

ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán"

Mario Carhuapoma Y.¹, Pablo Bonilla R.¹, Silvia Suarez C.², Roser Vila³, Sofía López G.⁴.

¹Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" - Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM. ²Instituto de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNMSM. ³Unidad de Farmacología y Farmacognosia, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona. ⁴Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga

RESUMEN

El estrés oxidativo genera diversas enfermedades inflamatorias con carcinogénesis y muerte celular. *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán" es una especie nativa con propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y conservante de tejidos *postmortem*. Con el objetivo de caracterizar la composición química y determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de *L. chequen*, se realizó el presente trabajo. El aceite esencial reporta un rendimiento (1.25% v/p), rotación óptica (+6 a -8), densidad (0.9044 g/mL) e índice de refracción (1.470). Por CG-SM y RMN-¹³C se elucidó las estructuras de 40 compuestos al 93.6% de la muestra total: hidrocarburos monoterpénicos (68.8%), conteniendo α -pineno (57.3%) y β -pineno (6.2%); hidrocarburos oxigenados (18.9%), destacando 1,8 cineol (7.5%), linalol (3.7%) y *trans*-verbenol (2.2%); sesquiterpenos (3.0%), con el β -selineno (1.3%) y óxido de β -cariofileno (0.9%); y fracción no terpénica (3.0%). Se ensayó en 3 modelos la actividad antioxidante: 1) En el modelo DPPH, resultó muy cercano a la vitamina C, captando al radical DPPH en 63.5600% y la vitamina C en 69.7767%; posee una concentración media de inhibición (IC₅₀) de 43.3571 μ g/mL y la vitamina C de 36.4090 μ g/mL; 2) la captación de radical hidroxilo a concentraciones de 100, 50 y 10 μ g/mL, resultan en 67.2033, 51.9633 y 31.2767%, respectivamente; a mayor concentración de aceite, hay mayor capacidad antioxidante; y 3) inhibe la formación del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico en 0.117 μ moles/mL y la vitamina C 0.103 μ moles/mL, comparado con el control negativo que exhibe 0.540 μ moles/mL; el aceite esencial resulta con menor capacidad antioxidante en este modelo. Los resultados sugieren que el aceite esencial de *L. chequen* posee actividad antioxidante, debido a la estructura de sus constituyentes químicos.

Palabras clave: *Luma chequen*, aceite esencial, constituyentes químicos, actividad antioxidante.

SUMMARY

Oxidative stress generates several inflammatory diseases with cell death and carcinogenesis. *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán" is a native specie with anti-inflammatory and antimicrobial virtues and corpse (post mortem tissue) preservative. With the goal of characterizing the chemical composition and determining antioxidant activity of essential oil of *L. chequen*, it was carried out the present work. The essential oil reports a (1.25 % v/p) performance, (+6 a -8) optical rotation, (0.9044 g/mL) density and a (1.470) refraction index. By means of CG-SM and NMR-¹³C, it was elucidated the structures of 40 compounds at a 93.6 % of the whole sample, monoterpene hydrocarbons (68.8 %), containing α -pinene (57.3 %) and β -pinene (6.2 %) oxygenated hydrocarbons (18.9 %), emphasizing 1,8 cineol (7.5 %), linalool (3.7 %), and *trans*-verbenol (2.2 %), sesquiterpenes (3.0 %), with β -selinene (1.3%) and β -cariofilene oxide (0.9%), and a non terpenic fraction (3.0%). It was assayed 3 models of antioxidant activity, 1) resulted very near to vitamin C, gaining over of the DPPH radical in 63.5600% and the vitamin C in 69.7767%, it has an IC₅₀ of 43.3571 μ g/mL and the vitamin C of 36.4090 μ g/mL, 2) the winning of hydroxyl radical at concentrations of 100, 50, and 10 μ g/mL, resulting in 67.2033 and 31.2767%, respectively, at a greater concentration of oil, there is a greater antioxidant capacity and 3) it inhibits the formation of malondialdehyde-thiobarbituric acid complex in 0.117 μ moles/mL and the vitamin C, 0.103 μ moles/mL, comparing with negative control that exhibits 0.540 μ moles/mL; essential oil results with minor antioxidant capacity in this model. The results suggest that the essential oil of *L. chequen* has antioxidant activity, due to structure of their chemical constituent.

