. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB). Esquel, Chubut, Argentina.

^{III} Cátedra de Farmacognosia. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

Introducción: las plantas aromáticas y medicinales son una fuente potencial de componentes antioxidantes. La Patagonia Argentina presenta un ambiente diverso en especies nativas, las cuales deberían ser estudiadas en mayor profundidad debido a su potencial farmacéutico, así como para contribuir a fomentar su conservación.

Objetivos: estudiar la actividad antioxidante de infusiones, tinturas y aceites esenciales de las siguientes especies nativas de la Patagonia Argentina: *Acantholippia seriphoides* (A. Gray) Moldenke, *Adesmia boronioides* Hook. f., *Buddleja globosa* Hope, *Fabiana imbricata* Ruiz & Pav., *Solidago chilensis* Meyen. Identificar los componentes volátiles presentes en los aceites esenciales.

Métodos: se obtuvieron infusiones y tinturas por la guía de las normas de la Farmacopea Argentina VI edición. Los aceites esenciales se obtuvieron por hidrodestilación con un aparato tipo Clevenger. El análisis de los componentes volátiles se realizó mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas. Los ensayos de actividad antioxidante se realizaron por el método del difenilpicrilhidrazilo.

Resultados: las especies presentaron el siguiente orden de actividad antioxidante: *B. globosa* > *S. chilensis* ≥ *F. imbricata* ≥ *A. seriphoides* > *A. boronioides*. Las infusiones de *B. globosa*, *S. chilensis* y *A. seriphoides*, presentaron una actividad antioxidante similar a *Camellia sinensis* (L.) Kuntze ("té verde") y superior a *Ginkgo biloba* (L.) Mant (especies reconocidas por su alto contenido de antioxidantes). La

actividad encontrada para el aceite esencial de *A. seriphioides* se deba a sus contenidos en timol y carvacrol. En cuanto a la actividad de *S. chilensis* podría adjudicarse a su alto porcentaje de limoneno.

Conclusiones : este trabajo es el primero que estudia la actividad antioxidante de plantas medicinales y aromáticas en la región noroeste de la Patagonia Argentina; los resultados obtenidos demuestran que las especies estudiadas de dicha región son una fuente rica en compuestos antioxidantes y de potencial valor como suplemento dietario.

Palabras clave: actividad antioxidante; plantas medicinales; Patagonia Argentina; *Acantholippia seriphioides*; *Adesmia boronioides*; *Buddleja globosa*; *Fabiana imbricata*; *Solidago chilensis*.

ABSTRACT

Introduction: medicinal and aromatic plants have potential as sources of antioxidant compounds. There is a great diversity of native species in Patagonia Argentina. It is worthy to study them because of its pharmaceutical potential and to help promote conservation.

Objectives: to analyze antioxidant activities of herbal teas, tinctures and essential oils of native species from Patagonia Argentina: *Acantholippia seriphioides* (A. Gray) Moldenke, *Adesmia boronioides* Hook. f., *Buddleja globosa* Hope, *Fabiana imbricata* Ruiz & Pav., *Solidago chilensis* Meyen. Identify essential oils compounds.

Methods: infusions and tinctures were obtained according to Pharmacopoeia Argentina VIth edition. The essential oils were obtained by hydrodistillation in a Clevenger apparatus. Volatiles compounds were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. Antioxidant activity assays were performed by difenil-picrilhidrazilo method.

Results: antioxidant activity order was: *B. globosa* > *S. chilensis* ≥ *F. imbricata* ≥ *A. seriphioides* > *A. boronioides*. Infusions of *B. globosa*, *S. chilensis* and *A. seriphioides* presented an antioxidant activity similar to *Camellia sinensis* (L.) Kuntze ("green tea") and higher than *Ginkgo biloba* (L.) Mant. The *A. seriphioides* essential oil activity was probably obeyed to thymol and carvacrol presence. *S. chilensis* activity could be owing to its high limonene content.

Conclusions: this study is the first report about antioxidant activity of medicinal and aromatic plants in the northwest region of Patagonia Argentina. The results showed that analyzed species are a rich source of antioxidant compounds and have potential value as a dietary supplement.

