

# Journal of Agricultural Sciences Research

## ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE COCHLOSPERMUM VITIFOLIUM

---

**Rafael Manuel de Jesús Mex-Álvarez**  
Profesor e investigador de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

**María Magali Guillen-Morales**  
Profesora e investigadora de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

**Patricia Margarita Garma-Quen**  
Profesora e investigadora de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

**Betty Sarabia-Alcocer**  
Profesora e investigadora de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Campeche

**David Yanez-Nava**  
Docente de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

**José Luis Kantún-Haas**  
Químico egresado de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

**María Isabel Novelo-Pérez**  
Estudiante de Químico Farmacéutico Biólogo de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

All content in this magazine is licensed under a Creative Commons Attribution License. Attribution-Non-Commercial-Non-Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).



**Resumen:** En el presente trabajo se evaluó el contenido total en compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los extractos acetónico y etanólico de la hoja, flor y fruto de *C. vitifolium* para conocer su potencial farmacológico. En todos los órganos vegetales estudiados se encontró cualitativamente polifenoles, taninos totales, taninos condensados y flavonoides; en los resultados de la caracterización química de los extractos obtenidos se determinó que la flor contiene la mayor cantidad de polifenoles y sus extractos ejercieron la mayor acción antioxidante; el contenido de polifenoles encontrados es superior a los encontrados en otras especies vegetales y similares a los reportados para otras especies del género *Cochlospermum*.  
Palabras Claves: Polifenoles, metabolitos secundarios, bioactividad.

## INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevas sustancias químicas con efecto antioxidante a partir de plantas medicinales es importante porque constituyen un elemento protector frente al efecto nocivo de los radicales libres que son parte del mecanismo etiológico y fisiopatológico de enfermedades crónicas como el Alzheimer, Parkinson y la diabetes.<sup>1-3</sup> Una especie vegetal de interés, en este sentido, es *Cochlospermum vitifolium*, pues es una planta medicinal de importancia etnofarmacológica en varios países como Cuba, Costa Rica, Guatemala y México donde se utiliza principalmente para el tratamiento de la malaria, ictericia, úlceras, enfermedad renal, hepática y de las vías respiratorias, también se emplea como antihipertensivo y emenagogo.<sup>4-7</sup> A pesar de estos datos, se conoce poco de la química de *C. vitifolium*; pero se reporta que en la planta completa se han encontrado los flavonoides, en la hoja, cumarinas y otros polifenoles y en la raíz, carotenoides.<sup>4</sup>

La importancia de este trabajo de investigación radica en el aporte de nuevos conocimientos sobre la composición de metabolitos fenólicos de *C. vitifolium* que permiten establecer las condiciones de extracción de los metabolitos de mayor interés farmacológico y justificar el empleo de la planta en formulaciones con actividad antioxidante en la que se fundamenta el uso etnobotánico de la planta en México.<sup>8-11</sup> Desde el punto de vista práctico, la investigación ofrece aportes sociales y económicos, porque el conocimiento de la composición química de *C. vitifolium* que crece en Campeche, así como la evaluación de su actividad antioxidante, permite sustentar sobre bases científicas el empleo de esta planta en el tratamiento de enfermedades asociadas al estrés oxidativo considerado actualmente un problema de salud pública; además, la extensión de estos resultados a otros sistemas de experimentación permitirá desarrollar productos innovadores que se pueden patentar y comercializar.<sup>12-15</sup>

## METODOLOGÍA

Las muestras de *C. vitifolium* se recolectaron en la periferia del municipio de San Francisco de Campeche en el Estado de Campeche, México, durante el mes de febrero del 2018 y se transportaron al laboratorio para eliminar cualquier impureza mecánica; la planta fue identificada en un herbario para corroborar su clasificación taxonómica. Las muestras vegetales (hojas, flores y frutos) se secaron en estufa a 50 °C; una vez secas, se trituraron y posteriormente, se realizó la extracción del material biológico por maceración con dos disolventes, etanol al 70% y acetona al 100%, durante 48 horas a temperatura ambiente; terminado el proceso de extracción, se filtraron los extractos y se llevaron a sequedad en un rotavapor equipado con baño María a 40 °C, se resuspendieron en etanol absoluto y se conservaron en refrigeración a 4 °C para

su cuantificación química. Se cuantificaron los polifenoles totales, taninos totales, taninos condensados y flavonoides totales contenidos en los extractos y la actividad antioxidante se determinó por tres técnicas diferentes: inhibición del radical DPPH, neutralización del peróxido de hidrógeno y poder reductor del ión férrico (FRAP).

### **CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS TOTALES**

Se adicionó 100  $\mu\text{L}$  del extracto a 1000  $\mu\text{L}$  de agua en un tubo de ensayo y luego se añadió 100  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin-Ciocalteu, se dejó reaccionar durante 15 minutos y, posteriormente, se adicionó 500  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio al 20% y se incubó a temperatura ambiente por 10 min. Finalmente, se leyó en un espectrofotómetro a 760 nm. Se realizó una curva de calibración usando como patrón ácido gálico para determinar la concentración de polifenoles presentes en cada extracto.

