

Informe Final

Objetivo 1: Estudio de Células Cultivadas de Cáncer de Colon y Seno



Dr. Susanne Talcott (smtalcott@tamu.edu) and

Dr. Stephen Talcott (stalcott@tamu.edu)

Texas A&M University, Department of Nutrition and Food Science

1500 Research Parkway A

Centeq Research Plaza, Room 220F

College Station, TX 77843-2253

220K Centeq A
1500 Research Parkway
MS 2254
College Station, TX 77843-2253

Email: smtalcott@tamu.edu
Phone: 979-458-1819
Fax: 979-862-7944
Web: <http://nfsc.tamu.edu>

Introducción

Existen amplios estudios epidemiológicos y clínicos que explican los potenciales beneficios de los polifenoles presentes en mango para la salud humana [1]. Mango (*Mangifera Indica* L.) es la fruta más popular consumida por todo el mundo, con más de 1000 variedades conocidas y producción comercial en 87 países [2]. Realmente muchas de las variedades comerciales más populares del mundo se desarrollaron en Florida. Estas variedades incluyen Kent, Keitt, Palmer, Haden y Tommy Atkins; las cuales son superiores para exportación debido a su textura más firme, menos fibrosa, y son más adecuados para viajes de larga distancia que otras variedades de mango. [3, 4]. Mango contiene alta concentración de fitoquímicos, incluyendo el ácido gálico, mono galloyl glucósidos, gallotannins, glicósidos del flavonol y derivados de la benzofenona [5]. Algunos de estos compuestos son exclusivos de la planta y se han propuesto para su uso en la creación de suplementos ricos en fitoquímicos [6]. Fundamentalmente, gallotannins están compuestos por moléculas de ácido gálico esterificados a un poliol base, comúnmente glucosa, [7, 8]. Ésteres de ácido gálico y glucosa pueden alcanzar hasta 12 grado de polymerización. Además, penta-galloylglucose, un gallotanin con grupos galloyl esterificado a cada uno de los cinco hidróxilos disponibles de la glucosa, se considera el estándar de gallotannins. Puesto que la glucosa tiene un máximo de cinco grupos hidroxilo alifáticos, gallotannins más grandes sólo son creados con ácido gálico a través de un enlaces meta-dépsido en el hidroxilo fenólico del ácido gálico [9]. El enlace de para (p) o meta (m) dépsido entre moléculas de ácido gálico es generalmente más débil que el enlace éster entre la glucosa y la primera molécula de ácido gálico, que permite la penta-galloyl glucosa a sintetizarse fácilmente usando ácido tánico comercial mediante la adición de un ácido suave y metanol (conocido como metanólisis) que escinde preferentemente los enlaces dépsido [10].

Beneficios para la salud relacionados con el contenido de polifenoles:

Mango es reconocido por su contenido de antioxidantes [11] y actividades antiinflamatorias demostradas con experimentos in vivo e in vitro [12-14]. El ácido gálico, es el polifenol más abundante en el mango, ha demostrado tener efectos antiinflamatorios y chemopreventivos [15, 16]. Además, gallotannins poseen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias [17]. Sin embargo, la efectividad de mango puede variar según el tipo y contenido de compuestos específicos, como el ácido gálico, galloyl glucósidos y gallotannins. El contenido de polifenoles en mango está influenciado por factores ambientales, variedad, estado de maduración, y manejo [18]. Actualmente, el estándar de oro para la determinación del contenido de polifenoles en mango y otras frutas es el ensayo de Folin Ciocalteu. Este ensayo mide cómo los polifenoles interactúan con los iones del metal y se relaciona directamente con el contenido total de polifenoles.

Objetivo general del estudio:

El objetivo de este trabajo fue cuantificar el contenido de polifenoles en mango y sus beneficios para la salud (inflamación). Se realizó un fraccionamiento de extractos polifenólicos guiado por su eficacia antiinflamatoria.

Principales resultados:

