

ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE UN EXTRACTO DE LA ESPECIE FORESTAL NATIVA TARQUI (HEDYOSMUM SCABRUM), PERTENECIENTE AL BOSQUE DE JACARÓN, JUAN DE VELASCO, CHIMBORAZO, ECUADOR

ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE UN EXTRACTO DE LA ESPECIE FORESTAL NATIVA TARQUI

AUTORES: Silvia Hipatia Torres Rodríguez¹
Asterio Denis Barbarú Grajales²
Magdala de Jesús Lema Espinoza³

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA: storres@unach.edu.ec

Fecha de recepción: 22-09-2016

Fecha de aceptación: 04-10-2016

RESUMEN

En el presente estudio fue realizado por primera vez un análisis fitoquímico de un extracto alcohólico obtenido de *Hedyosmum scabrum*, planta nativa de América tropical, un árbol del bosque nativo de Jacarón, ubicado en la parroquia de Columbe de la provincia de Chimborazo en Ecuador, lo cual por los antecedentes que posee constituye una vía segura, rápida y adecuada para la búsqueda de nuevos compuestos que entre otras funciones mejoren la salud que del hombre debido a la aparición de nuevas enfermedades y gran cantidad de patógenos resistentes a principios activos efectivamente utilizados como antibióticos. A partir de la caracterización etnobotánica se obtuvo un extracto de hojas frescas con etanol al 96°, al que se le hizo una caracterización físico-química y el mismo presentó actividad antimicrobiana frente a una batería de microorganismos seleccionados. Como parte del tamizaje fitoquímico fueron identificados saponinas y fenoles en mayor cantidad, y pocos flavonoides. Los subextractos de tolueno y cloroformo en la cromatografía de capa fina CCF para terpenos, saponinas y flavonoides comprobándose no extraen la mayoría de compuestos. Las saponinas y fenoles identificados pudieran ser los responsables de la actividad biológica presente en el *Hedyosmum scabrum*. Los procedimientos empleados para la obtención de extractos en esta planta y las características de los compuestos identificados, nos inclinan hacia una caracterización más detallada de los mismos y la realización de estudios de actividad biológica con la finalidad de establecer su rol en la planta y su posible mecanismo de acción en otros seres vivos.

PALABRAS CLAVE: *Hedyosmum scabrum*; análisis fitoquímico; extracto alcohólico.

¹ Doctora en Química. Docente Auxiliar a Tiempo Completo. Subdecana de la Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba. Ecuador.

² Licenciado en Bioquímica. Doctor en Ciencias Veterinarias. Docente Auxiliar a Tiempo Completo. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba. Ecuador. E-mail: abarbaru@unach.edu.ec

³ Ingeniera en Administración de Empresas. Master en Gerencia Empresarial, Mención M.B.A. Directora de la Carrera Contabilidad y Auditoría. Facultad de Ciencias Políticas y Administrativas. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba. Ecuador. E-mail: mlema@unach.edu.ec

PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF AN EXTRACT OF THE NATIVE FOREST SPECIES TARQUI (*HEDYOSMUM SCABRUM*), BELONGING TO THE FOREST OF JACARÓN, JUAN DE VELASCO, CHIMBORAZO, ECUADOR

ABSTRACT

In the present study was performed for the first time a Phytochemical analysis of an alcoholic extract obtained from *Hedyosmum scabrum*, native plant of tropical America, a tree of the native forest of Jacarón, located in the parish of Columbe of the province of Chimborazo in Ecuador, which by the background that has a guaranteed route, rapid and appropriate to the search for new compounds that among other functions to improve the health of man due to the emergence of new diseases and a large amount of pathogens resistant to active principles actually used as antibiotics. From the ethnobotanical characterization was obtained an extract of fresh leaves with ethanol 96°, to which it made a physical-chemical characterization and the same presented antimicrobial activity against a battery of microorganisms selected. As part of the phytochemical screening were identified saponins and phenols in greater quantity, and few flavonoids. The subextractos of toluene and chloroform in the thin layer chromatography CCF for terpenes, saponins and flavonoids testing do not extract the majority of compounds. The saponins and phenols identified could be responsible for the biological activity present in the *Hedyosmum scabrum*. The procedures for obtaining extracts in this plant and the characteristics of the compounds identified, we lean toward a more detailed characterization of the same and the realization of studies of biological activity with the purpose of establishing their role in the plant and its possible mechanism of action in other living beings.

