

## Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae)

[Polyphenols and antioxidant activity in *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae)]

Rafael A. RICCO<sup>1</sup>, Ignacio AGUDELO<sup>1</sup>, Mariana GARCÉS<sup>2</sup>, Pablo EVELSON<sup>2</sup>,  
Marcelo L. WAGNER<sup>1</sup> & Alberto A. GURNI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Farmacobotánica. <sup>2</sup>Cátedra de Química General e Inorgánica. Laboratorio de Biología de Radicales Libres (PRALIB-CONICET). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 954. (1113) Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina

Contactos / Contacts: Rafael A. RICCO E-mail address: [raricco@ffyb.uba.ar](mailto:raricco@ffyb.uba.ar)

---

### Abstract

*Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae) is a species native to South America and Central America, which is used in traditional medicine as a diuretic and in treating of various diseases. The aim of this paper was to study the polyphenol profile and antioxidant activity of extracts obtained from lateral branches and main stem of the plants. Quali- and quantitative differences were detected with higher contents of phenols, tannins, condensed tannins, flavonoids and hydroxycinnamic acids in the lateral branches. The proanthocyanidins propelargonidin and procyanidin only were detected in lateral branches. These extracts showed the highest antioxidant activity. Due to their higher concentration and chemical composition, lateral branches could be considered as a sort of source of compounds that would act as antioxidant.

**Keywords:** *Equisetum giganteum*; polyphenols; condensed tannins; flavonoids; hydroxycinnamic acids, antioxidant activity.

### Resumen

*Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae) es una especie nativa de Sudamérica y América Central, que es empleada en la medicina tradicional como diurético y en el tratamiento de diversas patologías. El objetivo de este trabajo fue estudiar el perfil de polifenoles y la actividad antioxidante de extractos obtenidos de las ramas laterales (tallos finos), tallos entrenudos y tallos basales. Se detectaron diferencias cuali-cuantitativas, con mayor contenido de fenoles, taninos, taninos condensados, flavonoides y ácidos hidroxicinámicos en las ramas laterales. Las proantocianidinas propelargonidina y procianidina sólo se detectaron en las ramas laterales. En estos extractos se detectó la mayor actividad antioxidante. Debido a la alta concentración y composición química, los tallos laterales podrían ser empleados como fuente de compuestos con actividad antioxidante.

**Palabras Clave:** *Equisetum giganteum*; polifenoles; taninos condensados; flavonoides; ácidos hidroxicinámicos, actividad antioxidante

Recibido | Received: 20 de Abril de 2011.

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 11 de Mayo de 2011.

Publicado en línea | Published online: 30 de Julio de 2011.

Declaración de intereses | Declaration of interests: Subsidio UBA B120.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: Rafael A. RICCO, Ignacio AGUDELO, Mariana GARCÉS, Pablo EVELSON, Marcelo L. WAGNER, Alberto A. GURNI. 2010. Polifenoles y actividad antioxidante en *Equisetum giganteum* L. (Equisetaceae). Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 10(4): 325 – 332.

**Lista de abreviaciones:**AlCl<sub>3</sub>: tricloruro de aluminioBAA: *n*-butanol-ácido acético-agua

HCl: ácido clorhídrico

MeOH: metanol

PA: proantocianidinas

TLC: cromatografía en capa delgada

HPTLC: cromatografía en capa delgada de alta performance.

**INTRODUCCIÓN**

El género *Equisetum*, perteneciente a la familia Equisetaceae, está constituido en la actualidad por 15 especies conocidas vulgarmente como “colas de caballo” (Hauke, 1993). Son plantas vasculares, pertenecientes a la división Equisetophyta, que se reproducen sexualmente por medio de esporas (Cronquist, 1986; Pryer *et al.*, 2001).