Key words: antioxidant activity; medicinal plants; Patagonia Argentina; *Acantholippia seriphioides*; *Adesmia boronioides*; *Buddleja globosa*; *Fabiana imbricata*; *Solidago chilensis*.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés por nuevas fuentes naturales de antioxidantes debido a dos razones principales: la primera es que presentan

comprobados efectos benéficos sobre la salud, ya que contrarrestan la acción de los radicales libres, lo cual se asocia a la prevención y/o tratamiento de diversas patologías;^{1,2} la segunda es que algunos antioxidantes sintéticos utilizados en la industria alimenticia como por ejemplo el butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT), poseen efectos tóxicos, se bioacumulan en el tejido graso y han demostrado ser carcinógenos en modelos animales.³⁻⁵

Por lo expuesto existe un creciente interés por alternativas a los antioxidantes sintéticos tanto de los investigadores, la industria, como de los consumidores, y resulta relevante investigar nuevas fuentes naturales de antioxidantes, como pueden ser las plantas aromáticas y medicinales.^{6,7}

Argentina cuenta con 1,529 especies de plantas medicinales nativas; más del 45 % no han sido analizadas químicamente y el 58 % no han sido analizadas para evaluar su actividad biológica.⁸ La Patagonia Argentina, es una región que se reconoce como un ambiente con diversidad y abundancia de plantas medicinales y aromáticas. Las plantas que aquí se desarrollan deberían estudiarse en profundidad debido al potencial farmacéutico que podrían tener, así como para contribuir a fomentar su cuidado y conservación.^{9,10}

En la actualidad, la mencionada región es normal que las personas consuman infusiones y tinturas de plantas medicinales y aromáticas nativas, lo que estaría muy influenciado por el uso tradicional de las plantas que realizaban las etnias Tehuelche y Mapuche, como lo sugieren trabajos etnobotánicos.^{11,12} Aun así, los antecedentes sobre análisis químicos y propiedades antioxidantes de plantas nativas de la región son escasos.

Especies elegidas para el estudio

Acantholippia seriphioides (A. Gray) Moldenke (Verbenaceae)

Es un arbusto popular, conocido como "tomillo de campo", alcanza alturas de entre 30 y 60 cm y se desarrolla en suelos rocosos de las regiones áridas de Argentina.¹³ Se utiliza en forma de infusión como digestiva y para tratar la fiebre y el resfriado, también se utiliza como condimento para las comidas.¹²

Adesmia boronioides Hook. f. (Fabaceae)

Es un arbusto conocido como "paramela", alcanza alturas de entre 40 cm y 2 m.¹³ La infusión es utilizada como digestiva y para tratar síntomas respiratorios.¹² Estudios previos del grupo de investigación indican que su aceite esencial contiene alfa-pineno, esquelonona, delta-cadineno, isoesquelonona y 1-epi-cubenol.¹⁴

Buddleja globosa Hope (Buddlejaceae)

Es un arbusto conocido como "pañil", alcanza hasta 5 m de altura, esta especie es endémica de las zonas húmedas del sur de Chile y Argentina.¹³ La infusión se utiliza por vía interna como digestiva, diurética y para el tratamiento de las úlceras gástricas. Además, se utiliza por vía externa en el lavado de heridas, úlceras y acné.¹⁵

Fabiana imbricata Ruiz & Pav. (Solanaceae)

Es una planta conocida con el nombre "palo piche", alcanza hasta 3 m de altura y crece en zonas semiáridas.^{12,13} Su uso popular medicinal consiste en utilizar la infusión como diurético y antiséptico de las vías urinarias, así como para la disolución de cálculos renales.¹² Dicha infusión es bien tolerada por humanos, no habiéndose registrado reportes sobre adversidad o toxicidad.¹⁵

Solidago chilensis Meyen (Asteraceae)

Es una hierba perenne conocida con el nombre "vara amarilla", alcanza entre 40 y 100 cm de altura. Esta especie es frecuente en los suelos húmedos, es invasora y colonizadora, gracias a sus rizomas.¹³ La infusión posee usos como diurética, sedante y antihermorrágica.¹⁵ Un estudio reciente desarrollado en el país ha demostrado actividad gastroprotectora de la infusión en modelos de ulcerogénesis en ratones.¹⁶

El objetivo principal de este trabajo es analizar la actividad antioxidante en las infusiones, tinturas y aceites esenciales de las especies nativas estudiadas. Además determinar los componentes volátiles para cada especie aromática.