### **CUANTIFICACIÓN DE TANINOS TOTALES**

Se preparó el reactivo de gelatina para la precipitación de taninos mezclando en un matraz volumétrico 5 mL de la solución de gelatina al 10% y 10 mL de solución de NaCl 10% en HCl 1%; se agitó la mezcla y se aforó a 50 mL con agua destilada, se dejó en reposo la mezcla por 30 minutos para dejar sedimentar los sólidos insolubles. Posteriormente, se filtró la mezcla y la solución filtrada se empleó como reactivo para el análisis de taninos totales. Se mezcló 500  $\mu\text{L}$  del extracto con 500  $\mu\text{L}$  del reactivo de gelatina y se incubó por 30 minutos a baño María a 37°C, después se centrifugó a 5,000 rpm durante 10 minutos y se tomaron 500  $\mu\text{L}$  del sobrenadante, para la determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu (100  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin Ciocalteu sin adición de agua destilada

y 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  20%). Finalmente, se leyó en un espectrofotómetro a 760 nm y se utilizó ácido gálico como patrón.

### **CUANTIFICACIÓN DE TANINOS CONDENSADOS**

Se mezcló 100  $\mu\text{L}$  del extracto con 2 mL del reactivo de vainillina HCl (que se prepara al mezclar cantidades iguales de HCl 10% y vainillina 1% en metanol), se dejó reaccionar y se midió la absorbancia después de 20 minutos a 500 nm. Se realizó una curva de calibración empleando catequina como estándar y los resultados se expresaron como equivalente de catequina en mg por gramo de extracto.

### **CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES**

En el desarrollo del método colorimétrico del cloruro de aluminio, se transfirió a un tubo de ensayo 1.0 mL de agua destilada y se añadió 100  $\mu\text{L}$  de extracto y 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  al 5%, se mezcló y se dejó reaccionar 5 minutos. Luego se adicionó 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  10%, se homogenizó y se dejó reaccionar otros 5 minutos. Finalmente, se añadió 100  $\mu\text{L}$  de NaOH 1.0 M y se leyó la absorbancia a 510 nm. Para calcular la concentración de los flavonoides se realizó una curva de calibración empleando quercetina como estándar. La concentración se expresó como mg equivalentes de quercetina/g de extracto.

### **ACTIVIDAD NEUTRALIZANTE DE RADICALES LIBRES (MÉTODO DE INHIBICIÓN DEL DPPH)**

Se mezcló 2.0 mL de una solución de DPPH (150  $\mu\text{M}$  en metanol) y 100  $\mu\text{L}$  de extracto en tubos de ensayo, luego se incubó la mezcla de reacción en un lugar oscuro y a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posterior al período de incubación, se leyó la absorbancia de las soluciones en un espectrofotómetro a 520 nm, ajustando a cero de absorbancia con

metanol. También se leyó la absorbancia de la mezcla de 2.0 mL de la solución de DPPH con 100  $\mu$ L de metanol. Se empleó ácido gálico, disuelto en etanol, como solución estándar.

### ACTIVIDAD REDUCTORA DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

Se empleó el método de la peroxidasa para determinar la concentración de peróxido de hidrógeno remanente. Se mezcló en un tubo de ensayo 500  $\mu$ L del extracto con 500  $\mu$ L de una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 700  $\mu$ M, se dejó incubar 30 minutos a 37°C en baño María; terminado el tiempo de reacción se transfirió 100  $\mu$ L de la mezcla a un tubo de ensayo que contenga el reactivo generador de color [Fenol 12 mM, 4-aminoantipirina 0.5 mM, peroxidasa de rábano picante 1.0 U/mL en solución buffer de fosfato salino (PBS) 84 mM pH=7.0], se mezcló y se dejó en incubación a 37°C por 30 minutos. Posteriormente, se midió la absorbancia a 504 nm ajustando a cero de absorbancia con PBS; se corrigió la interferencia en la lectura usando todos los reactivos, pero reemplazando el fenol por PBS, la absorbancia obtenida se restó a la absorbancia original.