*Equisetum giganteum* L., conocida como “cola de caballo”, “limpia plata” y “yerba del platero”, es una especie rizomatosa, herbácea, perenne, de 1 a 2 m de altura, de tallos fistulosos, gruesos, ramificados, con 24 a 30 costillas verticiladas. Presenta hojas escamiformes negras dispuestas en forma de vainas. Presenta esporofilos bien notables ubicados en los extremos de las ramas o tallos (Dimitri, 1972). Especie nativa de Sudamérica y América Central, crece en regiones templadas y templado-cálidas de Argentina, donde se desarrolla principalmente en suelos anegados y cercanos a cursos de agua.

Los estudios realizados sobre ésta especie abarcan principalmente el análisis botánico y taxonómico, realizándose también algunos estudios relacionados a su biomecánica (Spatz *et al.*, 1998). Los estudios fitoquímicos son escasos y se han centrado principalmente en la determinación de la presencia de compuestos inorgánicos, fundamentalmente sílice y ácido silícico, y en menor medida, flavonoides y derivados hidroxicinámicos (Stoliar, 2009) y oleorresinas (Danielski, 2007).

Respecto de sus propiedades medicinales, tradicionalmente es empleada como diurético, mediante el uso por vía oral de extractos acuosos (Bandoni *et al.*, 1972; Murillo, 1983; Caceres *et al.*, 1987a) y en el tratamiento de la litiasis renal (Murillo, 1983). Otros usos frecuentes en la medicina tradicional son: astringente (Bandoni *et al.*, 1972; Gonzalez *et al.*, 1993, Quiroga *et al.*, 2001), cicatrizante, y en el tratamiento de diversos procesos

dermatológicos (Caceres *et al.*, 1987a, 1987b). En menor medida es empleada además como antidiarreico, en el tratamiento de enfermedades hepáticas, en enfermedades del estómago, en el tratamiento de hemorragias internas y en infecciones del tracto respiratorio (Stoliar, 2009).

El objetivo del presente trabajo involucra el análisis cuali-cuantitativo de los polifenoles y de la actividad antioxidante de extractos de *E. giganteum*.

**MATERIALES Y MÉTODOS****Material vegetal**

Se analizaron las partes aéreas de los esporofitos estériles de *E. giganteum*, provenientes de la ciudad de Zárate, Provincia de Buenos Aires, Argentina (Foto 1).

**Foto 1.** *Equisetum giganteum* L. Material vegetal analizado.



Las muestras fueron recolectadas durante el año 2010, entre los meses de abril y agosto (otoño – invierno), periodo en el cual los esporofitos se encuentran estériles, estado de desarrollo en que debe encontrarse el material vegetal para su uso medicinal.

El material vegetal fue separado en tres partes: ramas laterales (tallos finos), tallos entrenudos y tallos basales.

Material de referencia se encuentra depositado en el Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez” (Ricco s/n 17460 BAF).

**Obtención del extracto original metanólico (EOM)**

La extracción se llevó a cabo a temperatura ambiente, durante 24 h, con 10 mL de metanol 50% (metanol-agua, 1:1), sobre 200 mg de material vegetal seco y

molido. Posteriormente se filtró y se descartó el marco.

### Extracción en medio acuoso

Se realizaron cocimientos (decocciones) al 5% según Farmacopea Nacional Argentina VI<sup>o</sup> Edición. A 5 g de cada tallo, pulverizado, contenidos en un erlenmeyer, se adicionaron 100 mL de agua destilada y se llevó a ebullición durante 20 min. Se dejó enfriar a 40 °C y se filtró. El residuo se lavó con agua destilada hasta volumen final de 100 mL de extracto. Estos extractos fueron empleados en la medición de la actividad antioxidante total.

**Caracterización de las proantocianidinas** (Mabry *et al.*, 1970, Markham, 1982)

### Conversión de proantocianidinas en antocianidinas

Se efectuó por medio de un tratamiento ácido. Se llevó a sequedad 1 mL del EOM y el residuo se redisolvió en 5 mL de HCl 2N. Se llevó posteriormente a 100 °C en un baño de agua durante una hora. Las proantocianidinas se transforman así en antocianidinas, las que son extraídas con alcohol amílico. La presencia de color rojo intenso en la fase amílica sugiere la presencia de estos compuestos.

