

**ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL****EFFECT OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *TERMINALIA CATAPPA* L.
(COMBRETACEAE) ON FREE RADICALS INDUCED IN RAT BRAIN****EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE *TERMINALIA CATAPPA* L.
(COMBRETACEAE) SOBRE RADICALES LIBRES INDUCIDOS EN CEREBRO DE
RATA**Abhel Calderón¹; Patricia Torres² & Orlando Pretel³.¹Cátedra de Fisiología Animal, Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal, Facultad de Ciencia Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo- Perú.²Cátedra de Bioquímica, Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal, Facultad de Ciencia Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo- Perú.³Cátedra de Fisiología Animal, Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal, Facultad de Ciencia Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo- Perú.
Correo electrónico: abhelc@hotmail.com

The Biologist (Lima), 2013, 11(2), jul-dec: 267-275.

ABSTRACT

The hydroalcoholic extract of *Terminalia catappa* leaves was tested *in vivo* to determine its antioxidant activity. The objective was to determine the antioxidant effect of the extract of *T. catappa* against free radicals induced in rat brain. We worked with two groups, the control consisting of positive control and negative control subsets which were administered carbon tetrachloride (CTC) 1 ml·Kg⁻¹ body weight and 2 mL of physiological saline solution (PSS), respectively. The experimental group consisted of two subgroups treated with the hydroalcoholic extract of *T. catappa* + CTC: one with 0.8 mg of extract *T. catappa*/kg bodyweight and the other with 1.5 mg *T. catappa*/kg body weight, for seven days. In all groups was determined the amount of free radicals in the brain by the technique of thiobarbituric acid reactive substances. From the positive control was obtained an average concentration of 26.68 µg malondialdehyde/g brain tissue, and in the negative control an average concentration of 9.76 µg malondialdehyde/g brain tissue; in the experimental group treated with *T. catappa* to 0.8 mg·kg⁻¹ body weight and 1.5 mg·kg⁻¹ body weight was obtained an average concentration of 13.64 µg malondialdehyde/g brain tissue and 15.80 µg malondialdehyde/g brain tissue, respectively. It was determined that the group treated with the hydroalcoholic extract of *T. catappa* concentration to 0.8 mg·Kg⁻¹ body weight showed significant inhibition of free radicals compared to the positive control subgroup.

Keywords: carbon tetrachloride, free radicals, *Terminalia catappa*, Plants antioxidants.

RESUMEN

El extracto hidroalcohólico de hojas de *Terminalia catappa* fue ensayado *in vivo* para determinar su acción antioxidante. El objetivo fue determinar el efecto antioxidante del extracto de *T. catappa*, frente a radicales libres inducidos en cerebro de rata. Se trabajó con dos grupos, el control conformado por un subgrupo control positivo y control negativo a los cuales se les administró Tetracloruro de carbono (TCC) 1 ml·Kg⁻¹ de peso corporal y 2 mL de solución salina fisiológica (SSF), respectivamente; el grupo experimental conformado por dos subgrupos tratados con el extracto hidroalcohólico de *T. catappa*+TCC: uno con 0,8 mg de extracto *T. catappa*/Kg de peso corporal y el otro con 1,5 mg *T. catappa*/Kg de peso corporal, por siete días. En todos los grupos se determinó la cantidad de radicales libres en cerebro por la técnica de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. Se obtuvo en el control positivo una concentración promedio de 26,68 µg malondialdehído/g tejido cerebral, en el control negativo una concentración promedio de 9,76 µg malondialdehído/g tejido cerebral, en el grupo experimental tratado con *T. catappa* a 0,8 mg·Kg⁻¹ de peso corporal y 1,5 mg·Kg⁻¹ de peso corporal, se obtuvo una concentración promedio de 13,64 µg malondialdehído/g tejido cerebral y 15,80 µg malondialdehído/g tejido cerebral respectivamente. Se determinó que el grupo tratado con el extracto hidroalcohólico de *T. catappa* a la concentración de 0,8 mg·Kg⁻¹ de peso corporal mostró una significativa inhibición de los radicales libres comparado con el subgrupo control positivo.

Palabras clave: Plantas antioxidantes, radicales libres, *Terminalia catappa*, Tetracloruro de carbono.