Key words: *Luma chequen*, essential oil, chemical constituent, antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

Los prooxidantes actúan en macromoléculas oxidables como proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos, produciendo cambios en la conformación química o en la estructura de los elementos celulares que los hacen compatibles con la vida.

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden generar la carcinogénesis por su virtud de reaccionar con el ADN y causar mutaciones. Recientemente se ha sugerido que el óxido nítrico y sus derivados producidos en tejidos inflamados pueden contribuir al proceso de carcinogénesis.

Numerosas investigaciones han demostrado los efectos antioxidantes de los aceites esenciales^{1,11}. Son, en su mayoría, sustancias terpénicas y fenilpropánicas, que se almacenan en los tejidos secretores de vegetales aromáticos. Una especie aromática puede contener más de 150 componentes como parte de su aceite esencial. Ruberto *et al.* (2000)², demostraron la actividad antioxidante de, aproximadamente, 100 compuestos puros de aceites esenciales, con una diferencia significativa de timol, carvacrol y eugenol. Asimismo, Choi *et al.* (2000)⁷, evidenciaron la actividad antioxidante de más de 20 compuestos puros, entre las que destaca el geraniol, terpinoleno y γ -terpineno.

Luma chequen (Molina) A. Gray "arrayán" (Myrtaceae) es una especie aromática nativa del Perú que reporta propiedades terapéuticas en enfermedades de las vías respiratoria y digestiva, así como conservante de tejidos *postmortem* por sus propiedades antimicrobiana e hipocolesterolemica^{12,13}.

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar los componentes químicos del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray y determinar su actividad antioxidante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Hojas de *Luma chequen* "arrayán", recolectadas en el distrito de Tambo (2800 msnm), provincia de La Mar, departamento de Ayacucho.

Extracción del aceite esencial. A partir de 5 kg de hojas secas se extrajo el aceite esencial mediante arrastre de vapor¹⁴. Se determinó su rendimiento por gravimetría-volumetría. Se caracterizaron algu-

nas constantes físicas como rotación óptica, densidad e índice de refracción.

Caracterización química del aceite esencial. Se realizó por técnicas cromatográficas y espectroscópicas. Empleando cromatógrafo de gas-detector de ionización de llama (GC-FID) y cromatógrafo de gas-espectrómetro de masa (GC-MS). Se utilizaron dos columnas capilares de sílica de diferente fase estacionaria: supelcowaxTM 10 y metilsilicona SE-30 (30m x 0.25 mm i.d.; 0.25 μ m de grosor de película). El análisis por GC-FID fue ejecutado en un Hewlett-Packard 6890, computarizado con un procesador de software, en las siguientes condiciones analíticas: corriente de gas helio; porcentaje de flujo, 1mL/min; a una temperatura programada a 60°C (5min), 60-220°C (10min); temperatura de inyección, 250°C; temperatura de detector, 270°C. El espectro de masa fue obtenido con un cromatógrafo de gas Hewlett-Packard 5890 serie II acoplado a un detector selectivo de masa Hewlett-Packard 5971, en las mismas condiciones analíticas arriba mencionadas.

Espectro de resonancia magnética nuclear-¹³C (¹³C-NMR), en un espectrofotómetro con transformada de Fourier Bruker AC 200, operando a 50.323 MHz, equipado con una computadora Aspect 3000 y un registrador de 10 mm, en cloroformo deuterado y tetrametilsilano.

Actividad secuestradora de radicales libres usando DPPH. Se utilizó el método de Joyeux *et al.* (1995)¹⁵, se adicionó 0.75 mL de aceite esencial a concentraciones de 100, 50 y 10 μ g/mL por 1.5 mL de volumen de solución de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil, 0.1mM en etanol al 95%). Luego de haber dejado la mezcla a temperatura ambiente por 5 minutos, la absorbancia se registró a 517 nm, la actividad secuestradora de radicales libres se expresa como una concentración efectiva 50% (CE 50, concentración de sustancia de prueba requerida para reducir la absorbancia de la solución blanco de DPPH en 50%). La vitamina C se utilizó como patrón de referencia.