KEYWORDS: *Hedyosmum scabrum*; Phytochemical analysis; alcoholic extract.

INTRODUCCIÓN

En el mundo las plantas constituyen un recurso fundamental para las comunidades campesinas e indígenas (Salah NB y col., 2015). La flora del Ecuador es una de las más ricas tanto en plantas nativas como en las introducidas; muchos de estos vegetales son utilizados en la medicina ancestral por las personas generalmente de las poblaciones aledañas a la ciudad que conservan el uso de vegetales, especialmente en la terapia de enfermedades. Se estima que el 80% de la población ecuatoriana depende de la medicina tradicional, y por consiguiente de las plantas o productos naturales, para la atención primaria de la salud y bienestar.

El uso y comercio de los extractos de plantas medicinales se mantienen como una práctica activa en los mercados de las ciudades. Su obtención está basada en la extracción de porciones biológicamente activas presentes en los tejidos de plantas; lo que constituye para la industria farmacéutica una fuente de nuevas moléculas con efectos farmacológicos deseados, y un mínimo de efectos secundarios, aspecto que permite satisfacer las necesidades crecientes del uso de los productos naturales. (Golla U y col., 2014)

Para la elaboración de un extracto se tiene en cuenta, las características etnobotánica de las plantas, sus principios activos, técnicas de separación e identificación de los mismos, y los fines de empleo. (Alhakmani F y col., 2013)

Las síntesis de metabolitos secundarios en la planta, los cuales constituyen los principios activos, está relacionada con los mecanismos de defensa. Su proceso de obtención a partir de los extractos vegetales es variable; se pueden obtener extractos acuosos o polvos, o utilizar otros disolventes

para obtener diferentes compuestos, según su polaridad (Lupoae P, y col., 2015) su distribución no es uniforme por toda la planta hay que tener en cuenta la época de recolección y la preparación que se las deba hacer a cada una de las plantas. (Ghalib, RM y col., 2012).

Por tales razones los estudios en este campo hacen énfasis en disponer de una buena y extensa colección de material de partida, fundamentalmente extractos, que cubran la mayor diversidad de géneros, especies y ecosistemas, de manera que puedan encontrar una amplia expresión de todo tipo de metabolitos secundarios, asegurando de esta forma una gran variedad estructural (Khan R y col., 2015)

Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto biológico que los caracteriza como principios activos. Entre estos compuestos se destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos. Los cuales presentan mecanismos de acción variables; que en muchos casos no han sido dilucidados por completo (Taamalli A y col., 2014).

Las hojas del árbol de Tarqui (*Hedyosmum scabrum*) son utilizadas por los moradores de la Parroquia Columbe como vegetal medicinal para el tratamiento de problemas de amigdalitis y úlceras estomacales y como no existen antecedentes de estudios previos, se parte en este estudio del desconocimiento de la composición química para aislar, purificar e identificar los metabolitos secundarios por procesos físicos, químicos y espectroscópicos. Por estas razones se propone en el presente trabajo a partir de un extracto etanólico con vegetal fresco previamente muestreado realizar un análisis fitoquímico, con vistas a la identificación de compuestos en el mismo que posean actividad biológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal

Selección, identificación y recolección de *Hedyosmum scabrum*.

La planta utilizada fue identificada por el Ing. Jorge Caranqui, curador del Herbario de la ESPOCH (Escuela Superior Politécnica de Chimborazo), en el bosque de Jacarón en la localidad de Columbe, Ecuador; siguiendo la descripción botánica y su clasificación taxonómica. Fue recolectada al azar, en el mes de febrero de 2015 a partir de las 6:45 a.m., a partir de vegetales establecidos en tres pisos altitudinales del bosque en el período óptimo, y estuvo constituido por las hojas (maduras, semimaduras y tiernas) de planta.