MÉTODOS

Recolección del material vegetal

Se colectó material vegetal en poblaciones silvestres ubicadas en los siguientes sitios y coordenadas de la provincia de Chubut, Patagonia Argentina (Fig. 1): *A. seriphioides*, Gualjaina [42° 42' 4,5" S; 70° 45' 25" O]; *A. boronioides*, Esquel [42° 51' 20" S; 71° 17' 12" O]; *B. globosa*, Lago Puelo [42° 02' 02" S; 71° 31' 58,2" O]; *F. imbricata*, Esquel [42° 51' 20" S; 71° 17' 12" O]; y *S. chilensis*, Esquel [42° 55' 48" S; 71° 21' 55" O]. Las especies fueron identificadas por el botánico Ing. *Pedro Guerra* (Facultad de Ingeniería, UNPSJB) y depositadas en el Herbario de la Cátedra Plantas Medicinales (Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB) donde se les asignaron los respectivos números de Voucher BG 11014, BG 21014, BG 31014, BG 41014 y BG 51014.

Reactivos y materiales

Los solventes y reactivos utilizados fueron de grado analítico, de Ciccarelli (Buenos Aires, Argentina). El ácido ascórbico y el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) fueron obtenidos de Sigma (USA). Las placas de sílica-gel 60 F₂₅₄ fueron obtenidas de *Merck* y el papel de filtro nro. 4 de *Whattman*.

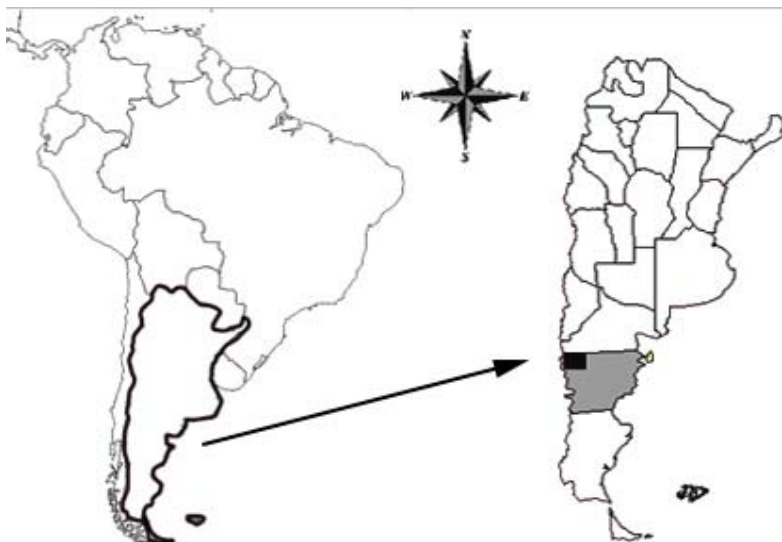


Fig. 1. Área del estudio. Noroeste de la Región Patagónica (color negro), provincia de Chubut (color gris), en el sur de la República Argentina.

Obtención de infusiones, tinturas y aceites esenciales

Para preparar las infusiones y tinturas se siguieron las normas de la Farmacopea Argentina VI edición.¹⁷ Las infusiones se obtuvieron por la acción durante 20 minutos de 100 mL de agua destilada hirviendo sobre 5 g de material seco. Luego se filtraron con el uso del embudo de vidrio, gasa, papel de filtro y un erlenmeyer. Se analizaron al momento de su obtención.

Las tinturas se prepararon a partir de 50 g de material vegetal seco, al cual se le agregaron 275 mL de una solución compuesta por 70 partes de etanol y 30 partes de agua destilada. La mezcla se dejó macerar por 7 días en un lugar oscuro. Posterior, se separó el líquido obtenido de los restos vegetales con el uso un embudo de vidrio, gasa, papel de filtro y un erlenmeyer. Las tinturas obtenidas fueron colocadas en frascos gotero color caramelo y conservadas en heladera a 4 °C hasta el momento de su análisis.