Cinco cultivares de mango (Ataulfo, Keitt, Kent, Haden y Tommy Atkins) fueron investigados por la actividad antiinflamatoria de sus respectivos extractos polifenólicos en la misma concentración (equivalentes de ácido gálico). Los extractos de Keitt y Kent demostraron poseer mayor efecto antiinflamatorio en comparación con las otras variedades. Cuando los extractos de Keitt y Kent se separaron en fracciones de bajo y alto peso molecular, la fracción que contiene los compuestos de alto peso molecular tenía una mayor actividad antiinflamatoria. Además, entre los compuestos predominantes en la fracción de bajo peso molecular, el ácido gálico tuvo el mayor efecto anti inflamatorio comparado con penta-galloyl glucosa a la misma concentración. En el análisis de correlación, ácido gálico y penta-galloyolglucose tuvieron mayor correlación con actividad antiinflamatoria en comparación con otros compuestos en el mango. Estos resultados demostraron que la cuantificación de polifenoles totales no es un método preciso para medir propiedades antiinflamatorias; por lo tanto recomendamos determinar la concentración de polifenoles en los extractos de mango mediante la cuantificación de compuestos de bajo peso molecular usando ácido gálico o mono-galloylglucoside como estándar o cuantificar la fracción de alto peso molecular (gallotannins) con penta-galloylglucoside. Esto permitirá una representación más precisa de posibles beneficios in vivo. Por último, en el contexto objetivo 2 hemos descubierto que las bioactividades de polifenoles de mango no solamente dependen de la composición de monómeros y polímeros. Estamos encontrando que el consumo de ciertos gallotanninos pueden ser sujetos a hidrólisis enzimática durante su consumo, lo cual hidroliza los enlaces m-dépsido para producir ácido gálico libre. Esto muestra una relación compleja entre el contenido de polifenoles en la fruta original y los que se producen durante la digestión intestinal. Los manuscritos que demuestran que el primer y segundo objetivos han sido alcanzados han sido publicados:

KA de Krenek, Barnes RC, Talcott St. fitoquímica composición y efectos de las enzimas comerciales en la hidrólisis de los glucósidos del ácido gálico en pulpa de mango (*Mangifera indica* L. CV. 'Keitt'). *J Agric Food Chem* 2014 Oct 1; 62 (39): 9515-21. doi: 10.1021/jf5031554. Epub 2014 Sep 18.

RC de Barnes, Krenek KA, B Meibohm, Mertens-Talcott1 SU, Talcott St. metabolitos urinarios de derivados de Mango (*Mangifera indica* L. CV Keitt) Galloyl y en Vitro hidrólisis de Gallotannins en condiciones fisiológicas. *Mol Nutr Food res.* 2015 7 de Dec. doi: 10.1002/mnfr.201500706. [Epub antes de imprimir] PMID: 26640139

Beneficios a la industria del Mango:

Definiendo un estándar más relevante de la cuantificación de polifenoles de mango, es posible realizar estudios que investiguen los beneficios de mangos donde la cantidad cuantificada de polifenoles se refiere más a la magnitud de los beneficios observados para la salud. Esto ayudará a los estudios científicos de varias formas: a) A ser más consistentes en la cuantificación de polifenoles en mango, b) los datos de investigación serán más coherentes con la cantidad requerida de polifenoles de mango para alcanzar un cierto beneficio para la salud, por ejemplo, efectos antiinflamatorios, y c) ayudarán a comparar estudios de investigación científica. Todo esto mejorara el reconocimiento del

mango por consumidores e investigadores como fruta con superiores beneficios para la salud.

Futuros estudios:

Si se puede, nos gustaría continuar investigando los derivados del galloyl, específicamente de gallotanninos, que se producen debido a las enzimas generadas por las bacterias en el intestino grueso. Algunas bacterias en el colon producen enzimas capaz de hidrolizar los enlaces m o p – dépsido y enlaces éster de gallotanninos. El microbioma humano podría hidrolizar grandes taninos (6GG – 12GG) para producir glucosa penta-galloyl junto con el ácido gálico que poseen actividades antiinflamatorias. De esta manera tiene el potencial para influenciar en el contenido y clase de poylphenols que se absorben de las frutas. Además estas enzimas pueden degradar taninos con diferentes hidroxilaciones para producir compuestos con diferentes propiedades bioactivas