Actividad secuestradora de radical hidroxilo. Se utilizó la metodología de Klein *et al.* (1981)¹⁶, el formaldehído producido durante la oxidación del dimetilsulfoxido (DMSO) por el sistema Fe³⁺-ácido ascórbico es usado para detectar radicales hidroxilo. La mezcla de reacción contiene EDTA: Fe³⁺ 0.1 mM (1:2); DMSO 167 μ M en buffer fosfato (50 mM,

pH 7.4). El aceite esencial de *Luma chequen* se adicionó a la mezcla de reacción a 100, 50 y 10 µg/mL, y luego 2 mM de ácido ascórbico. La mezcla se incubó a 37 °C por 30 minutos y se adicionó 125 µL de ácido tricloroacético (17.5% p/v). El formaldehído se determinó espectrofotométricamente a 412 nm.

Actividad anti-peroxidación lipídica en hígado de rata. Se utilizó hígado de rata Wistar macho de 160-190 g, para preparar el homogeneizado de hígado (10%); la rata fue sacrificada por punción cardíaca

seguida por perfusión del hígado con solución salina, fue separado y luego homogeneizado en 10 volúmenes de KCl 0.15M. Se utilizó el método de Buege y Aust (1978)¹⁷, a concentraciones de 100, 50 y 10 µg/mL del aceite esencial, luego se midió la producción del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico a 535 nm en un espectrofotómetro UV-Visible. La inhibición se evidenció por una disminución en la producción del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico, producto de la peroxidación lipídica.

RESULTADOS

Tabla 1. Principales constantes físicas del aceite esencial de *Luma chequen*.

CONSTANTES FÍSICAS	VALORES
Rendimiento en seco	1.25 %v/p
Rotación óptica (21°C)	+6 a -8
Densidad (21°C)	0.9044 g/mL
Índice de refracción (21°C)	1.470

Tabla 2. Composición química del aceite esencial de *Luma chequen*.

CONSTITUYENTES	%	RI ₁	RI ₂	MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN
2-metilbutirato de etilo	0.1	152	121	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Isobutirato de isobutilo	1.1	195	137	GC-MS, ¹³ C-NMR
α-tuyona	0.3	208	-	RI ₁ , GC-MS
α-pineno	57.3	215	113	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Canfeno	0.2	219	126	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
β-pineno	6.2	231	147	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Isobutirato de 2-metilbutilo	1.7	247	-	GC-MS, ¹³ C-NMR
p-cimeno	0.9	251	238	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
1,8-cineol	7.5	256	209	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Limoneno	3.8	251	204	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Óxido de <i>cis</i> -linalol	0.2	273	322	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Óxido de <i>trans</i> -linalol	0.2	281	336	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Linalol	3.7	289	377	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Fenchol	0.2	293	391	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Camfolenal	0.4	296	345	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
<i>Trans</i> -pinocarveol	0.7	306	424	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
<i>Trans</i> -verbenol	2.2	310	437	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Pinocarvona	0.4	313	380	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Borneol	0.3	319	447	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Terpinen-4-ol	0.2	325	398	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Mirtenal	0.4	329	409	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
α-terpineol	0.6	332	446	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Myrtenol	0.6	335	490	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Verbenona	0.9	337	451	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
<i>Trans</i> -carveol	0.3	345	512	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Isobutirato de bencilo	0.1	379	486	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
β-elemeno	tr	437	394	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
β-selineno	1.3	483	454	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
α-selineno	0.4	488	456	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR
Óxido de β-cariofileno	0.9	527	577	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS, ¹³ C-NMR

Continúa ...

... Viene

Viridiflorol	0.1	533	627	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Cubenol	0.1	549	619	RI ₁ , RI ₂ , GC-MS
Myrceno	tr	-	180	RI ₂ , GC-MS
Isobutirato de <i>cis</i> -3-hexenilo	tr	-	298	RI ₂ , GC-MS
α - <i>p</i> -dimetilestireno	tr	-	320	RI ₂ , GC-MS
Mentona	tr	-	334	RI ₂ , GC-MS
<i>allo</i> -aromadendreno	0.1	-	417	RI ₂ , GC-MS
Pulegona	tr	-	418	RI ₂ , GC-MS
Geraniol	tr	-	517	RI ₂ , GC-MS
<i>p</i> -cimen-8-ol	0.1	-	519	RI ₂ , GC-MS
Total de identificación		93.6		