INTRODUCCIÓN

Desde hace varios años se ha incrementado el uso de plantas medicinales, con el propósito de disminuir la incidencia de enfermedades, así como también contrarrestar en cierto grado la vejez y los efectos que esta conlleva (Pardo 2003, Mukherjee *et al.* 2011).

Las plantas son fuentes de nuevos y más eficientes antioxidantes, a los que la farmacología puede recurrir para neutralizar los radicales libres, producidos por el metabolismo celular y que están vinculados a diversas enfermedades (Kumar & Kumar 2006).

Muchas de las enfermedades del hombre como cáncer, arteriosclerosis, artritis reumatoide, alzheimer, trauma cerebral isquémico e inclusive la vejez, son producto del estrés oxidativo, esto ha sugerido la búsqueda de

nuevas terapias alternativas, evaluándose extractos de plantas con resultados satisfactorios (Hoyl 2000, Chávez *et al.* 2001, Blagosklonny *et al.* 2010, Borut & Raja 2012).

En los últimos años se ha registrado gran interés por la función que cumplen los radicales libres en el organismo. Un radical libre es una entidad química que posee un electrón desapareado en su orbital externo, esto lo hace muy inestable; extraordinariamente reactivo y de vida efímera, con enorme capacidad para combinarse inespecíficamente en la mayoría de los casos. La formación de radical libre *in vivo* ocurre en la vía catalítica de enzimas, durante los procesos de transferencia de electrones que ocurre en el metabolismo celular, o por la exposición a factores exógenos. Con todo, la condición de prooxidante a radical libre puede aumentar debido a la mayor generación intracelular o por la deficiencia de los mecanismos antioxidantes

que resultan en la inducción de daño celular por los radicales libres, este proceso es llamado estrés oxidativo (Pires & Gregg 1999, Crozier *et al.* 2000, Elejalde 2001, Rodríguez *et al.* 2001, Rahman 2007, Blagosklonny *et al.* 2010, Borut & Raja 2012).

Existen muchas moléculas que pueden disminuir el estrés oxidativo, y por lo tanto sus efectos. Los tejidos vegetales son los principales sistemas biológicos que sintetizan antioxidantes como: -tocoferol, ácido ascórbico y carotenoides, pero además son ricos en una amplia variedad de polifenoles. Muchos alimentos de origen vegetal son ricos en flavonoides hidroxilados y otros compuestos fenólicos que se encuentran en estado natural en cantidades que van desde trazas hasta g.Kg^{-1} de material fresco, a los que se les ha demostrado propiedades antioxidantes (Urquiaga & Leighton 2000, Russo & Esperanza 2001, Hernández *et al.* 2003, Babayi *et al.* 2004, Opara *et al.* 2012).

La familia Combretaceae reúne numerosas especies que han sido estudiadas por su empleo con fines medicinales, entre esta se encuentra *Terminalia catappa* L. “almendro de la india”. Las hojas de *T. catappa* han sido utilizadas desde hace mucho tiempo en la india y zonas tropicales y subtropicales, en medicina tradicional para el tratamiento de dermatitis y la hepatitis. Hoy en día diversos estudios le atribuyen propiedades hepatoprotectoras, antiinflamatorias, bactericidas, antivirales y antiparasitarias (antidisentéricas) y recientes investigaciones le han otorgado propiedades antidiabéticas, antifúngicas y antimetastásicas (Chu *et al.* 1998, Nagappa *et al.* 2003, Fan *et al.* 2004, Tang *et al.* 2004, Mansor *et al.* 2005, Chao-Bin 2012, Marques *et al.* 2012, Zirihi *et al.* 2012).

Las sustancias que le confieren estas propiedades a *T. catappa* son fundamentalmente taninos hidrolizables como punicalagina, punicalina, ácido chebulágico,

geranina, entre otros (Kuklinski 2002, Opara *et al.* 2012).

El presente estudio, estuvo orientado a determinar el efecto antioxidante del extracto hidroalcolico de *T. catappa*, frente a radicales libres inducidos por tetracloruro de carbono en cerebro de rata.

MATERIAL Y MÉTODO

Material

Se recolectaron hojas de *T. catappa* en buen estado, del jardín botánico de “Bellas artes”; en la Provincia de Trujillo, Perú. También se utilizaron treinta especímenes de *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758) albinus raza Holtzman isogénicas criadas en el biotério de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), separadas en cuatro grupos conformados por ocho animales de experimentación cada uno.