### Aislamiento y purificación

Se realizó mediante TLC y HPTLC de celulosa de la fracción amílica, en los solventes Forestal (ácido acético-ácido clorhídrico-agua, 30:3:10) y Fórmico (ácido fórmico-ácido clorhídrico-agua, 5:2:3).

### Identificación

Se realizó mediante la determinación de los valores de *R<sub>f</sub>* por cromatografía y co-cromatografía en TLC y HPTLC de celulosa empleando distintos solventes: Fórmico, Forestal y BAA (6:1:2), frente a testigos de cianidina, pelargonidina, delfinidina y apigeninidina. También se emplearon métodos de espectroscopía UV-visible, consistentes en la obtención del espectro en MeOH-HCl y posterior evaluación de los corrimientos observados cuando se emplea una solución al 5% de AlCl<sub>3</sub> en MeOH. A tal fin se empleó un espectrofotómetro UV-Visible con arreglo de diodos Hewlett-Packard 8452A.

### Cuantificación de fenoles totales

Fueron determinados mediante el método de Folin-Ciocalteu (Makkar *et al.*, 1993). Alícuotas (50 µL) de los extractos fueron transferidas a tubos de ensayos y

el volumen llevado a 500 µL con agua desionizada. Se adicionaron a continuación 250 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1,25 mL de solución acuosa de carbonato de sodio al 20%. Luego de 40 minutos la absorbancia fue medida a 725 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido tánico. El contenido de fenoles totales fue expresado como mg ácido tánico / g material seco. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

### Cuantificación de taninos totales

El contenido de taninos totales fue determinado por el procedimiento de Folin-Ciocalteu, luego de remover los taninos mediante su precipitación con solución de seroalbúmina bovina (BSA) (buffer acetato 0,2 M pH 5,0; cloruro de sodio 0,17 M y 1,0 mg/mL de fracción V de BSA). The Folin-Ciocalteu method is a relatively straightforward procedure that is useful for determining the total phenolic content of an extract (Ricco *et al.*, 2010; Vogel *et al.*, 2010; Cervantes-Cardoza *et al.*, 2010; Ricco *et al.*, 2011; García Rodríguez *et al.*, 2011).

1 mL de solución de BSA fue adicionado a 1 mL de extracto. Luego de 15 min a temperatura ambiente, los tubos fueron centrifugados a 5000 g. Alícuotas del sobrenadante (50 µL) fueron analizadas según el procedimiento descrito para la cuantificación de fenoles. Los valores obtenidos fueron restados de los correspondientes a los fenoles totales obteniéndose el total de fenoles que se comportan como taninos (taninos totales).

El contenido de taninos totales fue expresado como mg ácido tánico/g material seco. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

### Cuantificación de taninos condensados (proantocianidinas)

Los taninos condensados fueron determinados mediante la reacción de la proantocianidina (Porter *et al.*, 1986). Alícuotas de 0,50 mL de los extractos fueron transferidas a tubos de ensayos y se agregaron 3,0 ml del reactivo butanol-HCl (butanol:HCl, 95:5 V/V) y 0,1 mL de reactivo férrico al 2% (2% sulfato férrico-amónico en HCl 2 M). Los tubos fueron agitados y puestos en Baño María a ebullición durante 60 min. Luego de enfriarlos, se midieron las absorbancias a 550 nm contra un blanco.

Las proantocianidinas se expresaron como densidad óptica (D.O.) a 550 nm. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

### Cuantificación de flavonoides

Alícuotas de 0,1 mL de cada extracto fueron adicionadas a 1,4 mL de agua desionizada y 0,50 mL del reactivo de flavonoides (133 mg tricloruro de aluminio, 400 mg acetato de sodio en 100 mL de solvente constituido por 140 mL metanol, 50 mL agua, 10 mL ácido acético). Luego de 30 min a temperatura ambiente, la absorbancia fue medida a 430 nm (Maksimovic *et al.*, 2005).

