

## Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Tectaria heracleifolia* extracts

### Contenido total de fenoles y flavonoides, actividad antioxidante y anti-inflamatoria de extractos crudos de *Tectaria heracleifolia*

Karen de Jesús Castrejón-Arroyo<sup>1</sup>, Ángel de Jesús Sánchez-Córdova<sup>1</sup>, Jaqueline Capataz-Tafur<sup>2</sup>, Paul Mauricio Sánchez-Ocampo<sup>2,3</sup>, \*Ariana Arlene Huerta-Heredia<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico Superior de Tierra Blanca, Av. Veracruz S/N Esq. Héroes de Puebla, Colonia Pemex. C. P. 95180, <sup>2</sup>Laboratorio de Cultivo de Células Vegetales, Instituto de Biotecnología, Universidad del Papaloapan, Tuxtepec, Oax. C. P. 68301. <sup>3</sup>Catedrática CONACyT-UNPA.

\* Email: aahuertahe@conacyt.mx

#### ABSTRACT

*Tectaria heracleifolia* is a fern, which is known to have traditional uses like alleviate burns, pimples and mouth sores. The aim of this study was to evaluate the anti-inflammatory activity and antioxidant capacity, total phenolic and flavonoid contents of raw extracts of *T. heracleifolia*. Antioxidant activity of infusion, aqueous, methanolic and ethylic acetate extracts from *T. heracleifolia* was determined by 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•) assay. Aqueous extract presented the highest antioxidant activity (252 micromoles trolox equivalent per milligram extract,  $\mu\text{mol TE}/\text{mg ext.}$ ). As well as 0.084 mg/mL was required to obtain a 50% antioxidant effect ( $\text{IC}_{50}$ ); this extract also showed anti-inflammatory activity with 52% inhibition rate as compared to dexamethasone (73.66%). The high contents of total phenolic compounds were found within the infusion 0.043 milligrams catechin equivalents per extract microgram ( $\text{mg CE}/\mu\text{g ext.}$ ); while total flavonoids were found in aqueous extract 0.76 milligrams routine equivalents per extract microgram ( $\text{mg RE}/\mu\text{g ext.}$ ).

Keywords: Antioxidant, anti-inflammatory, phenols, flavonoids, *Tectaria heracleifolia*.

#### RESUMEN

*Tectaria heracleifolia* es un helecho, comúnmente utilizado en la medicina tradicional para el alivio de quemaduras, granos en la piel y escoriaciones de la boca. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antioxidante, la actividad anti-inflamatoria y el contenido de fenoles y flavonoides totales, de extractos crudos de: acetato de etilo (AcOEt), metanol (MeOH), acuoso e infusión de *T. heracleifolia*. La capacidad antioxidante de los extractos acuoso, metanólico y AcOEt se determinó utilizando el método de 2,2-Difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH•), el extracto acuoso presentó la mayor actividad antioxidante con 252 micromoles equivalentes de trolox por miligramo de extracto ( $\mu\text{mol ET}/\text{mg ext.}$ ), además la concentración de extracto necesario para reducir al 50% el radical DPPH• ( $\text{CE}_{50}$ ) fue de 0.084 mg/mL; este extracto presentó el mayor porcentaje de inhibición anti-inflamatorio

con un 52%, en comparación con la dexametasona (73.66%). El contenido más alto de fenoles totales se cuantificó con  $0.043 \pm 0.0058$  miligramos equivalentes de catequina por microgramo de extracto (mg EC/ $\mu$ g ext.), mientras que el de flavonoides totales se encontró en el extracto acuoso con  $0.76 \pm 0.0021$  miligramos equivalentes de rutina por microgramo de extracto (mg ER/ $\mu$ g ext.).

Palabras clave: Antioxidante, Anti-inflamatoria, Fenoles, Flavonoides, *Tectaria heracleifolia*.