DETALLES DEL ESTUDIO

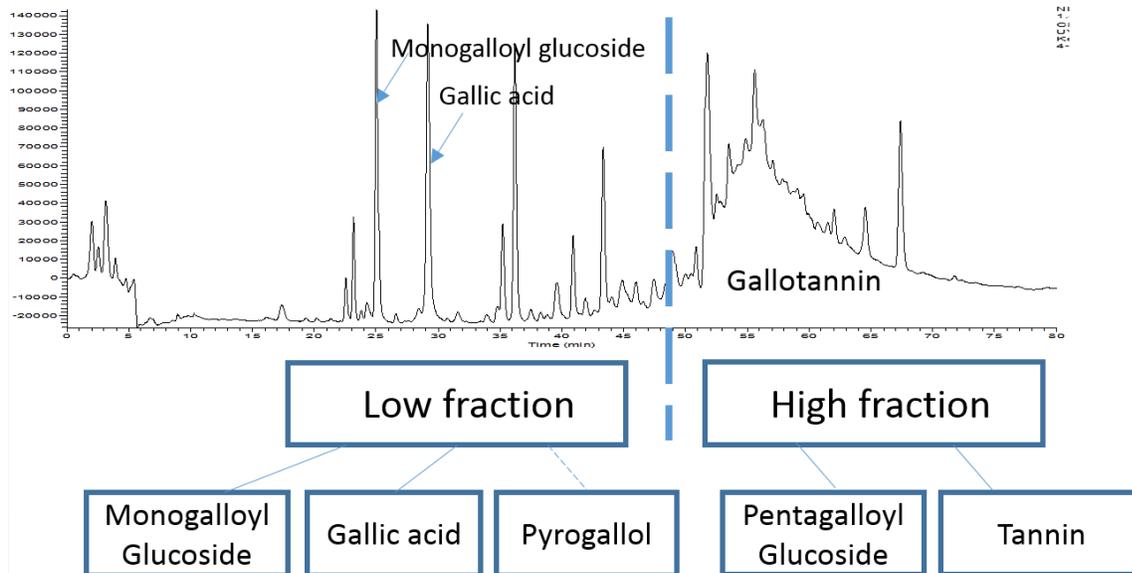
Frutas:

Cinco cultivares de mango (Ataulfo, Keitt, Kent, Haden y Tommy Atkins) fueron enviados al departamento de Nutrición y Ciencia de Alimentos en Texas A & M. La fruta completamente madura fue pelada manualmente seguido por picado y homogeneizado.

Análisis químico:

El análisis químico de los polifenoles de mango fue realizado en paralelo a la investigación de su actividad antiinflamatoria. Para el análisis de polifenoles provenientes de la pulpa de mango, 10g de pulpa se extrajeron tres veces con 30mL de metanol: acetona (1:1) seguido por centrifugación para obtener el sobrenadante con polifenoles. Los solventes se evaporaron bajo vacío a 45 °C. Las fracciones de alto y bajo peso molecular fueron separadas usando Sephadex LH-20 en etanol. En breve, los polifenoles de alto peso molecular fueron eluidos con acetona al 80%. Esto fue seguido por la elución de polifenoles de bajo peso molecular usando agua acidificada con 0.1% de ácido fórmico. El contenido total de fenólicos solubles (TSP) fue cuantificado con el ensayo de Folin-Ciocalteu y expresado como de ácido gálico. La cuantificación detallada de ácido gálico, mono-galloylglucose y derivados penta-galloylglucose se realizó utilizando HPLC-MS/MS.

Chromatographic profile of phenolic compounds in Mango



Resumen de Fraccionamiento

Ensayos bio-molecular:

Se investigaron las actividades antiinflamatorias de extractos obtenidos de cinco cultivares de mango. Las fracciones de polifenoles obtenidas en el fraccionamiento detallado anteriormente se usaron para tratar células humanas CCD-18Co colon-miofibroblastos a las cuales se les indujo inflamación con lipopolisacárido (LPS). Los niveles de mRNA de codificación los marcadores inflamatorios, NFkB, TNFa, IL-1B e IL-6 fueron medidos usando RT-PCR.

RESULTADOS

Análisis Químico

	Gallic Acid	Ester-MGG	Ether-MGG	Gallotanninos
Ataulfo	4.33 ± 0.91	37.9 ± 0.42	0.5 ± 0.07	608 ± 193
Tommy Atkins	2.26 ± 0.43	5.07 ± 0.2	2.29 ± 0.38	274 ± 12
Keitt	1.14 ± 0.02	5.94 ± 0.32	1.02 ± 0.07	61.9 ± 7.3
Haden	2.02 ± 0.16	7.16 ± 0.45	2.18 ± 0.06	80.3 ± 8.2
Kent	2.15 ± 0.14	8.26 ± 0.52	0.93 ± 0.06	25.4 ± 6.2

Cuadro 1. Cuantificación de Polyphenolics individuales en cinco variedades de mango registrados como mg / 200 g de fruta ± SEM. RESULTADOS Análisis químico

La cuantificación de compuestos fenólicos utilizando estándares específicos parece ser superior para medir bioactividad en comparación con un ensayo general como Folin

Ciocalteu. Mediante técnicas de HPLC-MS, fenoles individuales pueden ser separados, caracterizados y cuantificados. La Cuadro 1 muestra las concentraciones de ácido gálico, glucósidos de mono galloyl y gallotanninos encontradas en las cinco variedades de mango. Una detallada caracterización y cuantificación de la fitoquímica de la pulpa de mango es importante para entender y posiblemente predecir mecanismos in vivo que sustentan los potenciales beneficios del consumo de mango. Una vez que los mecanismos de acción de los polifenoles de mango son entendidos, y sabiendo la cantidad de polifenoles específicos, los consumidores tendrán idea de la cantidad de mango que tendrían que consumir para obtener los niveles adecuados del compuesto.