Se realizó una curva de calibración con rutina. El contenido de flavonoides fue expresado como mg rutina / g material seco. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

### Cuantificación de ácidos hidroxicinámicos totales

Se determinó mediante una modificación de la metodología descrita por Dao and Friedman (1992). Alícuotas de 50  $\mu$ L de cada extracto fue llevado a volumen (2 mL) con etanol absoluto.

Se determinó la absorbancia a 328 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido clorogénico. Los valores se expresaron como mg de ácido clorogénico/g material seco. Los ensayos se realizaron por triplicado.

### Determinación de la capacidad antioxidante total

La actividad antioxidante total *in vitro* fue evaluada mediante la técnica de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) (Sánchez-Moreno *et al.*, 1998).

Alícuotas de los extractos acuosos fueron llevados a concentración de 1,0 mg/mL en metanol. Una alícuota de ésta solución fue agregada a una solución metanólica de DPPH<sup>•</sup> (25 mg/mL). Cambios en la absorbancia, producida por la adición del extracto vegetal, fue medida a 517 nm en un espectrofotómetro Hitachi U-2000. Una curva de calibración fue preparada usando Trolox como estándar. Los resultados fueron expresados como  $\mu$ mol Trolox/mL extracto acuoso.

### Análisis estadístico

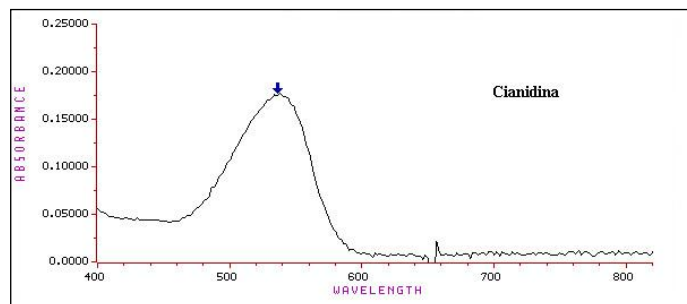
Los resultados fueron expresados como media  $\pm$  desvío estandar. Se consideraron diferencias significativas con  $p < 0.05$ . Se empleó el programa Graph Pad Prism.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

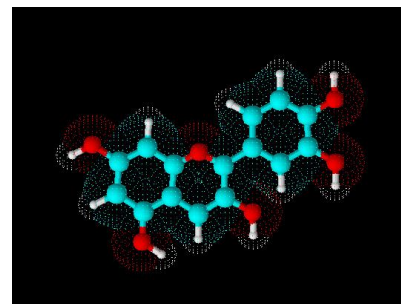
La combinación de ensayos colorimétricos y técnicas cromatográficas permite obtener suficiente información sobre el perfil de polifenoles de *E. giganteum*.

Como resultado del clivaje ácido del EOM y mediante las técnicas descriptas, se determinó la presencia de cianidina y pelargonidina (Figura 1 y Figura 2), provenientes de los taninos condensados procianidina y propelargonidina, respectivamente. Éstos compuestos sólo fueron detectados en las ramas laterales (tallos finos). Como se mencionara anteriormente (ver metodología), las identidades de éstos compuestos fueron asignadas teniendo en cuenta sus comportamientos cromatográficos (valores de  $R_f$ ) frente a testigos puros y por comparación con bibliografía específica. También se realizaron los estudios de espectroscopía UV-visible, que permitieron obtener los espectros característicos para cianidina y pelargonidina. El empleo del reactivo  $AlCl_3$  permite determinar el patrón de hidroxilación del anillo B del esqueleto flavonoídico. En el caso de la cianidina, se observa una reacción positiva, correspondiente al desplazamiento batocrómico del espectro, debido a la formación de un quelato entre el  $AlCl_3$  con el grupo ortodifenol presente en el anillo B de la molécula. Para el compuesto pelargonidina, la reacción con  $AlCl_3$  es negativa (no se observa desplazamiento del espectro original), debido a la presencia de un solo grupo hidroxilo en el anillo B que no permite la formación del quelato correspondiente. Los resultados del análisis fisicoquímico para los compuestos aislados se detallan en la Tabla 1.