### PODER ANTIOXIDANTE REDUCTOR DE ION FÉRRICO (FRAP)

En el método del poder antioxidante reductor de ion férrico se empleó diferentes concentraciones de los extractos de hojas, flores y frutos (de 50 a 200 ppm). Se mezclaron 100  $\mu$ L del extracto con 2.5 mL de solución tampón de fosfatos (0.2 M, pH=6.6) y se adicionó 2.5 mL de solución de ferricianuro de potasio [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] al 1%; se incubó la mezcla a 50 °C por 20 minutos; luego se adicionó 2.5 mL de ácido tricloroacético al 10% y se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min. Se tomó 2.5 mL del sobrenadante y se adicionó 2.5 mL de agua destilada y 500  $\mu$ L de cloruro férrico al 1%. Finalmente se

medió la absorbancia de cada mezcla en un espectrofotómetro a 700 nm.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se expresaron como la media desviación estándar. El análisis estadístico se realizó con la ayuda del programa computacional SPSS 22.0. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia del 95% ( $p \leq 0.05$ ), para establecer diferencias estadísticas entre las diferentes muestras por su contenido de polifenoles o su actividad antioxidante. El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Pearson.

### RESULTADOS

Los extractos se obtuvieron por maceración del material vegetal seco en proporción 1:10 (peso del vegetal/ volumen de disolvente); posteriormente se determinó la cantidad de los sólidos solubles totales contenidos en los extractos y a partir de ello se obtuvo los porcentajes de extracción o rendimiento que se reportan en la tabla 1, el mayor rendimiento de extracción se obtuvo con etanol, la parte vegetal de la que se extrajo una mayor cantidad de sólidos fue la flor y de la que se extrajo la menor cantidad fue del fruto.

| Parte vegetal | Disolvente | Clave | %Extracción          |
|---------------|------------|-------|----------------------|
| Hoja          | Etanol     | HM    | 8.60.5 <sup>a</sup>  |
| Hoja          | Acetona    | HA    | 5.40.4 <sup>b</sup>  |
| Flor          | Etanol     | FM    | 19.20.5 <sup>c</sup> |
| Flor          | Acetona    | FA    | 11.70.4 <sup>d</sup> |
| Fruto         | Etanol     | UE    | 6.90.6 <sup>e</sup>  |
| Fruto         | Acetona    | UA    | 4.80.3 <sup>b</sup>  |

Resultados expresados como media una desviación estándar (XDE), n=3, letras diferentes en la columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Tabla 1. Rendimiento de la extracción por maceración de la hoja, flor y fruto de *C. vitifolium*.

Considerando la cantidad de extracto obtenido a partir del material vegetal seco, se calculó la cantidad de compuesto extraído en relación a 100 g de peso seco; estos valores se reportan en la Figura 1, en la cual se aprecia la relación existente de los cuatro tipos de polifenoles cuantificados, en esta gráfica acumulativa el resto de fenoles que no son taninos totales ni flavonoides se denomina “otros polifenoles” y el residual de taninos que no son taninos condensados como “otros taninos”. En esa figura se puede apreciar que el extracto etanólico de la flor contuvo la mayor cantidad de compuestos polifenólicos y la mayor cantidad de taninos totales, pero que los extractos etanólicos de la hoja y del fruto contienen la mayor cantidad de taninos condensados, los flavonoides están presentes en mayor proporción en el extracto acetónico de la flor.

En la determinación de la actividad antioxidante existen diversas formas de reportar los resultados y esto impide la comparación entre extractos de los diferentes reportes científicos; con este fin, en los métodos ensayados, se empleó como estándar ácido gálico y primero se realizó una curva de calibración del analito prooxidante para corroborar la linealidad del método en las condiciones ensayadas y posteriormente se realizó una curva de calibración empleando el estándar antioxidante de ácido gálico, de esta curva se obtuvo la ecuación de la recta y con ella se calculó la cantidad equivalente de ácido gálico (EAG) presente en el extracto.

En la figura 2 se reportan los resultados de los tres métodos antioxidantes ensayados, los resultados se expresan como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por gramo de extracto; esto permite comparar los resultados obtenidos en cada método; los extractos exhibieron una mayor capacidad de reducir radicales libres principalmente y una menor capacidad de reducir al hierro férrico.

Los valores obtenidos en la actividad antioxidante se compararon con la cantidad de metabolitos fenólicos determinada para estimar la correlación existente entre ellos, estos resultados se reportan en la tabla 2 y en la figura 3, en las cuales se puede apreciar el grado de predicción de la actividad antioxidante respecto a la cantidad presente de cada uno de los tipos de compuestos polifenólicos.

## DISCUSIÓN

Se emplearon dos disolventes para la extracción de los metabolitos secundarios de *C. vitifolium*, los porcentajes de extracción determinados indican que el etanol fue más eficiente para la extracción de compuestos en los tres órganos vegetales estudiados (hoja, flor y fruto); la extracción depende de la naturaleza de los compuestos a extraer, especialmente la polaridad, el etanol es un disolvente más polar que la acetona. Respecto a los compuestos polifenólicos que pueden extraerse dependerá de la naturaleza del compuesto extraíble, su estructura, grado de polimerización y su relación con la polaridad del disolvente empleado en la extracción.<sup>16-17</sup> La especie *C. vitifolium* presenta una abundancia de pigmentos amarillos (tipo carotenoides), que cualitativa y cuantitativamente fue mayor en los extractos acetónicos (resultados no reportados en este trabajo), como correspondería esperar por la naturaleza lipófila de estos compuestos, semejante a otras especies de este género.<sup>18-19</sup>