Procedimiento

Obtención del extracto hidroalcohólico de *T. catappa*

La superficie de las hojas se lavó con agua corriente, luego con agua destilada QP desionizada, desecándose completamente en estufa marca Memmert calibrada a 50°C; posteriormente se procedió a molerlas con la ayuda de un molino y se tamizó en tamiz de 250 μm marca Amping Yuansheng Mesh Co., Ltd. hasta la obtención de un polvo fino. Se tomó 200 g de este polvo fino y luego se procedió a la extracción de los compuestos activos mediante maceración, en una mezcla hidroalcoholica de butanol al 70%, en frascos ámbar de cierre hermético, con agitación por 5 min diarios por 10 días. Posteriormente se filtró al vacío en papel filtro Watman N° 1, evaporándose luego el filtrado por ventilación hasta la obtención de un producto cristalino que fue conservado en frasco ámbar en refrigeración hasta su utilización (Torres *et al.* 2007).

Preparación y administración de la dosis del extracto hidroalcohólico de *T. catappa*

Se preparó una solución del extracto de *T. catappa* de $1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ en agua bidestilada.

La dosificación se administró vía oral mediante sonda orogástrica a las concentraciones de 0,8 mg y 1,5 mg de extracto de *T. catappa*/Kg de peso corporal a dos grupos experimentales, por cuatro días consecutivos, luego después de media h de la última dosis (cuarto día) se administró $1\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal de tetracloruro de carbono (TTC); continuándose con las mismas dosis de *T. catappa* del quinto al sétimo día, respectivamente. Para el control positivo se administró vía oral mediante sonda gástrica la cantidad de 2 mL de solución salina fisiológica (SSF) durante cuatro días, al cuarto día después de media h de la administración de SSF se administró $1\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal de TTC (como agente prooxidante), continuándose el tratamiento con SSF del quinto al sétimo día. Para el control negativo se administró vía oral mediante sonda gástrica la cantidad de 2 mL de SSF/ día durante siete días.

Determinación de radicales libres

Las ratas se sacrificaron utilizando una dosis intraperitoneal alta de pentobarbital sódico (HALATAL), luego se procedió a decapitarlas y extraer el cerebro lo más rápido posible (de 30 a 50 seg después de la muerte) colocándolo en una solución Krebs de 2° a 4° C (para evitar la oxidación celular), luego el cerebro es despojado de las meninges y es triturado en un mortero de porcelana de 0 a 4° C, se extrae 1g de cerebro triturado y se coloca en 5mL de solución Krebs (NaCl: 119mM, KCl: 4,6mM, NaHCO_3 : 15mM, CaCl_2 : 1,5mM, MgCl_2 : 1,2mM, NaH_2PO_4 : 12mM y glucosa: 11mM) a 0° C en tubo de ensayo Potter, el cual se homogenizó, en un homogeneizador eléctrico (Villalba 1998).

Peroxidación lipídica

Fue medido con el método de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizando para esto, ácido 2-tiobarbitúrico de la marca Merck Millipore. Estas determinaciones se realizaron en presencia y ausencia de Fe^{3+} /ascorbato (Villalba 1998, Obi *et al.* 2001).

Análisis datos

Los datos fueron analizados utilizando el ANOVA, además, se utilizaron intervalos confidenciales simultáneos para efectos de tratamientos.

RESULTADOS

En la figura 1 se aprecia que en el control positivo se obtuvo la mayor concentración promedio de malondialdehído (radicales libres) en cerebro de rata que fue de $26,68\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de cerebro; por el contrario, la menor concentración promedio es de $9,56\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de cerebro en individuos del grupo control negativo, al cual solo se le administró solución salina fisiológica. La cantidad de malondialdehído promedio de los grupos experimentales fue bajo con respecto al grupo control positivo.

DISCUSIÓN

Cuando una dosis de tetracloruro de carbono (TCC) vía oral entra al organismo, en un tiempo de tres h alcanza niveles máximos en sangre, hígado, riñón, cerebro y músculo. Un número de sustancias aumentan la biotransformación de TCC y refuerzan su intoxicación. La inducción de la isoenzima Citocromo P450 que está implicada en la bioconversión del TCC a los metabolitos que, en el tejido inician la lipoperoxidación (Ho-Sun & Mihi 2008).