Figura 1. (A) Espectro correspondiente a Cianidina. (B) Cianidina 3D

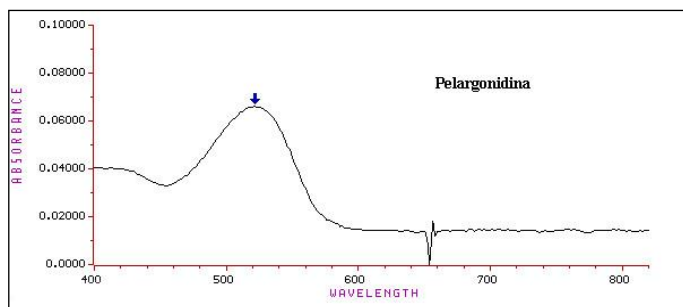


(A) Espectro en MeOH/HCl 0,01% correspondiente a Cianidina

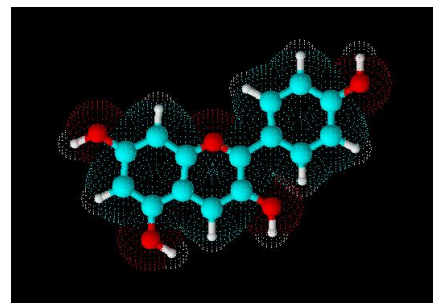


(B) Cianidina 3D

Figura 2. (A) Espectro correspondiente a Pelargonidina. (B) Pelargonidina 3D



(A) Espectro en MeOH/HCl 0,01% correspondiente a Pelargonidina



(B) Pelargonidina 3D

Tabla 1. Resultados del análisis fisicoquímico de los compuestos aislados.

Compuesto	Color visible (medio ácido)	Rf x 100			$\lambda_{\max}$ MeOH-HCl	Reacción (AlCl <sub>3</sub> )
		Forestal	Fórmico	BAA		
Cianidina	Magenta	50	25	70	536	Positiva
Pelargonidina	Anaranjado	68	32	82	522	Negativa

Los resultados del análisis cuantitativo de fenoles totales, taninos totales, proantocianidinas, flavonoides totales y ácidos hidroxycinámicos totales se detallan en la Tabla 2. El análisis de los resultados

permite establecer una diferencia significativa entre los valores obtenidos para las ramas laterales (tallos finos) respecto de los tallos entrenudos y tallos basales.

Tabla 2. Cuantificación de fenoles totales, taninos totales, proantocianidinas, flavonoides totales y ácidos hidroxycinámicos totales.

Muestra	Fenoles totales (mg ácido tánico/g material seco)	Taninos totales (mg ácido tánico/g material seco)	Proantocianidinas (D.O. 550 nm)	Flavonoides totales (mg rutina/g material seco)	Hidroxycinámicos totales (mg ác. clorogénico/g material seco)
Ramas laterales	17,62 ± 2,10	8,22 ± 1,10	0,3422 ± 0,0250	24,37 ± 2,65	12,06 ± 1,20
Tallos entrenudos	7,89 ± 1,90	3,70 ± 0,80	No detectado	11,50 ± 1,50	5,47 ± 0,60
Tallos basales	5,40 ± 0,75	2,88 ± 0,25	No detectado	8,90 ± 0,30	2,94 ± 0,25

Valores expresados como media ± desvío estándar.