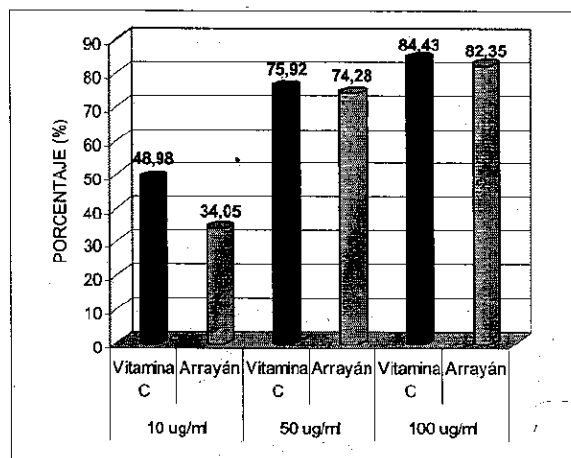
Legenda:Tr : Trazas $\leq 0.05\%$ RI₁ : Índice de retención en metilsilicona SE-30RI₂ : Índice de retención en Supelcowax™10

Gráfico 1. Comparación de la actividad antioxidante por concentraciones del aceite esencial de *Luma chequen* y la vitamina C frente al DPPH.

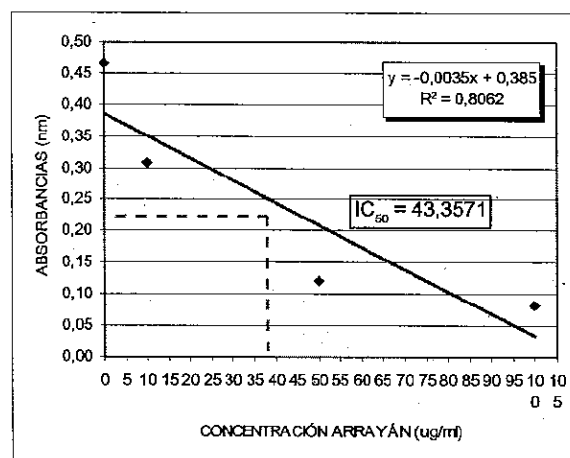


Gráfico 2. Concentración de inhibición 50 (IC₅₀) del aceite esencial de *Luma chequen* frente al DPPH.

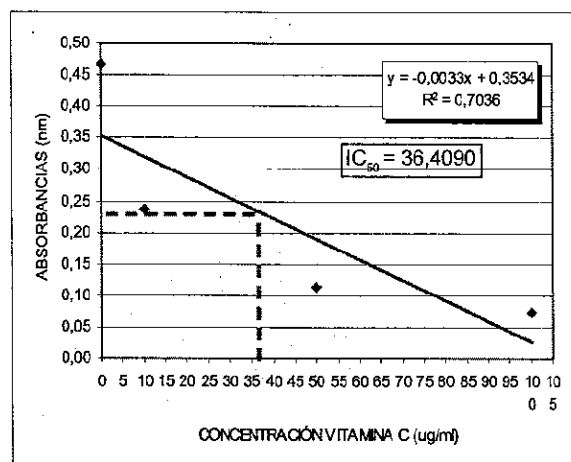


Gráfico 3. Concentración de inhibición 50 (IC₅₀) de la vitamina C frente al DPPH.

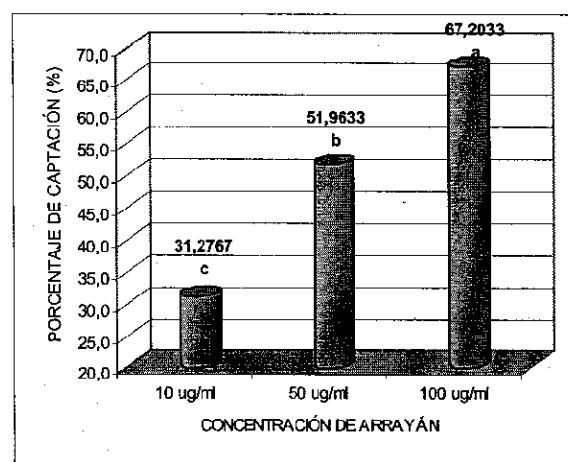


Gráfico 4. Capacidad de captación de radical hidroxilo por el aceite esencial de *Luma chequen*.