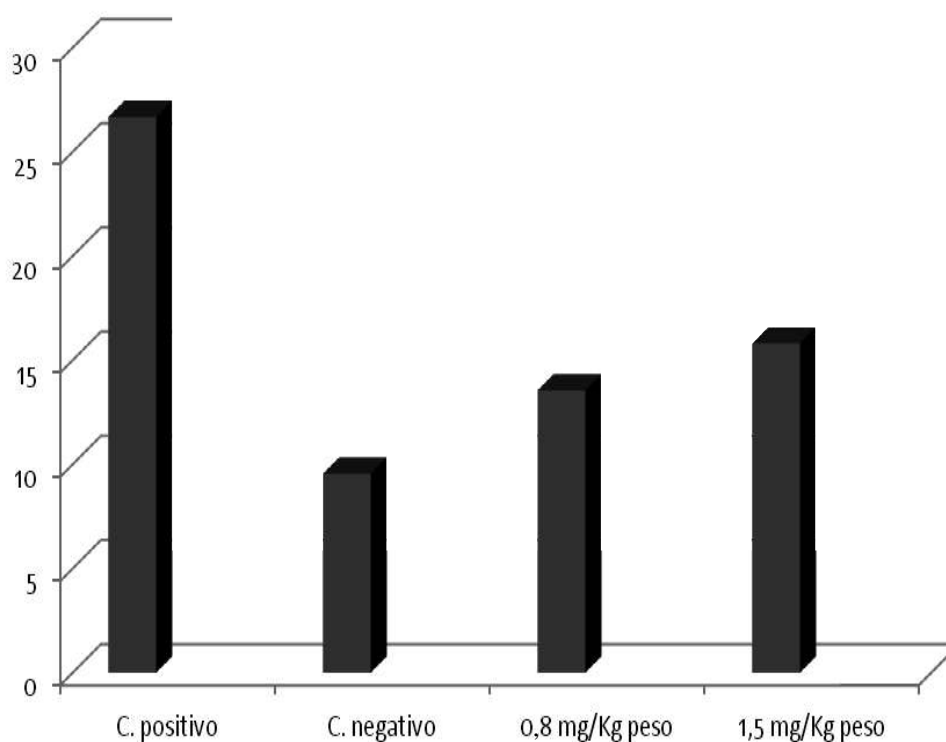


Figura 1. Gráfico de barras que muestra la cantidad de malondialdehído (radicales libres) en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de cerebro producido en los cuatro grupos de experimentación; al control positivo sólo se le administró TCC, al control negativo sólo se le administro SSF, el grupo experimental 0,8 mg de extracto de *T. catappa*/Kg de peso corporal y el grupo experimental 1,5 mg de extracto de *T. catappa*/Kg de peso corporal.

El citocromo P450 participa en el metabolismo de sustratos endógenos de importancia biológica como el colesterol, ácidos biliares, hormonas esteroidales y ácidos grasos. Además participa en el metabolismo de sustratos de naturaleza exógena (xenobióticos), tales como hidrocarburos aromáticos policíclicos y aminas aromáticas (que se bioactivan a agentes carcinógenos), también drogas, pesticidas, procarcinógenos, anestésicos, solventes orgánicos entre muchos otros. El TCC se metaboliza por el citocromo P450, el cual transfiere un electrón al compuesto, produciéndose radicales altamente reactivos. Este proceso de transformación se realiza en el hígado (Orellana & Guajardo 2004, ATSDR 2005, Ho-Sun & Mihi 2008, Mitra *et al.* 2011).

En el organismo el TCC se disocia en radical triclorometilo (CCL_3) y radical triclorometil peróxido (CClO); la unión covalente de estos radicales con las proteínas y lípidos celulares son considerados como el paso inicial de una cadena de eventos que conducen a la lipoperoxidación de la membrana y finalmente a la necrosis celular. Durante el estrés oxidativo o desequilibrio redox la producción de radicales libres y los daños que estos pueden generar, sobrepasan la capacidad de las células para eliminarlos y promover una eficiente reparación de sus principales moléculas: ADN, proteínas y lípidos. La relación de este fenómeno con los procesos neurodegenerativos puede estar asociado con las propias características del cerebro; un órgano que presenta altos niveles de ácidos

grasos fácilmente peroxidables, consume el 20% del oxígeno incorporado en el torrente sanguíneo y, no está específicamente enriquecido con enzimas antioxidantes (Díaz-Ayala *et al.* 1998, Gao *et al.* 2004, Almaguer & Almaguer 2006, Mitra *et al.* 2011).

