

Estudio preliminar de la fitotoxicidad de la especie nativa boliviana melendrillo (*Gochnatia boliviana*)

Vivian Vargas Yapur; Paul d'Abzac

Centro de Investigación en Ciencias Exactas e Ingenierías (CICEI),
Universidad Católica Boliviana "San Pablo"

E mail: pdabzac@ucb.edu.bo

Resumen. Con el fin de profundizar en el conocimiento de la flora boliviana, se decidió realizar el estudio preliminar de fitotoxicidad del melendrillo (*Gochnatia boliviana*). Se trabajó con el rebrote (hojas y tallos) y parte media más baja de la planta (hojas y tallos). En la investigación se obtuvieron extractos crudos de flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y triterpenoides usando diferentes condiciones de operación. Se realizaron pruebas de color que confirmaron la presencia de flavonoides y lactonas sesquiterpénicas. Con ayuda de un análisis por espectroscopia infrarroja (IR) se identificó la presencia de grupos policíclicos aromáticos y funciones alcohol. Finalmente, se realizó un ensayo de fitotoxicidad del melendrillo sobre *Bacillus subtilis*. Los resultados indicaron que el potencial tóxico y las familias de moléculas estudiadas, se encuentran principalmente en las hojas y está relacionado a estos tres metabolitos.

Palabras clave: Fitotoxina; Arbusto endémico; Extracción; Moléculas; Metabolitos secundarios

Abstract: Preliminary study of the phytotoxicity of the Bolivian native species *Gochnatia boliviana* (melendrillo). To increase the knowledge of Bolivian flora, a preliminary study of the phytotoxicity of *Gochnatia boliviana* (known as "melendrillo") has been carried out. The study worked with the regrowth (leaves and stems) and lower middle part of the plant (leaves and stems). For the research, crude extracts of flavonoids, sesquiterpenoid lactones and triterpenoids were obtained under different operating conditions. Color tests have confirmed the presence of flavonoids and sesquiterpene lactones. A spectroscopy infrared (IR) analysis allowed the identification of polycyclic aromatic groups and alcohol functions. Finally, a "melendrillo" phytotoxicity test has been carried out on *Bacillus subtilis*. The results have indicated that the toxic potential and the families of studied molecules are mainly associated with the leaves and it is related to these three metabolites.

Keywords: Phytotoxicity; Endemic shrub; Extraction; Molecules; Secondary metabolites

Introducción

Las sustancias fitoquímicas presentes en las plantas, sirven para compensar a los animales polinizadores y distribuidores de semillas. Las plantas desarrollaron un mecanismo de defensa para protegerse de insectos, bacterias, hongos, mamíferos y seres humanos a través de la síntesis de

una variedad de bio compuestos químicos que son almacenados en sus tejidos vegetales, conocidos como "fitotoxinas" (Vetter, 2000).

El melendrillo (*Gochnatia boliviana*) (Cuadro 1) es un arbusto endémico de Bolivia que crece en el Cono Sur de Cochabamba. Este arbusto es consumido

por el ganado del lugar, provocando heridas en la piel que si no son curadas a tiempo conlleva a problemas mayores. Por ese motivo, los ganaderos del lugar se ven afectados al tener como principal fuente de ingresos los productos obtenidos gracias a estos animales.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del melendrillo

Reino:	Vegetal
Clase:	Equisetopsida C. Agardh
Subclase:	Magnoliidae Novák ex Takht
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae Bercht. YJ. Presl
Género:	<i>Gochnatia</i> Kunth
Especie:	<i>Gochnatia boliviana</i> SF. Blake
Nombre común:	Melendrillo

Fuente: *Entrevista a la Botánica Mgr. Nelly de la Barra*

La mayoría de las fitotoxinas caracterizadas hasta la fecha, son usualmente compuestos de bajo peso molecular, denominados metabolitos secundarios (fenoles, polifenoles, quinonas, oxalatos, glucósidos, etc.) o péptidos y proteínas (Ibanez *et al.*, 2012) que participan en las plantas a nivel fisiológico y ecológico (Almaraz *et al.*, 2006). Adicionalmente, actúan alterando mecanismos específicos que involucran enzimas, receptores e incluso material genético, en células y ciertos tejidos.

