

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE
QUITO**

**CARRERA:
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIEROS EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:
“ESTUDIO FITOQUÍMICO, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ESPECIES
DE ORQUÍDEAS DE LOS GÉNEROS *EPIDEMDRUM*, *ONCIDIUM* Y
CAUCAEA”.**

**AUTORES:
HUGO FERNANDO MENCAS MÉNDEZ
TELMO FERNANDO SALAZAR PONCE**

**TUTOR:
MARCO FERNANDO CERNA CEVALLOS**

Quito, agosto del 2018

Cesión de derechos del autor

Nosotros, Hugo Fernando Mencias Méndez, con cedula de ciudadanía N° 172439709-4, y Telmo Fernando Salazar Ponce, con cedula de ciudadanía N° 172182506-3, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del trabajo de titulación intitulado: **“ESTUDIO FITOQUÍMICO, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ESPECIES DE ORQUÍDEAS DE LOS GÉNEROS *EPIDEMDRUM, ONCIDIUM Y CAUCAEA*”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



Nombre: Hugo Fernando Mencias Méndez
Cédula: 172439709



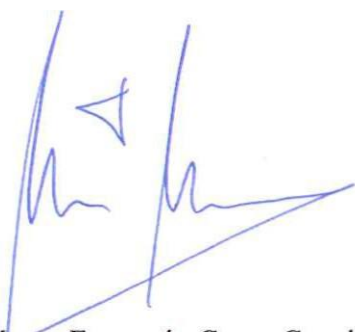
Nombre: Telmo Fernando Salazar Ponce
Cédula: 1721825063

Quito, agosto del 2018

Declaratoria de coautoría del docente tutor

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación:
“ESTUDIO FITOQUÍMICO, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ESPECIES DE ORQUÍDEAS DE LOS GÉNEROS *EPIDEMDRUM*, *ONCIDIUM* Y *CAUCAEA*”, realizado por Hugo Fernando Mencias Méndez y Telmo Fernando Salazar Ponce, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, agosto del 2018

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke at the end.

Marco Fernando Cerna Cevallos

CI. 0501872071

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado en primer lugar a Dios y a la Virgencita del Quinche, así mismo agradeciendo por las bendiciones recibidas. A mis padres Hugo y Blanca, por su esfuerzo para que nunca me falte nada, en especial a mi madre por su amor, consejos y apoyo a pesar de los errores cometidos.

A mis abuelitos Antonio Méndez y Luis Mencias por la mejor herencia que me pudieron dejar que son mis padres.

En la memoria de mi tía Regina, que desde el cielo vera cumplir esta meta, gracias por su carió, consejos y apoyo en cada momento de mi vida.

A mi primo Alfredo por su cariño, consejos y apoyo incondicional.

En especial a mi hija Antonella “mi princesa” mi fuente de inspiración y compañera de vida, todo lo hare siempre por verte sonreír.

A Raysa por su cariño, sus palabras de aliento y apoyo permanente para lograr el objetivo trazado.

Y por último a mis mejores amigos Carlos y Jordy por su amistad verdadera.

“La mayor gloria no es nunca caer, sino levantarse siempre” “2018 es todo”

Fernando

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado en primer lugar a Dios, ya que a pesar de no tenerlo siempre en nuestros planes, siempre guía nuestros pasos, nos da la fuerza y la sabiduría para alcanzar nuestras metas. A mi madre Rosa Ponce quien toda su vida ha velado por suplir todas nuestras necesidades, y nos transmitió sus más grandes virtudes que son la lealtad, el esfuerzo y la fortaleza ante los problemas. A mi hermana Sayra por sus sabios consejos y por alentarme a cumplir cada uno de mis objetivos. A mí fallecido cuñado Esteban, que cuando se fue me dejó la gran enseñanza de que la familia es lo más importante en la vida de un hombre. A mis sobrinas Paula Camila y Amelia Sofía quienes son mi inspiración para llegar lejos. A mi querida Paula que en poco tiempo se ha ganado un lugar dentro de mi corazón por hacer de mí una mejor persona y mostrarme la vida desde una perspectiva diferente, gracias por despertar en mí el amor a Dios. Finalmente a mis amigos que con su compañía y ocurrencia siempre logran minimizar problemas y tristezas, especialmente a Bryan y Javier ya que hoy en día también son mis socios en este sueño loco llamado “Ancestral Cervecería”, gracias por confiar en mis ideas y respaldar mis decisiones.

