



UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

MAESTRÍA EN QUÍMICA APLICADA

Tema:

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *BACCHARIS LATIFOLIA* (CHILCA)
PLANTA ANCESTRAL DE PANTAÑO-ECUADOR**

AUTOR:

MIRANDA CABRERA CATALINA MARÍA

DIRECTOR TMF:

ECHAVARRÍA VÉLEZ ANA PAOLA

MILAGRO, MARZO 2022

ECUADOR

ACEPTACIÓN DE TUTORÍA

Por la presente hago constar que he analizado el proyecto de grado presentado por la Dra. Catalina Miranda Cabrera, para optar al título de Magister en Química Aplicada y que acepto tutorar a la estudiante, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación, evaluación y sustentación.

Milagro, a los 7 días del mes de febrero del 2022



Ana Paola Echavarría Vélez PhD
C.I.0960685998

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El autor de esta investigación declara ante el Comité Académico del Programa de Maestría en Química Aplicada de la Universidad Estatal de Milagro, que el trabajo presentado es de mi propia autoría, no contiene material escrito por otra persona, salvo el que está referenciado debidamente en el texto; parte del presente documento o en su totalidad no ha sido aceptado para el otorgamiento de cualquier otro Título de una institución nacional o extranjera.

Milagro, a los 17 días del mes de marzo de 2022



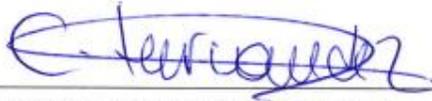
Miranda Cabrera Catalina María

CI: 0602585333

CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

EL TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de Magister en Química Aplicada otorga al presente trabajo de titulación las siguientes calificaciones:

MEMORIA CIENTÍFICA	[60]
DEFENSA ORAL	[39]
TOTAL	[99]
EQUIVALENTE	[EXCELENTE]



PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL
Carmen Hernández D, PhD



DIRECTOR/A TFM
Ana Paola Echavarría Vélez PhD



SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL
Manuel Fiallos Cárdenas, MSc.

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Ingeniero.

Fabricio Guevara Viejó, PhD.

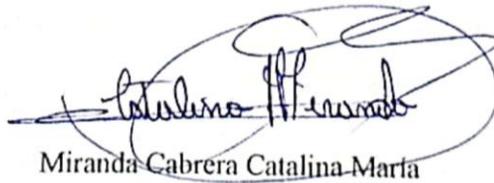
RECTOR

Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Mediante el presente documento, libre y voluntariamente procedo a hacer entrega de la Cesión de Derecho del Autor del Trabajo realizado como requisito previo para la obtención de mi Título de Cuarto Nivel, en la Maestría de Química Aplicada cuyo tema es **DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *BACCHARIS LATIFOLIA* (CHILCA) PLANTA ANCESTRAL DE PANTAÑO-ECUADOR** y que corresponde a al Departamento de Investigación y Postgrado.

Milagro, 17 de marzo del 2022



Miranda Cabrera Catalina María

CI: 0602585333

DEDICATORIA

El sacrificio, dedicación, tiempo y esfuerzo que conlleva el presente trabajo dedico principalmente a

Dios y a cada uno de los miembros de mi familia:
a mi esposo José Alberto, a mi hija Jennyfer Rocio y
a mi pequeño José Alberto mis tesoros e impulsores de
mi vida, mis acciones, sueños, alegrías y metas.

AGRADECIMIENTO

A Dios por ser mi inspiración, guía y soporte en cada instante de mi vida

A mis padres quienes me dieron la vida, educación, apoyo y valores

A mi esposo José Alberto e hijos por su apoyo incondicional, comprensión y cariño

A mis hermanos porque puedo contar en todo momento con ellos

A la Dra. Ana Paola Echavarría (Tutora), quien colaboró con su valiosa guía y conocimientos en la elaboración del presente trabajo de investigación

Y a los compañeros y amigos que de alguna manera me brindaron su apoyo en la ejecución de este trabajo de investigación

Catalina María Miranda Cabrera

Índice general

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	4
EL PROBLEMA	4
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1.1. Problematización	4
1.1.2. Delimitación del problema	5
1.1.3. Formulación del problema	5
1.1.4. Hipótesis	5
1.2. OBJETIVOS	5
1.2.1. Objetivo General	5
1.2.2. Objetivos Específicos	6
1.3. JUSTIFICACIÓN	6
CAPÍTULO II.....	7
2.1. MARCO TEÓRICO	7
2.1.1. Plantas ancestrales de Ecuador	7
2.1.2. Pantaño del Cantón Chambo de la provincia de Chimborazo	7
2.1.3. Familia ‘Asteraceae’	8
2.1.4. Género <i>Baccharis</i>	8
2.1.5. Especie <i>Baccharis latifolia</i>	9
2.1.6. Clasificación Taxonómica	10
2.1.8. Metabolitos Secundarios	12
2.1.12. Actividad Antioxidante	24
2.1.13. Método DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)	24
CAPÍTULO III.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1. Variables	26
3.2 Recolección de material vegetal y secado	26
3.3. Obtención del extracto etanólico de <i>B. latifolia</i>	27
3.4. Determinación de la actividad antioxidante empleado el ensayo de DPPH	27
3.5. Tamizaje químico cualitativo	28
CAPÍTULO IV	36

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
3.1. Determinación de actividad antioxidante por método DPPH.	36
3.2. Identificación de la composición química.	36
3.3. Discusión.	37
CAPITULO V	40
5.1. CONCLUSIONES	40
5.2. RECOMENDACIONES	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
Anexos	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	11
Taxonomía <i>Baccharis latifolia</i> (chilca).	
Cuadro 2	31
Resultado de tamizaje químico cualitativo del extracto etanólico de las hojas de la <i>B. latifolia</i> (chilca).	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1

Arbusto *Baccharis latifolia* comúnmente conocido como chilca (propia autoría)

Figura 2

Mapa de distribución potencial de *Baccharis latifolia*. (Romoleroux et al, 2019)

Figura 3

Diversidad de terpenos, (Navarro 2019).

Figura 4

Estructura Alcaloides, ejemplo la *mitraginina* (Parada, 2021).

Figura 5

Estructura general de flavonoides

Figura 6

Estructura de Taninos

Figura 7

Estructura de Saponinas.

Figura 8

Estrés Oxidativo (Navarro, 2019).

Figura 9

Reacción del radical DPPH con agente oxidante (Pérez, 2016).

Figura 10

Extracción sucesiva del material vegetal para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico (CIBE, 2021).

Figura 11

Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso (CIBE, 2021)

RESUMEN

Introducción. El presente trabajo de investigación se basó en la necesidad de evaluar las propiedades antioxidantes de la *Baccharis latifolia* (Chilca), se le atribuye propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas. La población nativa ecuatoriana de la zona andina ha aprovechado los beneficios de esta planta con fines terapéuticos, Sin embargo, hay pocos estudios sobre sus propiedades antioxidantes. **El objetivo de este trabajo de investigación** fue determinar la actividad antioxidante y la presencia de metabolitos secundarios. **Métodos:** Se recolecto las hojas del arbusto de la zona de Pantaño del cantón Chambo de la Provincia de Chimborazo (Ecuador), las hojas fueron secadas hasta peso constante a temperatura ambiente, posteriormente se obtiene el extracto etanólico, a partir de este se evaluó la capacidad captadora de radicales libres por el método de laboratorio del 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH). La identificación de la composición química se realizó por medio del tamizaje químico cualitativo del extracto de las hojas secas. Los análisis de laboratorio se realizaron en las instalaciones del centro de Investigación Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), ubicada en la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). **Resultados:** la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis latifolia* fue de 83.3 ± 0.64 μmol equivalentes de Trolox/g extracto seco. En la identificación de la composición química del extracto de las hojas se obtuvo en mayor cantidad los Triterpenos (++), también azúcares reductores (+), saponinas (+), y catequinas (+). **Conclusiones:** Se determino un poder

antioxidante medio y se le atribuye este beneficio en especial a los metabolitos secundarios como los triterpenos y catequinas, estos compuestos poseen estructuras capaces de aceptar un radical libre y se podría sugerir su uso como alternativa para la prevención y tratamiento algunas enfermedades.

Palabras claves: *Baccharis latifolia*, actividad antioxidante, DPPH, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

Introduction. The present research work was based on the need to evaluate the antioxidant properties of *Baccharis latifolia* (Chilca), it is attributed analgesic, anti-inflammatory, antimicrobial, anticancer properties. The native Ecuadorian population of the Andean zone has taken advantage of the benefits of this plant for therapeutic purposes. However, there are few studies on its antioxidant properties. The objective of this research work was to determine the antioxidant activity and the presence of secondary metabolites. Methods: The leaves of the bush were collected from the Pantaño area of the Chambo canton of the Chimborazo Province (Ecuador), the leaves were dried to constant weight at room temperature, then the ethanolic extract was obtained, from which the free radical scavenging capacity by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) laboratory method. The identification of the chemical composition was carried out through qualitative chemical screening of the extract of the dry leaves. The laboratory analyzes were carried out at the facilities of the Biotechnological Research Center of Ecuador (CIBE), located at the Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Results: the antioxidant activity by the DPPH method of the ethanolic extract of *Baccharis latifolia* leaves was 83.3 ± 0.64 μmol Trolox equivalents/g dry extract. In the identification of the chemical composition of the extract of the leaves, the Triterpenes (+++) were obtained in greater quantity, as well as reducing sugars (+), saponins (+), and catechins (+). Conclusions: A medium antioxidant power was determined and this benefit is attributed

especially to secondary metabolites such as triterpenes and catechins, these compounds have structures capable of accepting a free radical and their use could be suggested as an alternative for the prevention and treatment of some diseases.

Keywords: *Baccharis latifolia*, antioxidant activity, DPPH, secondary metabolites.

INTRODUCCIÓN

La vegetación desde tiempos remotos ha jugado un papel importante en el desarrollo y salud de las culturas ancestrales al ser usadas como fitofármacos, en la cosmética, etc (San Martín, 2017). El Ecuador es un país megadiverso que disfruta de muchas de estas plantas ancestrales curando una variedad de enfermedades que aquejaban desde la antigüedad al hombre (Bravo, 2014). El uso de la etnobotánica ha ayudado a correlacionar las diferentes propiedades de las plantas con su aprovechamiento (Ríos, et al 2017).

Las plantas poseen propiedades antioxidantes gracias a sus componentes químicos de defensa, los cuales son aprovechados como antioxidantes naturales retardando el envejecimiento celular y previniendo afecciones crónicas como el cáncer, problemas cardiovasculares, arterioesclerosis, artritis, demencia, cáncer, entre otras (Echavarría et al, 2015); Por lo indicado es importante el estudio de las propiedades antioxidantes que poseen plantas ancestrales de la región.

La *Baccharis latifolia*, es un arbusto comúnmente conocido en nuestro país como chilca, la ubicamos en la zona andina montañosa, se caracteriza por ser una planta resistente y se crece en suelos arenosos, rocosos, poco fértiles y secos (Granja, 2019). La chilca es una planta de tipo leñoso correspondiente al Reino *Plantae*, Clase *Magnoliopsida*, Familia *Asteraceae*, Tribu *Astereae*, Género *Baccharis*, Especie *B. latifolia*. Es un arbusto frondoso que puede alcanzar hasta los 3 metros de altura, de tipo leñoso de ramas firmes y verticales, de hojas elípticas verdes y brillantes que miden de 10 a 20 cm de largo. (Valarezo et al, 2013).

La composición química de la *Baccharis latifolia* se basa en metabolitos primarios que cumplen funciones vitales de las plantas y los metabolitos secundarios, participan en

múltiples funciones importantes en su supervivencia relacionadas con su ecosistema, activándose los metabolitos secundarios en interacciones adversas en contra de animales y bichos que la dañen o en interacciones favorables como componentes químicos beneficiosos para el arbusto (Rojas et al., 2015). Según San Martín (2019), “Los metabolitos secundarios principales en la planta *Baccharis latifolia* responsables de la actividad antioxidante los encontramos en las raíces y partes aéreas de la especie vegetal son: triterpenos, p-Hidroxiacetofenonas, Fenol: derivado del timol, Derivados de ácido cinámico, sesquiterpenos, monoterpenos, entre otros”.

Es importante resaltar las propiedades antioxidantes que posee la *Baccharis latifolia* conocida comúnmente como chilca, es utilizada por grupos culturales ancestrales, fuera de estos grupos se considera a la chilca como mala hierba o alimentos de animales. Debido a factores externos dañinos las especies reactivas de oxígeno se acumulan en el organismo del ser humano en especial afectan a nivel celular produciendo estrés oxidativo el cual es neutralizado con la ayuda de los antioxidantes en especial de tipo natural (obtenido de las plantas), las moléculas químicas responsables del poder antioxidante se les denomina metabolitos secundarios y los producen la mayoría de plantas, estos compuestos químicos poseen la capacidad de donar un electrón neutralizando radicales libres o enzimas que dañen a nivel celular, e incluso tiene la capacidad de participar en el proceso restaurador producido por el estrés oxidativo. (Bayas, 2020). El daño oxidativo es causado por la generación incontrolada de radicales libres y con esto el daño celular, lo cual se relaciona con el desarrollo de diversas enfermedades autoinmunes, cardíacas y neurodegenerativas como: arterosclerosis, cáncer, artritis y otros (Ahmad, 2018).