## 1. INTRODUCCIÓN

La inflamación es una respuesta fisiológica compleja de un organismo a los estímulos nocivos, tales como agentes patógenos, las células dañadas, o irritantes (Bayarsaihan, 2011), el cual involucra la acción coordinada de múltiples células, caracterizado por alteraciones en la permeabilidad vascular y la producción de mediadores inflamatorios locales, como esteroides, prostaglandinas, citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento y especies reactivas de oxígeno (ERO) (Franco-Ospina *et al.*, 2013). La sobreproducción de estas últimas puede inducir estrés oxidativo y generar daños a nivel celular, que conlleva a enfermedades crónicas, trastornos neurodegenerativos, enfermedades del corazón y cáncer (Atmani *et al.*, 2011). Por esta razón, el ser humano ha creado alternativas para contrarrestar estos tipos de daños, como algunos “Fármacos” para tratar los signos y síntomas de la inflamación aguda y crónica, estos se dividen en dos grupos: no esteroidales (AINES), cuyo prototipo es la aspirina, y los esteroidales, cuyo prototipo es la hidrocortisona (cortisol), sin embargo, pueden presentar efectos colaterales que van desde úlceras e intolerancia en vías gastrointestinales, hasta el aumento del riesgo de infarto al miocardio (Romero-Castillo *et al.*, 2013), además, existen los llamados “Antioxidantes sintéticos”, como el butilhidroxianisol (BHA), y el butilhidroxitolueno (BHT), para contrarrestar el daño causado por las ERO, pero en estos también se han encontrado efectos secundarios, como el aumento del colesterol, hepatomegalia e inducción de cáncer hepático, por lo cual, existe una tendencia a sustituirlos por productos naturales, lo que ha ocasionado que actualmente exista una demanda creciente por encontrar más información concerniente, al potencial de nuevas especies de plantas (Arango *et al.*, 2012), que produzcan metabolitos que ayuden a contrarrestar los efectos de altas concentraciones de ERO, sin causar tanto daño.

Las plantas han sido desde la antigüedad un recurso natural al alcance del hombre, las cuales se han usado como alimento o medicinal; dicho conocimiento era transmitido de generación en generación sin buscar una explicación. El uso de estas plantas principalmente con fines curativos, está limitado a grupos o comunidades étnicas que conservan la cultura en la medicina tradicional. *T. heracleifolia*, es uno de los distintos helechos que es comúnmente conocido como “lengua de ciervo”, al igual que, *Phyllitis scolopendrium* y *Pleopeltis polylepis*, que a pesar de ser reconocido por la herbolaria mexicana para el alivio de quemaduras, granos en la piel, y escoriaciones de la boca, (<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7404>), su actividad biológica no ha sido comprobada científicamente, por lo que el objetivo de este trabajo, fue evaluar la capacidad antioxidante, contenido de fenoles y flavonoides totales, así como su actividad anti-inflamatoria.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Material biológico

Las hojas de *T. heracleifolia*, fueron recolectadas durante el mes de marzo de 2014, en Poza Rica de Hidalgo, Veracruz, México (20°50'46.56"N, -97°44'59.16"O). Dichas hojas fueron seleccionadas tomando en cuenta que se encontraran libres de contaminación, daños físicos y/o biológicos, además, de que todas contaran con esporangios (hojas fértiles). Las hojas colectadas se secaron en una estufa (Shellab 1408) a 65 °C por 10 h, y fueron trituradas para iniciar el proceso de extracción.

### 2.2 Extracciones

La extracción secuencial/exhaustiva, se realizó con un gradiente de menor a mayor polaridad, con solventes orgánicos: Hexano, AcOEt, MeOH y H<sub>2</sub>O. Se llevaron a cabo dos extracciones por cada solvente, con el fin de arrastrar la mayor cantidad posible de metabolitos, según su grado de polaridad, donde, cada solvente estuvo al menos por 48 h en contacto con el material vegetal. Para la infusión, se calentó agua a 60-70 °C, se retiró de la fuente de calor y se agregaron las hojas de *T. heracleifolia*. Posteriormente, el extracto se filtró, con la ayuda de un tapón de algodón, un embudo Buchner y una bomba de vacío (CE ROHS ISO). Se concentró en un rotavapor (Büchi, R-210) y los extractos fueron filtrados utilizando filtros de nylon (0.45 µm) y celulosa (0.45 µm), antes de llevarlos a peso constante.