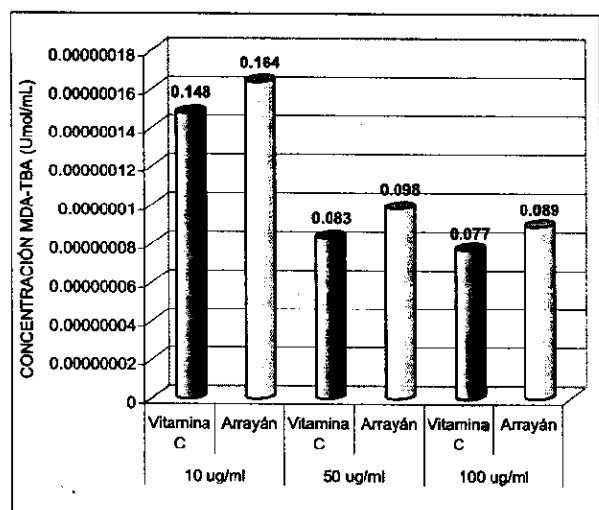


Gráfico 5. Inhibición del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico por el aceite esencial de *Luma chequen* y vitamina C en tres concentraciones.

DISCUSIÓN

No se ha encontrado antecedentes de los valores de las constantes físicas del aceite esencial de *L. chequen*, debido a que es una planta poco conocida en el ámbito científico, y a su condición de especie nativa altoandina, existiendo mayormente informaciones etnobotánicas y etnofarmacológicas; por lo tanto, estos reportes serían datos iniciales (tabla 1).

El resultado del análisis cuali-cuantitativo del aceite esencial de *L. chequen*, tabla 2, mostró 40 constituyentes que representan el 93.6% del total de la muestra, constituido principalmente por monoterpenos (87.7%).

La fracción monoterpénica de tipo hidrocarburo (68.8%), presenta al α -pineno (57.3%) y al β -pineno (6.2%), como los componentes mayoritarios; mientras que los monoterpenos oxigenados representan 18.9% del aceite, entre estos el 1,8-cineol (7.5%), linalol (3.7%) y *trans*-verbenol (2.2%).

La fracción de sesquiterpenos representa menos del 3.0% del aceite, los constituyentes que destacan son el β -selineno (1.3%) y óxido de β -cariofileno (0.9%).

La fracción no terpénica comprende 5 componentes, constituyendo el 3.0% del aceite, entre ellos, el isobutirato de 2-metilbutilo (1.7%) e isobutirato de isobutilo (1.1%).

Al respecto, Goncalves et al. (2001)¹⁸, reportaron, al analizar el aceite esencial de esta especie, 90.1% de

la fracción monoterpénica, α -pineno (57.1%), 1,8-cineol (12.1%) y linalol (5.5.); y 3.1% de sesquiterpenos, no reportaron fracción no terpénica.

Estos datos estarían confirmando el predominio del α -pineno, como el mayor constituyente del aceite esencial, caracterizándose por su efecto farmacológico estimulante sobre las células epiteliales, incrementando la motilidad del epitelio ciliado de los bronquios, y el 1,8-cineol que también es conocido por su actividad antiséptica y expectorante, ambos estarían actuando en sinergismo. Estos resultados sustentan su uso popular como expectorante, antiinflamatorio y conservante^{13,19,20}.

El aceite esencial de *L. chequen* presenta actividad antioxidante en el modelo del DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) comparado con la vitamina C. En el gráfico 1, se analiza el tratamiento de 3 concentraciones, observándose que con 10 y 50 μ g/mL presentan diferencias en su capacidad de captación de radical DPPH, donde la vitamina C tiene mayor capacidad captadora en ambas concentraciones. Con 100 μ g/mL de aceite y de vitamina C, tienen similar capacidad de captación de radical DPPH, esto estaría indicando que cuanto mayor es la concentración del aceite esencial de "arrayán", tiene mayor capacidad antioxidante.

En los gráficos 2 y 3, se presentan las concentraciones de inhibición 50 (IC₅₀). El aceite esencial de "arrayán" presenta 43.3571 μ g/mL, y la vitamina C 36.4090 μ g/mL, estos valores son próximos, lo cual confirmaría que el aceite esencial de *L. chequen* posee una significativa actividad antioxidante comparada con la vitamina C.