“SIC PARVIS MAGNA” la grandeza nace de pequeños comienzos. Esto apenas empieza.

Telmo

Agradecimiento

A la Universidad Politécnica Salesiana y al grupo de Investigación NUNKUI WAKAN por hacer posible la ejecución y financiamiento del proyecto.

A Sarita Gutiérrez y Alfredo Trujillo, dueños del orquideario “Orquídeas de Sarina” por facilitarnos las muestras vegetales necesarias para poder realizar este estudio.

A nuestro tutor Marco Cerna PhD y al PhD. Paco Noriega por su apoyo y sus conocimientos brindados para el desarrollo del presente proyecto de investigación.

Y por último a nuestras ayudantes de laboratorio Luciana Vargas y Cecilia Pérez por su gran aporte en el desarrollo práctico de la tesis.

Índice

Introducción	1
Capítulo 1	3
MARCO TEÓRICO	3
1.1 Generalidades de las Orquídeas	3
1.2 Clasificación de las Orquídeas	4
1.3 Morfología de la familia Orchidaceae	4
1.4 Géneros en estudio	7
1.4.1 Género <i>Caucaea</i>	7
1.4.1.1 Descripción botánica	8
1.4.1.2 Taxonomía	8
1.4.2 Género <i>Epidendrum</i>	9
1.4.2.1 Descripción botánica	9
1.4.2.2 Taxonomía	10
1.4.3 Género <i>Oncidium</i>	10
1.4.3.1 Descripción botánica	11
1.4.3.2 Taxonomía	11
1.5 Usos etnobotánicos	11
1.6 Estudios farmacológicos	14
1.7 Screening fitoquímico	15
1.8 Metabolitos secundarios	15
1.8.1 Alcaloides	16

1.8.2	Flavonoides	17
1.8.3	Saponinas	18
1.8.4	Taninos	19
1.8.5	Terpenos	20
1.9	Radicales libres.....	21
1.10	Estrés oxidativo	22
1.11	Actividad antioxidante	22
1.11.1	Antioxidantes	23
1.11.2	Metodología DPPH.....	24
Capítulo 2	25
MARCO METODOLÓGICO	25
2.1	Ubicación y colección del material vegetal.....	25
2.2	Obtención del extracto etanólico	25
2.3	Screening fitoquímico	26
2.3.1	Equipos, materiales y reactivos	26
2.3.2	Alcaloides	26
2.3.3	Flavonoides	27
2.3.4	Saponinas	27
2.3.5	Taninos.....	27
2.3.6	Triterpenos	28
2.4	Evaluación de la actividad antioxidante	28
2.4.1	Equipos, materiales y reactivos	29

2.4.2 Preparación de la solución DPPH.....	29
2.4.3 Curva estándar de vitamina C.....	29
2.4.3.1 Cálculo % IC50 de vitamina C.....	31
2.4.4 Preparación de las muestras para análisis en el espectrofotómetro	32
2.5 Análisis estadístico	33
Capítulo 3.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
3.1 Identificación de metabolitos secundarios	34
3.1.1 Resultados screening fitoquímico género <i>Caucaea</i>	34
3.1.2 Resultados screening fitoquímico género <i>Epidendrum</i>	35
3.1.3 Resultados del screening fitoquímico del género <i>Oncidium</i>	36
3.2 Actividad antioxidante.....	38
3.2.1 Actividad antioxidante del género <i>Caucaea</i>	38
3.2.1.1 Cálculo % IC50 del género <i>Caucaea</i>	38
3.2.2 Actividad antioxidante del género <i>Epidendrum</i>	40
3.2.2.1 Cálculo % IC50 del género <i>Epidendrum</i>	40
3.2.3 Actividad antioxidante del género <i>Oncidium</i>	42
3.2.3.1 Cálculo % IC50 del género <i>Oncidium</i>	42
3.2.4 Análisis estadístico de la actividad antioxidante	44
CONCLUSIONES	46
RECOMENDACIONES	47
REFERENCIAS	48