En contraste la extracción de distintos tipos de polifenoles como los flavonoides generalmente se logra con disolventes polares como el agua, el metanol, el etanol, la acetona y el DMSO; especialmente cuando los flavonoides presentan un gran número de grupos hidroxilos instituidos o están unidos por enlaces covalentes a azúcares. Si los flavonoides se presentan en forma de agliconas, es decir, carecen de residuos de

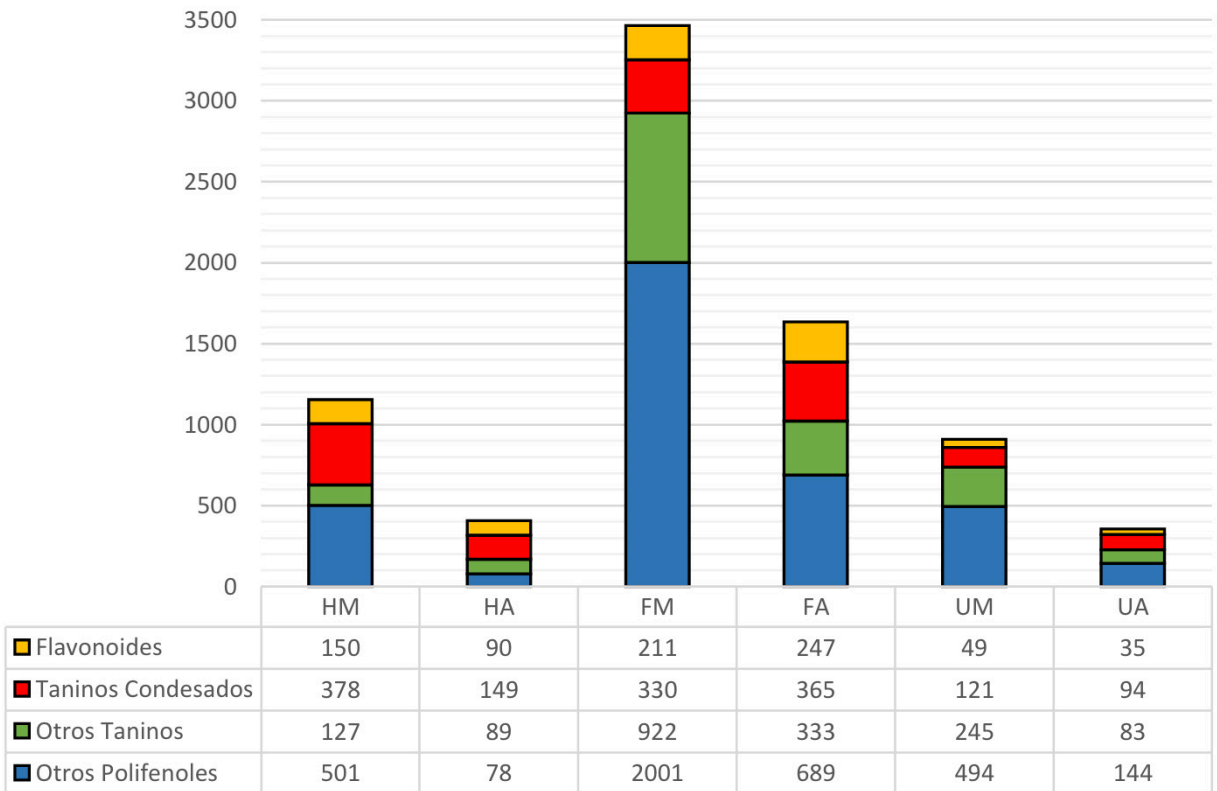


Figura 1. Cantidad de compuestos polifenólicos contenidos en los extractos de *C. vitifolium* expresados como mg de compuesto/ 100g de material vegetal seco.