Se tiene como objetivo determinar la actividad antioxidante y la composición química de los metabolitos secundarios del extracto de las hojas de *Baccharis latifolia*

(chilca), aportando su funcionalidad a alimentos (Torres, 2015), así también en la industria farmacéutica como medicamentos preventivos y fitofármacos para tratar enfermedades crónicas. Según Pérez (2016): “Las hojas de chilca son usadas por grupos indígenas en el tratamiento de hemorroides, reumatismos, golpes, torceduras, y en la desinfección de heridas; en infusión o soasadas para tratar la diarrea, aliviar el dolor de cabeza y de muelas; la corteza se emplea para desinflamar hinchazones, limpiar el mal aire y curar el espanto”. La Chilca es una de las más de 45 especies del género *Baccharis* que se encuentra ampliamente distribuida en casi todas las provincias de la sierra del Ecuador (Valarezo et al, 2013).

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1. Problematicación

Las afecciones de salud sufridas en estas últimas décadas por el ser humano están relacionadas con los problemas de origen oxidativo producidos por factores externos como contaminación del aire, estrés de trabajo, mala alimentación, entre otras y factores internos como genéticos (Sánchez et al, 2013). Este es un estrés químico, inducido por la presencia de altas cantidades de radicales libres (y otras especies oxidantes) en los organismos vivos. Estas especies químicas están relacionadas con diferentes problemas de salud, como: enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer, diabetes, así como el desarrollo de desórdenes neurodegenerativos tales como los males de Alzheimer y Parkinson (Galano, 2017).

Nuestro organismo para los procesos de tipo energéticos y mecanismos básicos requiere de oxígeno (O_2) el cual está regulado por un sistema antioxidante propio del cuerpo, el problema se da cuando las especies reactivas del oxígeno superan el nivel normal, se acumulan los compuestos radicalarios y al ser muy reactivos producen desórdenes a nivel celular en especial se da un daño de las paredes celulares posteriormente se llega a la muerte (Sánchez et al, 2013). Para contrarrestar este efecto las células cuentan con dispositivos de defensa capaces de neutralizar los radicales libres e incluso restaurar el deterioro celular, estos compuestos químicos son conocidos como antioxidantes y pueden ser de tipo endógenos y exógenos. (Navarro, 2019). Las plantas poseen mecanismos de defensa muy efectivos capaces de neutralizar a los depredadores o acciones adversas, estos compuestos químicos llamados antioxidantes naturales son aprovechados por el ser humano para contrarrestar o minimizar el estrés oxidativo de las

células (Echavarría et al, 2018). por esta razón algunas plantas y frutas son muy utilizadas para prevenir o minimizar enfermedades que son causadas por afecciones oxidativas.

Es importante la identificación de los principales metabolitos secundarios y cuantificar la actividad antioxidante de plantas ancestrales como la *Baccharis latifolia* comúnmente conocida como la chilca, porque será una plataforma para posteriores investigaciones y aprovechar la accesibilidad de este arbusto y con ello sus propiedades antioxidantes (Figuerola, 2017)

1.1.2. Delimitación del problema

Es una investigación de tipo científica, que cuantifica el poder antioxidante y relaciona esta propiedad con los principales componentes químicos o metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de la *Baccharis latifolia*, planta ancestral de Pantaño-Ecuador.

1.1.3. Formulación del problema

¿Posee actividad antioxidante el extracto etanólico de las hojas de *Baccharis latifolia* (chilca) y esta relacionada con los principales metabolitos secundarios presentes?

1.1.4. Hipótesis

La actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Baccharis latifolia* (chilca) está relacionada directa con los principales metabolitos secundarios presentes.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo General

- Determinar la actividad antioxidante y composición química del extracto alcohólico de las hojas de *Baccharis latifolia* (Chilca).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto etanólico de las hojas de *B. latifolia* (chilca)
- Identificar la composición de los metabolitos secundarios del extracto alcohólico de las hojas de *Baccharis latifolia* (chilca).

1.3. JUSTIFICACIÓN

La importancia de los antioxidantes de tipo exógenos de origen natural provenientes de las plantas ha aumentado notablemente en la última década debido a su alta capacidad para eliminar los radicales libres e intervenir en la reparación a nivel celular (Gonzales, 2013). Las plantas ricas en metabolitos secundarios, podrían usarse, para la prevención de los efectos dañinos sobre el organismo producidos por especies oxidantes en exceso. Los metabolitos secundarios responsables del poder antioxidante se pueden administrar al organismo en forma de extractos de plantas, como medicamentos, suplementos dietéticos y cosméticos.

La presente investigación se enfoca en el poder antioxidante de *Baccharis latifolia* y en la identificación de los principales metabolitos secundarios responsables de esta propiedad como: alcaloides, saponinas, triterpenos, flavonoides, taninos, quinonas, antocianinas, entre otro. La chilca fue considerada una planta sagrada por sus poderes curativos y beneficiosos para la salud de los pueblos indígenas de Sudamérica (Ortuño, 2019). Al investigar la flora nativa, se está contribuyendo al bienestar y crecimiento de

los pueblos indígenas, sus tradiciones y sabiduría ancestral. Además, los resultados obtenidos servirán para posteriores investigaciones de sus propiedades médicas y farmacológicas.

CAPÍTULO II

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. Plantas ancestrales de Ecuador.

El Ecuador es un país megadiverso cuenta con un sin número de plantas ancestrales con bondadosas propiedades para la salud, se estima que aproximadamente un 80% de la población ecuatoriana utiliza productos naturales derivados de la medicina tradicional o no convencional para tratar ciertos tipos de enfermedades (Rocero, 2020). El uso de los poderes curativos de las plantas se remota a muchísimos años atrás, lo cual ha pasado casi siempre de forma verbal de generación en generación. En la actualidad el hombre moderno a olvidado la relación con la Pachamama y las plantas medicinales, generando enfermedades de tipo crónico como la diabetes, el cáncer, entre otras (Barona, 2019). El uso y aplicaciones de las plantas nativas se basa en los conocimientos adquiridos de los antepasados, hay plantas medicinales olvidadas y en la actualidad considerada mala hierba o alimento de animales, este es el caso de la *B. latifolia* (Gallegos, 2016).

2.1.2. Pantaño del Cantón Chambo de la provincia de Chimborazo.

La Comunidad el Carmen Pantaño se encuentra ubicado geográficamente Zona 17, Latitud Sur, ESC 500000, con datos tomados en GPS (Garmin Oregon 550 DTU WGS 84), coordenadas X(m)E: 769687 Y(m)N 9810246, zona 7, latitud sur del Cantón Chambo de la provincia de Chimborazo del Ecuador. Está ubicado a una altura oscila

entre los 2.400 y 4.730 msnm con un promedio es de 2780 msnm y su temperatura promedio oscila los 14 °C, el cual hace apto al clima para la agricultura y ganadería (Suango, et al, 2012).

2.1.3. Familia ‘Asteraceae’

Prada (2016) dice “Asteraceae, antes conocida como Compositae, es la familia más numerosa entre las Angiospermas, con más de 1500 géneros, y aproximadamente 25.000 especies, esta familia se clasifica en 5 subfamilias, 19 tribus, son representadas en América Tropical con aproximadamente 580 géneros y 8040 especies, en el Ecuador se han registrado 217 géneros con 918 especies de las cuales 360 son endémicas, 32 en galápagos”. Etimológicamente el prefijo ‘Aster’ proviene del término en latín del mismo nombre que significa ‘estrella’, al parecer por la inflorescencia de la mayoría de las plantas pertenecientes a esta familia (Prada, 2015). Las plantas de la familia Asteraceae son abundantes y variadas siendo ejemplares de la diversidad y riqueza de los ecosistemas de nuestro país (Villaseñor, 2018).

2.1.4. Género *Baccharis*

El género *Baccharis* consta de aproximadamente unas 500 especies, distribuidas en la zona Andina y montañosa del continente americano, su abundancia se basa en la resistencia a producirse en suelos pedregosos y arenosos un tanto salinos y secos, poseen raíces profundas y penetrantes que garantizan su supervivencia, de este género se puede indicar que el 90% está concentrada en la cordillera de los Andes de Sudamérica (Sandoval, 2021). “A este género pertenecen plantas dioicas herbáceas, arbustos leñosos y trepadores que van desde entre 0,5 a 4 metros de altura, perennes, raramente árboles y hierbas aromáticas”. (Navarro, 2019). Son fáciles de identificar debido a que poseen tricomas fusionados con tallos resistentes y de tipo leñoso, raíces profundas difíciles de

remover, tienen hojas alternas y morfológicamente diferentes (Ramos et al, 2016). Sandoval (2021) dice : “ En el Ecuador se puede encontrar 25 especies de las cuales 12 son nativas o ancestrales (*B. alaternides*, *B. buxifolia*, *B. genistelloides*, *B. latifolia*, *B. macrantha*, *B. nítida*, *B. oblongifolia*, *B. obtusifolia*, *B. odorata*, *B. teindalensis*, *B. tricuneata* y *B. trinervis*), 11 son endémicas (*B. arbutifolia*, *B. aretioides*, *B. eggersii*, *B. fusca*, *B. hambatensis*, *B. hieronymi*, *B. huairacajensis*, *B. klattii*, *B. mollis*, *B. steetzii*, y *B. tenuicapitulata*) y 2 son introducidas (*B. elaeagnoides* y *B. serrulata*) ”. Las plantas del género *Baccharis* en su mayoría han sido y son estudiadas por sus propiedades antioxidante, antiinflamatorias, desintoxicantes, desinfectantes, entre otras (Guerra, 2016).

2.1.5. Especie *Baccharis latifolia*.

Baccharis latifolia, es un arbusto conocido comúnmente en Ecuador como chilca, en tiempos de la colonia se le considero como una planta sagrada con poderes curativos. Su poder de adaptabilidad es bueno, por esto la podemos encontrar en zonas desérticas y montañosas como la zona andina de la cordillera desde la provincia de Loja hasta Imbabura. Es una planta resistente a las inclemencias del suelo y del clima, es por esto que se la ubica en suelos arenosos, rocosos y secos, posee raíces profundas y difíciles de remover, posee frondosidad y sus hojas son de tipo elípticas de aproximadamente 15 cm de diámetro, su tallo es fuerte y leñoso, posee un olor almendrado seguramente por la cantidad de metabolitos que posee, sus flores son tipo de racimo de color blanco. *La B. Latifolia* posee propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, desinfectantes, insecticidas, entre otra (Enríquez et al, 2018). *La Baccharis latifolia* es un arbusto nativo de la zona Andina de América Latina distribuida sobre todo desde Venezuela hasta el norte de Argentina, se desarrolla especialmente en lugares con alturas de 1000 a 3000 m.s.n.m. (Prada et al, 2016).



Figura 1. Arbusto *Baccharis latifolia* comúnmente conocido como chilca (propia autoría)

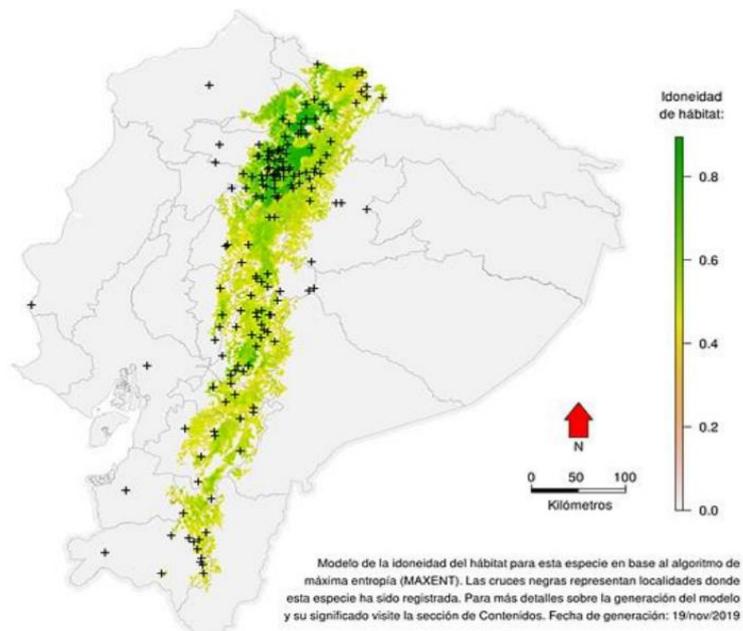


Figura 2. Mapa distribución potencial de *Baccharis latifolia*. (Romoleroux et al, 2019)

2.1.6. Clasificación Taxonómica.

La *B. latifolia* está identificada taxonómicamente en el cuadro 1, basado en la nomenclatura Internacional para plantas.