Análisis de biomarcadores de inflamación:

Entre los extractos usados para tratar las células CCD-18 inflamadas con LPS, los extractos de Keitt y Kent suprimieron significativamente la expresión de NF-kB, TNF-a y IL-1B mRNA; mientras que Ataulfo y Haden reprimió la expresión de IL-6 mRNA (Figura 4).

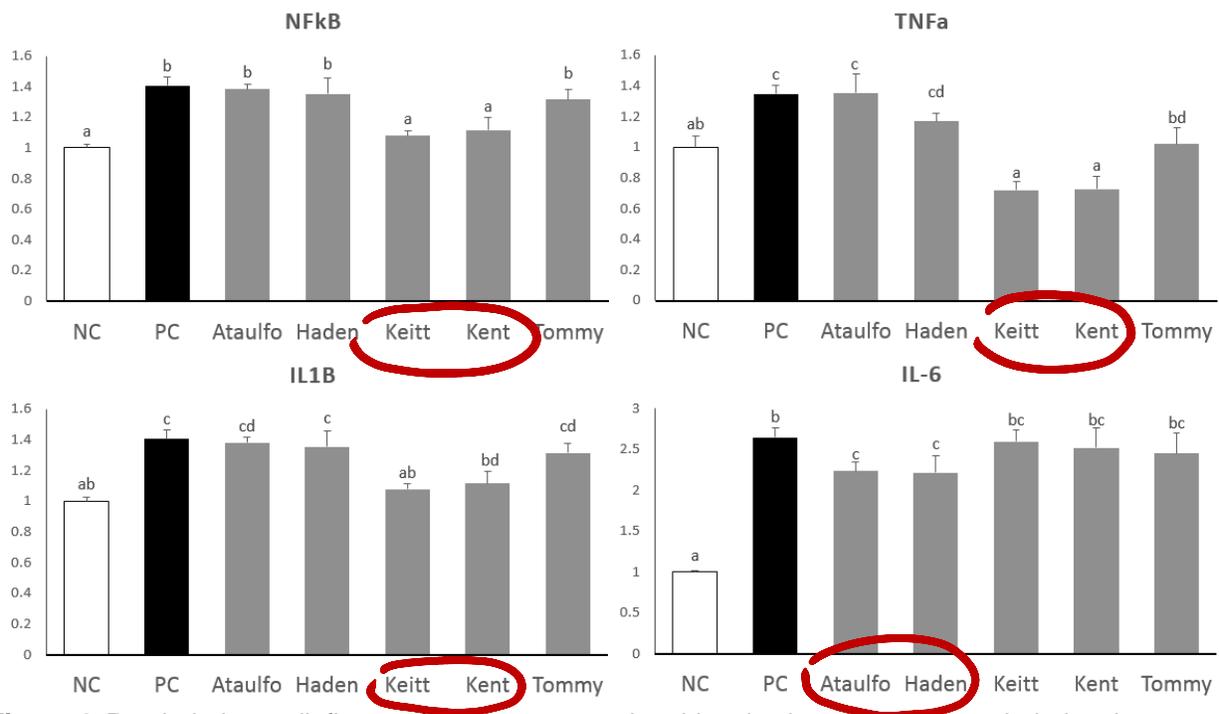


Figura 4. Propiedades antiinflamatorias de extractos obtenidos de cinco diferentes variedades de mango. Las células fueron tratadas con el extracto de mango (20 mg GAE/L) y LPS (1ug/ml) durante 3 horas. Los resultados se expresaron como la media \pm SEM (n = 3). Las letras diferentes indican significancia a $p < 0.05$.

Los extractos Keitt y Kent mostraron ser más eficientes en proteger las células contra inflamación producida por LPS. Estos extractos fueron sometidos a fraccionamiento para separar polifenoles de alto y bajo peso molecular. Ácido gálico, mono-, di y tri-galloyl glucósidos fueron incluidos en la fracción de bajo peso molecular, mientras que tetra-, penta-galloyl glucósidos y taninos con grupos de seis a doce galloyl estuvieron presentes en la fracción de alto peso molecular. La fracción bajo peso molecular suprimió los niveles de mRNA de TNFa y de IL-6; mientras que la fracción de alto peso molecular suprimió los niveles de todos los marcadores evaluados (Figura 5). Cuando

las células inflamadas con LPS fueron tratadas con los compuestos predominantes en cada fracción; ácido gálico o penta-galloyl glucósidos (fracción de bajo y alto peso molecular, respectivamente), los penta-galloyl glucósidos mostraron efectivos en reprimir la expresión del mRNA de marcadores inflamatorios.