Los aceites esenciales se obtuvieron con la utilización de un aparato de destilación con trampa tipo Clevenger, se extrajo durante dos horas.¹⁴ Los aceites esenciales obtenidos se colocaron en viales rotulados y se conservaron en heladera a 4 °C hasta el momento de su análisis.

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de las infusiones y tinturas, se determinó directo sobre los preparados tal como son utilizados por la población, de acuerdo con el trabajo de *Toit* y colaboradores.¹⁸ La actividad antioxidante total se determinó según el ensayo más utilizado en la actualidad, basado en la reacción de sustancias antioxidantes con el reactivo DPPH.^{19,20}

Se realizó un ensayo cualitativo, con el uso de placas de sílica-gel para cromatografía en capa delgada y una solución reveladora de DPPH (2 mg/mL). Se sembraron 3 μ L de cada extracto en una placa de sílica-gel y se dejó secar a temperatura ambiente durante 2 min. A continuación, se roció la placa con la solución de DPPH y se dejó secar a temperatura ambiente durante 5 minutos. La observación de manchas amarillas en la placa se tomó como indicación de actividad antioxidante. Por el contrario, si la placa permanecía de color violeta se consideró que el extracto o aceite no presentaba actividad.²¹

Luego se realizó un ensayo cuantitativo con el manejo del método espectrofotométrico propuesto por *Brand-Williams* y colaboradores,¹⁹ utilizado reciente por *Almeida* y colaboradores.²² Se preparó una solución de 20 mg/L de DPPH en metanol. Se utilizaron cubetas de espectrofotometría de 4,5 mL, en cada una de las cuales se agregaron 3,9 mL de solución de DPPH y luego 0,1 mL de cada muestra a analizar. Las muestras a analizar fueron infusiones, tinturas y aceites esenciales, de forma pura y las diluciones seriadas $\frac{1}{2}$ que fueran necesarias para obtener el valor de EC50. Cada muestra se preparó por triplicado.²²

Se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro ultravioleta-visible (UV) en dos momentos diferentes para cada muestra: en el tiempo cero (antes de agregar la muestra) y en el estado estable, a los 30 minutos de agregar la muestra, momento en el que culmina la reacción entre el DPPH • y el sustrato analizado, cuando el valor de absorbancia se hace constante.¹⁹ Para cada cubeta se calculó el porcentaje de DPPH• remanente según la siguiente fórmula:¹⁹

$$\text{Porcentaje de DPPH}^\bullet \text{ remanente} = (\text{Valor de absorbancia en el estado estable} / \text{Valor de absorbancia en el tiempo cero}) \times 100$$

Con los datos obtenidos de porcentaje de DPPH• remanente se realizó un gráfico en función de la cantidad de muestra para cada especie y por cada tipo de extracto. A partir de los mismos, se realizó una regresión lineal que permitió obtener el parámetro EC50. Este parámetro representa la cantidad (en este caso expresada en μ L de muestra antioxidante necesaria para disminuir la concentración de DPPH• inicial en un 50 %).^{18,19} Luego se calculó el poder antirradical (ARP) de cada muestra. ARP es definido como $1/EC50$, un valor muy útil y gráficamente claro para comparar la actividad antioxidante de diferentes extractos vegetales analizados en el mismo sistema experimental, a mayor ARP mayor poder antioxidante.^{19,23}

Se realizó una curva de calibración con distintas concentraciones de ácido ascórbico, un potente antioxidante natural hidrosoluble. Se obtuvo un valor de $EC50 = 1,3 \text{ mg/L}$ para esta vitamina; luego, en base a este valor, se calculó la equivalencia entre la actividad antioxidante de cada extracto y el ácido ascórbico. De esta forma se expresa el resultado de la actividad antioxidante en términos de equivalentes de ácido ascórbico (VCEAC).^{18,22}

En este caso el valor de VCEAC es expresado como $VCEAC_{1000 \text{ mg}}$, el cual indica la cantidad de mililitros de cada extracto que posee una actividad antioxidante equivalente a la de 1,000 mg de ácido ascórbico.