A pesar que muchas plantas exhiben actividad fitotóxica, relativamente pocas fitotoxinas han sido aisladas, completamente caracterizadas, y menos aún, sintetizadas. Además, pese a ser Bolivia considerada como uno de los países con ma-

yor biodiversidad, la investigación sobre su flora y en especial de sus plantas tóxicas, ha sido escasamente estudiada a comparación de otros países (Rosember, 2017).

Debido a que no existen referencias sobre la fitotoxicidad del melendrillo, es importante realizar un estudio fitotóxico preliminar, que permita determinar cuáles son los metabolitos secundarios presentes y en qué parte de la planta se encuentran los responsables de la actividad tóxica. Esta investigación tiene la finalidad de contribuir a la investigación fitoquímica de plantas endémicas del país y al desarrollo eventual de nuevos productos químicos.

Materiales y métodos

La ejecución de esta investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la Universidad Católica Boliviana “San Pablo”. El trabajo se desarrolló con material vegetal de melendrillo (*Gochnatia boliviana*, Figura 1), recolectado en Pasorapa en el mes de enero del año 2021.



Figura 1. Detalle de *Gochnatia boliviana* (melendrillo) recolectado en Pasorapa

El estudio de la fitotoxicidad se llevó a cabo en tres etapas:

- (1) Extracción de los metabolitos de la planta.
- (2) Identificación de la familia de las moléculas tóxicas.
- (3) Evaluación de la toxicidad de los extractos sobre *Bacillus subtilis*.

Extracción de los metabolitos de la planta

Los análisis se realizaron con las siguientes muestras: *hojas rebrote*, *hojas parte media y baja de la planta*, *tallos rebrote* y *tallos parte media y baja*.

Las muestras fueron secadas en un liofilizador a -65°C , por 10 días. Se molió en un molino eléctrico y se tamizó en un tamiz hasta obtener fragmentos inferiores a $600\ \mu\text{m}$, para mejorar la eficiencia de extracción.

Se llevó a cabo la extracción de dos familias de metabolitos secundarios: flavonoides y terpenos (dentro de la cual se buscó extraer distintamente triterpenoides y lactonas sesquiterpénicas). Ambas familias fueron seleccionadas, debido a que después de revisar en literatura, se evidenció que estos grupos de compuestos se encuentran en mayor cantidad en plantas del género *Gochnatia*. Se trabajó con dos técnicas de extracción combinadas: maceración y ultrasonido.

- *Extracción de flavonoides con 2 solventes de manera secuencial: acetona 50 % y EtOH 60 %*. Se trabajó en el equipo de ultrasonido (UAE) con 3 g de cada muestra en 60 ml acetona, 60 minutos, 50°C (Saifullah *et al.*, 2020). Se filtró. Se separó la acetona en un *baño maría* a 56°C y el residuo sólido se secó en un horno a la

misma temperatura. Se extrajo los flavonoides del residuo seco con 60 ml de etanol 60%, 20 min, 25°C en el UAE (Wang *et al.*, 2012). Se filtró y en un *baño maría* se separó el etanol a 75°C . Este proceso se realizó una vez más; ambos extractos se juntaron, liofilizaron y guardaron a 4°C para posteriores análisis.

- *Extracción de lactonas sesquiterpénicas con 3 solventes secuencialmente: éter de petróleo, cloroformo y etanol 70%*. Se remojó 3 g de cada muestra 20 ml de éter, dos días, 4°C y se filtró. El éter de petróleo se evaporó del filtrado y del residuo sólido en un horno a 40°C . Los residuos sólidos secos se remojaron en cloroformo (3 g en 25 ml) y se extrajo las lactonas a 55°C , 60 min en el UAE. El cloroformo se eliminó del filtrado en un *baño maría* a 60°C y del residuo sólido en un horno a la misma temperatura. Para la extracción con etanol al 70% , se trabajó con 60 ml en el UAE a 30 min, 25°C (Trendafilova *et al.*, 2010). Se filtró, se evaporó el solvente en un *baño maría* a 75°C , se liofilizó y se guardó el extracto a 4°C para posteriores análisis.

- *Extracción de triterpenoides con dos solventes secuencialmente: éter de petróleo y EtOH al 70%*. Se remojó 2 g de cada muestra en 25 ml de éter, dos días, 4°C y se filtró. El mismo proceso se repitió 3 veces más con éter y se juntó el filtrado de las 4 extracciones. El éter de petróleo se eliminó en un *baño maría* a 40°C y del residuo sólido en un horno a la misma temperatura. Para la extracción con etanol al 70% por UAE: 48 ml de solvente, 50 min, 25°C (Wei *et al.*, 2015). Los extractos se filtraron, se juntaron y con ayuda del rotavapor y al vacío se separó el etanol del extracto a 40°C . Los extractos se liofilizaron y guardaron a 4°C para posteriores análisis.