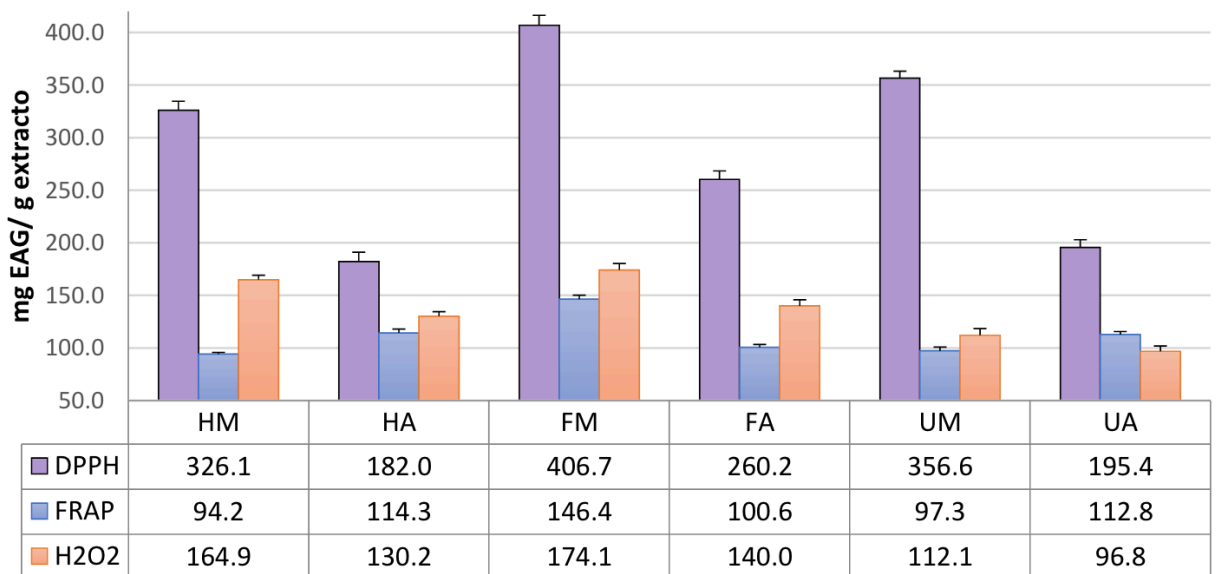


Figura 2. Resultados de la inhibición de DPPH, del poder reductor de hierro y de la reducción de peróxido de hidrógeno por los extractos de *C. vitifolium*.

| Prueba                        | Polifenoles totales            | Taninos totales                | Taninos condensados              | Flavonoides                       |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| DPPH                          | $y=1.83x+14.8$<br>$R^2=0.7323$ | $y=6.93x+79.0$<br>$R^2=0.6640$ | $y=-1.22x+319.8$<br>$R^2=0.0198$ | $y=-3.27x+331.8$<br>$R^2=0.0442$  |
| FRAP                          | $y=0.08x+98.4$<br>$R^2=0.0339$ | $y=0.36x+91.4$<br>$R^2=0.0415$ | $y=-1.03x+137.8$<br>$R^2=0.3112$ | $y=-0.873x+122.6$<br>$R^2=0.0696$ |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | $y=0.58x+48.9$<br>$R^2=0.6886$ | $y=2.37x+10.8$<br>$R^2=0.7147$ | $y=1.19x+105.1$<br>$R^2=0.1743$  | $y=2.54x+102.3$<br>$R^2=0.2438$   |

Tabla 2. Resultados del análisis de correlación entre los diferentes metabolitos y los métodos antioxidantes ensayados.