Basándose en este mismo modelo, Choi et al. (2000)⁷, realizaron un estudio de los aceites esenciales de 34 especies del género Citrus, reportando una significativa actividad antioxidante, encabezado por el monoterpeno oxigenado geraniol con 87.7% de capacidad de captación del radical DPPH, seguido por terpinoleno (87.4%) y γ -terpineno (84.7%), usando como patrón de comparación al trolox. El aceite esencial de *L. chequen* posee geraniol, que posiblemente sea uno de los componentes que esté dotándole de actividad antioxidante, debido a las instauraciones que presenta dicha estructura molecular.

En el gráfico 4, se estima la actividad captadora de radical hidroxilo, expresado como porcentaje de inhibición de la producción de formaldehído respecto

de la reacción control, presentando diferencias en los porcentajes de inhibición. Según el análisis de varianza, estadísticamente hay diferencias en su capacidad de captación de radical hidroxilo en las tres concentraciones. El de 50 µg/mL y 100 µg/mL, están por encima del 50% de inhibición de la producción de formaldehído. Mientras que el de 10 µg/mL se encuentra por debajo del 50% de capacidad de captación de radical hidroxilo. En este modelo, también, se puede notar que cuanto mayor es la concentración del aceite esencial, mayor es su capacidad antioxidante.

En el gráfico 5, inhibición de producción del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico (MDA-TBA), resulta que hay diferencias de inhibición, tanto del aceite esencial y la vitamina C. Comparando los efectos antioxidantes de 3 concentraciones de aceite esencial y vitamina C, a 100, 50 y 10 µg/mL. Estadísticamente, hay diferencias en la capacidad de inhibición del complejo MDA-TBA frente a la vitamina C, este último exhibe mayor capacidad de inhibición en cada concentración.

En este modelo, que emplea microsoma hepático de rata, el aceite esencial estaría protegiendo de la peroxidación lipídica, por ello se observa la disminución de concentración del complejo MDA-TBA.

El aceite esencial de *L. chequen*, en los tres modelos ensayados, muestran capacidad antioxidante muy cercana a la vitamina C, que se deben a las estructuras moleculares de sus constituyentes químicos (Tabla 2).

Choi *et al.* (2000)⁷ reportó la actividad antioxidante de varios componentes del aceite esencial de 34 especies del género Citrus, revelando que el geraniol es el constituyente químico que más destaca por su actividad antioxidante, pero no es el único, reportaron que el α -pineno y linalol posee una capacidad de captación de radical DPPH entre 18.7 – 22.4%, estos dos metabolitos, están presentes también en el aceite esencial de "arrayán", el primero como componente mayoritario (57.3%) y el linalol (3.7%). Además β -pineno, myrceno, limoneno, p-cimeno,

terpinen-4-ol y α -terpineol. Choi *et al.* encontraron que los terpenoides mencionado tienen capacidad antirradicalaria frente al DPPH entre 8.8 – 16.5% de captación.

Ruberto y Baratta (2000)² ensayaron 100 compuestos puros de aceites esenciales en dos modelos de actividad antioxidante; el primer modelo del ácido tiobarbitúrico y yema de huevo como sustrato oxidable, el segundo modelo de una peroxidación del ácido linoleico en un sistema micelar; en ambos se usó 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (ABAP) como radical iniciador, y se usó α -tocoferol como referente. Reportaron que sólo tres de los 100 compuestos no presentaron actividad antioxidante. En estos dos modelos se aprecia que algunos componentes presentes en el aceite esencial de "arrayán", poseen actividad antioxidante dentro de los rangos de captación antirradicalaria 3.2 – 34.9%, en orden ascendente, desde el óxido de *cis*-linalol, óxido de *trans*-linalol, borneol, canfeno, verbenona, pulegona, 1.8-cineol, α -pineno, β -pineno, α -terpineol, terpinen-4-ol, myrceno, α -tuyona y geraniol.