ANEXOS	56
--------------	----

Índice de tablas

Tabla 1. Datos para la curva de calibración de Vitamina C.....	30
Tabla 2. Absorbancia DPPH de Vitamina C.....	31
Tabla 3. Resultados metabolitos secundarios género <i>Caucaea</i>	35
Tabla 4. Resultados metabolitos secundarios género <i>Epidendrum</i>	36
Tabla 5. Resultados metabolitos secundarios género <i>Oncidium</i>	37
Tabla 6. Calculo de del DPPH de especies del género <i>Caucaea</i>	39
Tabla 7. Calculo de del DPPH de especies del género <i>Epidendrum</i>	41
Tabla 8. Calculo de del DPPH de especies del género <i>Oncidium</i>	42

Índice de figuras

Figura 1. Partes de la flor.	4
Figura 2. Tipos de inflorescencias en Orquídeas.	5
Figura 3. Tipos de tallos Orquídeas.	5
Figura 4. Tipos de pseudobulbos Orquídeas.	6
Figura 5. Tipos de hojas Orquídeas.....	6
Figura 6. Raíces orquídeas.	7
Figura 7. <i>Caucaea radiata</i>	8
Figura 8. <i>Epidendrum nocturnum</i>	9
Figura 9. <i>Oncidium altissimum</i>	10
Figura 10. Estructura química de los alcaloides.....	16
Figura 11. Estructura química de los flavonoides.	17
Figura 12. Estructura química de las saponinas.	19
Figura 13. Estructura química y clasificación de los taninos.....	20
Figura 14. Estructura química y clasificación de los terpenos.....	21
Figura 15. Método DPPH.....	24
Figura 16. Curva de calibración de Vitamina C.....	31
Figura 17. Porcentaje de inhibición del DPPH en Vitamina C.....	32
Figura 18. Porcentaje de inhibición del DPPH del género <i>Caucaea</i>	40
Figura 19. Porcentaje de inhibición del DPPH del género <i>Epidendrum</i>	41
Figura 20. Porcentaje de inhibición del DPPH del género <i>Oncidium</i>	43
Figura 21. Cuadro de clasificación de especies mediante análisis de conglomerados.	44

Índice de anexos

Anexo 1. Elaboración de extractos.....	56
Anexo 2. Prueba de Dragendorff para alcaloides <i>Caucaea</i>	57
Anexo 3. Prueba de Dragendorff para alcaloides <i>Epidemdrum</i>	58
Anexo 4. Prueba de Dragendorff para alcaloides <i>Oncidium</i>	59
Anexo 5. Prueba de Shinoda para flavonoides <i>Caucaea</i>	60
Anexo 6. Prueba de Shinoda para flavonoides <i>Epidemdrum</i>	61
Anexo 7. Prueba de Shinoda para flavonoides <i>Oncidium</i>	62
Anexo 8. Prueba de espuma para saponinas <i>Caucaea</i>	63
Anexo 9. Prueba de espuma para saponinas <i>Epidemdrum</i>	64
Anexo 10. Prueba de espuma para saponinas <i>Oncidium</i>	65
Anexo 11. Prueba de Gelatina-Sal para taninos <i>Caucaea</i>	66
Anexo 12. Prueba de Gelatina-Sal para taninos <i>Epidemdrum</i>	67
Anexo 13. Prueba de Gelatina-Sal para taninos <i>Oncidium</i>	68
Anexo 14. Prueba de Liebermann-Burchard para triterpenos <i>Caucaea</i>	69
Anexo 15. Prueba de Liebermann-Burchard para triterpenos <i>Epidemdrum</i>	70
Anexo 16. Prueba de Liebermann-Burchard para triterpenos <i>Oncidium</i>	71
Anexo 17. Preparación de la curva de calibración vitamina C.	72
Anexo 18. Evaluación actividad antioxidante.....	73
Anexo 19. Actividad antioxidante géneros <i>Caucaea</i> , <i>Epidemdrum</i> , <i>Oncidium</i>	74