El material fue lavado y desinfectado con una solución de hipoclorito de sodio al 2%, secado a la sombra a temperatura ambiente, y fue extendido en bandejas perforadas, y volteado diariamente durante 7 días. Posteriormente se sometió a temperatura de 60°C durante 1 hora en estufa (MWN, Alemania) con circulación de aire. Luego se procedió a la pulverización, usando un molino de cuchilla. Finalmente se obtuvo un polvo grueso que fue utilizado en la elaboración de los diferentes extractos.

Obtención del extracto vegetal.

Para la obtención de los extractos, se pesaron 2 kg de muestra en balanza técnica (BS 2202S SARTORIUS, Alemania) y se utilizó como solvente etanol al 96 % (relación 1:10), con tiempo de extracción de 24 horas a agotamiento (Murillo & Méndez, 2008), para ello se utilizó un volumen de solvente 10 veces mayor que su peso, luego se dejaron reposar los extractos por 1 día en refrigeración a 8°C y luego se sometió a los análisis de calidad.

Concentración del extracto vegetal (SubExtractos):

El extracto etanólico 20% por rotoevaporación del solvente a 50°C con un rotoevaporador (KIKA-Werke, Alemania) se concentró hasta tener 1/8 de su volumen total (1 litro)^{6 Sharapin}

Análisis físico-químico del extracto etanólico:

El tamizaje fitoquímico se realizó en el Laboratorio de Química de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba, Ecuador, por la metodología indicada, realizándose tres réplicas para cada ensayo.

La materia seca (MS), nitrógeno total (Nt), cenizas (Cn) densidad relativa (Dr), humedad (H) y sólidos totales (St), acidez total (At), fueron determinados, según AOAC (2000).

Determinación de pH: para determinar el pH se utilizó potenciómetro digital con electrodo de vidrio, soluciones reguladoras de pH 4 y 8, y un agitador electromagnético para la homogenización de la muestra.

Para la determinación de carbohidratos reductores directos se utilizó la técnica descrita por Dubois y col. (1956)

La concentración de proteínas fue determinada (Smith y col., 1985).

Pruebas para la identificación rápida de metabolitos secundarios

La identificación de los grupos Fitoquímicos generales del extracto se realizó, según la guía de Murillo & Méndez (2008). Se emplearon pruebas o técnicas simples, rápidas y selectivas a cada extracto, para la identificación de los compuestos resultados del metabolismo secundario de la planta; teniendo en cuenta su solubilidad y el solvente orgánico. Para la identificación de saponinas se utilizaron: la prueba de la espuma. Para polifenoles se utilizó: el ensayo con el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC). Para la determinación de taninos se aplicaron las pruebas de: Cloruro férrico, Prueba de gelatina-sal, Prueba para diferenciación de taninos condensados e hidrolizables, prueba específica para identificación de taninos hidrolizables y condensados respectivamente.

Caracterización microbiológica

Se estudió la actividad antimicrobiana de diferentes concentraciones de un extracto fluido (etanol) de hojas de Tarqui, con una batería mínima de cepas de microorganismos que incluye *Staphylococcus aureus*, *dorado* y *Bacillus subtilis*, como grampositivo, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, como gramnegativo y la levadura *Candida albicans*, mediante el método de difusión en agar

Se empleó el método de difusión en agar por diseminación superficial en disco (Bauer-Kirby), publicado por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) y la Organización Mundial de la Salud (WHO, del inglés, World Health Organization) y adoptada por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, antes NCCLS) como norma de aceptación general. Y se procedió según se describe: se impregnó discos estériles de papel de filtro Whatman N° 3 de 5 mm de diámetro con 10 µL de una solución del extracto (40 mg/ mL), los cuales fueron colocados en una placa servida con agar Müller-Hilton, previamente sembrada con una suspensión bacteriana de concentración conocida (1 x10⁸ bacterias/mL) e inoculadas con una suspensión bacteriana estandarizada por comparación con un patrón McFarland 0,5. Posteriormente, las placas fueron incubadas a 5°C durante 12 horas, y posteriormente a 37°C por 24 horas. La acción antibacteriana

se midió tomando el diámetro (mm) del halo de inhibición alrededor del disco. Fueron utilizadas cepas de bacterias certificadas existentes en el Laboratorio de Productos Naturales. (UNACH).