A este arbusto se le asigna a la siguiente categoría taxonómica:

Cuadro 1. Taxonomía *Baccharis latifolia* (chilca).

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae
Género:	<i>Baccharis</i>
Especie:	<i>B. latifolia</i>
Nombre Común:	Chilca

Fuente: Herbarium Field Museum (Navarro et al, 2019)

2.1.7. Descripción botánica

Baccharis latifolia es una planta de tipo dioico (flores unisexuales en tallos y troncos separados) su altura llega hasta los 4 m dependiendo de la edad del arbusto y de las condiciones donde se desarrolla (Enríquez, 2018).

Posee tallos de forma cilíndrica estriada y delgados pero resistentes de tipo resinoso de color verde - rojizo a café dependiendo de la edad de la planta, las ramas crecen en forma verticilada con vesículas resinosas (Navarro, 2019).

Las hojas son delgadas de 5 a 20 cm de largo, son resistentes y brillosas, el haz de la hoja es de color verde claro y el envés de color más oscuro, poseen un olor almendrado y son de tipo resinoso con forma elíptica con ápice agudo, base cuneada o redondeada con 3 venas principales y bordes dentados (Prada, 2015).

Ortuño (2019) indica que: “La inflorescencia en panícula con una corola blanca pequeña, escamosas de 5 a 10 mm de diámetro, con capítulo con flores de color crema o blanquecinos agrupadas en grandes glomérulos al final de cada rama, las flores femeninas la cabeza está compuesta por 100 a 280 floretes rodeadas con un envoltorio de brácteas campanulado o subglobuloso exteriores de 7 mm de largo en serie de 3 y 6, en tanto que las flores masculinas se componen con 15 a 45 floretes”.

La *B. latifolia* presenta frutos aquenio pequeño y seco con un pericarpio delgado separado de la semilla, estas son de color marrón, forma ovoide, de tamaño aproximado de 1mm. (Navarro 2019).

2.1.8. Metabolitos Secundarios

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos derivados de los primarios que se producen cuando la planta está en estado de alerta frente a un depredador, a un ecosistema hostil o a un estímulo exterior, ósea se generan los metabolitos secundarios en las plantas como un mecanismo de defensa, esta propiedad es aprovechada en el organismo del ser humano para producir una actividad antioxidante (Sepúlveda et al, 2004). También las plantas generan los metabolitos secundarios a la hora de reproducirse, produciendo compuestos químicos relacionadas con la maquinaria reproductiva de la planta como feromonas que atraigan los insectos para promover la polinización (Más et al, 2017). Se creía que los metabolitos primarios eran compuestos vitales para los vegetales porque participan en las funciones principales de estas, pero gracias a las muchas investigaciones realizadas se ha determinado que los metabolitos secundarios son moléculas químicas de defensa o con una función definida al relacionarse la planta con su ecosistema (Rojas, 2015). Los metabolitos secundarios son moléculas importantes de defensa y se aprovechado estas propiedades para usarlos como principios activos de medicamentos y antioxidantes (Valenzuela et al, 2014). “Otros tienen una función

fisiológica, por ejemplo, los alcaloides, las pectinas que pueden servir para el transporte de nitrógeno tóxico y compuestos de almacenamiento, mientras los compuestos fenólicos como los flavonoides realizan una función como protectores de rayos ultravioletas”. (Pérez, 2011).

Entre los metabolitos secundarios principales se encuentran:

2.1.8.1. Terpenos: También llamados isoprenoides son los compuestos hidrocarburos más abundantes del grupo de productos naturales (30000 compuestos), se caracterizan porque poseen una unidad estructural llamado isopreno que es una molécula de 5 carbonos que se van enlazando mediante condensaciones tipo cabeza-cola, aunque también pueden darse unión de isoprenos de tipo cabeza-cabeza (Navarro, 2019). Los terpenos son los principales constituyentes de los aceites esenciales y de las resinas (Castillo, 2015), son compuestos muy importantes están presentes en funciones vitales de las plantas y también como parte de los metabolitos secundarios los cuales cumplen funciones de supervivencia y se correlaciona con las adversidades y necesidades de la planta con su ecosistema. Según Sandoval (2021) los terpenos presentan “propiedades antioxidantes, antibacterianas, antiinflamatorias, antiplasmódico y cualidades aromáticas, sabor amargo y pigmentación en flores y fruto, todos útiles en las industrias cosméticas, farmacéutica, alimentarias, agrícola y medicinal herbolaria”. Los terpenos se generan por medio de la síntesis del ácido mevalónico obteniéndose 2 productos el isopentenil pirofosfato (IPP) y su isómero dimetilalil pirofosfato (DMAPP) que son los isoprenoides básicos (Prada, 2015). El compuesto dimetil pirofosfato es el principal precursor de la mayoría de terpenos, en tanto que los triterpenos y los esteroides, proceden del escualeno y del fitoeno (Sandoval, 2020). Los terpenos están presentes en aceites esenciales (pineno, limoneno), algunos poseen funciones oxidadas (alcanfor), otros pertenecen al grupo de

interés fisiológico por su carácter de Vitaminas o coenzimas como el retinol (vitamina A), el alfa-tocoferol (vitamina E), la vitamina K y el coezima Q (Maraculla et al, 2002)

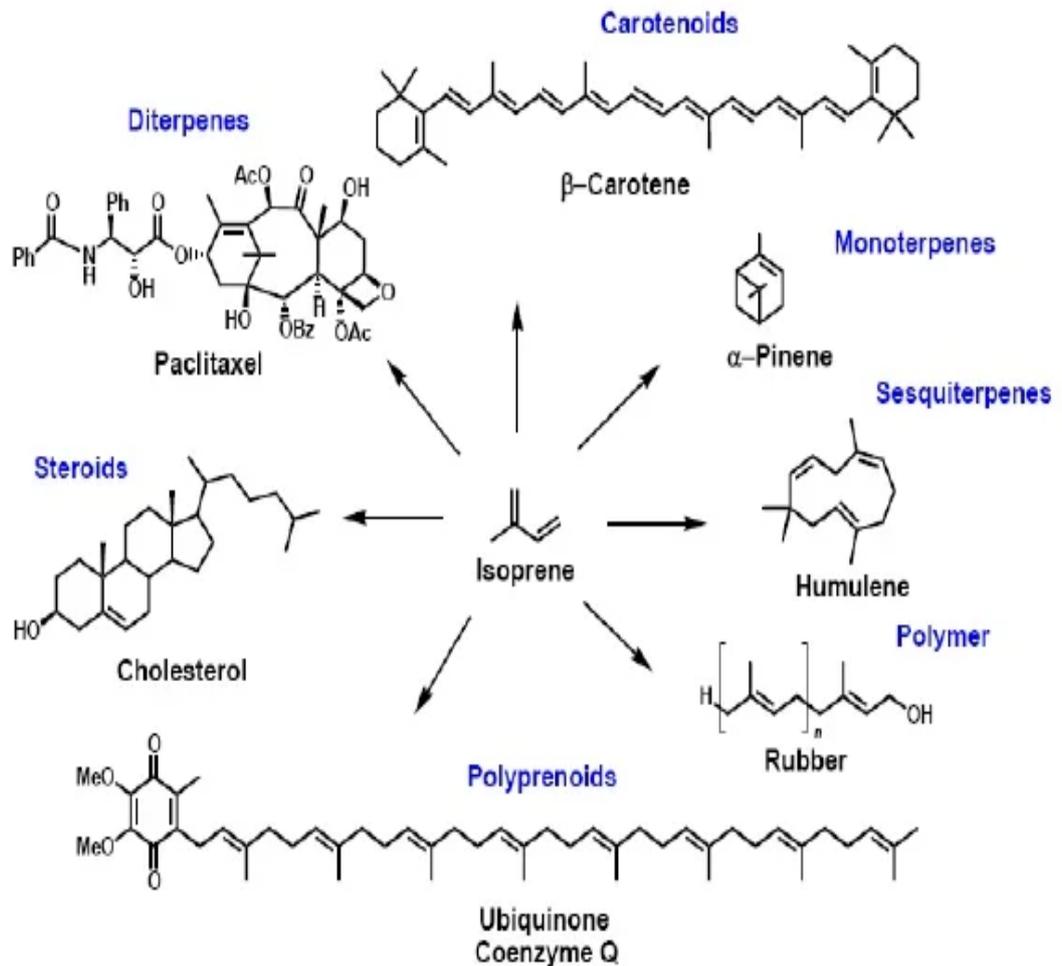


Figura 3. Diversidad de terpenos (Navarro, 2019)

Los terpenos están presentes en los fitonutrientes, actúan como antioxidantes protegiendo los lípidos, la sangre y los fluidos corporales del ataque las especies radicalarias como el oxígeno singlete, radicales hidroxilo, peróxido y superóxidos (Macarulla et al, 2002).

Los monoterpenos son compuestos formados por la unión de dos isoprenos, son la unidad base de los terpenos constituidos por 10 carbonos y 16 hidrógenos, son sustancias volátiles son los principales constituyentes de los aceites esenciales de flores

y frutos (Prada et al, 2016). Los monoterpenos son básicamente alquenos o cicloalquenos, por tanto, son reactivos frente a radicales libres como el OH^\cdot , NO_3^\cdot entre otros (Calderín et al, 2018), llegan a constituir hasta el 5% del peso seco de la planta y le dan resistencia a la presencia de virus, bacterias, a factores externos estresantes como el calor (Tovar, 2013).

Los Sesquiterpenos son compuestos químicos formados por la unión de tres unidades de isopreno, están constituido por un esqueleto de 15 carbonos y 24 hidrógenos ($\text{C}_{15} \text{H}_{24}$) son hidrocarburos insaturados pueden ser de tipo acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, etc., cumplen algunas funciones protectoras, de las plantas, también están presentes en hongos y bacterias, participan en procesos hormonales como atrayentes de polinizadores (Sandoval, 2021).

Los triterpenos son moléculas policíclicas que están condensadas por 6 unidades de isopreno, generalmente son de tipo pentacíclicos, provienen de la ciclación del 3S-2,3-epóxido-2,3-dihidroescualeno, o del mismo escualeno. Estos compuestos son hidrocarburos que no poseen heteroátomos, están presentes en plantas, animales superiores hongos y bacterias (Pérez, 2016). Los triterpenos se caracterizan por tener una gran riqueza química y farmacológica, Cano (2013), los describe como: “agentes antivirales, antimicrobianos, antiinflamatorios, antitumorales, antioxidantes, hepa y cardioprotectores, analgésicos, antimicóticos, antiquimiopreventivos, así como compuestos inmunomoduladores”. Los triterpenos están representados por las estructuras de los oleanano, ursano y lupano (triterpenos pentacíclicos) estos pueden sufrir biotransformaciones, generando una herramienta útil para la obtención de una gran variedad de fitofármacos activos que contribuyen significativamente en la salud por ser aplicados en la industria farmacéutica, agroquímicos, alimenticia, biológica, química,

entre otras (Pérez, 2016). Dentro de este grupo están los compuestos amargos como la limonina, a más de ser un repelente de los depredadores, presenta actividad anticancerígena por inducción a la apoptosis de células cancerígenas (Flores, 2013).

Las bondades de los triterpenos son muchísimas que en la actualidad se aconseja ser utilizados como alternativa para sustituir los antibióticos, por la seguridad de su inclusión y su nula residualidad (Más et al, 2017).

2.1.8.2. Los alcaloides: Son compuestos orgánicos, de estructura cíclica, formados a partir de aminoácidos, poseen nitrógeno heterocíclico con un estado de oxidación negativo, de origen fundamentalmente vegetal (Benítez, 2017). Los alcaloides están distribuidos en nuestro organismo en cantidades controladas son muy útiles pero muy peligrosos, se les considera sustancias alcalinas que a valores de pH 7, 2 a 5 tienen la capacidad de protonizar su nitrógeno, razón por la cual son moléculas con cargas positivas y forman fácilmente sales al solubilizarse en agua (Rojas et al, 2015). Estos compuestos presentan una variedad de formas estructurales con diversos grupos funcionales, en la actualidad se conoce más de 20000 estructuras, se ha detectado tres tipos: Los alcaloides verdaderos los cuales son derivados de los aminoácidos esenciales y su nitrógeno formando parte del anillo heterocíclico, se caracterizan por sus propiedades farmacológicas, dentro de esta clasificación tenemos los Protoalcaloides son producidas in vitro con la ayuda de los aminoácidos, se les considera aminas simples, el nitrógeno no forma parte del anillo cíclico, y por último tenemos los Pseudoalcaloides los cuales no son generados a partir de los aminoácidos pero si se comportan con propiedades farmacológicas y su nitrógeno forma parte del ciclo del compuesto (Macurulla, 2002) se puede asegurar que los alcaloides son uno de los compuestos naturales más estudiados por sus propiedades medicinales y toxicológicas, en las plantas están ubicados en los tejidos de crecimiento y en lo posterior se acumulan en los tejidos de almacenamiento

(Pérez et al, 2011). En las células vegetales la síntesis de los alcaloides se da en organelos como el citosol, membrana del retículo endoplasmático en los cloroplastos y en la mitocondria, posteriormente son utilizados o acumulados, pero no son los productos finales dependiendo de la necesidad de nitrógeno de la planta, por ejemplo, en las semillas los alcaloides son degradados durante la germinación (Loyola et al, 2004). Los alcaloides pueden poseer sitios activos para los neurotransmisores, pueden oxidarse, racemizarse espontáneamente para cumplir con sus multipropósitos, diariamente el ser humano hace uso de gran cantidad de alcaloides vegetales, como estimulantes (cocaína, nicotina, morfina, dopamina), protectores de la radiación UV de las plantas (nicotina), drogas medicinales (codeína, cafeína, dopamina) (Kukula, 2017).