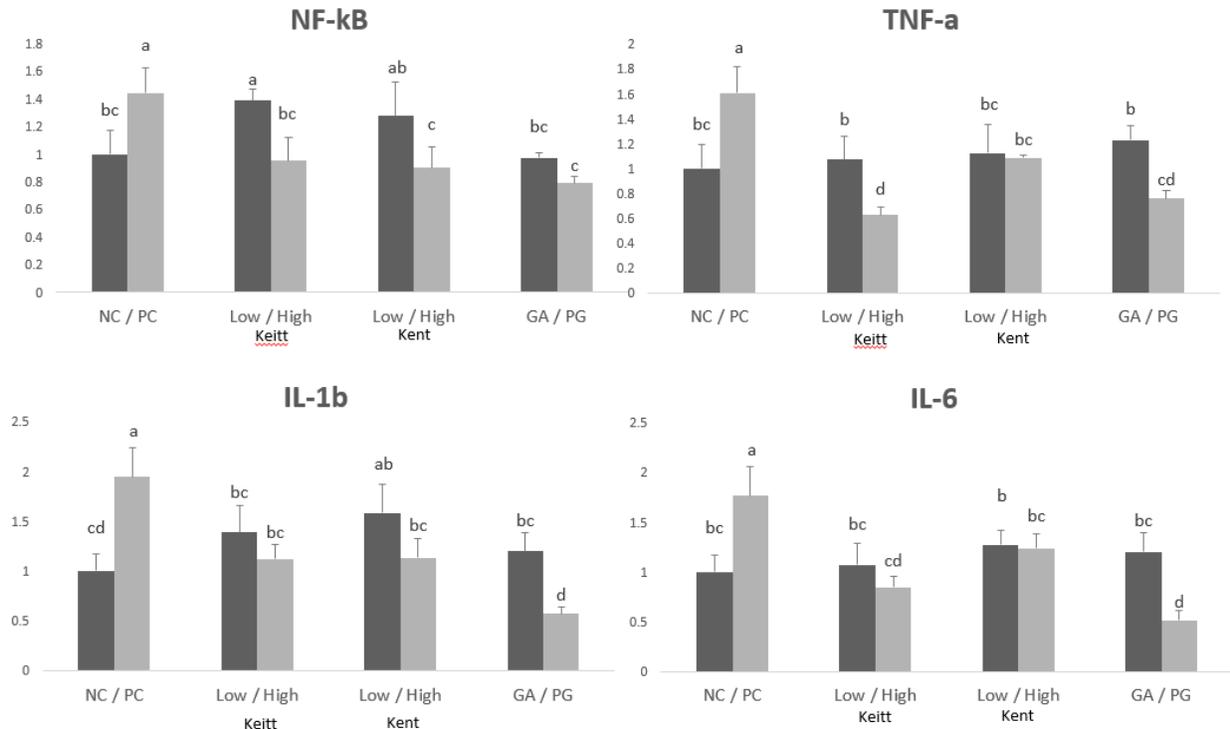


Figura 5. Propiedades antiinflamatorias de fracciones polifenólicas de mango separadas por peso molecular. Las células fueron tratadas con fracciones alto y bajo peso molecular de mango Keitt y Kent, ácido gálico (GA) y penta-galloylglucose (PG), (20 mg GAE/L) y LPS (1ug/ml) durante 3 horas. Los resultados representan la media \pm SEM (n = 3). Diferente letras indican significancia a p < 0.05.

Para determinar detalles adicionales con respecto a la correlación entre composición de polifenoles y la magnitud de beneficios para la salud, células inflamadas con LPS fueron tratadas con la misma concentración (ppm or molar) de compuestos polifenolicos primarios del mango como el ácido gálico, mono-galloyl glucósido, pyrogalloyl, penta-galloyl glucósidos o una mezcla de taninos complejos. Entre estos compuestos, penta-galloylglucose fue el más efectivo en reprimir los marcadores inflamatorios. Cuando en el mismo tratamiento de concentración molar, la efectividad del penta-gallo-glucósido y glucósido de monogalloyl suprimieron el ácido gálico y pirogalol por los niveles de IL-1B e IL-6. Esto indica que a nivel molecular las especies de bajo peso molecular son más efectivas (**Figura 6**). La investigación más de cerca de este metabolito y otros metabolitos producidos está contemplada en nuestra propuesta de seguimiento.