Cromatografía de Capa Fina (CCF)

Para la Cromatografía en Capa Fina (CCF) se emplearon placas cromatográficas de sílica gel (20 x 20cm., 2 mm de espesor, Aldrich- Sigma). El seguimiento de la separación de los compuestos se llevó a cabo a través de la observación de los perfiles cromatográficos bajo la luz ultravioleta ($\lambda=365\text{nm}$) con una lámpara (WD 9403E, China). El sistema de solvente utilizado, según Wagner Atlas de cromatografía, se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Sistema de solventes utilizados en la cromatografía en capa fina.

Denominación del solvente	Tipo de solvente	Proporciones
S₁	Tolueno : Acetato de etilo	7 : 1
S₂	Acetato de etilo : Ácido acético	4 : 1
S₃	Acetato de etilo : Metanol	1 : 1

Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados del extracto se utilizó la estadística descriptiva para determinar la media, el coeficiente de variación (CV) y la desviación estándar (DE). El sistema de cómputo de datos empleado fue INFOSTAT versión 1.0 según Balzarini y *col.* (2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las investigaciones de los productos naturales están asociadas con el de las sustancias que se aíslan de organismos vivos en aspectos que van desde los más convencionales, como los relacionados con la elucidación de su estructura y su síntesis química, hasta otros que, abarcan su biosíntesis, degradación y papel fisiológico. (Donna y *col.* 2014)

El estudio de las moléculas del metabolismo secundario, definidas como aquellas que se generan en rutas metabólicas aparentemente no esenciales para la supervivencia del organismo resulta ser con frecuencia particular para la especie biológica investigada y, aunque en muchos casos se desconoce su función fisiológica, la singularidad de estas sustancias particulariza en ciertas especies formas específicas de acción biológica que tienen amplio interés (Tawfik y *col.*, 2011).

Los productos naturales originados de las plantas son considerados una fuente incalculable de nuevos compuestos químicos de uso potencial en la medicina ya que nuevas sustancias, de diversas complejidades estructurales se descubren e investigan constantemente. En la actualidad se hacen ingentes esfuerzos hacia el hallazgo de nuevos compuestos con actividades biológicas específicas, mediante la evaluación de extractos directos de distintos organismos vivos. (Ghasemzadeh y *col.*, 2015)

La investigación en este campo hace énfasis en disponer de una buena y extensa colección de material de partida, fundamentalmente extractos, que cubran la mayor diversidad de géneros, especies y ecosistemas, de manera que puedan encontrar una amplia expresión de todo tipo de metabolitos secundarios, asegurando de esta forma una gran variedad estructural (Vuong y *col.*, 2015).

La comprobación taxonómica e identificación botánica fue realizada por el curador del Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, el Ing. Jorge Caranqui,

Al determinar las propiedades físicas y químicas de los extractos, se obtuvieron los siguientes resultados, los cuales se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Evaluación físico-química del extracto etanólico de Tarqui.

Parámetros físico-químicos	Resultados
Materia seca	6,78 g/L
Humedad	98,49 %
Cenizas	1,71%
Densidad relativa	0.97g/L
Solidos totales	1837.5215 p.p.m.
pH	4,8 - 5,1
Nitrógeno total	0,34 - 0,53 g/L
carbohidratos reductores	9,2 -12,6 g/L
Proteínas	0,22 g/L

La evaluación físico-química de los extractos constituye uno de los aspectos más importantes en la valoración de sus componentes pues permitirá conocer los componentes con posibles efectos en las funciones de un organismo animal (Ghalib y col., 2012)

Como se observa en la tabla 2, el extracto presentó un bajo valor de pH. Según Ahrazem y col., 2015; estos rangos de pH caracterizan a los extractos, con independencia de la fuente de materia prima y tecnología empleada. Esta acidez presentada puede estar relacionada con la presencia de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales son responsables de efectos beneficiosos en el tracto gastrointestinal de organismos vivos.