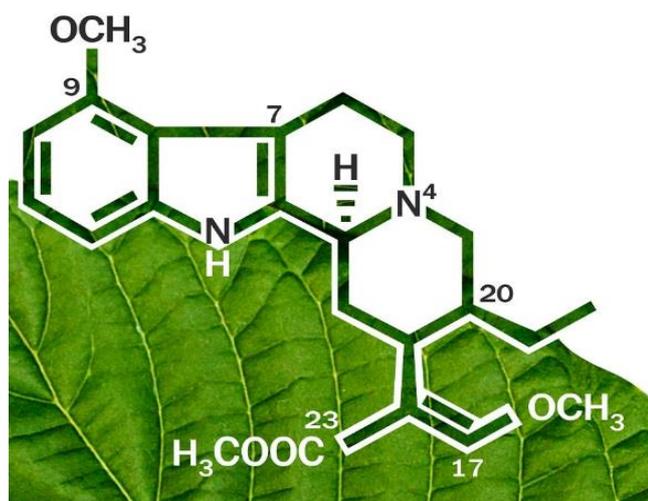


Figura 4. Estructura Alcaloides, ejemplo la *mitraginina* (Parada, 2021).

Los alcaloides se clasifican, de acuerdo con su estructura, en las siguientes clases:

a) Los alcaloides verdaderos derivan de aminoácidos (la L-ornitina, la L-lisina, la L-tirosina, la L-fenilalanina, la L-histidina y el L-triptófano) y están formados por un anillo heterocíclico conteniendo al menos un átomo de nitrógeno. Aún en dosis muy pequeñas, son moléculas sumamente activas, tiene por lo general sabor amargo y un aspecto sólido cristalino de color blanco.

b) Protoalcaloides (mescalina y hordenina) Son alcaloides cuyos átomos de nitrógeno derivados de aminoácidos no forman parte del anillo heterocíclico de su estructura. Están formados por anillos cerrados y generalmente son alcaloides de estructura simple, son poco abundantes en la naturaleza y suelen ser derivados de aminoácidos como el L-triptófano y la L-tirosina (Parada, 2021)

c) Los Pseudoalcaloides (Cicutina, capsaicina, efedrina, solanidina, cafeína, teobromina) poseen estructuras carbonadas que no derivan directamente de ningún aminoácido, pero cuya formación está conectada con las rutas metabólicas aminoacídicas, pueden ser derivados del metabolismo de la fenilalanina, de algunos terpenoides y del acetato, así como de alcaloides esteroideos (Roberts, 2013).

2.1.8.3. Los fenoles: Las plantas poseen un alto potencial nutricional y terapéutico, su poder antioxidante es mayor que de la vitamina C y E gracias a los compuestos fenólicos que tiene la capacidad para captar un electrón, estos compuestos también llamados polifenoles son más 8000 moléculas, que poseen en su estructura uno o más hidróxidos (Sandoval, 2020). Entre los más importantes están los flavonoides, las antocianinas, catequinas y epicatequinas (Zapata et al, 2014). También encontramos a los compuestos de los fenilpropanoides que incluye los derivados del ácido hidroxicinámico (cafeico, ferúlico, sináptico y p-cumárico) estilbenoides (resveratrol) y derivados del ácido benzoico, (gálico y algunos ácidos elágicos). Los polifenoles generalmente se encuentran glicosidados (Quiñones, 2010). Los polifenoles se obtienen por síntesis de ácido shikímico y la ruta de los poliacetatos (Avalos, 2003). Las aplicaciones farmacéuticas, de defensa entre otras son considerables, se refieren sus efectos como analgésicos, antibacterianos, antihepatotóxicos, antioxidantes antitumorales, inmunoestimulantes, entre otras (Pérez et al, 2011).

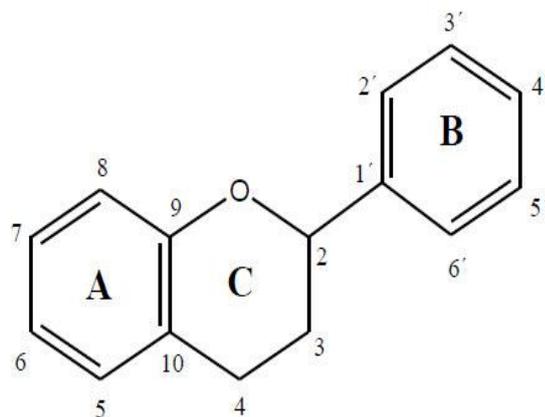


Figura 5. Estructura general de flavonoides. Fuente, (Bach. 2020)

2.1.8.4. Los taninos: Son compuestos químicos polifenólicos, no nitrogenados, se caracterizan por su sabor amargo y astringente, su estructura posee algunos grupos hidroxilicos que le dan solubilidad en agua y la facilidad para formar complejos por tanto son de peso molecular de alto (500 a > 20000 uma) (Bach. 2020). Los complejos que forman los taninos tienen la facilidad de unirse a proteínas y en menor grado con iones metal, aminoácidos y polisacáridos (Vélez et al, 2014). A los taninos se les relaciona con los compuestos utilizados para curtir la piel, Olivas et al (2015) define químicamente a estos compuestos como : “Metabolitos secundarios derivados de plantas que pueden ser ester de ácido gálico o sus derivados unidos a una amplia variedad de polioles, catequina o núcleos triterpenoides [galotaninos (GT), elagitaninos (ET) o taninos complejos], o bien oligómeros o polímeros de proantocianidinas que pueden poseer diferente acoplamiento inter-flavonil u otros patrones de sustitución (TC)”.

Los taninos se pueden clasificar en cuatro grupos: los condensados (TC, origen flavonoide), los hidrolizables (TH, origen no flavonoide) los florotanninos (FT, derivados de algas café) y los taninos complejos. (Sandoval, 2020). Los taninos son abundantes en el reino vegetal predominan en algunas familias (Fabáceas, Mirtáceas), se acumulan en raíces, rizomas, cortezas, hojas y frutos, el ejemplo más conocido de los taninos en frutos

es en las uvas, a las cuales se les atribuye el poder antioxidante y regenerador celular gracias a estos compuestos de tipo polifenólicos (Vásquez, 2012). Los taninos son compuestos activos frente a biomoléculas como antioxidantes y antimicrobianos, también se utilizan como antisépticos y astringentes, tomado en consideración el ultimo beneficios es necesario su consumo en moderadas cantidades porque provoca daño por la baja absorción de proteínas, pues las desnaturalizan, así como su posible efecto pro-oxidante (Rojas et al, 2015).

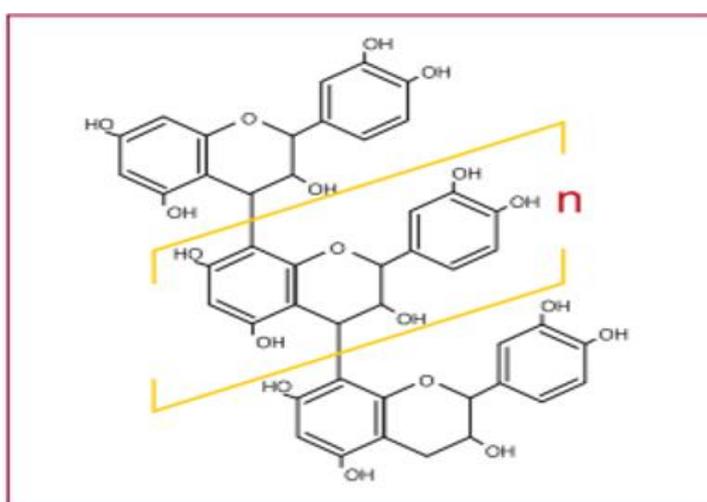


Figura 6. Estructura de tipo Taninos condensados (Olivas, 2015)

2.1.8.5. Las saponinas: Son compuestos de alto peso molecular, están presentes en muchas plantas se caracterizan por la espuma que producen al ponerse en contacto con el agua y agitación por eso su nombre que deriva del latín *sapo* que es jabón (Vélez, 2014). Las saponinas son metabolitos secundarios que se acumulan en las raíces y follaje de plantas, de tipo coloidal, su base es un heterósido (azúcar + aglicón), solubles en agua, poseen una estructura glucosídicos (Sandoval, 2020).

Las saponinas son moléculas constituidas por azúcares de tipo simple de 1 a 5 unidades en forma de acetales, posee un núcleo lipofílico que se lo denomina aglicón,

tienen una estructura esteroide o triterpenoide, enlazados a carbohidratos por enlaces glucosídicos, ver Figura 7 (Navarro, 2019).

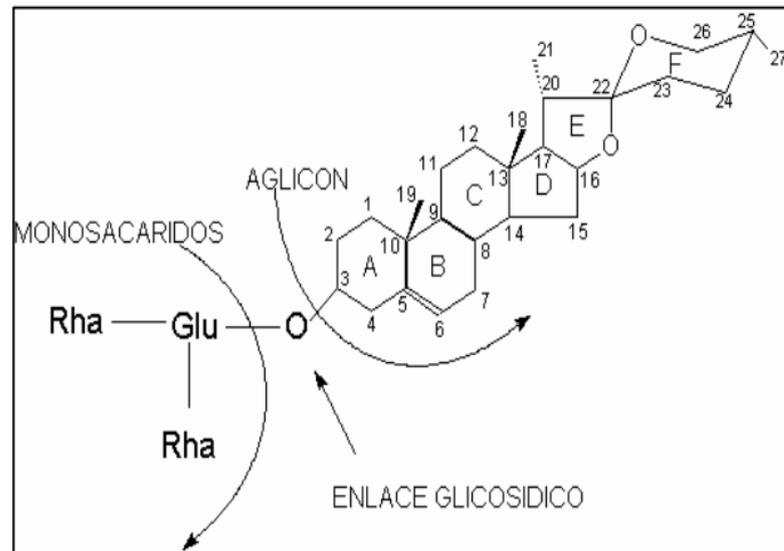


Figura 7. Estructura de la saponina (Usiña, 2017).

Las saponinas disminuyen la tensión superficial por eso forman espuma y se las considera tensoactivas. Se les considera compuestos Heterósido se hidrolizan rápidamente en presencia de un ácido o un compuesto enzimático, descomponiéndose en su aglicón y azúcar (Mena et al, 2015). Al ser suministradas por vía oral las saponinas son muy toxicas debido a sus propiedades hemolíticas produciendo irritación en el tracto digestivo y estómago, también en contacto con la sangre destruyen los glóbulos rojos porque interaccionan con el colesterol de la membrana de los eritrocitos. Valdés (2015) indica: “Las saponinas poseen actividad biológica y farmacológica, destacándose su efecto piscida, insecticida, anti-protozoos, antiinflamatorio, leishmanicida, anti-trichomonas, anti-agregante plaquetario, broncolítico, hipo-colesterolémico, son Ictiotoxicas para los animales de sangre fría como los peces”.

2.1.9. Antioxidantes Naturales: La mayoría de metabolitos secundarios son compuestos químicos con propiedades antioxidantes, se encuentran distribuidos en las

diferentes partes de los vegetales, se caracterizan porque son reactivas con los radicales libres, ya sea neutralizando o formando compuestos radicalarios más estables. En estos últimos años se han enfocado los trabajos de investigación al estudio de los antioxidantes de origen natural, ya que son fáciles de obtener y sin efectos secundarios (Suarez, 2019). Los antioxidantes naturales son los que proviene de los vegetales y como son exógenos, se recomienda el consumo de frutas, verduras, extracto de plantas, rodearse de un ambiente sin estrés y no toxico, en este caso actúan como medicamentos o compuestos preventivos de enfermedades, en tanto que si se consumen los antioxidantes naturales al estar enfermos resultarían reparadores del daño celular producido por la enfermedad. (Guerra, 2016). Los metabolitos secundarios como los compuestos polifenólicos, terpenoides y compuestos nitrogenados como péptidos, aminoácidos, aminas y alcaloides actúan como antioxidantes porque poseen electrones listos para donar y neutralizar a las especies reactivas de oxígeno (Ibarra et al, 2011). Los antioxidantes en la actualidad los podemos encontrar en el mercado tanto los naturales como los sintetizados en los laboratorios, e incluso son aditivos de alimentos funcionales (Suarez, 2019).

