

Actividad Antioxidante de *Ixora coccinea*

Rafael Mex-Álvarez, Patricia Garma-Quen, Patrik Blanco-Tapia, Diana Robaldino-Pool, Adriana Campos-Marques, Dominick Acal-Interián.

Laboratorio de Análisis de Medicamentos de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Campeche
Campeche, Cam.; México
rafammex@uacam.mx

Abstract— *Ixora coccinea* plant is considered medicinal that is consumed in the form of an aqueous infusion for the treatment of various infectious diseases and for depression and anxiety. The objective of this work was to determine the presumed antioxidant activity of the hydroethanolic extracts of the leaves and flowers of the coccinera plant (*Ixora coccinea*), for which the presence of polyphenols (total, flavonoids and tannins) contained in the extracts was quantified by methods Spectrophotometries were evaluated and the antioxidant activity was evaluated by the DPPH technique, the reduction of hydrogen peroxide and the ferric ion. It was found that the plant contains a large number of polyphenolic compounds (275.9 and 177.6 mg EAG/g extract in the extract of the flower and leaf, respectively) and inhibited the DPPH radical and reduced H_2O_2 and Fe^{3+} . It can be considered that the hydroethanolic extracts are of interest due to their significantly high antioxidant action.

Keywords- polyphenols, FRAP, DPPH, peroxide.

Resumen— La planta *Ixora coccinea* se considera medicinal que se consume en forma de infusión acuosa para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas y para la depresión y la ansiedad. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la presunta actividad antioxidante de los extractos hidroetanólicos de las hojas y flores de la planta coccinera (*Ixora coccinea*), para ello se cuantificó la presencia de polifenoles (totales, flavonoides y taninos) contenidos en los extractos por métodos espectrofotométricos y se evalúo la actividad antioxidante por las técnicas de DPPH, de reducción de peróxido de hidrógeno y del ion férrico. Se encontró que la planta contiene una gran cantidad de compuestos polifenólicos (275.9 y 177.6 mg EAG/ g de extracto en el extracto de la flor y la hoja, respectivamente) e inhibieron al radical DPPH y redujeron al H_2O_2 y al Fe^{3+} . Se puede considerar que los extractos hidroetanólicos resultan de interés por su acción antioxidante significativamente alta.

Palabras claves— polifenoles, FRAP, DPPH, peróxido.

I. INTRODUCCIÓN

La planta *Ixora coccinea* pertenece a la familia de Rubiaceae, crece en forma de arbustos medianos y produce una gran cantidad de racimos de flores con tonalidades variables del blanco amarillento al naranja rojizo; se conoce popularmente como cocinera, cruz de malta, coralillo, geranio de la selva, Santa Rita o Ixora roja; esta planta es originaria de la India pero su cultivo se ha extendido ampliamente en Latinoamérica porque se considera una planta ornamental debido a la abundancia y al color de sus flores y se encuentra en parques y jardines [1-5]. Tradicionalmente *Ixora coccinea* se ha usado para preparar una variedad de alimentos y también se ha cultivado para propósitos ornamentales y como colorante en la industria textil y cosmética [3,5,6]. Igualmente *I. coccinea* se considera una planta medicinal y la población la emplea en etnofarmacología por sus propiedades astringentes, contra las fiebres intermitentes, contra la dermatosis, como antitusivo, el decocto de hojas se aplica contra infecciones fúngicas y para el tratamiento de la diarrea, las flores son comestibles y se emplean como desintoxicante, para tratar bronquitis catarrales y disenteria; la raíz posee compuestos con actividad hipocolesterolémiente y nematicida [2,4,6]. Se ha demostrado que las flores de *Ixora coccinea* mostraron

un efecto quiomoprotector contra el daño inducido por ciclofosfamida y se observó un efecto hepatoprotector muy significativo [7]. De igual modo, se demostró que el extracto acuoso de *Ixora coccinea* posee actividad antinociceptiva, antiinflamatoria y antitumoral, también se ha comprobado su actividad antimicrobiana contra bacterias y hongos, especialmente que el extracto etanólico de las flores fue más activo que los extractos metanólicos y acuoso, además que ejerció una mayor actividad contra bacterias gramnegativas que contra grampositivas [3,8] Se evidenció además, la presencia del triterpeno ácido ursólico que posee acciones medicinales como hepatoprotector, antiinflamatorio, antialérgico, antibacteriano, antiviral, antifúngico, antimalárico, anti-VIH, diurético, hipoglicémiante y antiproliferativo [4].