En la figura 1, se observó que los animales de experimentación tratados con TCC, presentan un incremento en la concentración de malondialdehído (radicales libres, el cual indica un daño celular) altamente significativo, $P < 0,01$, con respecto al grupo control negativo. En el grupo control negativo, tratado con SSF, se observó que no existe daño celular aparente. También se observó diferencias altamente significativas, $P < 0,01$, entre los grupos experimentales y el control positivo, esto se debe al efecto protector que poseen los flavonoides, polifenoles, taninos y muchas especies de moléculas presentes en el extracto de *T. catappa* (Annegowda *et al.* 2010, Mukherjee *et al.* 2011).

Los flavonoides ejercen su acción antioxidante capturando y secuestrando a los radicales libres, es decir, se unen a ellos donándoles un hidrógeno y proporcionándoles por lo tanto estabilidad; los flavonoides también actúan inhibiendo los enzimas oxidasas que favorecen la peroxidación lipídica tales como la lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa, NADPH oxidasa y xantinoxidasa, evitando la generación de especies reactivas de oxígeno; también inhiben la fosfolipasa A2, mecanismo por el cual los flavonoides ejercen acción antioxidante. Se señala además que las propiedades antioxidantes de los flavonoides están basadas en su estructura: con un grupo o-difenólico, un doble enlace conjugado 2-3 y grupos hidroxilos en posiciones 3 y 5 (Moreno *et al.* 2004, Guija *et al.* 2005, Torres *et al.* 2007, Blagosklonny *et al.* 2010, Annegowda *et al.* 2010).

No se encontró diferencias estadísticamente

significativas entre los tratamientos con *T. catappa* 0,8 mg·Kg⁻¹ de peso corporal y 1,5 mg·Kg⁻¹ de peso corporal, pero se observó mayor inhibición de la formación de radicales libres en el grupo que recibió el tratamiento con *T. catappa* de 0,8 mg·Kg⁻¹ de peso corporal, lo que nos indica que no siempre el uso de dosis más elevadas proporciona mayor protección antioxidante; cantidades elevadas de flavonoides pueden tener comportamiento, de cierto modo, prooxidante, ya que pueden ocasionar una reducción temporal del hierro y cobre, los cuales sufren una autooxidación y pueden incluso involucrarse en un proceso redox, así como también pueden afectar a los componentes del sistema de defensa antioxidante; éstos metales además generan radicales libres mediante la reacción de Fenton al formar el complejo Fe ATP/H₂O₂ (Moreno *et al.* 2004, Orellana & Guajardo 2004, Weinman *et al.* 2011).

Según un trabajo realizado anteriormente se demuestran que tanto la punicalagina como la punicalina moléculas encontradas en hojas de *T. catappa* mostraron actividad antioxidante a dosis muy bajas en un modelo de daño hepático inducido por TCC en ratas (Annegowda *et al.* 2010, Mukherjee *et al.* 2011).

Terminalia catappa a las concentraciones de 0,8 y 1,5 mg·Kg⁻¹ de peso corporal demostró tener actividad antioxidante frente a los radicales libres inducidos por tetracloruro de carbono, por lo que se recomienda realizar más estudios para determinar otras propiedades medicinales y descartar efectos colaterales; de tal manera que sea usado como una alternativa para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por los radicales libres.