Identificación de la familia de las moléculas tóxicas

Análisis fitoquímico cualitativo. Los extractos fueron sometidos a análisis fitoquímicos para detectar la presencia de flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y triterpenoides utilizando procedimientos cualitativos estándar:

a) *Flavonoides: Reactivo Shinoda*

Procedimiento I: añadir polvo de magnesio y unas gotas de HCl concentrado a una solución alcohólica de la muestra. Antes de agregar el ácido, es aconsejable agregar alcohol t-butílico para evitar una reacción violenta. Las flavonas, flavonoles, los derivados 2,3-dihidro y las xantonas producirán colores naranja, rosa, rojo o púrpura.

Procedimiento II: el mismo procedimiento anterior, pero, en lugar de magnesio, utilizar zinc. Si la solución torna a un color rojo intenso a magenta, hay presencia de flavanones. Los flavanones y los flavonoles darán un color rosa débil a magenta, o ningún color.

b) *Lactonas sesquiterpénicas: Reactivo de Baljet*

Preparación solución I: disolver 1 g de ácido pícrico en 100 ml de etanol.

Preparación solución II: 10 g de NaOH en 100 ml de agua.

Procedimiento: mezclar la solución I y II (1:1) antes de su uso y añadir de dos a tres gotas a 2-3 mg de muestra. La reacción es positiva cuando la solución torna a un color de naranja a rojo intenso.

c) *Triterpenoides: Test de Liebermann-Burchard*

Preparación de la solución: mezclar 1 ml de anhídrido acético y 1 ml de CHCl_3 , enfriar a 0°C y agregar una gota de H_2SO_4 concentrado.

Procedimiento: Agregar la muestra (sólida o en solución de CHCl_3) a la solución anterior. Los colores azul, verde, rojo o naranja indicarán un resultado positivo. Se observará un color azul-verdoso intenso máximo después de 15-30 minutos.

Análisis por Espectroscopía Infrarroja (IR)

Para concluir esta etapa, se realizó la identificación de ciertos grupos funcionales característicos de algunos de los componentes de los extractos, los espectros se obtuvieron en un espectrofotómetro empleando como *background* una solución de cloroformo. Se trabajó en un rango de longitud de onda de 400 - 4000 nm.

Evaluación *in vitro* de la actividad fitotóxica de los extractos vegetales aislados

La evaluación *in vitro* se realizó sembrando, con la técnica de siembra en superficie, la bacteria *Bacillus subtilis* en Plate Count Agar (PCA). La cepa de la bacteria fue adquirida de la Facultad de Agronomía del Laboratorio de Microbiología Agrícola de la Universidad Mayor de San Simón. Se evaluó la actividad fitotóxica de cada extracto sobre *Bacillus subtilis* con el método de orificio sobre agar. Se hicieron cuatro orificios de 8 mm de diámetro y se depositaron diferentes cantidades de los extractos (triterpenoides, lactonas sesquiterpénicas y flavonoides). Los orificios fueron sellados con el mismo agar y se incubó durante 24 horas, 28°C (Jiménez *et al.*, 2018).

Las pruebas se realizaron por triplicado.

Resultados y discusión

Según diversos autores reportados por Zhang *et al.* (2017), las catorce especies del género *Gochnatia* en América del Sur, que han sido estudiadas fitoquímicamente, revelaron la presencia de abundantes sesquiterpenos, triterpenoides y flavonoides, y limitados diterpenos, cumarinas y ligninas. Por lo tanto, se decidió trabajar con los metabolitos secundarios, mayoritarios en este género.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados del rendimiento másico de cada extracto obtenido. Se observa que se obtuvieron mayores rendimientos de extracción en las hojas (rebrote y parte media+baja).

Se deduce que las diferencias de rendimiento, entre la extracción de hojas y tallos, es debido a que las moléculas están más concentradas en las hojas de la planta. Además, los materiales más duros del tallo, pueden limitar la liberación de los metabolitos al momento de la extracción.