Enfermedades neurodegenerativas, tales como Parkinson y Alzheimer, se han asociado al estrés oxidativo y diversos estudios relacionan los niveles elevados de productos de peroxidación lipídica con el estado de la enfermedad [9,10]. Asimismo, se ha comprado que en desórdenes psiquiátricos, como la depresión y la ansiedad está implicado el estrés oxidativo mediado por especies reactivas del oxígeno, además de las enfermedades anteriores existe evidencia que en un gran número de patologías participa el estrés oxidativo, entre las que se encuentran las enfermedades cardiovasculares, cáncer, artritis reumatoide y diabetes (que frecuentemente se presentan como cobormilidades en la depresión) [11,12]. También se ha evidenciado el efecto neuroprotector de moléculas naturales debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, entre estas moléculas destacan los polifenoles, los alcaloides y las saponinas; pero los polifenoles constituyen el grupo más abundante e incluye: flavonoides, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianinas, catequinas, ácidos fenólicos, taninos, fitoestrógenos, estilbenos y curcuminoïdes [13-15] Los polifenoles son moléculas que poseen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias capaces de neutralizar a los radicales libres por su capacidad de donar electrones y átomos de hidrógeno [13,15]. Se ha reportado que tienen actividad terapéutica en enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y enfermedades neurodegenerativas De aquí surge el interés en la evaluación de la capacidad antioxidante de *Ixora coccinea*, así como determinar efecto tipo antidepresivo porque se sabe que *Ixora coccinea* es una de la planta medicinal con una alta producción de sustancias polifenólicas con actividad antioxidante y a la cual se le atribuye propiedades antidepresivas [4,6]

II. METODOLOGÍA

Las muestras de *Ixora coccinea* (hojas y flores) se recolectaron en la Ciudad de San Francisco de Campeche del Estado de Campeche (México) durante el mes de marzo del 2018 y se transportó al laboratorio para eliminar cualquier impureza mecánica; la planta fue identificada en el Herbario del Centro de Investigaciones Históricas y Sociales de la Universidad Autónoma de Campeche. Las hojas y las flores se lavaron con agua corriente y se secaron con papel higiénico antes del secado en estufa a 50°C (hasta peso constante); posteriormente se realizó la extracción del material biológico por maceración con Etanol al 70% en agua, durante 48 horas a temperatura ambiente; finalmente se filtraron los homogenizados usando papel filtro Whatman No. 4. Los extractos obtenidos y filtrados se concentraron a seco en un rotaevaporador equipado con baño María a 40°C y se determinó la cantidad de extracto obtenido por gravimetría. Los extractos secos se suspendieron en Etanol absoluto ajustándose las concentraciones de los extractos a 1000 ppm (1000mg de extracto vegetal crudo/1L de disolvente); los extractos resuspendidos se conservaron en refrigeración a 4° C. Todos los reactivos químicos empleados en este trabajo fueron grado analítico y se adquirieron de la compañía Sigma-Aldrich Company. Posteriormente, al extracto obtenido se realizó la caracterización química que consistió en la evaluación fitoquímica para determinar cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios (Tabla I), la cuantificación de polifenoles por métodos espectrofotométricos (Tabla II) y la

actividad antioxidante de los extractos (inhibición de radicales libres por el ensayo de DPPH [2,2-difenil-1-picrilhidrazilo], reducción de ion férrico y de peróxido de hidrógeno).

Tabla I. Pruebas de tamizaje fitoquímico realizadas a los extractos de *I. coccinea*.

Metabolito	Prueba	Reactivos empleados	Resultado positivo
Fenoles	Cloruro férrico	FeCl ₃ 5% en NaCl 0.85%	Coloración azul, morada o verde
Flavonoides	Shinoda	Mg con HCl concentrado y extracción con alcohol amílico	Coloración naranja, rosa, azul o violeta en la fase orgánica
Taninos	Proteínas	Gelatina al 1.0% / NaCl 0.85% en agua	Precipitado positivo con FeCl ₃
Antocianidinas	Rosenheim	Calentar a ebullición con HCl conc.	Coloración roja
Lactonas	Baljet	NaOH 10% y ácido pícrico al 1%	Precipitado naranja rojizo
Quinonas	Börtranger	NaOH 10% y H ₂ O ₂ 30%	Coloración naranja rojiza
Alcaloides	Dragendorff	Reactivos de Dragendorff	Aparición de precipitado
Aminas	Ninhidrina	Ninhidrina al 2% en EtOH	Desarrollo de color azul violáceo
Terpenoides	Lieberman	Ac ₂ O y ácido sulfúrico concentrado	Coloración roja, verde, púrpura o azul
Saponinas	Espuma	Agua destilada y agitación vigorosa	Espuma persistente por 10 min
Azúcares	Fehling	Sulfato cúprico y tartrato de sodio	Aparición de precipitado rojo ladrillo
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	3,5-dinitrobenzoico 2% / MeOH y KOH al 5%	Coloración rosa azulado a violeta

Tabla II. Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos en los extractos de *I. coccinea*.