Se realizaron blancos con DPPH + metanol, y DPPH + agua destilada.

Para cada muestra las determinaciones de EC50 y ARP se realizaron por triplicado, de tal manera que los resultados obtenidos se expresaron como la media \pm desviación estándar.²²

Identificación de componentes volátiles por gases-espectrometría de masas (GC-MS)

Se realizó por el método de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-FID-MS) con el uso de un equipo Perkin Elmer GC modelo Clarus 500. La identificación se realizó por comparación de los índices de retención (IR) en dos columnas de distinta polaridad (DB-5 y Carbowax 20 M) y sus espectros de masa con los que figuran en nuestra base de datos y otras comerciales. La configuración del equipo fue la misma que la utilizada por *Retta* y colaboradores.²⁴ La cuantificación se realizó por el método de porcentaje de áreas, sin corrección por diferencias de respuesta. Se tomó para cada componente la menor respuesta obtenida entre las correspondientes a cada columna usada. Los datos obtenidos se procesaron con el programa "Turbomass Reporter V 1.1 (Perkin Elmer Argentina, 2005)".²⁴

RESULTADOS

Actividad antioxidante cualitativa

El resultado del ensayo cualitativo se resume en la figura 2. En la misma se muestran las imágenes obtenidas de las placas de sílica-gel para cada especie y para cada infusión, tintura y aceite esencial. Cabe recordar que mientras más intensa, nítida y clara es la mancha amarilla, mayor es la actividad antioxidante de la muestra.

Se observa que todas las especies presentan actividad antioxidante en alguno de los extractos.; *B. globosa* presenta la mayor actividad entre las infusiones, todas las tinturas presentaron una alta actividad, y entre los aceites esenciales *A. seriphioides* y *A. boronioides* presentaron la mayor actividad antioxidante.

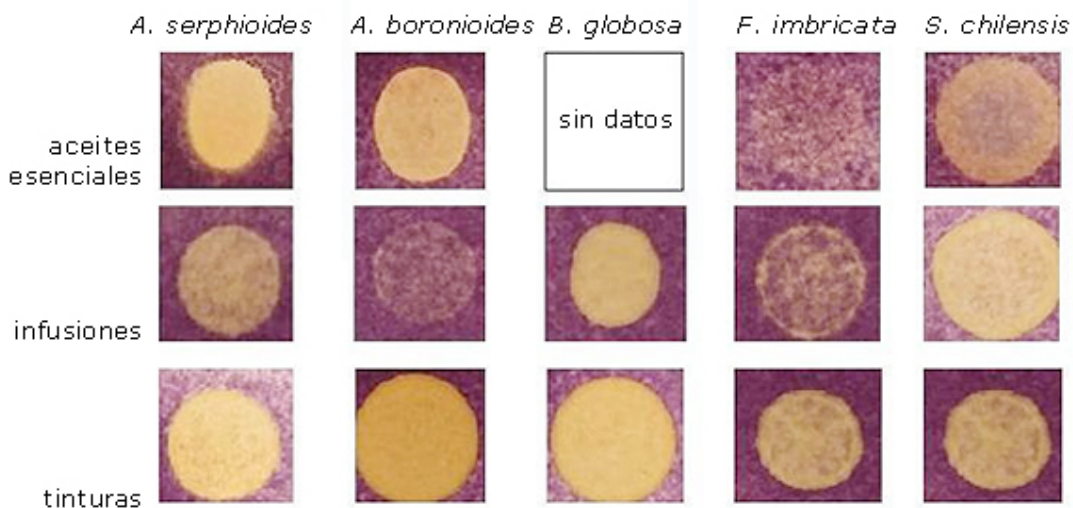


Fig. 2. Ensayo cualitativo de DPPH, una mancha amarilla más intensa y nítida indica mayor actividad antioxidante.

Actividad antioxidante cuantitativa

Se cuantificó la actividad antioxidante obteniéndose los valores de EC50, ARP y VCEAC_{1000 mg} para cada especie y tipo de extracto. Los datos obtenidos de los distintos parámetros se presentan en la tabla. Puede verse por ejemplo que 313,16 mL de infusión de *B. globosa* presentan la misma actividad antioxidante que 1,000 mg de vitamina C con la técnica empleada.