• Flavonoides

Los rendimientos de extracción de flavonoides en la literatura varían dependiendo de varios factores, entre estos, el tipo de solvente. Por ejemplo, se informó que la acetona es el mejor disolvente para extraer flavonoides en melón amargo (*Momordica charantia*) (Tan *et al.*, 2014) y de *Tagetes patula* (planta herbácea de la familia Asteraceae) (Munhoz *et al.*, 2014), mientras que para Sambandam *et al.* (2016), el extracto etanólico de *Trigonella foenumgraecum* tuvo el mayor contenido de flavonoides.

En el caso de esta investigación, se obtuvo mayores rendimientos de extracción empleando acetona, lo que concuerda con el estudio de Vankar y Srivastava (2010).

• Lactonas sesquiterpénicas

Según Strapasson *et al.* (2012), las lactonas sesquiterpénicas se encuentran abundantemente en el género *Gochnatia*. Las lactonas sesquiterpénicas son encontradas mayormente en las hojas y las flores de las plantas (Chadwick *et al.*, 2013).

Cuadro 2. Rendimientos de las extracciones de flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y triterpenoides

	Solvente	Hojas rebrote	Hojas parte media+baja	Tallos rebrote	Tallos parte media+baja
Flavonoides	Acetona 50%	33.98	18.02	11.37	14.88
	Etanol 60%	10.11	5.69	1.46	2.90
Lactonas sesquiterpénicas	Éter de petróleo	0.51	2.29	0.52	0.46
	Cloroformo	5.55	1.79	1.02	2.46
	Etanol 70%	10.37	10.41	4.64	3.44
Triterpenoides	Éter de petróleo	1.28	1.77	0.76	1.24
	Etanol 70%	14.99	14.16	5.09	11.30

Los rendimientos de extracción más altos en estos órganos de la planta, confirman este hecho.

La extracción éter de petróleo, a pesar de tener una buena disolución de la lactona en este solvente, no es muy específica (Lapkin *et al.*, 2010).

Para la extracción con cloroformo, Catalan *et al.* (2003) obtuvo un rendimiento de extracción de 4.1% por maceración al estudiar las hojas de *Gochnatia polymorpha* ssp. *polymorpha*, valores similares a la extracción en las hojas de este estudio.

Los rendimientos de extracción en crudo de lactonas sesquiterpénicas, con etanol 70%, son los más altos, comparando con éter de petróleo, tal como fue reportado por Trendafilova *et al.* (2010).

- **Triterpenoides**

La extracción con éter de petróleo llevó a rendimientos hasta 10 veces menor a la extracción con etanol 70%. Eso se puede deber a la gran volatilidad del solvente. Los rendimientos con el solvente polar (etanol) son mucho mayores, indicando la alta afinidad que tienen las muestras en este solvente. Según Ludwiczuk *et al.* (2017) los disolventes polares como el etanol, conducen a la extracción favorecida de glucósidos triterpenoides.

Identificación de los extractos de la planta

- **Análisis fitoquímico cualitativo**

En esta parte se realizaron los test cualitativos de color de los tres metabolitos de estudio.

Los resultados de las pruebas se presentan en el Cuadro 3. Como se puede ver, todos los tests cualitativos permitieron validar la presencia o ausencia de los metabolitos en los extractos.

En el caso de los flavonoides, los test con Mg y Zn permiten discriminar diferentes tipos de moléculas. Los resultados muestran que las dos técnicas de extracción probadas, permiten la extracción de moléculas diferentes. Así el etanol no ha extraído flavonas, flavonoles, los correspondientes derivados 2,3-dihidro y las xantonas. Eso permite explicar la diferencia de rendimiento de extracción obtenida. Dado que el etanol es un solvente más selectivo, el rendimiento de extracción es menor al rendimiento de la extracción con acetona.

- **Análisis por espectroscopía infrarroja (IR)**

El análisis infrarrojo permite identificar los grupos funcionales de las moléculas presentes en los extractos. La Figura 2 muestra los espectros de los tres metabolitos para compararlos.

La mayor parte de los grupos funcionales identificados son comunes a los tres metabolitos debido a las estructuras moleculares básicas parecidas.

Las listas de los grupos funcionales se presentan en el Cuadro 4. Los grupos identificados reflejan el carácter policíclico aromático de los metabolitos y una gran riqueza de funciones alcohol.