Alam y col., 2015; describieron la variabilidad en la composición de los extractos según las tecnologías de obtención, pero la literatura existente no reporta estudios con esta planta, aspecto este que no nos permite comparar nuestros resultados con el de otros autores en cuanto a su composición. Sobre todo si se tiene en cuenta lo planteado por estos mismos autores de que la composición de los extractos es variable y depende de las características de las materias primas utilizadas en la obtención.

Los valores, del N, la ceniza en las muestras estuvo en el rango planteado por para este tipo de extracto. (Alam y col., 2015).

En el extracto se identifican carbohidratos con un bajo contenido de azúcares reductores lo cual pudiera ser importante en evaluaciones biológicas porque según Napoli y col., 2015; su alta presencia en organismos vivos puede provocar fermentaciones indeseadas en el intestino grueso, además muchos de estos pueden ser reconocidos como antígenos con lo cual se suele presentar reacciones de hipersensibilidad que inducen cambios en las bilis del intestino, aumentando la secreción de mucus y desembocando finalmente en diarrea. Es posible que en este indicador estén incluidos residuos de oligosacáridos, los cuales alcancen el tracto posterior sin ser

digeridos y allí sean fermentados por las bacterias intestinales lo cual favorece el crecimiento de las bacterias beneficiosas. Por eso, los estudios futuros deberán estar encaminados a identificar su presencia en los extractos para poder considerar su dosis y el resto de las condiciones de aplicación en las que sería más favorable su empleo (Brito y col., 2015).

Los niveles de proteínas encontrados son bajos lo cual es ventajoso pues los altos niveles en los organismos alteran la pared intestinal, destruyen las vellosidades y de forma general afectan el proceso digestivo (Alam y col., 2015).

Para el pH los valores obtenidos son adecuados y están en el rasgo característico de los extractos (Napoli y col., 2015). Esta estabilidad pudo estar en relación con la presencia de ácidos de cadena corta, que son considerados agentes conservantes.

Estos autores mencionaron, además, que los extractos llegan a tener una mejor estabilidad debido a la formación de productos finales del metabolismo, entre los que se hallan las quinonas y los acetaldehídos. Las quinonas pueden fijar compuestos azufrados y los acetaldehídos participan en las reacciones de compuestos fenólicos para formar piranoantocianos que son compuestos más estables, los cuales permiten mantener el color y los olores.

En la tabla 3 se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a la tintura al 20 % y al extracto seco de la parte en estudio de la planta (hojas). Estos productos fueron sometidos a los mismos análisis fitoquímicos con fin de evaluar la influencia de las condiciones aplicadas en la composición química, por ser el extracto seco más práctico como formulación farmacéutica para la aplicación tópica, en el caso de enfermedades provocadas por bacterias. Se observa que son abundantes los metabolitos secundarios, destacándose un alto contenido saponinas y flavonoides.

Tabla 3. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico hojas de Tarqui para la identificación de grupos funcionales.

Prueba	Resultado	Grupo fitoquímico
Espuma	Abundante	Saponinas
Fe Cl₃ Benedict	Precipitado verdoso	Fenoles
NaOH	-	Quinonas
H₂SO₄	Precipitado blanco	Flavonoides
Shinoda	Pardo	Flavonoides
Dragendorff	-	Alcaloides
Wagner	-	Alcaloides

Al analizar los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico realizado a cada extracto, se comprueba la diversidad de metabolitos secundarios con respuestas positivas presentes en Tarqui, los cuales pueden ejercer una acción terapéutica potencial y que propicie su obtención para la elaboración futura de productos farmacéuticos (Granica y col., 2015).

El resultado fue positivo para la prueba de polifenoles, y la coloración azul intensa indico fenoles en alta cantidad, lo cual se puede deber a que estos compuestos están íntimamente relacionados con la actividad de repelencia por las plantas a poblaciones de insectos, (Alhakmani y col.,

2013) y al ser las hojas el blanco más común, es lógico que estos metabolitos sean empleados en defensa química (Ayoub y col., 2010).