Sylvestre *et al.* (2005)¹⁰ estudiaron la actividad anticancerígena en línea celular de tumor A-549 (de pulmón) y DLD-1 (de colon), del aceite esencial de *Croton flavens*, encontrando una significativa citotoxicidad, y que, posiblemente, se deba a la acción del α -cadinol (3.97%), β -elemeno (1.53%) y α -humeleño (1.06%). El aceite esencial de *L. chequen* tiene β -elemeno, posiblemente esta molécula sea un potencial anticancerígeno del aceite esencial de esta especie.

Se demuestra la actividad antioxidante del aceite esencial de *L. chequen*, mediante los 3 modelos descritos, además todas las moléculas del aceite esencial actúan en sinergismo, potenciando su capacidad antirradicalaria, dando una protección a las macromoléculas biológicas, como las proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos, por lo que son usados para el tratamiento de afecciones de las vías respiratorias. El α -pineno es una molécula importante en la semisíntesis de vitaminas A y E, de elevada capacidad antioxidante. El linalol, fenchol y camfor son usados en la industria farmacéutica y cosmética²¹.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **García BL, García GL, Rojo DD, Sánchez GE.** Plantas con propiedades antioxidantes. *Rev Cubana Invest Biomed* 2001; 20(3): 231-5.
2. **Ruberto G, Baratta MT.** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *J Food chemistry* 2000; 69: 167-74.
3. **Radonic A, Milos M.** Chemical composition and *in vitro* evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *Satureja montana* L. *J Free Radical Research* 2003; 37 (69): 673-79.
4. **Juliani HR, Simon JE.** Antioxidant activity of basil. ASHS Press, Alexandria VA; 2002.
5. **Vasconcellos A.** Alimentos funcionales. Consejos y beneficios para la salud. Departamento de Ciencias de Alimentos y Nutrición, Universidad Chapman. California; 2000.
6. **Zygdalo J, Lamarque A, Maestri D, Grosso N.** Empleo de aceites esenciales como antioxidantes naturales. Instituto de la Grasa, Ministerio de Ciencia y Tecnología. España; 1995.
7. **Choi H, Song SH, Ukeda H, Sawamura M.** Radical-Scavenging activities of Citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *J. Agric Food Chem* 2000; 48: 4156-61.
8. **Rekka EA, Kourounakis AP, Kourounakis PN.** Investigation of the effect of chamazulene on lipid peroxidation and free radical processes. *Rev. Commun Mol Pahtol Pharmacol* 1996; 92 (3): 361- 4.
9. **Ricci D, Fraternali D, Giamperi L, Bucchini A, Epifano F, Burini G, Curini M.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium morum* (Lamiaceae). *J Ethnopharmacology* 2005; 98: 195-200.
10. **Sylvestre M, Pichette A, Longtin A, Nagau F, Lagault J.** Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. *J Ethnopharmacology*; 2005.
11. **Cadenas E, Packer L.** Handbook of antioxidants. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2002.
12. **Brako L, Zarucchi J.** Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Perú. Missouri Botanical Garden. Missouri; 1993.
13. **Carhuapoma YM.** Plantas medicinales aromáticas nativas de la provincia de Huamanga y sus perspectivas económicas. UNSCH. Ayacucho; 2002.
14. **Bandoni, A.** Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Buenos Aires; 2000 .
15. **Joyeux M, Lobtein A, Antón R, Mortier F.** Comparative antilipoperoxidant, antinecrotic and scavenging properties of terpenes and biflavones from Gingo and some flavonoids. *Planta Med.* 1995; 61: 126-9.
16. **Klein SM, Cohen G, Cederbaum AI.** Production of formaldehyde during metabolismo of dimethyl sulfoxide by hydroxyl radical generating systems. *Biochemistry* 1981; 20:6006-12.
17. **Buege JA, Aust SD.** Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology* 1978; 52: 302-10.
18. **Goncalves MJ, Calvaleiro C, Salgueiro LR, Proenca AC.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Luma chequen*. University of Coimbra. Portugal; 2001.
19. **Sotta N.** Plantas aromáticas y medicinales de la región de Arequipa. Edit. Akuarella. Arequipa; 2000.
20. **Jaramillo VH, Macha GM, Mejía QM.** Determinación de la actividad hipocolesterolémica en extractos de parte aérea de *Luma chequen* "rayán castilla". UNICA. Ica; 2004.
21. **Hänsel R, Sticher O.** Pharmakognosie – phytofarmazie. 7th edn. Spinger-Verlag. Berlin, 2004.