Resumen

En la presente investigación se tuvo como objetivo identificar metabolitos secundarios en extractos etanólicos de distintas especies de géneros de orquídeas mediante un screening fitoquímico, en donde se realizaron pruebas para alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y triterpenos. Además se evaluó la capacidad antioxidante de 35 especies de orquídeas de los géneros *Caucaea*, *Epidendrum* y *Oncidium*, para esto se utilizó el método DPPH para analizar la capacidad captadora de radicales libres, como control positivo para este análisis se utilizó vitamina C.

Los resultados determinaron en el screening fitoquímico que los metabolitos secundarios que más presencia tuvieron en las especies estudiadas fueron flavonoides, triterpenos y saponinas. Las especies en estudio del género *Caucaea* y *Oncidium* presentaron reacción positiva para flavonoides y triterpenos en mayor cantidad, mientras que las muestra del género *Epidendrum* presentaron saponinas en un 100 %. En el análisis de actividad antioxidante con metodología DPPH, las especies más sobresalientes fueron *Oncidium excavatum* y *Epidendrum nocturnum*, la última especie se destacó por que necesitó una concentración de 3,50 ppm para inhibir el 50 % de los radicales libres de DPPH presentes en una solución de ensayo.

PALABRAS CLAVE: Antioxidante, orquídeas, DPPH, metabolitos, screening.

Abstract

In the present investigation, the objective was to identify secondary metabolites in ethanolic extracts of different species of orchid genera through phytochemical screening, where tests were carried out for alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and triterpenes. In addition, the antioxidant capacity of 35 species of orchids of the genera *Caucaea*, *Epidendrum* and *Oncidium* was evaluated. For this, the DPPH method was used to analyze the free radical scavenging capacity. Vitamin C was used as a positive control for this analysis.

The results determined in the phytochemical screening that the secondary metabolites that had the most presence in the species studied were flavonoids, triterpenes and saponins. The species under study of the genus *Caucaea* and *Oncidium* presented positive reaction for flavonoids and triterpenes in greater quantity, while the sample of the genus *Epidendrum* presented saponins in 100 %.

In the analysis of antioxidant activity with DPPH methodology, the most outstanding species were *Oncidium excavatum* and *Epidendrum nocturnum*, the last species stood out because it needed a concentration of 3,50 ppm to inhibit 50 % of the free radicals of DPPH present in a solution of test.

KEY WORDS: Antioxidant, orchids, DPPH, metabolites, screening.

Introducción

Las orquídeas pertenecientes a la familia Orquidaceae, presentan flores muy llamativas debido a su gama amplia colores, formas y aromas; hasta el momento se han detallado alrededor de 28000 especies, y casi 900 géneros en sus diversas variantes (The Plant List, 2013). Endara y Jost (2011) mencionan que existen 1707 especies de orquídeas endémicas en el Ecuador, por tal motivo esta familia es considerada la más diversa en plantas vasculares (Pitman, Valencia, y León-Yanez, 2012), ya que Ecuador posee la mayor diversidad de orquídeas a nivel mundial, a pesar de tener menos extensión territorial que países vecinos (Endara, Williams, y León-Yanez, 2010).

En el año 2013, por un decreto ejecutivo del Presidente de la Republica, el Ecuador fue declarado como “País de las Orquídeas”, esto debido a que el mayor número de especies reportadas a nivel mundial pertenecen al Ecuador (Ministerio de Turismo del Ecuador, 2013).

Se estima que solo cerca del 6 % de plantas superiores han sido estudiadas para comprobar su actividad biológica y de estas el 15 % tiene un estudio fitoquímico; esto provoca el interés de la industria farmacéutica que ve el potencial de las plantas para la elaboración de nuevos medicamentos (Patiño, 2008).

Los metabolitos secundarios son sustancias complejas, usados como principios activos en la industria farmacéutica, estos presentan una acción farmacológica o fisiológica sobre el organismo, el valor económico de los metabolitos secundarios es muy alto a comparación con los metabolitos primarios (Robles-García y otro., 2016).