Metabolito	Método	Patrón	Longitud de Medida
Polifenoles totales	Folin Ciocalteu	Ácido gálico	760 nm
Taninos totales	Precipitación con proteínas y Folin Ciocalteu	Ácido gálico	760 nm
Taninos condensados	Vainillina en HCl concentrado	Catequina	500 nm
Flavonoides	Nitrito de sodio y Cloruro de aluminio	Quercetina	510

La actividad antioxidante de los extractos se realizó mediante tres técnicas distintas, la primera sirve para medir la capacidad neutralizante de radicales libres mediante la reducción del radical DPPH, la segunda mide la reducción de iones férricos a iones ferroso por la técnica del TPTZ (2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina) que es un agente complejante que reacciona con los iones ferroso y la tercera mide la capacidad de reducción del peróxido de hidrógeno, una especie reactiva de oxígeno.

Actividad Neutralizante de Radicales Libres (Método del DPPH)

Se mezclaron 2.0 mL de una solución de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, 150 µM en metanol) y 100 µL de extracto en tubos de ensayo, luego se incubó la mezcla de reacción en un lugar oscuro y a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posterior al período de incubación se verificó que los tubos contuvieran radical DPPH (presencia de color morado) y se leyeron las soluciones en un espectrofotómetro a 520 nm ajustando a cero de absorbancia con metanol; también se leyó la absorbancia de la mezcla de 2.0 mL de la solución de DPPH con 100 µL de metanol. Se empleó ácido gálico, disuelto en etanol, como solución estándar.

Actividad Reductora de Peróxido de Hidrógeno.

Se empleó el método de la peroxidasa; se mezcló en un tubo de ensayo 500 µL del extracto con 500 µL de una solución de H₂O₂ 700 µM, se dejó incubar 30 minutos a 37°C en baño maría; terminado el tiempo de reacción se transfirieron 100 µL de la mezcla a un tubo de ensayo que contenía el reactivo generador de color [Fenol 12mM, 4-aminoantipirina 0.5mM, peroxidasa de rábano picante 1.0 U/mL en

solución buffer de fosfato (PBS) 84 mM pH=7.0], se mezcló y se dejó en incubación a 37°C por 30 minutos, se midió la absorbancia a 500 nm ajustando a cero de absorbancia con PBS; se corrigió la interferencia en la lectura usando todos los reactivos pero reemplazando el fenol por PBS, la absorbancia obtenida se restó a la absorbancia original.

Poder Antioxidante Reductor de Ion Férrico (FRAP).

Se emplearon diferentes concentraciones de los extractos (de 50 a 200 ppm). Se mezclaron 100 µL del extracto con 2.5 mL de solución tampón de fosfatos (0.2M, pH=6.6) y se adicionó 2.5 mL de solución de ferricianuro de potasio $[K_3Fe(CN)_6]$ al 1%; se incubó la mezcla a 50°C por 20 minutos; luego se adicionaron 2.5 mL de ácido tricloroacético al 10% y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min. Se tomaron 2.5 mL del sobrenadante y se adicionaron 2.5 mL de agua destilada y 500 µL de cloruro férrico al 1%. Finalmente se midió la absorbancia de cada mezcla en un espectrofotómetro a 700 nm.

Análisis Estadístico

Todos los datos se expresan como la media y una desviación estándar (DE); la comparación entre grupos se desarrolló por un ANOVA de una vía seguido por test HSD de Tukey (los valores $p<0,05$ implican significancia estadística) en el programa estadístico SPSS 24 ®.

III. RESULTADOS

En la tabla III se muestran los resultados de la evaluación fitoquímica de los extractos hidroetanólicos de la hoja y de la flor de *Ixora coccinea*, en ella se puede apreciar que ambos extractos contienen polifenoles, taninos, flavonoides y antocianidinas.