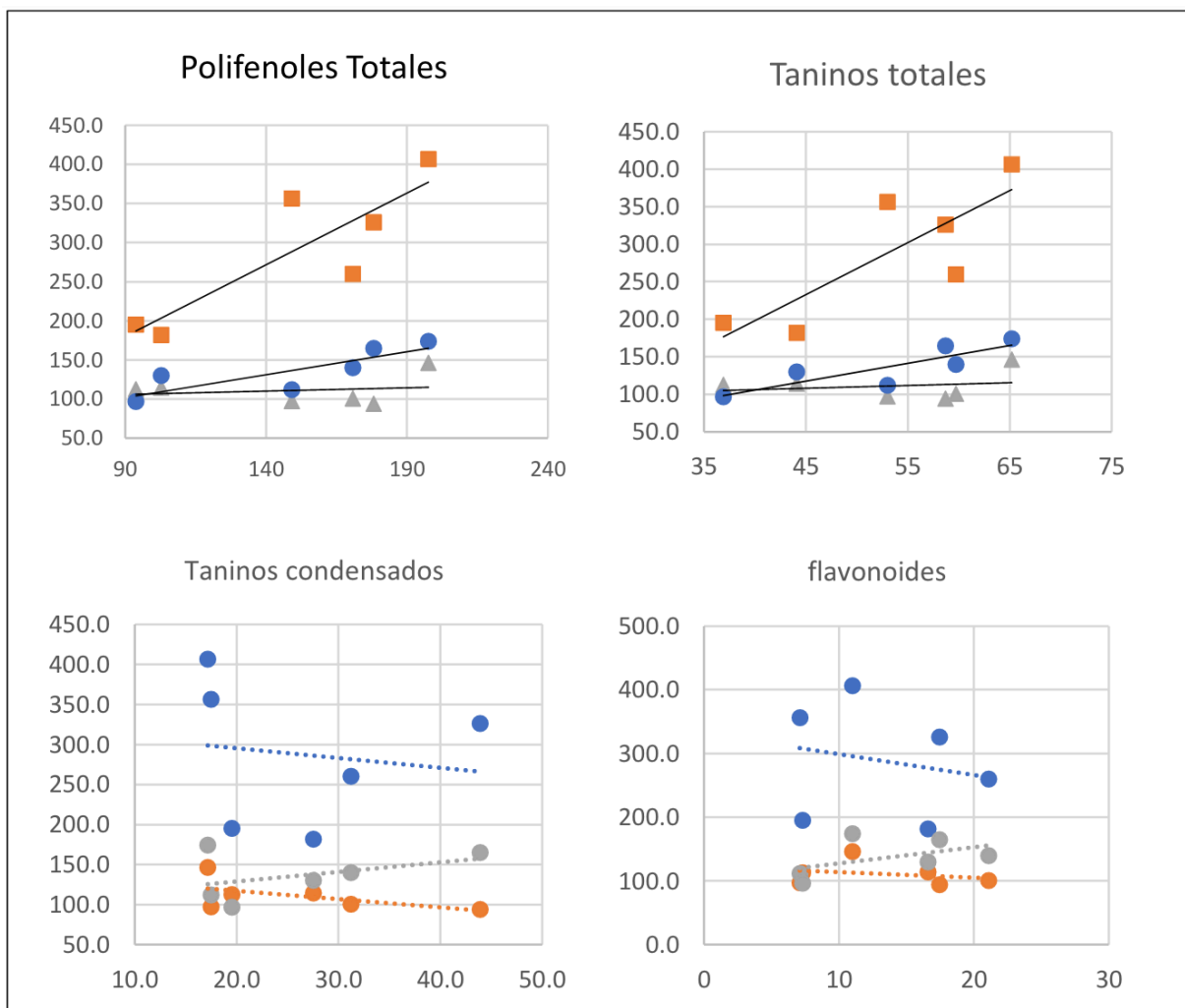


Figura 3. Gráficas de correlación lineal entre los metabolitos y la actividad antioxidante de *C. vitifolium*.

azúcar o sus grupos hidroxilos están altamente metoxilados aumentan su carácter lipófilo y se disuelven mejor en disolventes de mediana polaridad como el acetato de etilo o la acetona; en contraposición las agliconas de los flavonoides que están altamente hidroxiladas son muy solubles en disolventes polares como alcoholes (metanol, etanol y butanol) e incluso en agua.<sup>20</sup>

Algunos autores señalan que disolventes de alta polaridad como el agua y el etanol presentan un mejor rendimiento en la obtención de polifenoles en comparación con la acetona y el dietiléter; otros indican que la acetona y el acetato de etilo son buenos disolventes para extraer la mayoría de taninos y otros polifenoles vegetales por eso es conveniente emplear diversos disolventes para la extracción de los compuestos polifenólicos por la gran diversidad de los mismos y las diferencias entre especies vegetales, los más usados son el agua, el metanol, el etanol, la acetona y el acetato de etilo; cada uno posee un poder extractor distinto tanto en la cantidad como en la composición de sustancias fenólicas obtenidas.<sup>21</sup>

La composición de los compuestos polifenólicos extraídos depende del disolvente empleado y al órgano vegetal extraído pues la distribución de los metabolitos polifenólicos no es uniforme en los diferentes órganos vegetales y la variación también depende de las diferentes poblaciones de la planta.<sup>19,22</sup> La cantidad de los compuestos fenólicos producidos por una determinada especie están determinados por distintos factores entre los que destacan la genética, las condiciones ambientales y la fenología de la plantas que causan variaciones intraespecíficas; pero también hay variación dentro de un mismo individuo por factores genéticos, ontogénicos, bióticos y abióticos; hay factores como la sequía, la poda, la defoliación y el ataque de plagas que

causan daños fisiológicos y pueden influir en la cantidad de polifenoles presentes en la planta.<sup>22</sup>

En cuanto a la actividad antioxidante para poder evaluarla se prefieren métodos sencillos, económicos y de fácil acceso y con alta reproducibilidad, entre ellos destaca el método del DPPH que mide la capacidad de los extractos para reducir al radical libre por donación de átomos de hidrógeno, este ensayo es una técnica de decoloración porque el radical DPPH es de color violeta y al reducirse se torna amarillo.<sup>23,24</sup> En general, los fenoles han recibido mucha atención como antioxidantes por su capacidad de reducir radicales libres; pero también para quelar metales y como donadores de hidrógeno por ello se consideran como sustancias reductoras.