Tabla. Parámetros del ensayo de actividad antioxidante cuantitativo

		EC±SD	ARP±SD	VCEAC _{1000 mg}
<i>A. seriphioides</i>	I	2,26±0,35	0,45±0,06	445,76
	T	1,27±0,06	0,79±0,04	250,49
	A	1,08±0,02	0,93±0,02	213,02
<i>A. boronioides</i>	I	23,31±4,72	0,04±0,01	4597,63
	T	1,91±0,10	0,52±0,00	376,73
	A	9,99±1,88	0,10±0,02	1970,41
<i>B. globosa</i>	I	1,59±0,08	0,63±0,03	313,61
	T	0,38±0,01	2,62±0,05	74,95
<i>F. imbricata</i>	I	5,86±0,28	0,17±0,01	1155,82
	T	0,50±0,06	2,02±0,22	98,62
<i>S. chilensis</i>	I	2,05±0,03	0,49±0,01	404,34
	T	0,54±0,03	1,84±0,11	106,51
	A	83,59±4,97	0,01±0,00	16487,18

I = infusión, T = tintura y A = aceite esencial.

EC50 se presenta en valores absolutos de µL de extracto o aceite esencial.

ARP es un número adimensional definido como 1/EC50.

VCEAC_{1000 mg} indica la cantidad en mL de cada extracto que posee una actividad antioxidante equivalente a la de 1,000 mg de ácido ascórbico.

En la figura 3 se muestra el valor de ARP para cada especie, se presenta una columna correspondiente a cada especie estudiada. Cabe recordar que un mayor valor de ARP significa una mayor actividad antioxidante y es un parámetro directo para comparar distintos valores obtenidos en el mismo sistema experimental. Se puede observar como *B. globosa* presenta el valor más alto de ARP total, seguida por *S. chilensis*, *F. imbricata* y *A. seriphioides*. Además se muestra en qué proporción contribuye cada infusión, tintura y aceite esencial al ARP para cada especie. Puede verse, por ejemplo, como para *F. imbricata* la tintura representa la mayor parte del ARP de esa especie; o como el aceite esencial es importante en el ARP total de *A. seriphioides*.

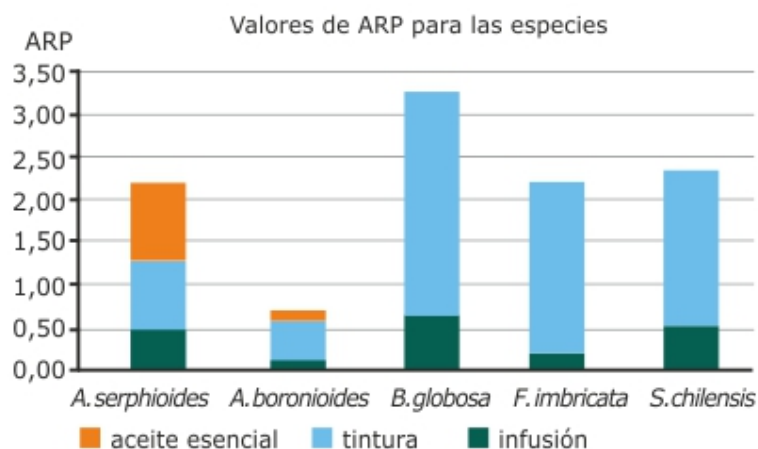


Fig. 3. Ensayo cuantitativo de DPPH, valores de ARP para las distintas especies y extractos.

Identificación de componentes volátiles

A continuación se presentan los componentes identificados en los aceites esenciales que se hallaron en una concentración mayor al 5 %, los que podrían tener alguna relación con la actividad antioxidante observada:

- *Seriphioides*: para-cimeno 50,2 %, gamma-terpineno 15,6 %, timol 14,2 % y carvacrol 5,9 %.
- *Boronioides*: alfa-pineno 7,7 %, esquelenona 13,3 %, delta-cadineno 11,9 %, isoesquelenona 8,8 % y 1-epi-cubanol 5,6 %.
- *B. globosa*: el rendimiento de aceite esencial fue ínfimo por lo que se pudo cuantificar con el método utilizado.
- *F. imbricata*: triciclono 45,4 %, alfa-pineno 14,4 % y canfeno 15,8 %.
- *S. chilensis*: mirceno 6,2 %, alfa-felandreno 13,1 %, limoneno 31,2 % y germacreno D 36,6 %.