### 2.3 Determinación de la actividad antioxidante

El ensayo del radical libre DPPH•, se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Brand-Williams *et al.*, (1995). La solución madre del radical DPPH• (257621 Sigma-Aldrich), se preparó a una concentración de 0.24 mg/mL en metanol. Mientras que la mezcla de trabajo se obtuvo tomando 10 mL de DPPH• de la solución madre y 45 mL de metanol, dando una absorbancia inicial de aproximadamente  $1.2 \pm 0.02$ . La reducción del radical se midió utilizando un espectrofotómetro (UV/VIS optize pop), a una longitud de onda de 515 nm. Se utilizó una solución control negativo, que se registró a través del tiempo del análisis, para comprobar la estabilidad del radical, además, de incluir un blanco de los extractos, para considerar la absorbancia propia de cada extracto a analizar. Todos los ensayos se dejaron reaccionar durante 20 min y se llevaron a cabo por triplicado.

La capacidad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición del radical DPPH•, calculándose mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ DPPH}\bullet = (1 - (\mathbf{As} - \mathbf{Am}) / \mathbf{Ad}) \times 100$$

Dónde:

% DPPH• = Actividad antirradical

**Am** = Absorbancia del extracto

**As** = Absorbancia de la muestra con DPPH•

**Ad** = Absorbancia del DPPH•

Posterior al porcentaje de la actividad antioxidante, se calculó, la CE<sub>50</sub>, que es la concentración mínima necesaria para reducir el radical DPPH• en un 50%, esta reducción está inversamente relacionada con la actividad antioxidante de un compuesto, ya que entre más baja sea la CE<sub>50</sub>, mayor será la actividad antioxidante del compuesto. El valor del CE<sub>50</sub> se calculó a partir de la concentración del extracto, y los resultados se expresaron en mg/mL.

La capacidad antioxidante en equivalentes de trolox (CAET) de un extracto, representa la concentración de la solución de trolox, que tiene la misma capacidad antioxidante que el extracto. Con la finalidad de comparar los resultados de capacidad antioxidantes de los extractos que se obtuvieron mediante el método DPPH•, se realizó una curva de calibración, utilizando una solución madre de trolox (238813 Sigma-Aldrich), a una concentración de 1 mM, de la cual, se obtuvo una ecuación  $y = -3039.6x + 97.851$ , que se utilizó para calcular su correspondiente equivalencia en trolox de cada extracto. Los resultados se expresaron en  $\mu\text{mol ET/mg ext}$ .

## **2.4 Determinación de la actividad anti-inflamatoria**

### **2.4.1 Animales de experimentación**

Los animales se mantuvieron bajo las normas y guías para el cuidado y uso de animales en el laboratorio (NOM-062-ZOO-1999), a una temperatura de  $24 \pm 2$  °C, con ciclos de luz, oscuridad de 12/12 h, y 48.5% de humedad relativa, los cuales tenían un peso aproximado de entre 25 a 30 g.

### **2.4.2 Evaluación del efecto anti-Inflamatorio**

La actividad anti-inflamatoria, se evaluó con edema en la oreja del ratón inducido por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA Sigma-Aldrich), basada en la metodología descrita por Sánchez *et al.*, (2013). Los animales se dividieron al azar en grupos de nueve por tratamiento. A todos los grupos de ratones se les administró Sedalphorte®, y una solución de TPA (20  $\mu\text{L}$ /oreja), esto se realizó por vía tópica en la oreja derecha, y por ambos lados. En la oreja izquierda se les administro acetona (20  $\mu\text{L}$ ) como control. Después de 10 min del tratamiento con TPA, se administraron los extractos a ensayar (20  $\mu\text{L}$ /oreja), a una concentración de 80 mg/mL, y como control positivo se utilizó dexametazona (20  $\mu\text{L}$ /oreja). El tamaño del edema fue obtenido por la diferencia de peso de cortes de las orejas tratada y no tratada. La actividad anti-inflamatoria fue expresada como la inhibición del edema (IE) en %, respecto al edema formado en los animales del grupo control, calculándose de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ IE} = 100 - ((\mathbf{B} \times 100) / \mathbf{A})$$

Dónde:

**A** = Edema inducido únicamente por TPA.

**B** = Edema inducido por TPA y el extracto.

## 2.5 Determinación de fenoles totales

La determinación del contenido de fenoles totales, se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Ghasemzadeh *et al.*, (2010). Para la soluciones de trabajo se preparó, folin-ciocalteu (F9252 Sigma-Aldrich) al 10% v/v y carbonato de sodio monohidratado (230952 Sigma-Aldrich) al 7.5% p/v. La absorbancia de las reacciones, fueron medidas utilizando un espectrofotómetro (UV/VIS Optize pop), a una longitud de onda de 765 nm. Se utilizó una solución control negativo, que se registró a través del tiempo del análisis, para comprobar la estabilidad de la mezcla de reacción, además, de incluir un blanco de los extractos, para considerar la absorbancia propia de cada extracto a analizar. Todos los ensayos se dejaron reaccionar durante 30 min a 30 °C, y se llevaron a cabo por triplicado. Se realizó una curva de calibración, utilizando una solución concentrada de catequina (C1251 Sigma-Aldrich) a una concentración de 0.1 mg/mL, de la cual, se obtuvo una ecuación  $y = 0.1307x + 0.0221$ , que se utilizó para calcular el contenido de fenoles totales de cada extracto. Los resultados se expresaron en mg EC/ $\mu$ g ext.

## 2.6 Determinación de flavonoides totales

La determinación del contenido de flavonoides totales, se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por Ghasemzadeh *et al.*, (2010). Se utilizó 10% p/v de cloruro de aluminio hexahidratado (237078 Sigma-Aldrich) y 1M de acetato de potasio (95843 Sigma-Aldrich). La absorbancia de las reacciones se midió utilizando un espectrofotómetro (UV/VIS Optize pop), a una longitud de onda de 415 nm. Se utilizó una solución control negativo, que se registró a través del tiempo del análisis, para comprobar la estabilidad de la mezcla de reacción, además, de incluir un blanco de los extractos, para considerar la absorbancia propia de cada extracto a analizar. El tiempo de reacción fue de 45 min y el análisis se llevó a cabo por triplicado. Se realizó una curva de calibración, utilizando una solución concentrada de rutina (78095 Sigma-Aldrich) a una concentración de 0.5 mg/mL, obteniendo una ecuación:  $y = 0.0448x - 0.0205$ , con la cual, se calculó el contenido de flavonoides totales de cada extracto. Los resultados se expresaron en mg ER/ $\mu$ g ext.

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Evaluación de la actividad antioxidante

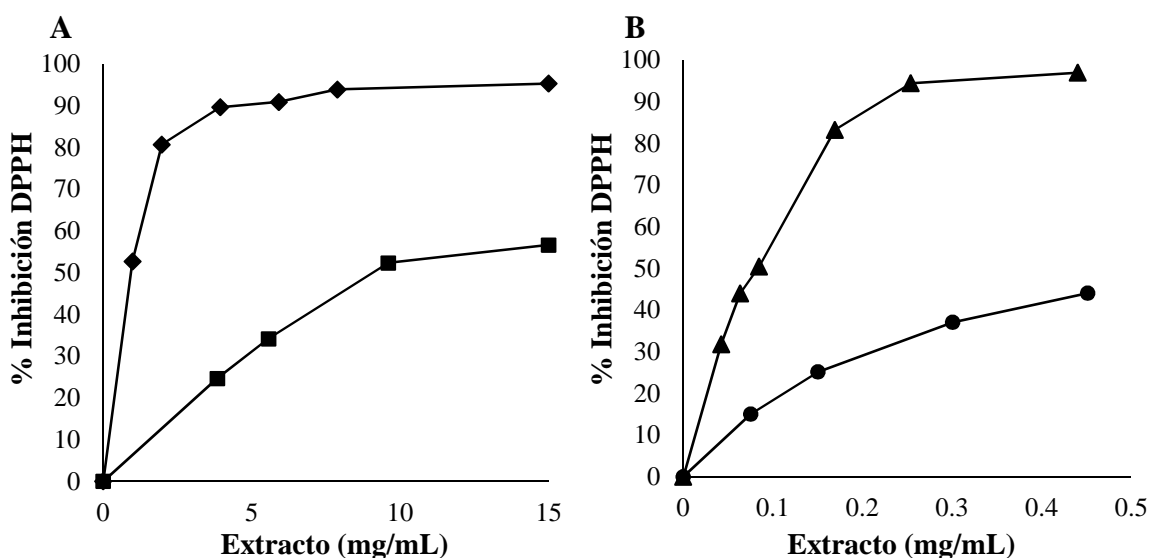
El extracto acuoso y la infusión presentaron el mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH•, superior al 90%; mientras que para los extractos MeOH y de AcOEt, fueron alrededor del 50 y 40%, respectivamente (Fig. 1). La CE<sub>50</sub> y los miligramos equivalentes de trolox, calculados del extracto acuoso, fue de 0.084 mg/mL y 252.041 mg ET/mg ext., resultando mayor al obtenido por la infusión y el extracto metanólico, por otro lado, en el extracto de AcOEt, no se pudo determinar la CE<sub>50</sub>, ni los miligramos equivalentes de trolox, debido a que la concentración de compuestos antioxidantes es muy baja o por la ausencia de ellos en dicho extracto (Tabla 1).