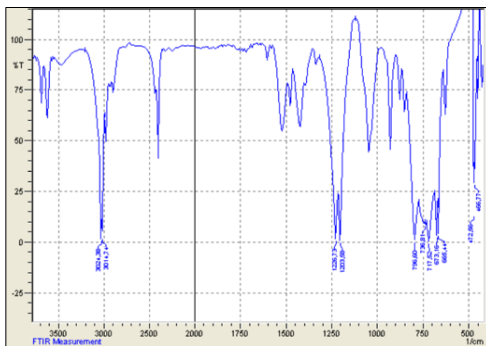
Cuadro 3. Pruebas fitoquímicas de color de los extractos de diferentes partes del melendrillo (*Gochnatia boliviana*)

	Solvente		Hojas rebrote	Hojas parte media+baja	Tallos rebrote	Tallos parte media+baja
Flavonoides	Acetona 50 %	Mg	+	+	+	+
		Zn	+	+	+	+
	Etanol 60 %	Mg	-	-	+	+
		Zn	+	+	+	+
Lactonas sesquiterpénicas	Éter de petróleo		+	+	+	+
	Cloroformo		+	+	+	+
	Etanol 70 %		+	+	+	+
Triterpenoides	Éter de petróleo		+	+	+	+
	Etanol 70 %		+	+	+	+

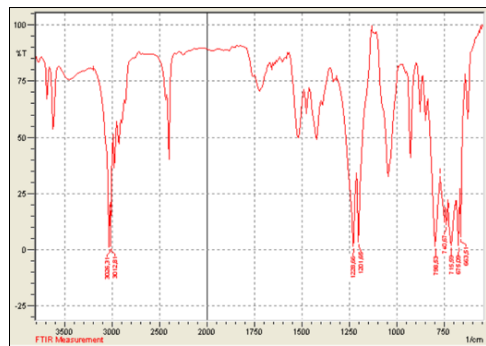
+ Presencia del metabolito

- Ausencia del metabolito

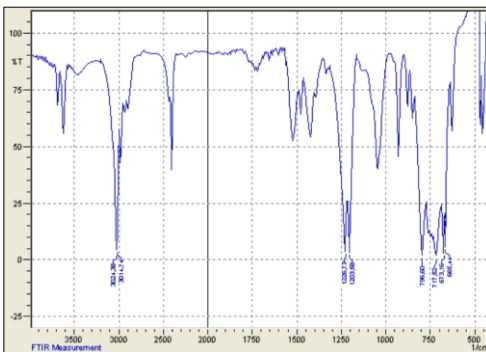
a)



b)



c)



a) extracto de flavonoides con acetona 50% de las hojas rebrote

b) extracto de lactonas sesquiterpénicas con cloroformo de las hojas rebrote

c) extracto de triterpenoides con etanol 70% de las hojas rebrote

Figura 2. Espectros infrarrojos (IR) obtenidos para los tres extractos de *Gochnatia boliviana* (melendrillo)

Cuadro 4. Longitudes de onda con sus respectivos grupos funcionales

λ (cm ⁻¹)	Grupos funcionales
3700	O-H (estiramiento OH)
3600	O-H (Grupo hidroxilo no enlazado, estiramiento OH)
3450	O-H (estiramiento dimérico)
3024.38	C-H (estiramiento aromático)
3014.74	=C-H (estiramiento olefínico: lípidos insaturados)
2400	O-H (resonancia de estiramiento de los ácidos carboxílicos)
1525	Anillos aromáticos (vibraciones de anillo aromático de bencenos paradisustituídos, orto y metadisustituídos)
1475	C-C (en anillo, aromáticos)
1425	C-O
1203.58	C-O (estiramiento C-O)
1050	C-O
925	O-H (ácidos carboxílicos)
850	=C-H
796.60	=C-H (flexionado)
736.81	C-H (anillo aromático)
717.52	C-H (flexión fuera del plano)

Se notaron dos diferencias en los espectros: la ausencia de la banda a 1600 cm⁻¹ (C=C aromático) en el extracto de lactonas y de la banda a 1725 cm⁻¹ (C-H de cadenas hidrocarbonadas saturadas) en el extracto de flavonoides. Debido a la poca selectividad de las técnicas de extracción de estas moléculas, y por la gran similitud entre las moléculas que se están estudiando, se requiere una etapa de purificación para poder utilizar la espectrometría IR como técnica de identificación de los metabolitos.