Tabla III. Resultados de la Evaluación fitoquímica de los extractos de *Ixora coccinea*

Metabolito	Hoja	Flor
Saponinas	2	3
Polifenoles totales	3	4
Taninos	2	3
Flavonoides	3	4
Antocianidinas	3	4
Quinonas	2	3
Triterpenos	2	3
Azúcares reductores	2	3

Los resultados se interpretan de acuerdo a la escala siguiente: 0, no se detectaron; ½, presencia dudosa; 1, positivo débil; 2, marcadamente positivo; 3, positivo fuerte; 4, positivo muy fuerte. No se detectaron aminas, alcaloides, glicósidos cardiotónicos ni lactonas.

Con base en los resultados anteriores, se cuantificaron los compuestos polifenólicos total, flavonoides, taninos y antocianidinas contenidos en los extractos, los valores obtenidos en cada determinación se reportan en la tabla IV y los resultados de la actividad antioxidante en la tabla V. Se puede observar que el extracto de flor generalmente presentó la mayor cantidad de polifenoles que el extracto de la hoja, a excepción de taninos totales; estos datos se correlacionan bien con la actividad antioxidante en donde se encontró que el extracto de la flor tuvo una mejor actividad en las tres pruebas realizadas.

Tabla IV. Concentración de Compuestos fenólicos en los extractos de *Ixora coccinea*

Extracto	Fenoles totales	Taninos totales	Taninos condensados	Flavonoides
Flor	235.9±6.7 ^a	15.1±2.9 ^a	6.2±0.4 ^a	70.9±3.4 ^a
Hoja	177.6±4.7 ^b	24.7±5.3 ^b	5.7±0.4 ^a	65.7±3.6 ^a

Resultados expresados como el promedio±una desviación estándar ($X \pm S$, n=3) letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas; los valores representan mg de la sustancia de referencia/ g de extracto: ácido gálico para fenoles totales y taninos totales, catequina para taninos condensados y querctetina para flavonoides.

Tabla V. Actividad antioxidante de los extractos de *Ixora coccinea*.

Extracto	Inhibición del DPPH	Reducción del H ₂ O ₂	FRAP
Flor	236.4±4.9 ^a	114.3±3.4 ^a	254.3±3.2 ^a
Hoja	173.7±1.4 ^b	98.3±1.88 ^b	159.1±68 ^b

Resultados expresados como equivalentes de ácido gálico contenidos en el extracto, se reporta el promedio±una desviación estándar ($X \pm S$, n=3) letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas.

IV. DISCUSIÓN

Las plantas son organismos productores de metabolitos secundarios de interés en clínica y por ello además de emplearse como alimentos muchas de ellas se reportan como especies medicinales; uno de los grupos metabólicos de interés son los compuestos polifenoles que incluyen una diversidad de estructuras químicas como los flavonoides, taninos y antocianinas, con propiedades biológicas de interés como antimicrobianos, antidepresivos y antioxidantes entre otros [16,17]. En el presente trabajo se evalúo la actividad antioxidante de la hoja y flor de *Ixora coccinea*, a pesar de los usos medicinales que se le atribuyen existen muy pocos reportes en la literatura científica que corroboren su uso medicinal; en principio, se realizó la evaluación fitoquímica de los extractos hidroetanólicos de *I. coccinea* para identificar los metabolitos secundarios de interés biológico presente en la especie que probablemente sean las responsables de las actividades biológicas atribuidas a la especie [18,19]. Se encontró una presencia muy significativa de sustancias polifenólicas, flavonoides, taninos y antocianidinas; se sabe que estas sustancias presentes en alimentos de origen vegetal como frutas, flores y hojas pueden ejercer un efecto protector contra algunas enfermedades como el cáncer, trastornos cardiovasculares, diabetes, hipertensión y enfermedades neurológicas como la depresión y la ansiedad [17-19]. La mayor parte de sus actividades biológicas se relacionan a su capacidad antioxidante que interfiere con los mecanismos de oxidación y daño celular; la actividad antioxidante generalmente es concomitante con el poder reductor que ejerce su acción a través del rompimiento de la reacción en cadena de los radicales libres por donación de un átomo de hidrógeno; las propiedades reductoras de los extractos vegetales están asociadas con la presencia de reductoras como los compuestos flavonoles y procianidinas que donan electrones.