### 3.2 Determinación de la capacidad anti-inflamatoria

En relación al análisis de la actividad anti-inflamatoria (TPA) de los extractos, se observó que el extracto acuoso fue el que inhibió mayormente el edema de oreja en ratón, con un 52.42%, seguido del extracto metanólico y del de AcOEt (Tabla 2).

### 3.3 Determinación del contenido de fenoles y flavonoides totales

El mayor contenido de fenoles totales lo presentó la infusión, con:  $0.043 \pm 0.0058$  mg EC/ $\mu$ g ext., mientras que para el contenido de flavonoides totales, el extracto acuoso e infusión, tuvieron  $0.76 \pm 0.0021$  y  $0.52 \pm 0.0072$  mg ER/ $\mu$ g ext., respectivamente (Tabla 1).



**Fig. 1.** A) Porcentaje de inhibición del radical DPPH en extractos metanólico ( ) e infusión ( ) y B) extracto de AcOEt ( ) y acuoso ( ) de hojas con esporangios de *T. heracleifolia*.

**Tabla 1.** Concentración efectiva  $CE_{50}$ , micromoles equivalentes de trolox y contenido de fenoles y flavonoides totales de hojas con esporangios de *T. heracleifolia*.

Extracto	DPPH $CE_{50}$ (mg/mL)	Actividad antioxidante ( $\mu$ mol ET/mg ext.)	Fenoles totales (mg EC/ $\mu$ g ext.)	Flavonoides totales (mg ER/ $\mu$ g ext.)
AcOEt	ND	ND	ND	ND
MeOH	9.602	2.300	$0.022 \pm 0.0015$	$0.26 \pm 0.0015$
Acuoso	0.084	252.041	$0.033 \pm 0.0052$	$0.76 \pm 0.0021$
Infusión	0.985	22.587	$0.043 \pm 0.0058$	$0.52 \pm 0.0072$

$CE_{50}$  = concentración efectiva 50, mg = miligramos, mL = mililitro,  $\mu$ mol ET/mg ext. = micromoles equivalentes de trolox por miligramo de extracto, mg EC/ $\mu$ g ext. = miligramo equivalente de catequina por microgramo de extracto, mg ER/ $\mu$ g ext. = miligramo equivalente de rutina por microgramo de extracto, ND = no determinado,  $\pm$  = desviación estándar.

**Tabla 2.** Efecto anti-inflamatorio de los extractos AcOEt, MeOH y acuoso de hojas de *T. heracleifolia*, utilizando dexametasona como control.

Extracto	Dosis (mg/oreja)	Edema (mg)	Inhibición (%)
AcOEt	1.6	2.4 ± 0.59	18.44
MeOH	1.6	2.2 ± 0.63	25.72
Acuoso	1.6	1.4 ± 0.61	52.42
Dexametasona	1	0.8 ± 0.13	73.66

mg = miligramos, % = porciento, ± = error estándar.