El ensayo del FRAP sirve para determinar la eficacia de los compuestos antioxidantes para reducir el ion férrico a ferroso; esto sirve para suprimir la formación de radicales y prevenir el daño oxidativo; el poder reductor indica que hay compuestos en los extractos que son donadores de electrones y que pueden actuar como antioxidantes primarios y secundarios; la capacidad de reducir el hierro férrico se puede atribuir a la donación de hidrógenos de los compuestos fenólicos que se relaciona con la presencia de agentes reductores.<sup>20,24</sup>

Igualmente, debido a que los polifenoles son buenos donadores de electrones pueden acelerar la descomposición del peróxido de hidrógeno a agua previniendo el daño tisular por especies reactivas de oxígeno; el peróxido de hidrógeno no es muy reactivo por sí mismo, pero puede ser tóxico para las células porque produce radicales hidroxilo que son muy dañinos, por esto es importante remover el peróxido en los sistemas celulares o de los alimentos; además algunos sistemas enzimáticos usan como sustrato al peróxido de hidrógeno para obtener metabolitos



oxidantes más potentes, como es el caso de la mieloperoxidasa que lo convierte en hipoclorito.<sup>25</sup>

Con el aumento en el estrés oxidativo por diversos factores como la contaminación, mala alimentación y el aumento en el consumo de sustancias tóxicas como el alcohol y cigarro se ha incrementado el número de pacientes que padecen enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo como el cáncer, la enfermedad de Parkinson, el asma, enfermedades cardiovasculares y la diabetes. Los compuestos polifenólicos sintetizados por las plantas tienen una actividad antioxidante elevada y por ello sirven para la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo; estos compuestos generalmente son inocuos para el ser humano y pueden emplearse en la alimentación y por sus efectos benéficos para la salud humana y animal caracterizan a las plantas que las contienen como alimentos funcionales o para detectar fuentes vegetales potencialmente útiles como suplementos alimenticios.<sup>26-29</sup>

una muy buena correlación entre la presencia de polifenoles de los extractos y su actividad antioxidante, esto sugiere que además de los polifenoles en los extractos están presentes otras sustancias que ejercen una acción antioxidante significativa.

## CONCLUSIONES

El etanol fue el disolvente que extrajo una mayor cantidad de sólidos de los tejidos de *Cochlospermum vitifolium*, el extracto etanólico de la flor contuvo la mayor cantidad de sólidos (19.2%) y fue el extracto que contenía la mayor cantidad de polifenoles totales (3.79 g de ácido gálico/ 100 g de material seco) y de taninos totales; pero el extracto acetónico de la flor tuvo la mayor cantidad de taninos condensados. Los extractos de *C. vitifolium* mostraron una buena actividad antioxidante, pero exhibieron una mejor actividad neutralizantes de radicales libres y una menor capacidad de reducción de iones férricos y peróxido de hidrógeno. El extracto etanólico de la flor fue el que mostró la mayor actividad antioxidante; sin embargo, no existe