Evaluación *in vitro* de la toxicidad de las familias de metabolitos secundarios extraídos

El ensayo de fitotoxicidad utilizando *Bacillus subtilis* como organismo de prueba (Figura 3), fue la última etapa del estudio para determinar metabolitos responsables de la toxicidad de la planta (Figura 3). Los resultados de este ensayo se presentan en el Cuadro 5.

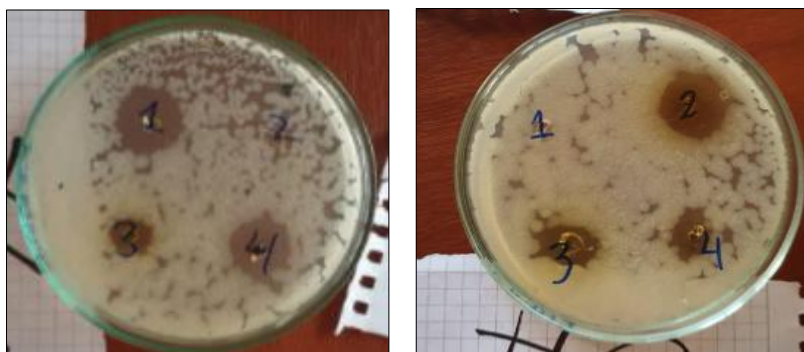


Figura 3. Halos de inhibición presentados después de 24 horas de incubación

Cuadro 5. Resultados obtenidos después de 24 horas de incubación de los extractos de flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y triterpenoides sembrados en cajas Petri

	Solvente	Hojas rebrote	Hojas parte media+baja	Tallos rebrote	Tallos parte media+baja
Flavonoides	Acetona 50 %	++	++	-	+
	Etanol 60 %	+	+	-	+
Lactonas sesquiterpénicas	Éter de petróleo	++	+	-	-
	Cloroformo	++	+	-	-
	Etanol 70 %	+	++	-	+
Triterpenoides	Éter de petróleo	++	+	-	-
	Etanol 70 %	++	++	-	+

-: sin efecto; +: efecto leve; ++: efecto importante

Como se observa en los resultados del experimento, el potencial tóxico de la planta se encuentra principalmente en las hojas, dado que pocos extractos del tallo tuvieron una respuesta positiva. Además, se puede evidenciar que los extractos provenientes de las hojas rebrote, tienen una tendencia a ser levemente más tóxicos. Este resultado se puede relacionar con el hecho que las moléculas están más presentes en las hojas de la planta.

No se ha podido discriminar el potencial tóxico de las tres moléculas dado que los resultados fueron muy similares. Sin embargo, según el estudio de Zhang *et al.* (2017), estas tres familias de metabolitos son las principales moléculas relacionadas a la fitotoxicidad en las plantas del género *Gochnatia*.

Conclusiones

- La presente investigación confirma el potencial tóxico del melendrillo (*Gochnatia boliviana*). Debido a que la actividad fitotóxica se encuentra en las hojas, tanto del rebrote como de la parte media+baja de la planta, el melendrillo presenta un peligro para el ganado que puede intoxicarse al con-

fundir el melendrillo con el melendre (*Gochnatia palosanto*), planta que crece en la misma zona, muy similar botánicamente y no tóxica.

- El estudio ha evidenciado que dentro de los metabolitos responsables de esta toxicidad se encuentran los flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y triterpenoides. La falta de selectividad de las técnicas de extracción, no permitió identificar estas moléculas en los extractos crudos. Sin embargo, con las pruebas en el IR, se observó la presencia de grupos policíclicos aromáticos y una gran riqueza de funciones alcohol.

Referencias citadas

- Almaraz N., Ávila J., Delgado E. 2006. El metabolismo secundario de las plantas, un nuevo concepto. 18. Instituto Politécnico Nacional, Vol. 1 (2), p.39-50. *En línea*. Disponible en: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8292>
Consultado en mayo de 2021.