#### 4. DISCUSIONES

En comparación con el estudio realizado por Chang *et al.*, (2007), donde, evaluaron los extractos de seis especies de helechos, por el método DPPH•. *Drynaria fortunei*, *Pseudodrynaria coronans*, *Davallia divaricata*, *Davallia mariessi*, *Davallia solida* y *Humata griffithiana*, presentaron una CE<sub>50</sub> de 0.4, 0.098, 0.053, 0.17, 0.17 y 0.4 mg/mL en extractos acuosos y 0.4, 0.20, 0.088, 0.096, 0.027 y 0.093 mg/mL en extractos etanólicos, respectivamente. El extracto acuoso de *D. divaricata* (0.053 mg/mL) y el extracto etanólico de *D. solida* (0.027 mg/mL), fueron los únicos extractos que resultaron con una mayor capacidad para inhibir el radical DPPH•, comparado con el extracto acuoso de *T. heracleifolia* (0.084 mg/mL).

Por otro lado, la evaluación antioxidante de extractos metanólicos de quince helechos analizados por Lai & Lim, (2011), *Acrostichum aureum*, *Adiantum raddianum*, *Blechnum orientale*, *Cibotium barometz*, *Cyathea latebrosa*, *Dicranopteris linearis*, *Diplazium esculentum*, *Drynaria quercifolia*, *Lygodium circinnatum*, *Microsorium punctatum*, *Nephrolepis biserrata*, *Pityrogramma calomelano*, *Pteris venulosa*, *Pyrossia nummularifolia* y *Pteris vittata*, presentaron una CE<sub>50</sub> de 0.13, 0.12, 0.14, 0.14, 0.14, 0.27, 0.29, 0.54, 0.57, 1.20, 1.47, 0.53, 1.73, 1.99 y 2.51 mg/mL, respectivamente. Los resultados muestran una mayor capacidad para inhibir el radical DPPH•, en comparación con el extracto metanólico de *T. heracleifolia* (9.602 mg/mL), pero ninguno de los resultados mostrados presentó mayor capacidad inhibitoria del radical, comparados con el obtenido por el extracto acuoso de *T. heracleifolia* (0.084 mg/mL).

Por último, la evaluación de la actividad antioxidante de extractos acuosos de *Stenochlaena palustris* realizada por Chai *et al.*, (2012), mostraron los siguientes resultados de CE<sub>50</sub>: hoja joven estéril 0.091 mg/mL, hoja madura estéril 0.063 mg/mL, hoja joven fértil 0.082 mg/mL y hoja madura fértil 0.175 mg/mL, demostrando, que solo los extractos de hoja madura estéril, tiene una capacidad mayor a la del extracto acuoso de *T. heracleifolia* (0.084 mg/mL).

Das *et al.*, (2014), evaluaron el contenido de fenoles y flavonoides totales de extractos crudos de metanol y acuoso de *Drynaria quercifolia* (L.) J. Smith. Donde, el extracto metanólico presento la mayor cantidad de fenoles y flavonoides con 0.095 miligramos equivalentes de ácido gálico por miligramo de extracto (mg EAG/mg ext.), y 0.081 miligramos equivalentes de quercetina por miligramo de extracto (mg EQ/mg ext.), seguido del acuoso con 0.032 mg EAG/mg ext., y 0.004 mg EQ/mg ext. Esto demuestra que solo la

cantidad de fenoles totales del extracto metanólico, está por arriba de los resultados aquí obtenidos.

En relación al análisis de la actividad anti-inflamatoria (TPA) de los extractos, se observó, que el extracto acuoso fue el que inhibió mayormente el edema de oreja en ratón (52.42%), seguido del metanol y AcOEt. Haider *et al.*, (2011), realizaron un estudio, en donde, probaron el extracto etanólico y sus diversas fracciones de *Adiantum capillus veneris* Linn., a dosis de 200 y 300 mg/kg, y lapsos de 3 h y 5 h, utilizando el modelo de edema plantar en rata inducido por carragenina. Donde, el mejor resultado lo expresó la fracción soluble en AcOEt, con un 60.72% a las 3 h y un 59.81% a las 5 h, a una dosis de 200 mg/kg, mientras que en dosis de 300 mg/kg, a las 3 h presentó un 67.27% y a las 5 h un 51.92%. Seguido de la fracción soluble en MeOH, la fracción soluble en éter de petróleo y por último el extracto etanólico, con un 48.54% de inhibición a las 3 h y un 43.39% a dosis de 200 mg/kg, mientras que para la dosis de 300 mg/kg, a las 3 h inhibió un 51.50% y a las 5 h un 47.90%, todo esto en reducción en el volumen de la pata. Esto nos demuestra que la actividad anti-inflamatoria del extracto acuoso de *T. heracleifolia*, es parecida a el extracto etanólico de *A. capillus veneris* Linn.