2.1.10. Especies reactivas de Oxígeno: Las especies reactivas del oxígeno (ROS) son generadas como una consecuencia del metabolismo aeróbico fisiológico normal (Carvajal, 2019). Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno son moléculas que se generan a partir del metabolismo celular fisiológico; sin embargo, cuando existe un desequilibrio entre la producción de radicales libres y los mecanismos antioxidantes se genera estrés oxidante (Hernández et al, 2019). El estrés oxidante es el resultado de la respuesta inflamatoria asociada a la sepsis que produce cambios en la función mitocondrial y en la microcirculación (Carrillo, 2016). El desbalance entre la producción de los ROS y el sistema de defensa antioxidante en los sistemas vivos ocasiona una ruptura de la función celular y daño (Pacheco, 2019). Las especies reactivas de Oxígeno

son moduladores de las funciones celulares (Hernández et al, 2019). Cuando las concentraciones de ROS son bajas inhibe su participación en la señalización celular, la inducción de la respuesta mitogénica, y en la defensa contra agentes infecciosos (Carvajal 2019), el exceso de los ROS puede alterar la función celular normal y promover el daño irreversible a lípidos, ácidos nucleicos ya proteínas celulares (Pacheco, 2019). Estudios recientes sugieren la existencia de seis especies reactivas de oxígeno (ROS) que provocan daño oxidativo al cuerpo humano: anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales peróxilo (ROO^{\cdot}), radical hidroxilo (HO^{\cdot}), oxígeno (O_2) y peroxinitrito ($ONOO^-$) (Ibarra et al, 2011)

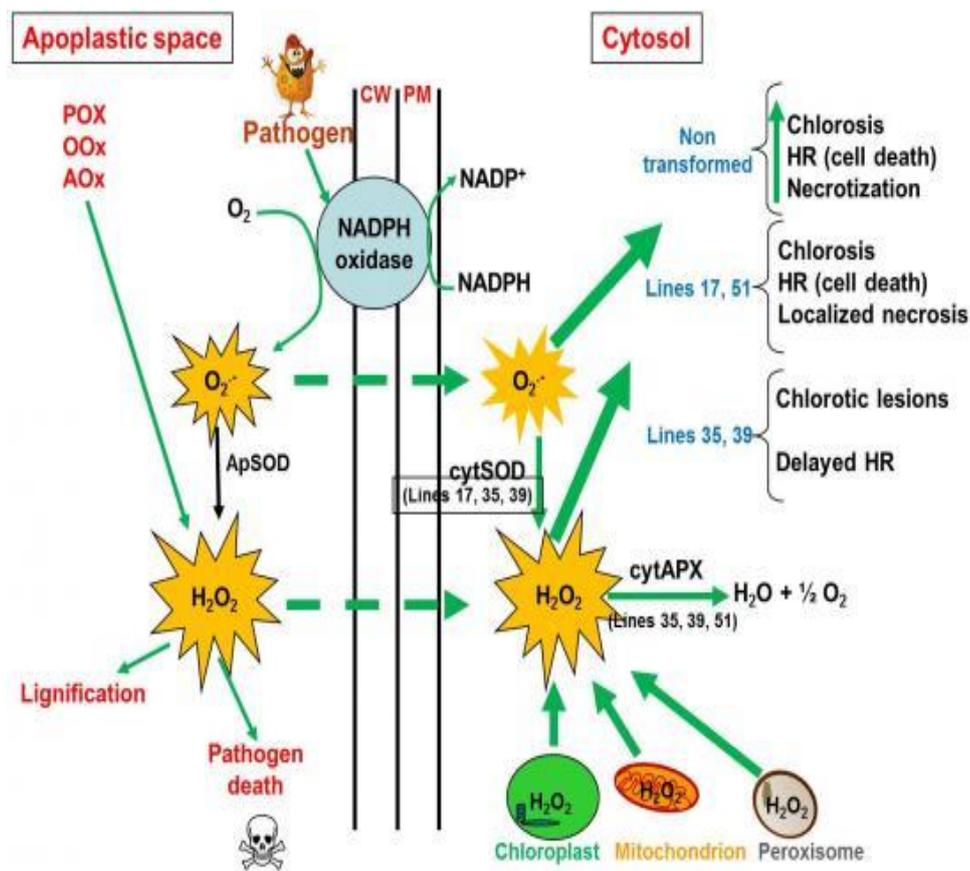


Figura 8. Estrés Oxidativo (Navarro, 2019).

2.1.12. Actividad Antioxidante.

Los organismos aerobios cuentan con sistemas de defensa antioxidante que consta de moléculas específicas, enzimas y secuestrantes químicos (Hernández, 2019). “La primera línea de defensa son las enzimas, que degradan las especies reactivas de oxígeno a moléculas menos agresivas, la superóxido dismutasa (SOD), la cual cataliza la dismutación del radical superóxido para formar peróxido de hidrógeno, la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX), que descomponen al H₂O₂ en oxígeno y agua, entre otras.” Sandoval (2019). La segunda línea de defensa de las especies reactivas de oxígeno son los antioxidantes preventivos, los antioxidantes secuestradores, se caracterizan porque para el proceso de inicio y propagación de la formación de radicales libres y los antioxidantes nutricionales como las vitaminas A, E y C, neutralizan a los radicales libres (Carrillo, 2016; Navarro, 2019). A pesar de los frentes antioxidantes endógenos se da el estrés oxidativo por de las especies reactivas de oxígeno, es necesario antioxidantes naturales o sintéticos de tipo exógeno. (Prada, 2015).

2.1.13. Método DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl).

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede ser cuantificado por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado. El método DPPH es muy utilizado para determinar la actividad antioxidante, midiendo la actividad secuestradora o captadora de radicales libres (Guerra, 2016). Este método se fundamenta en comprobar que un compuesto antioxidante evita la oxidación de un sustrato oxidable por parte de un agente oxidativo. La inhibición o reducción del proceso oxidativo depende de la actividad antioxidante y concentración del compuesto o muestra (Kuskoski et al, 2005)

Método desarrollado por Brand-Williams y otros (1995) ha sufrido ciertas adaptaciones por autores según la información que quieren obtener. El reactivo DPPH es un radical de nitrógeno disponible comercialmente, sumamente sencillo de realizar y aplicar, esto gracias a que únicamente se requiere un espectrofotómetro UV (Torrenegra, 2014). Se basa en la reducción de la absorbancia medida a 517 nm del radical DPPH, por antioxidantes. La solución de DPPH disuelta en metanol o etanol, reacciona con el sustrato antioxidante, el cual dona un átomo de hidrógeno (Figura 10), cambiando de color violeta a amarillo el reactivo DPPH. El cambio de color debe ser monitoreado al instante y 30 minutos, con agitación continua con la ayuda de un espectrofotómetro, esto para la determinación de los parámetros de las propiedades antioxidantes (Tovar del Río, 2013).

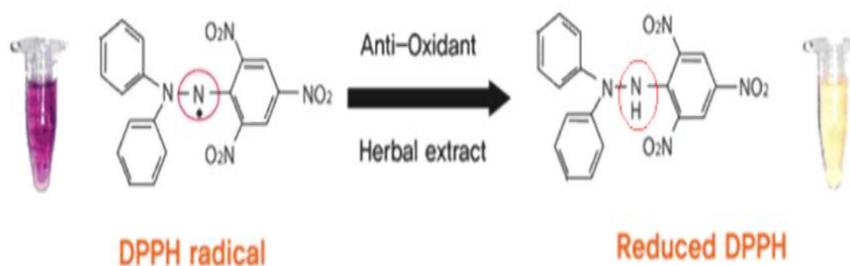


Figura 9. Reacción del radical DPPH con agente oxidante (Pérez, 2016)

2.1.14. Estudio Cualitativo o Tamizaje Químico. Antes de realizar la extracción completa de la muestra a ser analizada, es necesario llevar a cabo pruebas preliminares sencillas y rápidas que permitan detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos. Esto se logra mediante las técnicas de "screening" (tamizaje), que se ayudan de la macroquímica para evidenciar estos grupos de constituyentes mediante formación de precipitados, coloraciones, etc. (CIBE, 2021)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo es de tipo investigativo-experimental, porque los resultados serán obtenidos mediante técnicas específicas, el cual se desarrolló en los laboratorios de Bioproductos de las instalaciones del Centro de Investigación Biotecnológica del Ecuador (CIBE), ubicada en el Campus “Gustavo Galindo V.” de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), cuya ubicación es: Km. 30.5 Vía Perimetral, contiguo a la ciudadela Santa Cecilia, de la ciudad de Guayaquil, donde se obtuvo el extracto etanólico de la muestra vegetal (hojas) de la *Baccharis latifolia* (chilca), se determinó la actividad antioxidante y mediante tamizaje químico cualitativo se identificó los principales metabolitos secundarios.

3.1. Variables.

Variables Dependientes:

- Cantidad de metabolitos secundarios
- Actividad antioxidante.

Variables Independiente:

- Extracto etanólico de las hojas secas de *Baccharis latifolia* (chilca)

3.2 Recolección de material vegetal y secado.

Las hojas de *B. latifolia* fueron recolectadas el día 15 del mes de octubre de 2021, de forma aleatoria, en la Quinta Catalina ubicada en la parroquia Pantaño de la provincia de Chimborazo, posteriormente las hojas se lavaron con abundante agua destilada con unas gotitas de cloro, se dejaron en un lugar aireado para su secado que duro 4 días a temperatura ambiente, hasta poseer peso constante de 50 g de hojas secas (CIBE, 2021)

(Anexo 1).

3.3. Obtención del extracto etanólico de *B. latifolia*.

El extracto etanólico de hojas de *B. latifolia* (chilca), se efectuó por maceración al 20% (20 g de muestra en 100 mL de etanol absoluto) durante 24 horas en un agitador orbital (80 rpm) a temperatura ambiente. Posteriormente, el extracto se filtró a través de papel de filtro Whatman No. 1 y se evaporó a 40 °C mediante el uso de un evaporador rotatorio. El extracto etanólico se conservó a 4 °C. (CIBE, 2021)

3.4. Determinación de la actividad antioxidante empleado el ensayo de DPPH.

Para la determinación de la capacidad antioxidante se aplica el protocolo de laboratorio del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE-ESPOL, 2021). Se siguió el método del radical estable o DPPH desarrollado por Band-Willams y otros (1995) y modificado por Noriega y otros (2015). Se usa el espectrofotómetro Biotek Synergy HTX multi-mode microplate reader with UV-VIS detector (Vermont, USA) (Viteri, et al, 2021).

3.4.1. Preparación de la muestra para la actividad antioxidante

El extracto vegetal de las hojas de *B. latifolia* se reconstituyó en metanol obteniéndose una concentración madre de 1 mg/mL (CIBE, 2021).

3.4.2. Preparación del reactivo DPPH. Se pesó 3.9 m g del radical aforado, previamente tarado y protegido contra la luz. Se disolvió en 100 mL de metanol al 80%. La solución se colocó en un sonicador durante 20 min con la finalidad de lograr una adecuada disolución.

3.4.3. Preparación de la curva de calibración. Se preparó una solución patrón, disolviendo 2 mg de trolox en 10 ml de metanol al 80%, de la cual se preparó una serie de diluciones entre 1 - 10 µg/mL. La preparación se realizó por duplicado

3.4.4. Preparación de la muestra con radical DPPH. A la muestra del extracto etanólico de las hojas de *B. latifolia*, se les adicionó 2.9 mL de la solución de DPPH, se agitó vigorosamente y se mantuvo en obscuridad por 1 h. Se registró la absorbancia a 517 nm después de 30 min.

3.4.5. Mediciones. Previo a la lectura se encendió el espectrofotómetro con alcohol al 96% a una longitud de onda de 517 nm. Al final se midió las absorbancias de la muestra. Las lecturas se las realizó por triplicado. Los resultados se expresaron en µmol equivalente de Trolox (ET)/g de muestra.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia blanco} - \text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia blanco}} * 100$$

3.5. Tamizaje químico cualitativo.

3.5.1. Tratamiento de la muestra. Para el tamizaje químico cualitativo el extracto etanólico se disolvió a una concentración de 5 mg/mL para cada ensayo (CIBE, 2021).

3.5.2. Procedimiento.

Las hojas secas de *B. Latifolia* son sometidas a tres extracciones sucesivas según el esquema de la Fig. 10, a cada extracto I, II y III, se le mide el volumen obtenido y se le calcula su concentración, esto es, gramos de sustancias extraídas por mL de extracto. Para ello tome una alícuota de 5 mL y páselo a una cápsula previamente tarada, evapore

a sequedad en baño de agua y pesa nuevamente. Se procede de igual forma que la técnica descrita para la determinación de sustancias solubles (CIBE, 2021).