La limitación que se tuvo al realizar esta investigación es la obtención de la línea isogénica de *R. rattus*, ya que esto toma tiempo en la crianza, reproducción y selección de especímenes machos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). 2005. *Reseña Toxicológica del Tetracloruro de Carbono*. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU., Servicio de Salud Pública.
- Almaguer, D. & Almaguer, L. 2006. Estrés oxidativo y muerte neuronal. Una visión biomolecular. *Revista Mexicana de Neurociencias*, 7: 330-337.
- Annegowda, H.; Ween-nee, C.; Mordi, M.; Ramanathan, S. & Mansor, S. 2010. Evaluation of phenolic content and antioxidant property of hydrolysed extracts of *Terminalia catappa* L. leaf. *Asian Journal of plant sciences*, 9: 479-485.
- Babayi, H.; Kolo, I.; Okogun, I. & Ljah, J. 2004. The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Nigerian Society for Experimental Biology*, 16: 106-111.
- Blagosklonny, M.V.; Campisi, J.; Sinclair, D.A.; Bartke, A.; Blasco, M.A.; Bonner, W.M.; Bohr, V.A.; Brosh, R.M. Jr.; Brunet, A.; Depinho, R.A.; Donehower, L.A.; Finch, C.E.; Finkel, T.; Gorospe, M.; Gudkov, A.V.; Hall, M.N.; Hekimi, S.; Helfand, S.L.; Karlseder, J.; Kenyon, C.; Kroemer, G.; Longo, V.; Nussenzweig, A.; Osiewacz, H.D.; Peeper, D.S.; Rando, T.A.; Rudolph, K.L.; Sassone-Corsi, P.; Serrano, M.; Sharpless, N.E.; Skulachev, V.P.; Tilly, J.L.; Tower, J.; Verdin, E. & Vijg, J. 2010. Impact papers on aging in 2009. *AGING*, 2: 111-121.
- Borut, P. & Raja, D. 2012. Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatology Research and Practice*, 4: 1-4.
- Chao-Bin, Y.; Ming-Ju, H.; Yih-Shou, H.; Ming-Hsien, C.; Pen-Yuan, L.; Hui-Ling, C.; & Shun-Fa, Y. 2012. *Terminalia catappa* exerts antimetastatic effects on Hepatocellular carcinoma through transcriptional inhibition of matrix metalloproteinase-9 by Modulating NF- B and AP-1 activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1: 1-11.
- Chávez, J.; Suárez, G.; Gonzáles, Z.; Núñez, R.; Socarrás, E.; Amel, A. & Cano, C. 2001. Determinación de malondialdehído y óxido nítrico en individuos fumadores. *Sociedad Venezolana de Medicina Interna*, 17: 1-7.
- Chu, D.; Miles, H.; Toney, D.; Ngyen, C. & Marciano-Cabral, F. 1998. Amebicidal activity of plant extracts from South east Asia on *Acanthamoeba spp.* *Parasitology Research*, 84: 746-752.
- Crozier, A.; Burns, J.; Aziz, A.; Stewart, A.; Rabiasz, H.; Jenkins, G.; Edwards, C. & Lean, M. 2000. Antioxidant flavonols from fruits, vegetables and beverages: measurements and bioavailability. *Biology Research*, 33: 1-10.
- Díaz-Araya, G.; Godoy, L.; Naranja, L.; Squella J.; Letelier M. & Nuñez-Vergara L. 1998. Antioxidant effects of 1,4-Dihydropyridine and Nitroso aryl derivates on the Fe⁺³/ ascorbate-stimulated lipid peroxidation in rat brain slices. *Genetic Pharmacology*, 31: 385-391.
- Elejalde, J. 2001. Estres oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, 18: 326-335.
- Fan, Y.; Xu, L.; Gao, J.; Wang, Y.; Tang, X.; Zhao, X. & Zhang, Z. 2004. Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. Institute of material Medica, Nanging University School of Medicine, 75: 253-20.
- Gao, J.; Tang, X.; Dou, H.; Fan, Y.; Zhao, X. & Xu, Q. 2004. Hepatoprotective activity of *Terminalia catappa* L. leaves and its two triterpenoids. *Journal of Pharmacy*