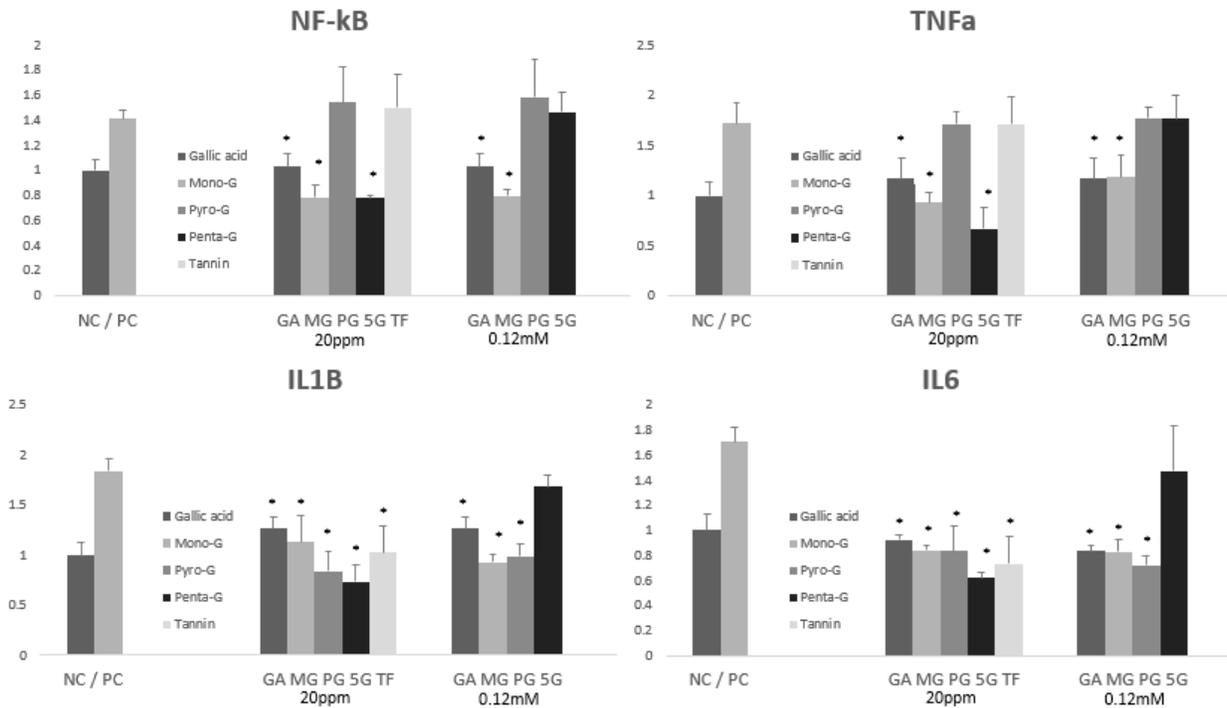


Figura 6. Las propiedades antiinflamatorias del mango principal común. Las células fueron tratadas con el mango principal común (20 mg GAE/L ó 0,12 mM) y LPS (1ug/ml) durante 3 horas. Los resultados se expresaron como la media \pm SEM (n = 3). Las letras diferentes indican significancia a $p < 0.05$.

Se realizó análisis de correlación estadística entre el contenido de polifenoles en las cinco variedades de mango y los niveles de marcadores inflamatorios y se comprobó que no hubo ningún compuesto único responsable de la eficacia antiinflamatoria de mango. Por el contrario, probablemente efectos sinérgicos parecen tener lugar. Cuando se realizó el análisis de la sinergia de compuestos solo se observaron efectos aditivos o sinérgicos. Sin embargo, las mayores correlaciones entre compuestos y disminución de biomarcadores fueron identificadas para 5GG y 6GG. Con respecto a biomarcadores individuales, NFKB correlaciona con 5GG, 4GG y ácido gálico; TNFα correlaciona con ácido gálico; mientras que 6GG, 5GG y ácido gálico correlaciona con IL-1B (cuadro 2). En general, el ácido gálico y penta-galloyol glucósido parecen correlacionar más con efectos antiinflamatorios comparados con otros compuestos. Por esta razón, en el futuro cualquier tratamiento con extracto de mango deberá ser cuantificado como ácido gálico (compuestos de bajo peso molecular) y penta-galloylglucoside (taninos).