Goldsmith y col., 2015; se refieren a la importancia de la evaluación microbiológica de los productos a evaluar en los organismos pues permite confirmar la calidad de los mismos y define su posible utilización en la medicina. Los resultados alcanzados de evaluación microbiológica se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Actividad antimicrobiana del extracto Tarqui frente a distintos microorganismos.

Microorganismos estudiados	Crecimiento
Staphylococcus aureus	ausentes
Pseudonomas aeruginosa	ausentes
Staphylococcus dorado	ausentes
Candida albicans	< de 10 ufc
Bacillus subtilis	ausentes

La actividad antimicrobiana de los extractos vegetales y productos naturales ha revelado el potencial de las plantas superiores como fuente de agentes anti-infectivos, permitiendo de esta manera un avance al uso empírico de las especies vegetales medicinales con una base científica (Goldsmith y col., 2015).

El uso tradicional de esta planta indica su posible utilización como agente antimicrobiano, por lo que se decidió realizar el presente trabajo con el propósito de determinar si la planta tiene actividad antimicrobiana frente a una batería mínima de microorganismos.

La mayor parte de la literatura mundial sobre el tema avala la actividad tanto antibacteriana como antifúngica de los aceites esenciales de estas plantas. De hecho, el aceite esencial, está presente en cada uno de los extractos evaluados.

La inhibición del crecimiento de los microorganismos *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* constituye un nuevo reporte de actividad antimicrobiana para Tarqui.

En la figura 1, se puede visualizar 3 manchas con diferencias notables en la variedad de colores. Estos resultados son alentadores y pueden ayudar a la confirmación de los obtenidos en el tamizaje fitoquímico, para estos compuestos tales como: flavonoides (verdes, azul), saponinas (rosada), terpenos, esteroides, fenoles y taninos (azul).

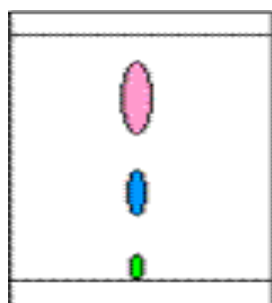
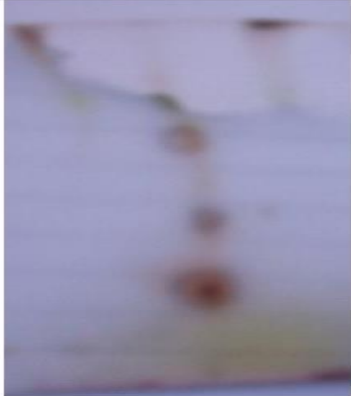




Figura 1. CCF. Extracto de acetato de etilo con sistema de solvente A₂.

Como se puede observar en los resultados del tamizaje fitoquímico realizado al extracto alcohólico, se muestran los principios activos que pueden ser los responsables de la actividad biológica detectada, puede ser uno o varios de los representantes de los flavonoides, terpenos y saponinas en general, pues estos fueron los metabolitos para los que se registraron resultados positivos en los ensayos desarrollados.

		
Flavonoides	Cumarinas	Derivados fenólicos
Rf 1: 0.15	Rf 1: 0.05	Rf 1: 0.05
Rf 2: 0.35	Rf 2: 0.25	Rf 2: 0.12
Rf 3: 0.49	Rf 3: 0.33	Rf 3: 0.18
Rf 4: 0.68	Rf 4: 0.63	Rf 4: 0.57
Rf 5: 0.74	Rf 5: 0.83	Rf 5: 0.74
Rf 6: 0.86	Rf 6: 0.93	

La gran cantidad de extractos naturales obtenidos desde 2000-2016 constituyen una fuente rica de compuestos bioactivos que han sido la tentativa actual para elaborar nuevos programas de descubrimiento de los mismos por lo que se necesita de una actualización de las técnicas del análisis fitoquímico para la evaluación de estos.