Los compuestos polifenólicos derivados de plantas poseen una actividad antioxidante elevada y sirven para la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo; estos compuestos generalmente son inocuos para el ser humano y pueden emplearse en la alimentación por sus efectos benéficos para la salud [16-17]. Existe una gran diversidad de compuestos polifenólicos, por ello, dependerá del disolvente empleado el tipo de polifenoles extraído; aunque los disolventes polares extraen bien a los polifenoles en general, las antocianinas que son muy polares se extraen mejor en agua, etanol y metanol y aumenta la eficacia de su extracción si se acidula los disolventes, en contraste la acetona y el acetato de etilo extraerán compuestos polifenólicos con una estructura hidrocarbonada más predominante [20-24]. Los fenoles han recibido mucha atención como

antioxidantes por su capacidad de reducir radicales libres y quelar metales; los compuestos polifenólicos son donadores de hidrógeno y por su propiedad RedOX son sustancias reductoras [16,20,24].

Para evaluar la actividad antioxidante de un extracto vegetal es necesario emplear diferentes métodos para determinar los posibles mecanismos de acción antioxidantes; además se prefieren métodos sencillos, económicos y de fácil acceso y con alta reproducibilidad, entre ellos destaca el método del DPPH que mide la capacidad de los extractos para reducir al radical libre por donación de átomos de hidrógeno; el método de FRAP mide la capacidad de quelación y reducción del ion férrico que es partícipe en reacciones bioquímicas prooxidantes *in vivo* y el método de reducción de peróxido de hidrógeno mide la capacidad de un metabolito de reducir una especie reactiva de oxígeno relativamente estable al no ser de naturaleza radicalaria pero que puede producir radicales hidroxilo que son en extremo dañinos para las estructuras celulares [16-18,20]. En general, todos los extractos estudiados mostraron una actividad antioxidante significativa que se relaciona bien con el contenido de polifenoles, esto concuerda con estudios previos que reportan una correlación positiva entre la cantidad de polifenoles presentes en materiales vegetales y su actividad antioxidante medidas por distintos métodos como la neutralización del radical DPPH y la reducción de iones metálicos (FRAP) y especies reactivas de oxígeno (peróxido de hidrógeno); el valor alto de coeficiente de correlación establece que la actividad antioxidante se explica muy bien por la presencia de polifenoles que fue el principal grupo metabólico presentado. También se encontró en los extractos evaluados metabolitos secundarios de interés como las saponinas y triterpenos, estos también pueden poseer bioactividad como antimicrobianos, hipolipemiantes, hipoglucemiantes y sería de interés en estudios posteriores estudiar la acción biológica de los extractos y dilucidar si existe sinergia entre los diferentes metabolitos secundarios de *Ixora coccinea* o qué tipos de metabolitos son los principios activos potencialmente útiles para su empleo en la industria agroalimentaria, biotecnológica o farmacéutica [2-5].

REFERENCIAS

- [1] Méndez-Natera JR, Salazar-Garantón RJ, Dautant MA, Alcorcés de Guerra N, Laynez J. (2004). Efecto del Medio de Enraizamiento, Número de Hojas por Estaca y Lesionada de las Estacas de *Ixora Enana* (*Ixora coccinea* L.) con Hormojardín Nro 4. Revista UDO Agrícola, 4 (1): 31-35.
- [2] Vega Torres D, Pereira Cabrera S, Almeida Saavedra M, Morales Torres C (2009). Tamizaje Fitoquímico Preliminar de los Extractos Alcohólico, Etéreo y Acuoso de las Hojas, Tallo y Flores de la *Ixora coccinea* L. Revista Química Viva 3 (8).
- [3] Marimuthu MM, Araldass CA, Sandrasagaran UM, Mohamad S, Ramanathan S, Mansor SM, Murugaiyah V (2014). Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of Various Parts of *Ixora coccinea*. Journal of Medicinal Plant Research 8 (10): 423-429.
- [4] Ghazali N, Abdullah NA, Bakar AA, Mohamad NK. (2014). GC-MS Analysis of Some Bioactive Compounds in the Root Extract of *Ixora coccinea*. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 5 (3): 197-203.
- [5] Patil NN, Datar AG. (2016). Applicationns of Natural Dye from *Ixora coccinea* L. in the Field of Textiles and Cosmetics. Coloration Technology, 132 (1): 98-103.
- [6] Damle S, Sharon K. (2017). Phytochemical Studies of *Ixora coccinea* Linn- An Ethnobotanical Plant from Karwar District. International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences, 6 (7): 1403-1415.
- [7] Latha PG, Panikkar KR. (1999). Modulatory Effects of *Ixora coccinea* flower on Cyclophosphamide-Induced Toxicity in Mice. Phytotherapy Research 13 (6): 517-520.