DISCUSIÓN

El presente trabajo es el primero que estudia la actividad antioxidante de especies de plantas medicinales y aromáticas de la región noroeste de la Patagonia Argentina.

Se estudiaron en cuanto a su actividad antioxidante las infusiones y tinturas de las especies *A. seriphioides*, *A. boronioides*, *B. globosa*, *F. imbricata* y *S. chilensis* y los aceites esenciales de las especies *A. seriphioides*, *A. boronioides*, *F. imbricata* y *S. chilensis*.

En términos de ARP total, las especies analizadas presentaron el siguiente orden de actividad antioxidante: *B. globosa* > *S. chilensis* ≥ *F. imbricata* ≥ *A. seriphioides* > *A. boronioides*.

Los valores de actividades antioxidantes observados para los aceites esenciales son variables y dependientes de la especie considerada, lo cual se condice con la variabilidad química y ecológica que suelen presentar este tipo de extractos.⁶ En el caso de las infusiones, todas presentaron actividad antioxidante con valores

relevantes para el sistema experimental utilizado; lo que sugiere que las infusiones de plantas medicinales de la Patagonia Argentina son una potencial fuente de antioxidantes dietarios.⁷ Las tinturas de todas las especies presentaron elevados valores de ARP, lo que tal vez se deba a la gran capacidad extractiva que posee el etanol utilizado en este tipo de preparación galénica. Las actividades antioxidantes de infusiones y tinturas pueden deberse al contenido de compuestos fenólicos, por lo tanto en el futuro sería interesante profundizar en la caracterización química de este tipo de extractos.⁷

Se puede observar una correlación entre los resultados de los análisis de actividades antioxidantes por los métodos cualitativo y cuantitativo, este hecho destaca la utilidad del ensayo cualitativo inicial cuando se desea estudiar un elevado número de muestras.

Se destacan los atributos que poseen como fuentes de antioxidantes exógenos las infusiones de *B. globosa*, *S. chilensis* y *A. seriphioides*, las cuales presentan una actividad antioxidante en términos de VCEAC similar a la infusión de *Camellia sinensis* ("té verde") y superior a la infusión de *Ginkgo biloba*, especies reconocidas en todo el mundo por su alto contenido de antioxidantes. Esta afirmación surge de comparar los resultados de VCEAC de las infusiones aquí analizadas con los datos obtenidos para esas especies con las mismas técnicas por *Toit* y colaboradores.¹⁸

La actividad antioxidante encontrada para el aceite esencial de *A. seriphioides* es probable que se deba a sus componentes timol y carvacrol.²³ La actividad antioxidante encontrada para *S. chilensis* se deba a su alto contenido en limoneno.²⁵ En el caso del aceite esencial de *A. boronioides* se sugiere profundizar el estudio de la actividad antioxidante de sus componentes, ya que estos aún no han sido estudiados de forma individual.

Barboza y colaboradores plantean que en Argentina es necesario crear un programa nacional de conservación de plantas medicinales y caracterizar químicamente a las especies nativas.^{8,9} En este sentido, el presente trabajo constituye un aporte relevante en cuanto a la caracterización química de las especies nativas estudiadas. El conocimiento aquí presentado podría contribuir a promover el uso popular sustentable y la conservación de las plantas medicinales analizadas.

En vista de los prometedores resultados aquí presentados para las plantas medicinales nativas de la Patagonia Argentina, existe el proyecto de ampliar este tipo de estudios, con el uso de un mayor número de especies y la caracterización química de los extractos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bennet L, Rojas S, Seefeldt T. Role of antioxidants in the prevention of cancer. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2012;4(4):215-22.
2. Reddy L, Odhav B, Bhoola K. Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacology and Therapeutics*. 2003;99:1-13.
3. Conacher H, Iverson F, Lau P, Page B. Levels of BHA and BHT in human and animal adipose tissue: interspecies extrapolation. *Food and Chemical Toxicology*. 1986;24:1159-62.