- Catalan C., Vega M., Lopez M., del R. Cuenca M., Gedris T., Herz W. (2003). Coumarins and a kaurane from *Gochnatia polymorpha* ssp. *Polymorpha* from Paraguay. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(4), 417-422. *En línea*. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(02\)00163-1](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(02)00163-1)
Consultado en junio de 2021.
- Chadwick M., Trewin H., Gawthrop F., Wagstaff C. 2013. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6), 12780-12805. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms140612780>
Consultado en junio de 2021.
- Ibanez S., Gallet C., Després L. 2012. Plant Insecticidal Toxins in Ecological Networks. *Toxins*, 4(4), 228-243. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/toxins4040228>
Consultado en abril de 2020.
- Jiménez R., Valdés S., Olalde V., Abraham R., García J. 2018. Efecto del pH y temperatura sobre el crecimiento y actividad antagónica de *Bacillus subtilis* sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36 (2). *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1711-3>
Consultado en junio de 2021.
- Lapkin A., Peters M., Greiner L., Chemat S., Leonhard K., Liauw M., Leitner W. 2010. Screening of new solvents for artemisinin extraction process using ab initio methodology. *Green Chem.*, 12(2), 241-251. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.1039/B922001A>
Consultado en junio de 2021.
- Ludwiczuk A., Skalicka-Woźniak K., Georgiev M. 2017. Terpenoids. *In: Pharmacognosy* (p. 233–266). Elsevier. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00011-1>
Consultado en julio de 2020.
- Munhoz V., Longhini R., Souza J., Zequi J., Mello E., Lopes G., Mello J. 2014. Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: Process optimization and screening for biological activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(5), 576-583. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.10.001>
Consultado en junio de 2021.
- Rosember H. 2017. Identificación de plantas tóxicas para el ganado en bosque Tucumano-Boliviano al Oeste de Santa Cruz, Bolivia. *Ventana Científica*. Vol. 8 (14).
- Saifullah M., McCullum R., McCluskey A., Vuong Q. 2020. Comparison of conventional extraction technique with ultrasound assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon scented tea tree (*Leptospermum petersonii*) leaves. *Heliyon*, 6(4). *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03666>
Consultado en abril de 2021.
- Sambandam B., Thiyagarajan D., Ayyaswamy A., Raman P. 2016. Extraction and isolation of flavonoid quercetin from the leaves of trigonella foenum-graecum and their antioxidant activity. 8(6), 5.
- Strapasson R., Cervi A., Carvalho J., Ruiz A., Salvador M., Stefanello M. 2012. Bioactivity-guided Isolation of Cytotoxic Sesquiterpene Lactones of *Gochnatia polymorpha* ssp. *floccosa*: Cytotoxic sesquiterpene lac-

- tones of *Gochnatia polymorpha*. *Phytotherapy Research*, 26(7), 1053-1056. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ptr.3693>
Consultado en junio de 2021.
- Tan S., Parks S., Stathopoulos C., Roach P. 2014. Extraction of Flavonoids from Bitter Melon. *Food and Nutrition Sciences*, 05(05), 458-465. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.4236/fns.2014.55054>
Consultado en mayo de 2021.
- Trendafilova A., Chanev C., Todorova M. 2010. Ultrasound-assisted extraction of alantolactone and isosalicylic acid from *Inula helenium* roots. *Pharmacognosy Magazine*, 6(23), 234. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0973-1296.66942>
Consultado en marzo de 2021.
- Vankar P., Srivastava J. 2010. Ultrasound-Assisted Extraction in Different Solvents for Phytochemical Study of *Canna indica*. *International Journal of Food Engineering*, 6(3). *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1599>
Consultado en mayo de 2021.
- Vetter J. 2000. Plant cyanogenic glycosides. *Toxicol*, 38(1), 11–36. *En línea*. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(99\)00128-2](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(99)00128-2)
Consultado en abril de 2020.
- Wang J., Zhao Y., Guo C., Zhang S., Liu C., Zhang D., Bai X. 2012. Ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from *Inula helenium*. *Pharmacognosy Magazine*, 8(30), 166–170. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0973-1296.96581>
Consultado en julio de 2020.
- Wei L., Zhang W., Yin L., Yan F., Xu Y., Chen F. 2015. Extraction optimization of total triterpenoids from *Jatropha curcas* leaves using response surface methodology and evaluations of their antimicrobial and antioxidant capacities. *Electronic Journal of Biotechnology*, 18(2), 88–95. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.12.005>
Consultado en abril de 2021.
- Zhang M., Zhao C., Dai W., He J., Jiao S., Li B. 2017. Anti-inflammatory ent-kaurenoic acids and their glycosides from *Gochnatia decora*. *Phytochemistry*, 137:174–181. *En línea*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.02.02>
Consultado en julio de 2020.

Trabajo recibido el 22 de junio de 2021 - Trabajo aceptado el 29 de junio de 2021