## REFERENCIAS

1. Carranco Jáuregui, María Elena, Calvo Carrillo, Ma. de la Concepción, & Pérez-Gil Romo, Fernando. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61(3), 233-241.
2. Coronado H, Marta, Vega y León, Salvador, Gutiérrez T, Rey, Vázquez F, Marcela, & Radilla V, Claudia. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212.
3. Fernández-Araque, Ana, Giaquinta-Aranda, Andrea, Laudo-Pardos, Consuelo, & Rojo-Aragüés, Abel-A.. (2017). Los antioxidantes en el proceso de patologías oculares. *Nutrición Hospitalaria*, 34(2), 469-478. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.420>
4. Correa, M.D.; Galdames, C.; Sánchez, M. N. (2004). Catálogo de Plantas Vasculares de Panamá. *Smithsonian Tropical Research Institute, Panama*. 1–599.
5. Xenofonte, S.C.; Gomes, T.L.; Rocha, E.; Loiola, O.D. (2005). Constituintes químicos voláteis e não-voláteis de *Cochlospermum vitifolium* (Willdenow) Sprengel. *Química Nova*. 28 (1): 57-60.
6. Sánchez, J. C.; Ortiz, R.R.; Aguirre, F.; Vergara, I.; León, S.; Montes, R.; Villalobos, S.; Estrada, D. (2007). Hypoglycemic, vasorelaxant and hepatoprotective effects of *Cochlospermum vitifolium* (Wild) Sprengel: A potential agent for the treatment of metabolic syndrome. *Journal of Ethnopharmacology*, 109: 400-405.
7. Esquivel, E.R.; Noriega, R.; Bello, M.A.; Saavedra, A.; Salgado, R. (2012). Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biológicas*, 14 (1): 45–52.
8. Ríos-García, Carlos Alberto, Orantes-García, Carolina, Moreno-Moreno, Rubén Antonio, & Farrera-Sarmiento, Óscar. (2018). Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y germinación de dos especies arbóreas tropicales. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 5(13), 103-109. <https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1161>
9. Hernández, Tzasná, García-Bores, Ana M., Serrano, Rocío, Ávila, Guillermo, Dávila, Patricia, Cervantes, Héctor, Peñalosa, Ignacio, Flores-Ortiz, César M., & Lira, Rafael. (2015). Fitoquímica y actividades biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *TIP Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 18(2), 116-121.
10. Soria, Nélide, Ramos, Pasionaria, Viveros, Guiomar, Estigarribia, Gladys, Ríos, Patricia, & Ortíz, Analía. (2020). Etnobotánica y uso de plantas medicinales en unidades familiares de salud de Caaguazú, Paraguay. *Caldasia*, 42(2), 263-277. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v42n2.76907>
11. Zambrano-Intriago, Leonardo Fabián, Buenaño-Allauca, Mónica Patricia, Mancera-Rodríguez, Néstor Javier, & Jiménez-Romero, Edwin. (2015). Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Universidad y Salud*, 17(1), 97-111.
12. Sánchez-Salgado, J. C., Castillo-España, P., Ibarra-Barajas, M., Villalobos-Molina, R., & Estrada-Soto, S. (2010). *Cochlospermum vitifolium* induces vasorelaxant and antihypertensive effects mainly by activation of NO/cGMP signaling pathway. *Journal of ethnopharmacology*, 130(3), 477–484. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.037>
13. Aguilar-Guadarrama, A. B., & Rios, M. Y. (2018). Flavonoids, Sterols and Lignans from *Cochlospermum vitifolium* and Their Relationship with Its Liver Activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(8), 1952. <https://doi.org/10.3390/molecules23081952>
14. Lamien-Meda A, Kiendrebeogo M, Compaoré M, Meda RN, Bacher M, Koenig K, Pacher T, Fuehrer HP, Noedl H, Willcox M, Novak J. (2015). Quality assessment and antiplasmodial activity of West African *Cochlospermum* species. *Phytochemistry*, 119, 51-61. doi: 10.1016/j.phytochem.2015.09.006.
15. Lino-Villalba, Oriana A., Toledo, Marisol, Martínez-Ugarteche, Maira T., Arroyo-Herbas, Liliana, Quiroga-Méndez, Scarlet, Montero, Jean Carla, Klitgaard, Bente B., & Villarroel, Daniel. (2022). Plantas nativas con valor socioeconómico de la nación Monkoxi de Lomerío, Santa Cruz, Bolivia. *Ecología en Bolivia*, 57(2), 57-82.
16. Velásquez, A. M. (2004). Extracción de taninos presentes en el banano verde. *Revista Lasallista de Investigación*, 1, 17-22.
17. Pérez, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 22(1): 48-57.
18. Aguilar-Guadarrama, A. B.; Rios, M. Y. (2018). Flavonoids, sterols and lignans from *Cochlospermum vitifolium* and their relationship with its liver activity. *Molecules*, 23(8): 1-8.

19. Carvalho, R. S.; Carollo, C. A.; Magalhães, J. C.; Palumbo, J. M. C.; Boaretto, A. G.; Nunes e Sa, C.; Ferraz, A. C.; Lima, W. G.; Siqueira, J. M.; Ferreira, J. M. S. (2018). Antibacterial and antifungal activities of phenolic compound-enriched ethyl acetate fraction from *Cochlospermum regium* (mart. Et. Schr.) Pilger roots: Mechanisms of action and synergism with tannin and gallic acid. *South African Journal of Botany*, 114, 181-187.
20. Hajirahmoodi, M.; Moghddam, G.; Ranjbar, A. M.; Khazani, H.; Sadeghi, N.; Reza O. M. (2013). Total phenolic, flavonoids, tannin content and antioxidant power of some Iranian pomegranate flower cultivars (*Punica granatum*, L). *American Journal of Plant Sciences*, 4 (1), 1815-1820.
21. Alves, J.; Mendonca, L. A.; Reis da Silva, S. J.; Flach, A. (2014). Color phenolic and flavonoid content and antioxidant activity of honey from Roriana Brazil. *Food Science and Technology*, 34 (1), 69-73.
22. Cabrera, M.L.; Salinas, Y.; Velázquez, G.A.; Espinosa, E. (2009). Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia*, 43, 827-839.
23. Chandra T.; Anju, G. (2015). Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides* linn. leaves. *American Journal of Ethnomedicine*, 4(1), 244-249.
24. Daniel, A.; Workneh, M. (2017). Determination of total phenolic content and antioxidant activities of five different brands of Ethiopian coffee. *International Journal of Food and Nutrition Research*, 1, 1-10.
25. Zhou, B.; Wang, J.; Tan, H.; Zhu, X. (2006). A simple colorimetric method for determination of hydrogen peroxide in plant tissues. *Plant Growth Regul*, 49, 113-118.
26. Córdova, A.; Ruiz, C. G.; Córdova, C. A.; Córdova, M. S.; Guerra, J. E.; Rodríguez, B. E.; Katherine Arancibia, K. (2009). Estrés oxidativo y antioxidantes en la conservación epidérmica. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 3 (1), 1-38.
27. Corrales, L.C.; Muñoz, M.M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 10(18), 135 – 250.
28. Zorrilla, A. E. (2002). El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 21(3), 178-185.
29. Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141, 312-322.