- [8] Philomina NS, Kumar SP. (2011). Antimicrobial Activity of *Ixora coccinea* Flowers. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences* Paper, 13 (4): 605-608.
- [9] Wang J, Bi W, Cheng A, Freire D, Vempati P, Zhao W, Gong B, Janle EM, Chen T, Ferruzzi MG, Schmeidler J, Lap H, Pasinetti GM. (2014). Targeting Multiple Pathogenic Mechanisms with Polyphenols for the Treatment of Alzheimer's Disease-Experimental Approach and Therapeutic Implications. *Front Aging Neurosci* 6 (42): 1-10.
- [10] Herman LH, Alanís-Garza Ej, Estrada PMF, Mureyko LL, Alarcón TDA, Ixtepan TL. (2015). Nutritional Approaches to Modulate Oxidative Stress that Induce Alzheimer's Disease. Nutritional Approaches to Prevent Alzheimer's Disease. *Gaceta Médica de México* 151 (2) 245-251.
- [11] Salim S. (2014). Oxidative Stress and Psychological Disorders. *Curr Neuropharmacol* 12(2): 140-147.
- [12] Mazereeuw G, Herrmann N, Lanctot KL. (2015). A Meta-Analysis of Lipid Peroxidation Markers in Major Depression. *Neuropsychiatr Dis Treat* 11: 2479-2491.
- [13] Sureda A, Tejada S. (2015). Polyphenols and Depression: From Chemistry to Medicine. *Curr Pharm Biotechnol* 16 (3): 259-64.
- [14] Tebratícká J, Duracková Z. (2015). Psychiatric Disorders and Polyphenols: Can They Be Helpful in Therapy?. *Oxid Me Cell Longev* : 16p.
- [15] Sandoval-Ávila S, Díaz NF, Gómez-Pinedo U, Canales-Aguirre AA, Gutiérrez-Mercado YK, Padilla-Camberos E, Marquez-Aguirre AL, Díaz-Martínez NE. (2016). Efecto Neuroprotector de Fitoquímicos en Cultivos de Neuronas Dopaminérgicas. *Neurología* <http://dx.doi.org/10.1016/j.nrl.2016.04.018>
- [16] Narayanan R, Chandrasekaran S, Sooriampathu S, Jerrine J, Nanjian R. (2014). Antioxidant Activities and Phytochemical Analysis of Methanol Extract of Leaves of *Hypericum Hookerianum*. *International Journal of Pharmacy of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6 (4): 456-460.
- [17] Nasir Uddin MM, Hafez Kabir MS, Hasan M, Al Mahmud Z, Alam Bhuiya NMM, Ahmed F, Hasan R, Tanvir Hosen M, Shahin Alam M. (2016). Assessment of the Antioxidant, Thrombolytic, Analgesic, Anti-inflammatory, Antidepressant and Anxiolytic Activities of Leaf Extracts and Fractions of *Tetracera sarmentosa* (L.) Vahl. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 29 (1).
- [18] Kennedy DO, Wightman EL. (2011). Herbal Extracts and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain Function. *Adv. Nutr.* 2: 32-50.
- [19] Orcic DZ, Mimica-Dukic NM, Franciskovi MM, Petrovic SS, Jovin ED. (2011). Antioxidant Activity Relationship of Phenolic Compounds in *Hypericum perforatum* L. *Chemistry Central Journal* 5: 34.
- [20] Devi M, Sharma R. (2014). Antidepressant Activity of Aqueous Extract of *Phaseolus vulgaris* (Black Bean) in Rodent Models of Depression. *Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis* 4: 118-124.
- [21] Herraiz T, Guillén H. (2018). Monoamine Oxidase-A Inhibition and Associated Antioxidant Activity in Plant Extracts with Potential Antidepressant Actions. *BioMed Research International*: 1-10.
- [22] Ramadan KS, Farid HEA, Jummanah J, Almarashi RMM. (2017). Antioxidant Properties of Aqueous Extract of *Salvadora persica* in Rats Subjected to Forced Swimming Test. *Biomedical Sciences* 3 (1): 10-20.
- [23] Tupe P, Sakat S, Nagmota D, Juvekar A. (2010). Comparative Study of *Mentha arvensis* Linn Whole Plants Extracts for Antioxidant and Antidepressant Activity. *Planta Med* 76 (12): SSL41.

- [24] Yanping Z, Yanhua L, Dongzhi W. (2004). Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *J. Agric. Food Chem.* 52 (16).