Cuadro 2. Correlación de Pearson entre el contenido de cinco variedades de mango y la tasa de reducción de los niveles de marcadores inflamatorios

	NFkB	TNFa	IL-1B	IL-6
Gallic acid	-0.69	-0.80	-0.69	0.66
Mono-G	-0.50	-0.70	-0.50	0.56
3GG	-0.54	-0.73	-0.54	0.55
4GG	-0.65	-0.80	-0.65	0.60
5GG	-0.70	-0.81	-0.70	0.58
6GG	-0.71	-0.69	-0.71	0.41
7GG	-0.68	-0.79	-0.68	0.53
8GG	-0.64	-0.78	-0.64	0.55
9GG	-0.59	-0.76	-0.59	0.56
10GG	-0.56	-0.74	-0.56	0.56

Hidrólisis no-Enzymatic de Gallotannins: La estabilidad de los gallotanninos de mango (312 mg/L) se evaluó in vitro con el objetivo de investigar la influencia de pH y temperatura que simulan las condiciones intestinales (pH = 7.4 y 37 ° C) en la hidrólisis química de gallotannins y posterior liberación del ácido gálico libre. Después de 4 horas a estas condiciones, el perfil de gallotanninos de alto peso molecular ($\geq 8GG$) que representaban aproximadamente 63% del total de iones registrados, cambiaron a taninos de más bajo peso molecular (4GG, 7GG), representando aproximadamente 68% del total de iones (Cuadro 3).

Para gallotannins individuales, una diferencia significativa ($p < 0.05$) se observó en el porcentaje de la cuenta total ion 5GG (7.57% a 14,8%), 6GG (11.5% a 19,6%) y 7GG (16,8% a 21.2%) junto con una disminución estrepitosa 9GG (21.3% a 9,77%) y 12GG (1,59% a indetectable). La producción de GA libre (23,1 mg/L) y ácido digálico (16,0 mg/L) fue una indicación adicional de que las condiciones fisiológicas en el tracto intestinal humano son suficientes para hidrolizar enzimáticamente no gallotanninos. GA solo es inherentemente inestable bajo condiciones fisiológicas humanas, con oxidación y condensación que ocurren rápidamente en estas condiciones [19].

La inestabilidad de GA y GTs a condiciones de alto pH, incluso bajo condiciones anaeróbicas, muestra una relación compleja entre la liberación de GA y su potencial para ser metabolizado, absorbido o degradado. La presencia de GA y digálico después de 4 h de incubación puede indicar hidrólisis de m-dépsido y glucosa galloyl enlaces en condiciones fisiológicas de pH y temperatura. Esta hidrólisis es beneficiosa debido a la producción de ácido gálico, el cual podría ser absorbido a través de la membrana celular para ejercer un fuerte efecto antiinflamatorio.

Cuadro 3. Cambios en la distribución de los iones individuales gallotannin expresado como un porcentaje de la cuenta de iones total cuando se incuban para 0 y 4 h a pH 7.4 y 37 ° C.

Abb.	Compound I.D.	[M-H] ⁻ (m/z)	[M-2H] ²⁻ (m/2z)	% Total Ion Signal ^{1,2}	
				T ₀	T ₄
4GG	tetra-O-galloylglucose	787	393	0.94 ± 0.2 ^a	9.44 ± 1.7 ^b
5GG	penta-O-galloylglucose	939	469	7.57 ± 1.2 ^a	14.8 ± 0.8 ^b
6GG	hexa-O-galloylglucose	1091	545	11.5 ± 0.8 ^a	19.6 ± 0.6 ^b
7GG	hepta-O-galloylglucose	1243	621	16.8 ± 1.1 ^a	21.2 ± 0.5 ^b
8GG	octa-O-galloylglucose	1395	697	20.7 ± 1.6 ^a	17.1 ± 1.2 ^a
9GG	nona-O-galloylglucose	1547	773	21.3 ± 1.8 ^a	9.77 ± 1.0 ^b
10GG	deca-O-galloylglucose	1699	849	15.3 ± 3.1 ^a	6.21 ± 0.9 ^b
11GG	undeca-O-galloylglucose	1851	925	4.44 ± 1.1 ^a	1.91 ± 0.3 ^a
12GG	dideca-O-galloylglucose	2003	1002	1.59 ± 0.5 ^a	nd ^b

CONCLUSIÓN: La presente investigación ha comprobado que ácido gálico contribuye en mayor proporción a los efectos antiinflamatorios de los polyfenoles en mango. Entre las cinco variedades estudiadas, Keitt y Kent mostraron las mayores actividades antiinflamatorias en comparación con los otros cultivares. Se recomienda la cuantificación de polyfenoles en mango en ácido gálico y penta galloyl glucosa equivalentes, los cuales se encuentran nativamente en el fruto. Además, se recomienda cuantificar la cantidad de ácido gálico que puede ser hidrolizado de gallotannins en condiciones fisiológicas, ya que puede ser fuente adicional de ácido gálico y podría exhibir propiedades antiinflamatorias in vivo. Nuestros resultados más recientes indican que compuestos nativos e incluyendo el ácido gálico están sujetos a conversión microbiana y producen pirogalol-derivados en el tracto intestinal donde ejercen efectos antiinflamatorios y otros beneficios. Por esta razón, los cultivares que son altos en taninos complejos pueden proporcionar efectos beneficiosos después de la digestión intestinal y microbiana. Estos aspectos se están investigando actualmente como parte del objetivo 2.