Las concentraciones de todos los metabolitos analizados son mayores en las ramas laterales, seguido por los tallos entrenudos y tallos basales. Estas variaciones cuantitativas se ven acompañadas también de una variación cualitativa, observándose una mayor complejidad biosintética en las ramas laterales. Es aquí donde a partir de los flavan-3,4-dioles leucocianidina y leucopelargonidina y de los flavan-3-oles catequina, epicatequina y afzelequina se sintetizarán las

proantocianidinas presentes (Winkel-Shirley, 2001; Tanner *et al.*, 2003). Estos resultados permiten inferir una distribución espacial particular de los taninos condensados (proantocianidinas).

Estos compuestos aparecen fundamentalmente bajo la forma de compuestos de alto peso molecular y explicaría los altos valores para fenoles totales (17,62 ± 2,10 mg ácido tánico/g material seco), que duplican y triplican los niveles de fenoles totales observados en

los otros materiales ( $7,89 \pm 1,90$  y  $5,40 \pm 0,75$  mg ácido tánico/g material seco para los tallos entrenudos y basales, respectivamente).

En estudios previos llevados a cabo en nuestro laboratorio (resultados no publicados), se analizaron los extractos metanólicos (200 mg material seco/10 mL MeOH 50%) de tres ejemplares en estado reproductivo (presencia de estróbilos). Se detectó la presencia de proantocianidinas en los estróbilos y en los tallos finos, no así en los tallos gruesos basales. En los estróbilos, las concentraciones de fenoles totales llegaron a valores máximos de 60 mg ácido tánico / g de material seco, con muy altas concentraciones de proantocianidinas (D.O.  $_{550\text{ nm}} = 1,70 \pm 0,30$ ). En primera instancia podría pensarse en la constancia de éste carácter en los tallos finos y la no detección en los tallos gruesos basales. Dado la ausencia de trabajos previos a los aquí presentados, estos resultados constituyen una primera aproximación al estudio de la dinámica de polifenoles de *E. giganteum*.

Desde el punto de vista de sus actividades biológicas, es conocido que los polifenoles (incluidos los flavonoides y ácidos hidroxicinámicos), son compuestos que pueden desempeñarse como agentes antioxidantes, disminuyendo la ocurrencia de estrés oxidativo. El estrés oxidativo puede ser definido como un aumento, sobre los valores fisiológicos, en las concentraciones intracelulares de las especies reactivas del oxígeno: el anión superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radical hidroxilo ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) y oxígeno singlete ( $^1\text{O}_2$ ) (Sies, 1985). Es así, que la actividad atrapadora de radicales libres, la inhibición de los procesos de peroxidación lipídica y la capacidad de quelar metales (Dasgupta y De, 2007) constituyen, en muchos casos, la base molecular de las acciones farmacológicas atribuidas a los extractos vegetales.

Hay pruebas abrumadoras que indican que los radicales libres pueden estar involucrados en el desarrollo de varias enfermedades, incluyendo cáncer, cardiopatías, diabetes, enfermedades vasculares y enfermedades neurodegenerativas (Halliwell and Gutteridge, 1999; Yu, 1994). Por lo tanto, los antioxidantes que puedan neutralizar los radicales libres pueden ser de importancia fundamental en la prevención de diversas patologías, especialmente en aquellas asociadas a procesos inflamatorios. Como ejemplo puede citarse el empleo de *Equisetum arvense* L., donde la presencia de principios hepatoprotectores y antioxidantes en las partes aéreas puede explicar su uso etnofarmacológico en la medicina tradicional oriental, en el tratamiento de la hepatitis (Hyuncheol et al., 2004).