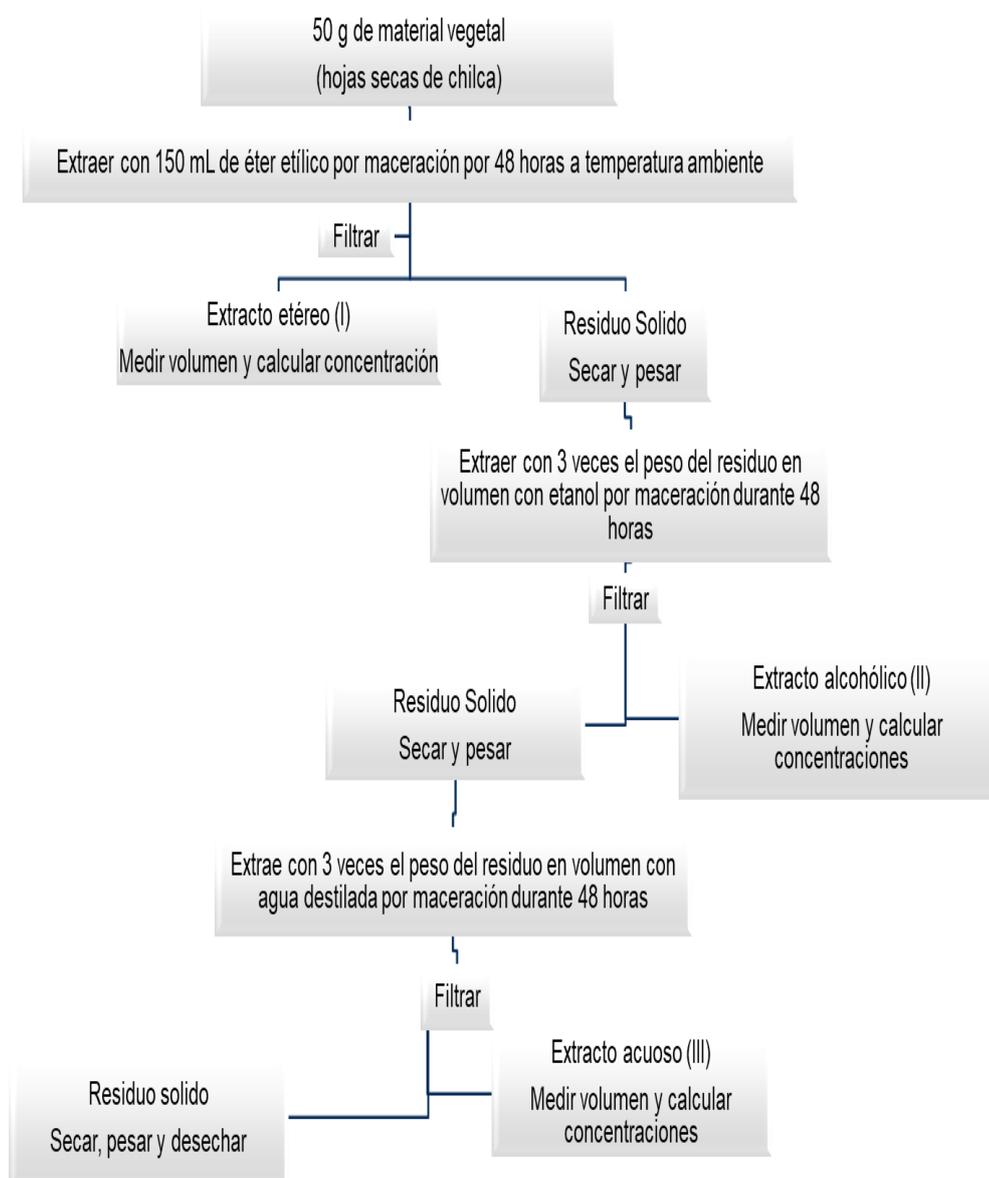


Figura 10. Extracción sucesiva del material vegetal para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico. (CIBE, 2021).

Posteriormente en cada extracto por separado se procede de acuerdo a los esquemas representado en la Figuras 11. En cada caso para realizar los ensayos se procede

de la siguiente forma (Viteri et al, 2021):

3.4.2.1. Ensayo de Dragendorff: Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++). (Manual de laboratorio del Centro de investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, 2021)

3.4.2.2. Ensayo de Mayer: Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++) (Viteri et al, 2021)

Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

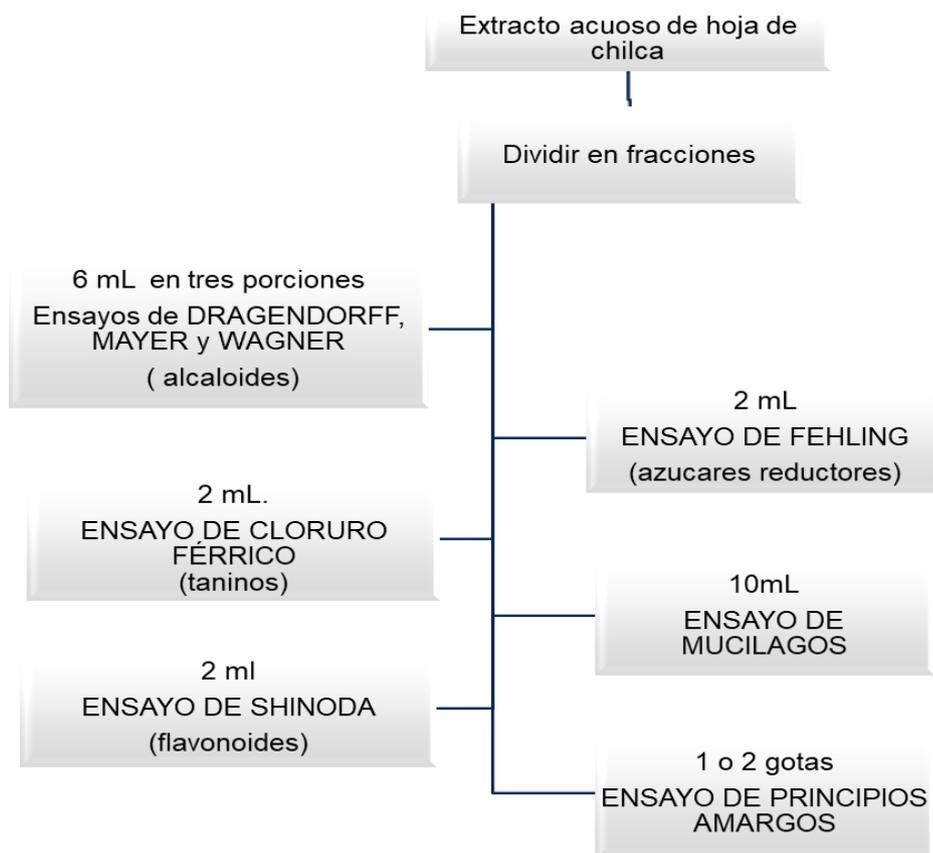


Figura 11. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso. (CIBE, 2021)

3.4.2.3. Ensayo de Wagner: Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 o 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma. Ensayo de Baljet: Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente (CIBE, 2021).

3.4.2.4. Ensayo de Hidroxamato férrico para cumarinas: Una gota del extracto

se coloca en una placa de porcelana y se añade una gota de clorhidrato de hidroxilamina disuelto en etanol al 10 %. Se añaden unas gotas de hidróxido de potasio al 10% en etanol y se calienta a la llama hasta burbujeo, se añaden unas gotas de ácido clorhídrico 0.5 mol/L y una gota de cloruro férrico al 1% en agua. El desarrollo de una coloración violeta (+), claro (++) , intenso (+++).

El reactivo de Baljet se prepara de la siguiente forma:

Solución 1: Hidróxido de sodio al 10 % en agua.

Solución 2: Ácido pícrico al 1 % en etanol.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

3.4.2.5. Ensayo de Borntrager: Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++) (CIBE, 2021)

3.4.2.6. Ensayo de Liebermann-Burchard: Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de

ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración: 1- Rosado-azul muy rápido. 2- Verde intenso-visible, aunque rápido. 3- Verde oscuro-negro-final de la reacción. A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. (CIBE, 2021)

Nota: Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente. La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azules o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes (Manual de laboratorio del Centro de investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, 2021).

3.4.2.7. Ensayo de Fehling: Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5- 10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma: Solución A: Se pesan 35 g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Solución B: Se pesan 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a

la alícuota a evaluar (CIBE, 2021).

3.4.2.8. Ensayo de la espuma: Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroidal como triterpénica. De modo que, si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos (CIBE, 2021)

3.4.2.9. Ensayo del cloruro férrico: Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general (CIBE, 2021).

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

3.4.2.10. Ensayo de la ninhidrina: Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2 % de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5-10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera

positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo (CIBE, 2021).

3.4.2.11. Ensayo de Shinoda: Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos. (CIBE, 2021)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación de actividad antioxidante por método DPPH.

El valor de la actividad antioxidante de la muestra del extracto etanólico de las hojas secas de *Baccharis latifolia* (chilca) medido a 517 nm en espectrómetro Uv-Visible Modelo S-2150 del laboratorio del CIBE de la Escuela Superior Politécnica del Litoral, obtenido es de $83.3 \pm 0,64$ μmol equivalentes de Trolox /g extracto seco) se interpreta como 1 gramo de extracto seco equivale a 83.36 μmol de Trolox. Mientras mayor es el valor, más antioxidante es el extracto del arbusto (Anexo 3. Reporte CIBE). La actividad o poder antioxidante de las hojas de *B. Latifolia* del sector Pantaño del cantón Chambo es media. El resultado obtenido se presenta como valores promedio ($n=9$) \pm desviación estándar (DE).

3.2. Identificación de la composición química

En el extracto etanólico se detectaron triterpenos en mayor cantidad (++), en tanto que las saponinas y flavonoides están presentes en menor cantidad (+) al igual que los azúcares reductores (+) del extracto de *B. latifolia*.

Cuadro 2. Resultado de tamizaje químico cualitativo del extracto *B. latifolia* (chilca).

ANÁLISIS	METABOLITOS	MÉTODO	RESULTADO
Tamizaje químico	Alcaloides	Dragendorff	-
		Mayer	-
		Wagner	-

cualitativo	Lactosa	Baljet	-
	Quinonas	Borntrager	-
	Triterpenos	Lieberman-Burchard	++
	Resina	Resina	-
	Azúcares reductoras	Fehling	+
	Saponinas	Espuma	+
	Aminoácidos	Ninhidrina	-
	Flavonoides	Shinoda	-
		Catequinas	+
Fenoles	FeCl ₃	-	

Comentarios: Interpretación de resultados: (-) Ausente, (+) Presente, (++)

Abundante, (+++) Muy abundante.

3.3. Discusión.

Varios estudios han sido realizados con el fin de determinar la capacidad antioxidante de *B. latifolia* en Bolivia, Perú, Colombia y otros países de Sudamérica, pero en Ecuador no hay investigaciones relacionadas con la actividad antioxidante de este arbusto. En la valoración obtenida de la capacidad captadora de radicales libres

mediante el método DPPH del extracto de *la B. latifolia* de Pantaño- Ecuador, presento una actividad de $83,36 \pm 0,64$ μmol equivalentes de Trolox/g extracto seco, se interpreta como 1 gramo de extracto seco de la hoja de chilca equivale a 83,36 μmol de Trolox. Gaviria et al (2014) en su estudio de la actividad antioxidante por el método DPPH de las plantas cafeteras de Colombia de la familia *Baccharis s p.* obtuvo un valor de 29,80 μmol equivalentes de Trolox/g extracto seco y la valoro como una actividad antioxidante baja, en tanto que Rodríguez et al (2012) en el estudio de la actividad antioxidante por el método DPPH en una muestra de propóleos de Galapa obtuvo un valor de 190,41 μmol equivalente de Trolox/g de extracto seco y la valoro como alta actividad antioxidante. Por los estudios anteriormente mencionados se puede decir que presenta una actividad antioxidante media el extracto de las hojas de la *B. Latifolia* en estudio.

Los resultados obtenidos en esta investigación serán una buena referencia para futuras investigaciones.

La identificación de la composición química por medio del tamizaje químico cualitativo del extracto de las hojas de *Baccharis latifolia* concordó con la realizada por Calle (2017) que mediante la prueba de Liberman-Burchard determino la presencia de Triterpenos en cantidad abundante (++) , en tanto que la presencia de flavonoides (++++) referenciado por Enríquez (2018) correlacionado con el valor obtenido de Flavonoides (catequinas) está presente (+) esto se puede deberse a factores como la diferencia climático composición de suelos, ciclos vegetativos, edad de la planta entre otros la presencia de saponinas en la nuestra de las hojas de la *B. Latifolia* realizada por el método de la espuma (+) es un valor semejante referido por Sandoval (2021). Los azúcares reductores son aquellos que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional) intacto entre estos tenemos glucosa, lactosa, fructosa, maltosa, galactosa, manosa, y mediante el ensayo de Fehling se determinó la presencia (+) en el extracto de etanólico

de la *B. Latifolia* analizada en esta investigación.