Referencias:

1. Ross JA, Kasum CM: **Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety.** *Annual review of Nutrition* 2002, **22**(1):19-34.
2. Tharanathan R, Yashoda H, Prabha T: **Mango (Mangifera indica L.), "The king of fruits" — An overview.** *Food Reviews International* 2006, **22**(2):95-123.
3. Galán Saúco V: **Mango production and world market: Current situation and future prospects.** In: *VII International Mango Symposium 645: 2002; 2002: 107-116.*
4. Evans EA: **Recent trends in world and U.S. mango production, trade, and consumption** *University of Florida: Cooperative Extension Services in the Institute of Food and Agricultural Sciences* 2008.

5. Schieber A, Ullrich W, Carle R: **Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection.** *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2000, **1**(2):161-166.
6. Barreto JC, Trevisan MT, Hull WE, Erben G, de Brito ES, Pfundstein B, Würtele G, Spiegelhalder B, Owen RW: **Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.).** *Journal of agricultural and food chemistry* 2008, **56**(14):5599-5610.
7. Ishimaru K, Nonaka G-I, Nishioka I: **Gallic acid esters of proto-quercitol, quinic acid and (-)-shikimic acid from *Quercus mongolica* and *Q. myrsin aefolia*.** *Phytochemistry* 1987, **26**(5):1501-1504.
8. Masaki H, Atsumi T, Sakurai H: **Hamamelitannin as a new potent active oxygen scavenger.** *Phytochemistry* 1994, **37**(2):337-343.
9. Hagerman AE: **Hydrolyzable Tannin Structural Chemistry.** *Tannin Handbook* ([http://www users muohio edu/hagermae/tannin pdf](http://www.users.muohio.edu/hagermae/tannin.pdf)) 2002.
10. Li L, Shaik AA, Zhang J, Nhkata K, Wang L, Zhang Y, Xing C, Kim S-H, Lü J: **Preparation of penta-O-galloyl- β -D-glucose from tannic acid and plasma pharmacokinetic analyses by liquid-liquid extraction and reverse-phase HPLC.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2011, **54**(3):545-550.
11. Martinez G, Delgado R, Perez G, Garrido G, Nunez Selles AJ, Leon OS: **Evaluation of the in vitro antioxidant activity of *Mangifera indica* L. extract (Vimang).** *Phytotherapy research : PTR* 2000, **14**(6):424-427.
12. Garrido G, Gonzalez D, Lemus Y, Garcia D, Lodeiro L, Quintero G, Delporte C, Nunez-Selles AJ, Delgado R: **In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG).** *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 2004, **50**(2):143-149.
13. Marquez L, Perez-Nievas BG, Garate I, Garcia-Bueno B, Madrigal JL, Menchen L, Garrido G, Leza JC: **Anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract in a model of colitis.** *World journal of gastroenterology : WJG* 2010, **16**(39):4922-4931.
14. Masibo M, He Q: **Major mango polyphenols and their potential significance to human health.** *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2008, **7**(4):309-319.
15. Al-Halabi R, Bou Chedid M, Abou Merhi R, El-Hajj H, Zahr H, Schneider-Stock R, Bazarbachi A, Gali-Muhtasib H: **Gallotannin inhibits NF κ B signaling and growth of human colon cancer xenografts.** *Cancer biology & therapy* 2011, **12**(1):59-68.
16. Kim SH, Jun CD, Suk K, Choi BJ, Lim H, Park S, Lee SH, Shin HY, Kim DK, Shin TY: **Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells.** *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 2006, **91**(1):123-131.
17. Erdelyi K, Kiss A, Bakondi E, Bai P, Szabo C, Gergely P, Erdodi F, Virag L: **Gallotannin inhibits the expression of chemokines and inflammatory cytokines in A549 cells.** *Molecular pharmacology* 2005, **68**(3):895-904.
18. Ribeiro S, Barbosa L, Queiroz J, Knödler M, Schieber A: **Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties.** *Food chemistry* 2008, **110**(3):620-626.
19. Friedman, M., Jürgens, H. S., **Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000, **48**, 2101-2110.