CONCLUSIONES

Se realizó un análisis fitoquímico a un extracto etanólico obtenido de *Hedyosmum scabrum*, en el que fueron identificados como componentes principales del metabolismo secundario: fenoles, saponinas y flavonoides, lo que nos aproxima a su estudio y caracterización con vistas a esclarecer su rol en la planta y la posible actividad biológica en seres vivos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración brindada por el personal del Laboratorio de Química de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Chimborazo, en el financiamiento de materiales e insumos para el desarrollo de las técnicas, así como la disposición de las instalaciones para el desempeño del mismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahrazem O, Rubio-Moraga A, Nebauer SG, Molina RV, Gómez-Gómez LSaffron: Its Phytochemistry, Developmental Processes, and Biotechnological Prospects. *J Agric Food Chem.* 2015 Oct 14; 63(40):8751-64.
- Alam F, Najum us Saqib Q. Pharmacognostic standardization and preliminary phytochemical studies of *Gaultheria trichophylla*. *Pharm Biol.* 2015; 53(12):1711-8
- Alhakmani F, Kumar S, Khan SA. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera* Asian Pac J Trop Biomed. 2013. Aug; 3(8):623-7
- AOAC. Official Methods of Analysis. Ass. Off. Anal. Chem. 17th Ed. Arlington, Virginia. 2000.
- Ayoub N, Singab AN, El-Naggar M, Lindequist U. Investigation of phenolic leaf extract of *Heimia myrtifolia* (Lythraceae): Pharmacological properties (stimulation of mineralization of SaOS-2 osteosarcoma cells) and identification of polyphenols. *Drug Discov Ther.* 2010 Oct;4(5):341-8.