Los antioxidantes son sustancias que favorecen el retraso del daño a nivel celular causados por la acción oxidativa de los radicales libres (Youngson, 2003), así como ayudan a reducir los efectos de enfermedades humanas como: arteriosclerosis, trastorno cerebral, cáncer y problemas cardiacos (Cano y Arnao, 2005).

En la actualidad existe mucho interés en realizar estudios relacionados con los usos etnobotánicos de las plantas, o a su vez para obtener nuevos compuestos con actividad farmacológica, en especial compuestos antioxidantes. Debido a que Ecuador posee una gran diversidad de orquídeas (Endara et al., 2010), que han sido utilizadas en medicina ancestral, se evidencia la falta de estudios científicos que corroboren dichas aplicaciones. Con lo antes mencionado es importante ya que se puede obtener principios activos que reemplacen a compuestos sintéticos utilizados actualmente en la industria farmacéutica (Rivas-Morales, Oranday-Cárdenas, y Verde-Star, 2016).

En esta investigación se planteó como objetivo general: Realizar un estudio fitoquímico de especies de los géneros *Epidendrum*, *Caucaea* y *Oncidium* de la familia Orchidaceae, y como objetivos específicos: Desarrollar un screening fitoquímico de 35 especies de los géneros *Epidendrum*, *Oncidium* y *Caucaea* (Orchidaceae) con el propósito de establecer los principales componentes químicos, así como cuantificar la actividad antioxidante de las especies que presentan dicha cualidad con el fin de establecer su posible aplicación farmacéutica.

Capítulo 1

Marco teórico

1.1 Generalidades de las Orquídeas

La palabra “orquídea” fue mencionada por primera vez por Theophrastus, esta deriva del latín *orchis* que significa testículos, esto en referencia a los pseudobulbos y a la aplicación medicinal para aumentar la fertilidad (Freuler, 2008).

Las orquídeas pertenecen a la familia Orchidaceae, la mayoría son epifitas, es decir, crecen en los árboles; dentro del reino vegetal son las plantas más evolucionadas, son muy llamativas, por sus flores ya que estas tienen diferentes colores, formas y aromas (Ramya, An, Baek, Reddy, y Park, 2018). Hasta el momento se han detallado alrededor de 28000 especies, y casi 900 géneros en sus diversas variantes (The Plant List, 2013), también se menciona que existen alrededor de 6000 híbridos (García, 2011).

A pesar del gran número de especies descubiertas, existen zonas especialmente en el continente americano sin revelar fitogeográficamente (Freuler, 2008).

La familia Orchidaceae también se considera como la familia más diversa en las monocotiledóneas, posee especies con una amplia gama de aplicaciones, cosméticos, fármacos y perfumes (Sut, Maggi, y Dall’Acqua, 2017).

Las orquídeas están distribuidas por todo el mundo; pero se desarrollan de mejor manera en regiones tropicales y subtropicales; el tamaño de las orquídeas es muy diverso, pueden ser muy diminutas o plantas de hasta los 15 cm de largo (García, 2011).

1.2 Clasificación de las Orquídeas

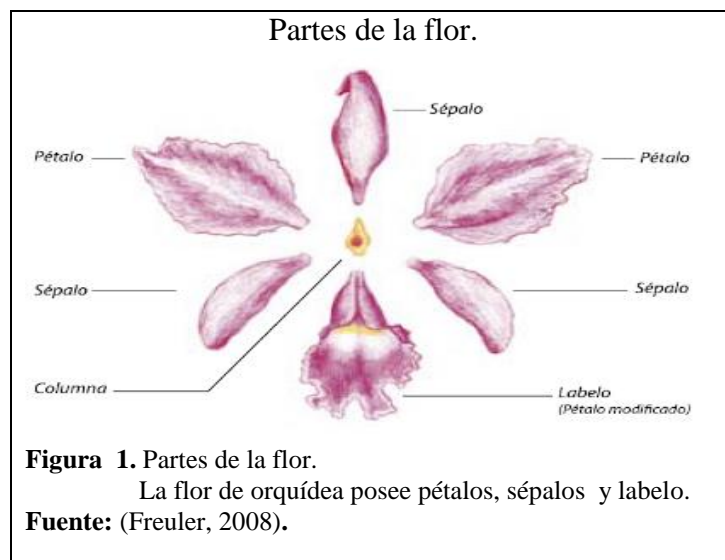
Clasificación según su eje de crecimiento:

Plantas monopodiales: Crecimiento vertical, sin pseudobulbos, poseen un solo ápice vegetativo que si es destruido provocaría la muerte de la planta (Fischer, 2007).