Sandoval, (2020) describe metabolitos secundarios que destacan como los compuestos fenólicos tales como los flavonoides específicamente las catequinas como la acacetina, luteomina y quercetina encontramos en mayor cantidad los terpenos como el pineno, felandreno, careno, terpineno, cariofileno entre otros. Entre los flavonoides, podemos enumerar compuestos aislados tales como quercitina, trimetoxiluteolina, hispidulina, apigelina, rhamnazin, entre otros, siendo los principales y mayoritarios la luteolina y la acacetina según lo indica Navarro (2019). Luego, entre los compuestos terpénicos y/o esteroidales, están los monoterpenos (α felandreno, canfeno, componentes del aceite esencial como carquejol, sabineno, β felandreno, mayormente limoneno, etc.), diterpenos (clerodanos, labdanos) y los sesquiterpenos (β -gurjunena, escualeno, eudesmano, componentes del aceite esencial como α -tijueno, α -cadineno, germacreno D, etc.), estos componentes fueron aislados de las partes aéreas de la planta y de su raíz según lo indica Parada (2016).

CAPITULO V

5.1. CONCLUSIONES

- La *Baccharis latifolia* (chilca) es un arbusto autóctono de la región andina de Sudamérica, posee propiedades medicinales, entre las principales son: analgésicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas y también se complementa los beneficios antioxidantes gracias a esta investigación, aplicándola en la prevención y tratamiento de enfermedades producidas por estrés oxidativo a nivel celular.

- La actividad antioxidante por el método DPPH del extracto etanólico de las hojas de *B. Latifolia* obtenido es de $83,36 \pm 0,64$ μmol equivalentes de Trolox/g extracto seco, se le atribuye una actividad antioxidante media, se le da esta valoración tomando en cuenta estudios anteriores en semejantes condiciones (tipo de extracto, área de estudio del arbusto, método usado para la determinación de la actividad antioxidante).

- La *B. latifolia* a más de poseer propiedades medicinales, también se determinó un poder antioxidante medio y se le atribuye este beneficio en especial a metabolitos secundarios como los triterpenos, compuestos fenólicos y catequinas, estos compuestos poseen estructuras capaces de aceptar un radical libre, haciendo que ha nivel metabólico y celular, inhiban, retarden o neutralicen los compuestos excedentes oxigenados radicalarios evitando el daño a nivel celular y con esto enfermedades.

- La chilca es un arbusto accesible y fácil de encontrar en la zona andina

de nuestro país, es necesario tomar en cuenta que para aprovechar las propiedades antioxidantes que posee, se le debe dar un tratamiento previo pues contiene una cantidad moderada de saponinas que son metabolitos secundarios que al ser ingeridos producen toxicidad al ser humano.

5.2. RECOMENDACIONES

Este trabajo serviría de base o plataforma para dar continuidad a la valoración de las propiedades antioxidantes de algunas plantas ancestrales de cierta manera olvidadas o relegadas como la *B. latifolia* o comúnmente conocida como chilca. También se le puede complementar a esta investigación el estudio de las propiedades medicinales, antiinflamatorias de este arbusto ancestral y culturalmente usado en países como Perú y Bolivia y en menor grado en Ecuador.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, R. (2018). Conceptos básicos de los radicales libres y los antioxidantes. Publicado: 1 de agosto de 2018. DOI: 10.5772 / intechopen.76689.
- Avalos, K. Llano. Sgroppo, S.& Avanza, J. (2003). Actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos de origen nacional. FACENA. vol. 19, pp. 11-19, 2003
- Bach, G. (2020). “tamizaje fitoquímico y capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *thymus vulgaris* L. (tomillo). tesis Universidad Privada Autónoma del Sur Facultad de Ciencias de la Salud Carrera Profesional Farmacia Y Bioquímica.
- Bedascarrasbure, E. Maldonado, L. Álvarez, A. & Rodríguez, E. (2004) Contenido de Fenoles y Flavonoides del Propoleos argentino. Bonaerense 23 (3): 369-72 (2004)
- Benítez, G. (2017) Concepto, generalidades, propiedades físico-químicas. Métodos de estudio. Clasificación. Microbotanica-Jaen.
- Bravo, E. (2014). Plantas útiles del Ecuador: Aplicación, retos y perspectiva. Universidad Politécnica Nacional. Editorial Universitaria Abya-yala. IBS: 978-9978-10-168-1.
- Cabrera, J. Jaramillo, C. Dután, F. Cun, J. Garcia, P. & Rojas, L. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. en función de su edad y altura. Bioagro vol.29 no.1 Barquisimeto abr. 2017. versión impresa ISSN 1316-3361
- Calderón, A. (2011). Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal (Risaralda). (Tesis de grado). Pereira: Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira; 2011.
- Calle, A., San Martín, Á., Melgarejo, M., Flores, Y., & Almanza, G. (2017). Evaluation of flavonoid contents and antibacterial activity of five *bolivian Baccharis* species. Bolivian Journal of Chemistry, 34(4), 112–122. http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v34n4/v34n4_a02.pdf

- Cano, A. (2013). Biotransformación de triterpenos con diferentes microorganismos. Versión impresa ISSN 1870-0195. Rev. mex. cienc. farm vol.44 no.2 Ciudad de México.
- Carbonel, K. Suárez, S. Arnao & Salas, A (2016). Características fisicoquímicas y capacidad antioxidante in vitro del extracto de *Gentianella nitida*. *An Fac Medic*, 2016; 77 (4): 333-7.
- Carrillo, R. et al. (2016). Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico. *Rev. Fac. Med. (Méx.)* [online]. 2016, vol.59, n.1, pp.6-18. ISSN 2448-4865.
- Carvajal, C. (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Med. leg. Costa Rica* [online]. 2019, vol.36, n.1, pp.91-100. ISSN 2215-5287
- Castillo, A. (2015). “Síntesis de terpenos bioactivos: Empleo de *Bellardia Trixago* y ciclizaciones biomiméticas” tesis doctoral. Universidad de Granada. ISBN: 978.84.9125-207-8.
- Castillo, S. Salinas, N. León, B. & Sánchez, I. (2006). El libro rojo de las plantas endémicas del Perú: *Gentianaceae* endémicas del Perú. *Rev Per Biol*. 2006; 13 (2), 339s-54s.
- Catálogo de La Vida - Lista de Verificación Anual de 2010: Detalles de La especie, 2010)., Libro Rojo de las Plantas Endémicas de Ecuador – 2000 Valencia, R., N., Pitman, S. Leon-Yanez y P.M. Jorgensen (Eds.) 2000. Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito. Ecuador. <https://www.bibguru.com/es/g/cita-apa-de-libro/>.
- CIBE, 2021. Centro de Investigación Biotecnológica del Ecuador, laboratorios Escuela Superior Politécnica del Litoral. de Plantas Medicinales y Fitoterapia. Lima: Instituto de Fitoterapia Americano; 2003.
- Echavarría, A. D’Armas, H. Nubia, L. Matute, L. Jaramillo, C. Rojas, L. & Benítez, R. (2015) Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. *Ciencia UNEMI* 2016; 9 (20), 29-35.
- Enrique, S. Quispe, E. Amurio, P. Peñaranda, J. Calle, A. Orsag, V. & Almanza, G (2018) Contenidos flavonocidos en las hojas de *Baccharis latifolia*, según el tipo

de hoja, y su dependencia de las propiedades fisicoquímicas de los suelos., Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia., Revista Boliviana de Química, vol. 35, núm. 5, pp. 152-160, 2018.

- Figueroa, S. & Mollinedo, O. (2017) Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* “pitahaya” e identificación de los fitoconstituyentes., Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Wiener.
- Galano, A. (2017) Estrés oxidativo, radicales libres, antioxidantes y... ¿Química Computacional? Boletín de la Sociedad Química de México.
- Gallegos, M. (2016) Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. ISSN: 1609-9419. An Fac med. 2016;77(4):327-32 / <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v77i4.12647>.
- Gaviria, A. Correa, O. Mosquera, J. Niño, N. & Correa, M. (2015) Evaluación de las Actividades Antioxidante y Antitopoisomerasa de Extractos de Plantas de la Ecorregión Cafetera Colombiana. Universidad Militar Nueva Granada. ISSN 1900-4699 • Volumen 11 • Número 1 • Páginas 86-101
- Giurfa, G, Oblitas, J. (2017). Polifenoles, actividad antioxidante, efecto fotoprotector de *Lessonia nigrescens* Bory y desarrollo de una forma dermocosmética. (Tesis de grado). Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Gonzáles, K. Valdés, O. Laguna, A. Díaz, G. (2013) Efecto antioxidante y contenido polifenólico de *Syngonium filiforme* (Cymodoceaceae). Rev Biol Trop. 2010; 59 (1), 465-72.
- Granja, C. (2019) Síntesis de nanopartículas de plata utilizando como agente reductor los flavonoides, polifenoles y azúcares reductores presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Baccharis latifolia* (Chilca). tesis para la obtención del título de Licenciada en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Guerra, A. (2016). Evaluación de la actividad antioxidante bioautográfica de dos variedades de aceites esenciales Andinos, *Clinopodium mun* (Kunt) Kuntze y *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Per. Tesis Universidad Salesiana sede Quito.
- Hernandez, D. et al. (2019) El papel de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno en algunas enfermedades neurodegenerativas. Rev. Fac. Med. (Méx.)

- [online]. 2019, vol.62, n.3, pp.6-19. Epub 16-Oct-2020. ISSN 2448-4865. <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2019.62.3.03>.
- Ibarra, E. Pacheco, M. Garcí, R. San Miguel, R. Ramírez, C. & Soto, M. (2011). Actividad antioxidante de alcaloides de *Erythrina americana* Miller,. Revista fitotecnica mexicana., versión impresa ISSN 0187-7380
 - Kukula-koch, W. (2017) alkalods, In *Pharmacognosy* (pp. 163-198) Academic Press
 - Kuskoski, M. Asuero, A. Troncoso, A. & Mancini-Filho, J. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Sci. Technol* 25 (4) • Dic 2005 • <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
 - León, M. Cedeño, R. Rivero, R. Rivero, J. García, D. Bordón, L. (2018) La teoría del estrés oxidativo como causa directa del envejecimiento celular Descargado el: 30-10-2018 ISSN 1727-897X *Medisur* 699 octubre 2018 | Volumen 16 | Numero 5.
 - Leyva, D. Sigala, J. & Ocampo, I. (2019) Estimación de la riqueza de especies de la familia asteraceae en cuatro áreas prioritarias para la conservación del centro de México utilizando métodos no paramétricos para medir la biodiversidad., Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México. *Botanical Sciences* 98(2): 317-327. 2020. DOI: 10.17129/botsci.2552.
 - Lock, O. (2009). Flora andina y amazónica: un aporte a su conocimiento químico. *Bol Acad Nac Ciencias*. 2009; 3, 34-42.
 - Loja, B. Alvarado, A. Salazar, A. Ramos, E. & Jurado, E. (2017). Cribado fitoquímico del *Baccharis latifolia* (R&P.) Pers. (chilca) *Phytochemical screening of Baccharis latifolia* (R&P.) Pers. (chilca). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2017;22(1) <http://scielo.sld.cu> .
 - Loyola, V. Sanchez, B. canto, B. Gutiérrez, C. & Moren, O. (2004). Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica versión impresa ISSN 0583-7693. *Rev. Soc. Quím. Méx* vol.48 no.1 Ciudad de México.
 - Mostacero, J. Mejía, F. & Gamarra, O. (2002). Taxonomía de las fanerógamos útiles del Perú. Volumen II Trujillo: Editora Normas Legales. 2002:868-70.

- Navarro, B & De la Torre, F. (2019). Actividad antioxidante y antimicrobiana in vitro de los extractos de *Schkuhria pinnata* y *Baccharis latifolia*, tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico,
- Olivas, F. Wall, A. González, A. López, J. Álvarez, E. -Parrilla1 . de la Rosa1, L. & Ramos, A. (2014). Revisión Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez., Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. México. *Nutr Hosp.* 2015;31(1):55-66 ISSN 0212-1611.
- Olivas, F. (2015). Hydrolyzable tannins: biochemistry, nutritional & analytical aspects and health effects. *Nutr. Hosp.* [online]. 2015, vol.31, n.1, pp.55-66. ISSN 1699-5198. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>.
- Olivas, F. Wall, A. González, A. López, J. Álvarez, E. & Ramos, E. (20015). Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. 2 Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. México.
- Ortuño, W. (2019). Determinación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de la chilca (*B. latifolia*) y Cilandro para el control de la *Xanthomona sp.*, en condiciones in vitro. Universidad Politécnica Salesiana.
- Pacheco, Rosario et al. (2016). Calosa y especies reactivas de oxígeno expresadas en hojas de caña de azúcar por daño mecánico de mosca pinta. *Rev. Mex. Cienc. Agríc* [online]. 2019, vol.10, n.spe22, pp.105-114. ISSN 2007-0934. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i22.1862>.
- Parada, R. (2021) alcaloides. Lifeder. Recuperado de <https://www.lifeder.com/alcaloides/>.
- Paredes, F. (2006). Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *Offarm.* 2002; 21 (7) :96-100. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-influencia-los-radicales-libres-el-13034834>
- Pérez, N. & Jiménez, E (2011) Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro., *Biotecnología Vegetal* Vol. 11, No. 4: 195 - 211, octubre - diciembre, 2011., ISSN 1609-1841
- Pérez, S. (2016). Trabajo de Titulación Determinacion de Flavonoides y Actividad Antioxidante de Cladodios de Nopal (*Opuntia ficus-indica*), Universidad de Guayaquil facultad de ciencias químicas.