- Balzarini, G. M., Casanoves, F., Di Rienzo, I. A., González, L. A y Robledo, C. W INFOSTAT. 2011. Software estadístico. "Introducción a la Bioestadística. Aplicaciones en Agronomía.
- Brito SM, Coutinho HD, Talvani A, Coronel C, Barbosa AG, Vega C, Figueredo FG, Tintino SR, Lima LF, Boligon AA, Athayde ML, Menezes IR. Analysis of bioactivities and chemical composition of *Ziziphus joazeiro* Mart. using HPLC-DAD. *Food Chem.* 2015 Nov 1; 186:185-91
- Cerón Martínez, Carlos. Plantas medicinales de los andes ecuatorianos.. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 2006, págs. 285-293. [3]. De la Torre, Lucía,
- Donna LD, Mazzotti F, Taverna D, Napoli A, Sindona G. Structural characterisation of malonyl flavonols in leek (*Allium porrum* L.) using high-performance liquid chromatography and mass spectrometry. *Phytochem Anal.* 2014 May-Jun;25(3):207-12
- Dubois, M., Pilles, K., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28(3):350
- Ghalib, RM, Hashim R, Sulaiman O, Mehdi SH, Anis Z, Rahman SZ, Ahamed BM, Abdul Majid AM. Phytochemical analysis, cytotoxic activity and constituents-activity relationships of the leaves of *Cinnamomum iners* (Reinw. ex Blume-Lauraceae). *Nat Prod Res.* 2012; 26 (22):2155-8
- Ghasemzadeh A, Jaafar HZ, Rahmat A. Phytochemical constituents and biological activities of different extracts of *Strobilanthes crispus* (L.) Bremek leaves grown in different locations of Malaysia. *BMC Complement Altern Med.* 2015 Nov 27; 15(1):422.
- Goldsmith CD, Vuong QV, Sadeqzadeh E, Stathopoulos CE, Roach PD, Scarlett CJ. Phytochemical properties and anti-proliferative activity of *Olea europaea* L. leaf extracts against pancreatic cancer cells. *Molecules.* 2015 Jul 17; 20(7).
- Golla U, Gajam PK, Bhimathati SS. Evaluation of diuretic and laxative activity of hydro-alcoholic extract of *Desmostachya bipinnata* (L.) Stapf in rats. *J Integr Med.* 2014 Jul; 12(4):372-8
- Granica S, Kluge H, Horn G, Matkowski A, Kiss AK. The phytochemical investigation of *Agrimonia eupatoria* L. and *Agrimonia procera* Wallr. as valid sources of *Agrimoniae herba*--The pharmacopoeial plant material. *J Pharm Biomed Anal.* 2015 Oct 10; 114:272-9.
- Hernández JC, León F, Brouard I, Torres F, Rubio S, Quintana J, Estévez F, Bermejo J. "Synthesis of novel spirostanic saponins and their cytotoxic activity" *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (2008) Vol 16, 2063.
- Hernández JC, León F, Estévez F, Quintana J, Bermejo J. "A Homo-Isoflavonoid and a Cytotoxic Saponin from *Dracaena draco*" *Chemistry & Biodiversity* (2006) Vol. 3, 62.
- Khan R, Saif AQ, Quradha MM, Ali J, Rauf A. [Phytochemical analysis, antimicrobial, antioxidant and urease inhibitory potential of *Cyphostemma digitatum* Lam.](#) *Nat Prod Res.* 2015; 29 (5):466-8.
- Lupoae P, Cristea V, Borda D, Lupoae M, Gurau G, Dinica RM. Phytochemical Screening: Antioxidant and Antibacterial Properties of Potamogeton Species in Order to Obtain Valuable Feed Additives. *J Oleo Sci.* 2015; 64(10):1111-23
- Muriel, P. y Baslev, H. *Etnobotánica en los Andes del Ecuador.* *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 2006, págs. 246-267. .
- Murrillo E, Méndez J. 2008. Guía metodológica para la detección rápida de algunos núcleos secundarios. Universidad de Tolima, Ibagué, Colombia, pp. 8-25.
- Napoli EM, Siracusa L, Saija A, Speciale A, Trombetta D, Tuttolomondo T, La Bella S, Licata M, Virga G, Leone R, Leto C, Rubino L, Ruberto G. Wild Sicilian rosemary. Phytochemical and morphological screening and antioxidant activity evaluation of extracts and essential oils. *Chem Biodivers.* 2015 Jul; 12(7):1075-94.
- Salah NB, Casabianca H, Jannet HB, Chenavas S, Sanglar C, Fildier A, Bouzouita N. Phytochemical and Biological Investigation of Two *Diplotaxis* Species Growing in Tunisia: *D. virgata* & *D. erucoides*. *Molecules.* 2015 Oct 5; 20(10):18128-43.
- Seghiri R, Boumaza O, Mekkiou R, Benayache S, Mosset P, Quintana J, Estévez F, León F, Bermejo J, Benayache F. "A flavonoid with cytotoxic activity and other constituents from *Centaurea africana*" *Phytochemistry Letters* (2009) Vol 2, 114.
- Taamalli A, Iswaldi I, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, Zarrouk M. UPLC-QTOF/MS for a rapid characterisation of phenolic compounds from leaves of *Myrtus communis* L. *Phytochem Anal.* 2014 Jan-Feb; 25(1):89-96.
- Tawfik WA, Abdel-Mohsen MM, Radwan HM, Habib AA, Yeramian MA. [Phytochemical and biological investigations of *Atriplex semibacata* R .BR. growing in Egypt.](#) *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2011; 8(4):435-43
- Triana J, Eiroa JL, Ortega JJ, León F, Brouard I, Hernández JC, Estévez F, Bermejo J. "Chemotaxonomy of *Gonospermum* and related genera" *Phytochemistry* (2010) Vol 71, 627.
- Triana J, López M, Pérez FJ, González-Platas J, Quintana J, Estévez F, León F, Bermejo J. "Sesquiterpenoids from *Pulicaria canariensis* and Their Cytotoxic Activities" *Journal of Natural Products* (2005), Vol 68, 523.
- Vuong QV, Chalmers AC, Jyoti Bhuyan D, Bowyer MC, Scarlett CJ. Botanical, Phytochemical, and Anticancer Properties of the Eucalyptus Species. *Chem Biodivers.* 2015 Jun; 12 (6):907-24
- Wang A, Lin L, Wang Y. Traditional Chinese Herbal Medicine *Penthorum chinense* Pursh: A Phytochemical and Pharmacological Review. *Am J Chin Med.* 2015; 43(4):601-20.