Plantas simpodiales: Crecimiento horizontal, con pseudobulbos y varios ápices vegetativos (Fischer, 2007).

1.3 Morfología de la familia Orchidaceae

La flor: Es la parte más atrayente de la planta, y la que más varía en su tamaño, poseen tres sépalos y tres pétalos; de estos dos son iguales y el otro es la parte más llamativa y se denomina labelo; cuya función es la tracción de los insectos polinizadores, el polen es producido en la columna, y en la punta vamos a encontrar la antera; el polen esta empaquetado (entre 4 y 8 paquetes) en masas denominadas polínios (García, 2011).



Inflorescencias: En las orquídeas podemos tener diferentes tipos de inflorescencias.

Según la posición: Sobre el raquis, apical, axilar o basal (Freuler, 2008).

Según su forma: Espiga, panícula, racimo o umbrela (García, 2011).

Tipos de inflorescencias en orquídeas.

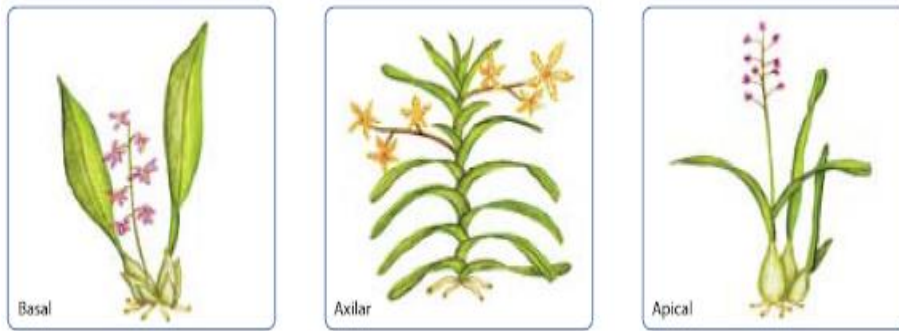


Figura 2. Tipos de inflorescencias en Orquídeas.
De izquierda a derecha tenemos basal, axilar y apical.
Fuente: (Freuler, 2008).