El análisis de la estructura molecular de los compuestos aquí involucrados demuestra que la actividad antioxidante está relacionada, principalmente, con la presencia de una estructura de ortodihidroxiolos (catecol) en el anillo B. Al respecto, en el extracto proveniente de las ramas laterales (tallos finos) se determinó la mayor capacidad antioxidante ( $772 \pm 31$   $\mu\text{mol Trolox/mL}$ ), seguido por los tallos entrenudos y tallos basales ( $275 \pm 49$   $\mu\text{mol Trolox/mL}$  y  $158 \pm 25$   $\mu\text{mol Trolox/mL}$ , respectivamente). Estos resultados concuerdan con aquellos obtenidos en las cuantificaciones de fenoles totales, donde los tallos finos presentan los valores más elevados, seguido, en orden decreciente, por los tallos entrenudos y los tallos basales. Por lo anteriormente mencionado, la presencia de taninos condensados (proantocianidinas) junto a los flavonoides y derivados hidroxicinámicos, avalarían el empleo de los extractos enriquecidos en polifenoles como agentes antioxidantes (Croft, 1998; Bors and Michel, 2002). Por lo tanto, *E. giganteum* se sumaría a otras especies del género con conocida actividad antioxidante, entre las que se pueden mencionar, *Equisetum arvense* (Stajner et al., 2006; Nagai et al., 2005; Hyuncheol et al., 2004), *Equisetum ramosissimum* Desf. y *Equisetum telmateia* Ehrh. (Stajner et al., 2006).

Por último, puede mencionarse que debido a las variaciones cuali-cuantitativas observadas en el presente trabajo, adquiere especial relevancia la naturaleza del material vegetal empleado en las preparaciones que involucren a *E. giganteum*.

## CONCLUSIONES

Desde un punto de vista relacionado al control de calidad, éste análisis aporta un dato importante cuando se desea utilizar esta planta como medicamento fitoterápico en forma segura.

Por otro lado, estos resultados pueden ser empleados como punto de partida para posteriores estudios que involucren el análisis de las propiedades medicinales anteriormente mencionadas.

## AGRADECIMIENTOS

Éste trabajo se realizó en el marco del subsidio UBA B120.

## REFERENCIAS

- Bandoni AL, Mendiondo ME, Rondina RVD, Coussio JD. 1972. Survey of argentine medicinal plants. I. Folklore and phytochemical screening. *Lloydia* 35: 69 - 80.



- Bors W, Michel C. 2002. Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols. **Ann NY Acad Sci** 957: 57 - 69.
- Cáceres A, Giron LM, Martínez AM. 1987a. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. **J Ethnopharmacol** 19: 233 - 245.
- Cáceres A, Giron LM, Alvarado SR, Torres MF. 1987b. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. **J Ethnopharmacol** 20: 223 - 237.
- Cervantes-Cardoza, V, Rocha-Guzmán NE, Gallegos-Infante JA, Rosales-Castro M, Medina-Torres L, González-Laredo RF. 2010. Actividad antioxidante de extractos de semilla de tres variedades de manzana (*Malus domestica* Borkh -Rosaceae-). **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 9: 446 - 456.
- Croft KD. 1998. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acid. **Ann NY Acad Sci** 854: 435 - 442.
- Cronquist A. 1986. **Botánica Básica**. Compañía Editorial Continental S.A. México. pp: 314 - 317.
- Danielski L, Michielin EMZ, Ferreira SRS. 2007. Horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin and supercritical CO<sub>2</sub>: Experimental solubility and empirical data correlation. **J Food Eng** 78: 1054 - 1059.
- Dasgupta N, De B. 2007. Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. **Food Chem** 101: 471 - 474.
- Dao L, Friedman M. 1992. Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. **J Agric Food Chem** 40: 2152 - 2150.
- Dimitri MJ. 1972. **Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería**. Vol. 1. Segunda Edición. Editorial ACME pp. 48-49.
- García-Rodríguez RV, Zavala-Sánchez MA, Susunaga-Notario AC, Pérez-Gutiérrez S. 2011. Anti-inflammatory evaluation and antioxidant potential of *Senna crotalarioides* and *Penstemon roseus*. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 10: 23 - 29.
- Gonzalez A, Ferreira F, Vazquez A, Moyna P, Paz EA. 1993. Biological screening of Uruguayan medicinal plants. **J Ethnopharmacol** 39: 217 - 220.
- Halliwell B, Gutteridge JNC. 1999. **Free radicals in biology and medicine** (3rd ed.). Oxford: Oxford University Press.
- Hauke RL. 1993. **Equisetaceae**. In: Flora of North America Editorial Committee (Editors), Flora of North America North of Mexico, 2. Oxford University Press, New York, NY, USA.
- Hyuncheol Oh, Do-Hoon Kim, Jung-Hee Cho, Youn-Chul Kim. 2004. Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. **J Ethnopharmacol** 95: 421 - 424.
- Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. 1970. **The Systematic Identification of the Flavonoids**. Springer-Verlag, Berlin and New York, pp. 1 - 175.
- Makkar HPS, Bluemmel M, Borowy NK, Becker K. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. **J Sci Food Agric** 61: 161 - 165.
- Maksimovic Z, Malencic D, Covacevic N. 2005. Polyphenol contents and antioxidant activity of Mayadis stigma extracts. **Biores Tech** 96: 873 - 877.
- Markham KR. 1982. **Techniques of Flavonoids Identification**. Academic Press, London. pp. 1 - 113.
- Murillo MT. 1983. **Usos de los Helechos en Suramerica con especial referencia a Colombia**. Book. pp. 156.
- Nagai T, Myoda T, Nagashima T. 2005. Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) *Equisetum arvense* L. **Food Chem** 91: 389 - 394.
- Porter LJ, Hrstich LN, Chan BG. 1986. The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. **Phytochemistry** 25: 223 - 230.
- Pryer KM, Schneider H, Smith AR, Cranfill R, Wolf PG, Hunt JS, Sipes SD. 2001. Horsetails and ferns are a monophyletic group and the closest living relatives to seed plants. **Nature** 409: 618 - 622.
- Quiroga EN, Sampietro AR, Vattuone MA. 2001. Screening antifungal activities of selected medicinal plants. **J Ethnopharmacol** 74: 89 - 96.