El uso de plantas medicinales ha incrementado en los últimos años, sin embargo pocos son los estudios que corroboran sus propiedades curativas. En este trabajo se evaluó la capacidad antioxidante y la actividad anti-inflamatoria de *T. heracleifolia*, un helecho medicinal utilizado en la Huasteca Veracruzana. En base a los resultados obtenidos de la extracción secuencial/exhaustiva de *T. heracleifolia*, el extracto acuoso, demostró ser él de mayor capacidad antioxidante (CE<sub>50</sub> 0.084 mg/mL) así como el de mayor actividad anti-inflamatoria (52%). Este es el primer reporte que demuestra actividad biológica de *T. heracleifolia*.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), proyecto 3212 Cátedra 183958, CB 183958 e INFRA 255514

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no tienen conflicto de interés.

## REFERENCIAS

Arango B. O., Pantoja D. D., Santacruz CH. L. & Hurtado B. A. M. 2012. Antioxidant activity of essential oils of oregano (*Lippia origanoides* H.B.K) grown in alto patia. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 10(2): 79-86.

Atmani D., Ruiz-Larrea M. B., Ruiz-Sanz J. I., Lizcano L. J., Bakkali F. & Atmani D. 2011. Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. Journal of Medicinal Plants Research. 5(4): 589-598.



Bayarsaihan D. 2011. Epigenetic mechanisms in inflammation. *Journal of Dental Research*, 90(1): 9-17.

Brand-Williams W., Cuvelier M. E. & Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.

Chai T. T., Panirchellvum E., Ong H. C., & Wong F. C. 2012. Phenolic contents and antioxidant properties of *Stenochlaena palustris*, an edible medicinal fern. *Botanical Studies* 53(4): 439-446.

Chang H. C., Huang G. J., Agrawal D. C., Kuo C. L., Wu, C. R., & Tsay H. S. 2007. Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as "Gusuibu". *Botanical Studies*. 48(4): 397-406.

Das B., Choudhury M. D., Dey A., Talukdar A. D., Nongalleima K. H. & Lokesh D. E. H. 2014. Antioxidant and Anti-inflammatory activity of aqueous and methanolic extracts of rhizome part of *Drynaria quercifolia* (L.) J. Smith. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(6): 43-49.

Franco-Ospina L. A., Castro-Guerrero J. P., Ocampo-Buendía Y. C., Pájaro-Bolívar I. B. & Díaz-Castillo F. 2013. Anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial activity of two species of *Tabebuia* genus. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 18(1): 34-46.

Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E. & Rahmat, A. 2010. Antioxidant activities, total phenolics and flavonoides content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale roscoe*). *Molecules*. 15(6): 4324-4333.

Haider S., Nazreen S., Alam M. M., Gupta A., Hamid H. & Alam M. S. 2011. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of ethanolic extract and its various fractions from *Adiantum capillus veneris* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*. 138(3): 741-747.

Lai H. & Lim Y. 2011. Evaluation of antioxidant activities of the methanolic extracts of selected ferns in Malaysia. *International Journal of Environmental Science and Development*. 2(6): 442-447.

Romero-Castillo P. A., Pérez-Amador B., Guevara-Fefer P., Muñoz-Ocoterero, V., Reyes-Dorantes A., Aguirre-García F. & Amaya-Chavez A. 2013. Actividad anti-inflamatoria de *Ziziphus amole*. *Phyton (Buenos Aires)*. 82(1): 75-80.

Sánchez P. M., Villarreal M. L., Herrera-Ruiz M., Zamilpa A., Jiménez-Ferrer E. & Trejo-Tapia G. 2013. *In vivo* anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of extracts from wild growing and *in vitro* plants of *Castilleja tenuiflora* Benth. (*Orobanchaceae*). *Journal of Ethnopharmacology*. 150(3): 1032-1037.