- Prada, J. Orduz, L. & Coy, E. (2016) *Baccharis latifolia*: Una Asteraceae poco valorada con potencialidad química y medicinal en el Neotrópico., ISSN 1900-4699 Volumen 12 • Número 1 • Páginas 92-105 • 2016
- Prada, J., Ordúz-Díaz, L. L., & Coy-Barrera, E. (2016). *Baccharis latifolia*: una Asteraceae poco valorada con potencialidad química y biológica en el neotrópico. *Revista Facultad De Ciencias Básicas*, 12(1), 92-105. <https://doi.org/10.18359/rfcb.1858>.
- Quiñones, M. Miguel, M. & Aleixander, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp.* [online]. 2012, vol.27, n.1, pp.76-89. ISSN 1699-5198
- Ríos, M. Koziol, J. Haro, X, & Borgtoft, H. (2007) Los estudios etnobotánicos en el Ecuador: escenario actual y desafíos.
- Ríos, M. koziol, M. & Granda, G. (2007) *Plantas Útiles Del Ecuador: Aplicaciones, Retos Y Perspectivas.*, Primera edición: Quito, 3 febrero de 2007 (2.000 ejemplares) ISBN 978-9978-22-684-1
- Rivero, A (2019) Diversidad y distribución de los endemismos de Asteraceae (Compositae) en la Flora del Ecuador., *Collectanea Botanica* 39: e001 enero-diciembre 2020 ISSN-L: 0010-0730 <https://doi.org/10.3989/collectbot.2020.v39.001>.
- Rivero, A. (2020) Diversidad y distribución de los endemismos de *Asteraceae* (*Compositae*) en la Flora del Ecuador., DOI: <https://doi.org/10.3989/collectbot.2020.v39.001>
- Robalino, E. & Guarderas, M. (2015) Eficacia cosmética in vivo de una emulsión formulada a partir del extracto seco de hojas de *Ficus citrifolia*. (Tesis de Maestría). Quito: Universidad Politécnica Salesiana.
- Roberts, M. (2013) *Alkaloids: biochemistry, ecology and medicinal applications*, Springer Science & Business Media.
- Rodríguez, Y. Sánchez Benjamín, S. Rojano, D. Durango, D. Gil, J. Marín, J. (2012) Caracterización Físicoquímica y Evaluación de la Actividad Antioxidante de Propóleos Recolectados en el Departamento del Atlántico, Colombia. Print versión ISSN 0123-4226

- Rojas, L. Jaramillo, C.& Lemus, M. (2015) Métodos Analíticos para la Determinación de Metabolitos Secundarios de Plantas., tesis Universidad Técnica de Machala.
- Romoleroux, K. Cárate-Tandalla, D. Erler, R. & Navarrete, H. (2019). Baccharis latifolia En: Plantas vasculares de los bosques de Polylepis en los páramos de Oyacachi. Versión 2019.0
- Rosero, F. (2020) Obtención y caracterización de polifenoles y flavonoides de extractos de Baccharis macrantha (Chilca) y estudio de su actividad antioxidante y antiinflamatoria. Tesis., Universidad técnica de Ambato.
- San Martín, A. (2019) Identificación, cuantificación y propiedades farmacológicas de flavonoides de Baccharis latifolia (chilca) y Arachis hypogaea (maní). Tesis obtención Maestría en Ciencias Química., Universidad Mayor de San Andrés Facultad de Ciencias Puras y Naturales.
- Sandoval, M. (2021) Análisis de las características fitoquímicas, propiedades farmacológicas, usos y aplicaciones más comunes de la Chilca (Baccharis latifolia) en el Ecuador. Tesis, Universidad Técnica de Ambato., facultad de ciencia e ingeniería en alimentos y biotecnología carrera de ingeniería bioquímica.
- Sepúlveda, J. Porta, G. & Rocha, H. Sosa, L. (2003) La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas., Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 21, núm. 3, diciembre, 2003, pp. 355-363. ISSN: 0185-3309.
- Sequeda, L. (2016). V Congreso Iberoamericano de Productos Naturales XIII Congreso Colombiano de Fitoquímica VIII Congreso Colombiano
- Sierra Carrillo, D. (2019). El demonio anda suelto: El poder de la Cruz de Pericón (1ra ed.). Instituto Nacional de Antropología e Historia.
- Torres, L. (2015). El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal. Scielo, Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas., Obtenido http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000500018&lng=es&nrm=iso&tlng=e.
- Troncoso, L. Guija, E & Quiroz, K (2003) Capacidad antioxidante del chimichurri y sus componentes. Segundo Congreso Internacional FITO y 2do Congreso Peruano
- Usiña, K. (2017) Análisis de las propiedades surfactantes de saponinas obtenidas

de los frutos de *Sapindus Saponaria* L., Trabajo de investigación presentado como requisito previo para la obtención del Título de Químico Farmacéutico., Universidad Central del Ecuador Facultad de Ciencias Químicas carrera de Química Farmacéutica.

- Valarezo, E. Rosillo, M. Cartuche, L. Malagón, O. Meneses, M. & Morocho, V. (2013). Chemical composition, antifungal and antibacterial activity of the essential oil from *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. (Asteraceae) from Loja, Ecuador. *Journal of essential oil research*, 25(3), 233-238.
- Vázquez, A. Álvarez, E. López, J. Wall, a. De la Rosa, L (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Revista Tecnociencia*, Vol. VI, No. 2 • Mayo-Agosto 2012.
- Vélez, M, Campos, R. & Sánchez, R. (20014). Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal,. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17 (2014): 489 – 499
- Vicharra, A. & Castro, A. (2017) Polifenoles Y Actividad Antioxidante Del Extracto Alcohólico de *Taraxacum officinale*., Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú
- Villaseñor, J. (2018). Diversidad y distribución de la familia Asteraceae en México. *Botanical Sciences* 96: 332-358. DOI: <http://dx.doi.org/10.17129/botsci.1872>
- Viteri, R. Giordano, A. Montenegro, G & Zacconi, F. (2021): *Eucryphia cordifolia* extracts: Phytochemical screening, antibacterial and antioxidant activities, *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2021.1960525
- Zapata, S. Piedrahita, A. & Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales de oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas En Nutrición Humana*, 16(1), 25–36. Recuperado a partir de <https://revistas.udea.edu.co/index.php/nutricion/article/view/20310>

ANEXOS

Anexo 1.

Recolección hojas de *Baccharis latifolia* de sector Pantaño.



Anexo 2.

Espectrofotómetro utilizado en determinación de actividad antioxidante DPPH. Biotek Synergy HTX multi-mode microplate reader with UV-VIS detector (Vermont, USA) Modelo S-2150, 4 nm Banda de paso, Rango de longitud de onda: 200 ~ 1000 nm, Cambio automático de longitud de onda, Pantalla LCD grande y teclado. Programable. Completo con 4 posiciones 0.394 in, Puerto USB, Puerto Rs-232, Cubierta contra el polvo, Manual del usuario. Entrada de energía 100-240V S-2150V 0UV.



Anexo 3.

Informe de análisis de laboratorio CIBE.

Guayaquil, 06 de diciembre de 2021
OFICIO CIBE-0103-2021

Señora
Catalina Miranda
Ciudad.-

De mi consideración:

En atención a lo solicitado mediante Propuesta Técnico-Económica de Servicios Especializados No. BP-032B-2021 y BP-039-2021, anexo al presente, dos reportes de laboratorio, de acuerdo al siguiente detalle:

Nombre del servicio:	Determinar actividad antioxidante y extracción de muestra vegetal de chilca
Método de análisis:	Espectrofotometría UV-Vis Actividad antioxidante empleando el ensayo de 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH)
Laboratorio encargado:	Bioproductos y Bioprocesos

Nombre del servicio:	Determinar la presencia de familias de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de muestra vegetal de chilca.
Método de análisis:	Tamizaje químico cualitativo
Laboratorio encargado:	Bioproductos y Bioprocesos

Agradecemos su confianza y esperamos poderle servir en un futuro cercano.

Atentamente,
JUAN MANUEL
CEVALLOS
CEVALLOS

Juan Manuel Cevallos, PhD.

Director General

Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
Escuela Superior Politécnica del Litoral

Firmado digitalmente por JUAN
MANUEL CEVALLOS CEVALLOS
Fecha: 2021.12.06 23:41:35
-05'00'



Adj: 2 Reportes de laboratorio
Cc: Archivo

Elaborado por: Reina Nollivos Morán



N° de Reporte: BP-032B-2021

FECHA: Diciembre 06, 2021

REPORTE DE LABORATORIO

Identificación del Cliente	
Nombre del solicitante: Catalina Miranda	
RUC:	Empresa:
Teléfono:	e-mail: rociomir10@hotmail.com
Dirección:	

Detalles de la muestra analizada	
Nombre: Hojas de chilca	Tipo de muestra: Sólido
Número de muestras: 1	Empaque: 1 caja de cartón
Fecha de recepción: 16/11/2021	Fecha de pruebas: 29/11/2021
Análisis: Actividad antioxidante empleando el ensayo de 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH).	Método: Espectrofotometría UV-Vis

RESULTADOS

Preparación de extracto etanólico:

El extracto etanólico de hojas de chilca, se efectuó por maceración al 20% (20 g de muestra en 100 mL de etanol absoluto) durante 24 horas en un agitador orbital (80 rpm) a temperatura ambiente. Posteriormente, el extracto se filtró a través de papel de filtro Whatman No.1 y se evaporó a 40 °C mediante el uso de un evaporador rotatorio. El extracto etanólico se conservó a 4 °C.

Para la actividad antioxidante el extracto etanólico se disolvió a una concentración de 1 mg/mL.

Muestra	Actividad Antioxidante ± DE	Unidades
Extracto etanólico de hojas de chilca	83.36 ± 0.64	µmol equivalentes de Trolox/g extracto seco

Comentarios:

- Los resultados emitidos en este informe corresponden únicamente a las muestras recibida por el laboratorio.
- Los resultados obtenidos se presentan como valores promedio (n=9) ± desviación estándar (DE).



Patricia
Manzano
Santana

Firmado digitalmente
por Patricia Manzano
Santana
Fecha: 2021.12.06
14:36:22 -05'00'

Patricia Manzano Santana, Ph.D.
Docente - Investigador
Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
Escuela Superior Politécnica del Litoral



Firmado digitalmente por:
**RAFAEL ANTONIO
VITERI
ESPINOZA**

Rafael Viteri, M.Sc.
Analista de Laboratorio de Investigación 2
Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
Escuela Superior Politécnica del Litoral



N° de Reporte: BP-039-2021

FECHA: Diciembre 06, 2021

REPORTE DE LABORATORIO

Identificación del Cliente	
Nombre del solicitante: Catalina Miranda	
CI:	Empresa:
Teléfono:	e-mail: rociomir10@hotmail.com
Dirección:	

Detalles de la muestra analizada	
Nombre: Hojas de chilca	Tipo de muestra: Sólido
Número de muestras: 1	Empaque: 1 caja de cartón
Fecha de recepción: 16/11/2021	Fecha de pruebas: 25/11/2021

RESULTADOS

Para el tamizaje químico cualitativo el extracto etanólico se disolvió a una concentración de 5 mg/mL para cada ensayo.

Análisis	Metabolitos	Método	Resultados
Tamizaje cualitativo	Alcaloides	Dragendorff	-
		Mayer	-
		Wagner	-
	Lactonas	Baljet	-
	Quinonas	Borntrager	-
	Triterpenos	Liebermann-Burchard	++
	Resinas	Resinas	-
	Azúcares reductores	Fehling	+
	Saponinas	Espuma	+
	Aminoácidos	Ninhidrina	-
	Flavonoides	Shinoda	-
		Catequinas	+
Fenoles	FeCl ₃	-	

Comentarios:

- Interpretación de resultados: (-) Ausente, (+) Presente, (++) Abundante, (+++) Muy abundante.



- Los resultados emitidos en este informe corresponden únicamente a las muestras recibidas por el laboratorio.

Patricia
Manzano
Santana

Firmado digitalmente
por Patricia Manzano
Santana
Fecha: 2021.12.06
14:34:48 -05'00'

Patricia Manzano Santana, Ph.D.

Docente - Investigador
Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
Escuela Superior Politécnica del Litoral



Firmado digitalmente por
**RAFAEL ANTONIO
VITERI
ESPINOZA**

Rafael Viteri, M.Sc.

Analista de Laboratorio de Investigación 2
Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
Escuela Superior Politécnica del Litoral