- Ricco RA, Wagner ML, Portmann E, Reidss C, Llesuy S, Gurni AA, Carballo MA. 2010. Análisis de polifenoles, actividad antioxidante y genotoxicidad en especies argentinas de *Lippia* y *Aloysia* (Verbenaceae). **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 9: 388 - 396.
- Ricco RA, Wagner ML, Gurni AA. 2011. Dinámica de polifenoles de “Cedrón” (*Aloysia citrodora* Palau Verbenaceae-) en relación al desarrollo foliar. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 10: 67 - 74.
- Sánchez-Moreno C, Larrauri J, Saura-Calixto F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **J Sci Food Agr** 76: 270 - 276.
- Sies H. 1985. **Oxidative stress: Introductory remarks.** In **Oxidative Stress**, Sies H (Ed.). Academic Press. San Diego. pp: 1 - 7.
- Spatz HC, Köheler L, Speck T. 1998. Biomechanics and functional anatomy of hollow-stemmed Sphenopsids. I. *Equisetum giganteum* (Equisetaceae). **Am J Bot** 85: 305 - 314.
- Štajner D, Popović BM, Čanadanović-Brunet J, Boža P. 2006. Free radical scavenging activity of three *Equisetum* species from Fruška gora mountain. **Fitoterapia** 77: 601 - 604.
- Stoliar C. 2009. **Parámetros botánicos y cromatográficos para la monografía farmacopeica de “cola de caballo”, *Equisetum Giganteum*L.** Tesina de Licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Belgrano, Buenos Aires, Argentina.
- Tanner GJ, Francki KT, Abrahams S, Watson JM, Larkin PJ, Ashton AR. 2003. Proanthocyanidin biosynthesis in plants. **J Biol Chem** 278: 31647 - 31656.
- Vogel H, Razmilic-Bonilla I, Polanco-González X, Letelier-Muñoz ME. 2010. Effect of different provenances and production conditions on antioxidant properties in *Buddleja globosa* leaves. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 9: 333 - 342.
- Winkel-Shirley B. 2001. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. **Plant Physiol** 126: 485 - 493.
- Yu BP. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol Rev** 76: 139 - 162.