4. Moch R. Phatology of BHA and BHT induced lesions. Food and Chemical Toxicology. 1986;24:1169-86.
5. Hirose M, Takesada Y, Tanaka H, Tamano S, Kato T, Shirai T, et al. Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. Carcinogenesis. 1997;19:207-12.
6. Borneo R, León A, Aguirre A, Ribotta P, Cantero, J. Antioxidant capacity of medicinal plants from de province of Córdoba (Argentina) and their *in vitro* testing in a model food system. Food Chemistry. 2009;112:664-70.
7. Krishhnaiah D, Sarbatly R, Nithyanandam R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. Food and Bioproducts Processing. 2011;89:217-33.
8. Barboza G, Cantero J, Núñez C, Pacciaroni A, Espinar A. Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. Kurtziana. 2009;34(1-2):7-365.
9. Zuloaga F. Ciencia para conocer y proteger la Flora Argentina. CONICET. 2013 [citado 14 de Jun 2013]. Disponible en URL: <http://www.conicet.gov.ar/ciencia-para-conocer-y-proteger-la-flora-argentina>.
10. Villamil C. Conservation of medicinal plants in the southern cone of South America. Medicinal Plant Conservation. 2004;9(10):12-4.
11. González SB, Molares S. Plantas medicinales utilizadas en comunidades rurales del Chubut, Patagonia Argentina. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2004;3(3):58-62.
12. Kutschker A, Menoyo H, Hechem V. Plantas medicinales de uso popular en comunidades del oeste de Chubut. Bariloche, Argentina: INTA; 2002.
13. Correa M, Costaguta M. Flora Patagónica. Buenos Aires, Argentina: INTA; 1999.
14. González SB, Bandoni A, van Baren C, Di Leo Lira P, García C, Joseph-Nathan P, et al. The essential oil of the aerial parts of *Adesmia boronioides* Hook f. Journal of Essential Oil Research. 2004;16:513-6.
15. Alonso J, Desmarchelier C. Plantas medicinales autóctonas de la Argentina: bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud. Buenos Aires, Argentina. LOLA; 2005.
16. Bucciarelli A, Minetti A, Milczakowskyg C, Skliar M. Evaluation of gastroprotective activity and acute toxicity of *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae). Pharmaceutical Biology. 2010;48(9):1025-30.
17. Ricco R, Agudelo I, Garcés M, Evelson P, Wagner M, Gurni A, et al. Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2011;10(4):325-32.
18. Toit R, Volsteedt Y, Apostolides Z. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. Toxicology. 2001;166:63-9.

19. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 1995;28:25-30.
20. Alam M, Bristi N, Rafiquzzaman M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013;21:143-52.
21. Choi C, Kim S, Hwang S, Choi B, Ahn H, Lee M, et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*. 2002;163:1161-8.
22. Almedia M, De Sousa M, Campos M, Do Prado G, Magalhes C, Maia G, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*. 2011;44:2155-9.
23. Arteaga JF, Montoya R, Palma A, Garrido G, Pintado S, Mellado J, et al. Comparison of the simple cyclic voltammetry (CV) and DPPH assay for the determination of antioxidant capacity of active principles. *Molecules*. 2012;17:5125-38.
24. Retta D, Gattuso M, Gattuso S, Di Leo Lira P, van Baren C, Bandoni A, et al. Volatile constituents of five *Baccharis* species from the Northeastern Argentina. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2009;20:1379-84.
25. Ahmad S, Beg Z. Hypolipidemic, and antioxidant activities of thymoquinone and limonene in atherogenic suspension fed rats. *Food Chemistry*. 2013;138:1116-24.

Recibido: 2 de febrero de 2015.

Aprobado: 11 de septiembre de 2015.

Bruno Gastaldi. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Ruta 259 Km 4, Código Postal (9200). Esquel, Chubut, Argentina.
Correo electrónico: gastaldibruno@gmail.com