- and Pharmacology, 56: 1-7.
- Guija, H.; Troncoso, L. & Guija, E. 2005. Propiedades prooxidantes del Camu camu (*Myrciaria dubia*). Anales de la Facultad de Medicina UNMS, 66: 261-268.
- Hernández, M.; García, L.; Rojo, D. & Olivares D. 2003. Almendro de la India: potencial biológico valioso. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 22: 41-47.
- Ho-Sun, L. & Mihi, Y. 2008. Applications of CYP-450 expression for biomonitoring in environmental health. Environmental Health and Preventive Medicine, 13:84-93.
- Hoyl, T. 2000. Teorías actuales del envejecimiento. ARS MEDICA Revista de Estudio Medico Humanístico, 8: 1-20.
- Kuklinski C. 2002. *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Omega S.A. Barcelona – España.
- Kumar, S. & Kumar, V. 2006. Plants as natural antioxidant. Natural Product Radiance, 5:326-334.
- Mansor, S.; Swamy, V.; Gopkuma, P. & Dhanapal, R. 2005. Anti-diabetic activity of *Terminalia catappa* Linn. leaf extracts in Alloxan - induced diabetic rats. Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics, 4: 36-39.
- Mitra, A.; Pal, D.; Kwatra, D.; Minocha, M.; Paturi, D. & Budda, B. 2011. Efflux transporters- and cytochrome P-450-mediated interactions between drugs of abuse and antiretrovirals. Life Sciences, 88: 959–971.
- Marques, M.; Paz, D.; Batista, L.; Barbosa, C.; Araújo, M. & Moreira-Araújo, R. 2012. An in vitro analysis of the total phenolic content, antioxidant power, physical, physicochemical, and chemical composition of *Terminalia catappa* Linn fruit. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 32: 209-213.
- Moreno, M.; Belen, D.; Sanchez, M.; Vilorio, M. & Garcia, D. 2004. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de flavonoides de cascara de naranja en el aceite de soja desodorizado. Interciencia, 29: 532-538.
- Mukherjee, S.; Pawar, P.; Pawar, N.; Kulkarni, O.; Nagarkar, B.; Thopte, S. & Bhujbal, A. 2011. Evaluation on free – radicals quenching properties of standar Ayurvedic formulation *Vayasthapana Rasayana*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 11: 1-6.
- Nagappa, A.; Thakurdesai, P.; Venkat, N. & Singh, J. 2004. Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn. Fruits. Journal of Etnopharmacology, 88: 45-50.
- Obi, F.; Omogbai, L.; Oriafio, O. & Ovat, O. 2001. Effect of a short time post carbon tetrachloride treatment Interval on rat plasma enzyme levels and percentage mortality. Journal of applied Science and Environmental Management, 5: 5-8.
- Opara, F.; Anuforo, H.; Okechuk, W.; Mgbemena, I.; Akujobi, C. & Adjero, A. 2012. Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activities of Leaf Extracts of *Terminalia Catappa*. Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences, 3: 424-428.
- Orellana, M. & Guajardo, V. 2004. Actividad del Citocromo P450 y sus alteraciones en Diversas Patologías. Revista Médica de Chile, 132: 85-94.
- Pardo, G. 2003. Consideraciones generales sobre algunas teorías del envejecimiento. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 22: 58-67.
- Pires, M. & Greggi, L. 1999. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. Revista de Nutrição, 12: 123-130.
- Rahman, K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. Clinical Interventions in Aging, 2: 219-236.
- Rodríguez, J.; Menéndez, J. & Trujillo, Y. 2001. Radicales libres en la biomedicina

- y estrés oxidativo. *Revista Cubana Médica Militar*, 30: 36-44.
- Russo, R. & Esperanza, M. 2001. *Terminalia arjuna* (Combretaceae) y otras especies del género: mitos realidades y oportunidades en la terapia cardiovascular. *Revista Costarricense de Cardiología*, 3: 1-11.
- Tang, X.; Gao, L.; Gao, J.; Fan, Y.; Xu, X. & Xu, Q. 2004. Mechanims of hepatoprotection of *Terminalia catappa* L. extract on D- Galactosamine-induced liver damage. *The American Journal of Chinese Medicine*, 32: 509-519.
- Torres, P.; Aguilar, J.; Rodríguez, A. & Pretel, O. 2007. Efecto de *Mirabilis jalapa* frente a radicales libres inducidos por *Escherichia coli* en *Rattus rattus* variedad *albinus*. *Revista de Biología*, 10: 53-58.
- Urquiaga, I. & Leighton, F. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative Stress. *Biological Research*, 33: 55-64.
- Villalba, M. 1998. *Empleo de un protocolo antioxidante no enzimático en pacientes con insuficiencia coronaria. Parametros analíticos y electrocardiográficos*. Tesis Doctoral. España, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza. 128 p.
- Weinman, S.; Singal, A. & Jampana, S. 2011. Antioxidants as therapeutic agents for liver disease. *Liver International*, 31: 1432–1448.
- Zirihi, G.; N'Guessan, K.; Kassy, N.; Coulibaly, K. & Djaman, A. 2012. Evaluation and comparison of antifungal activities of *Terminalia catappa* and *Terminalia mantaly* (Combretaceae) on the in vitro growth of *Aspergillus fumigates*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6: 2299-2308.

Received August 28, 2013.
Accepted October 20, 2013.