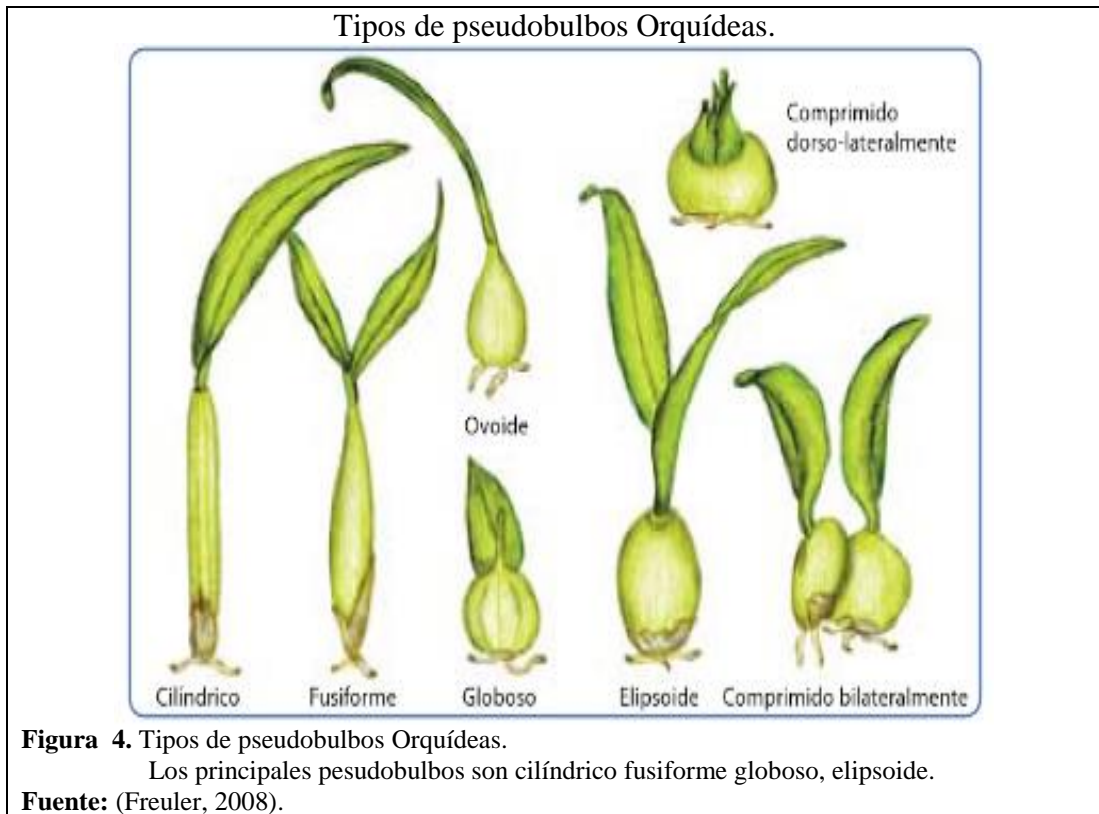
Tallos: Estos pueden ser: cilíndricos, pseudobulbos o cormos (García, 2011).

Tipos de tallos orquídeas.

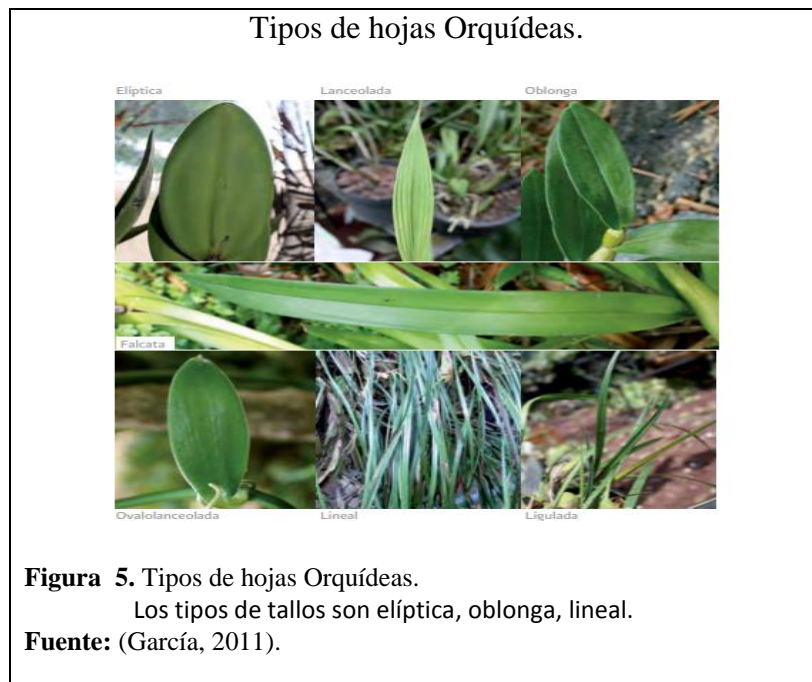


Figura 3. Tipos de tallos Orquídeas.
De izquierda a derecha tenemos cilindrios, pseudobulbos y cormos
Fuente: (García, 2011).

Pseudobulbos: Las orquídeas epifitas en la base de las hojas presentan estos órganos (almacenamiento de agua y alimento) (Freuler, 2008). Estos pueden ser de diferentes formas y de gran tamaño (García, 2011).



Hojas: Presentan hojas simples, que son alargadas y angostas. En lugares muy cálidos las hojas son cilíndricas para evitar la deshidratación (García, 2011).



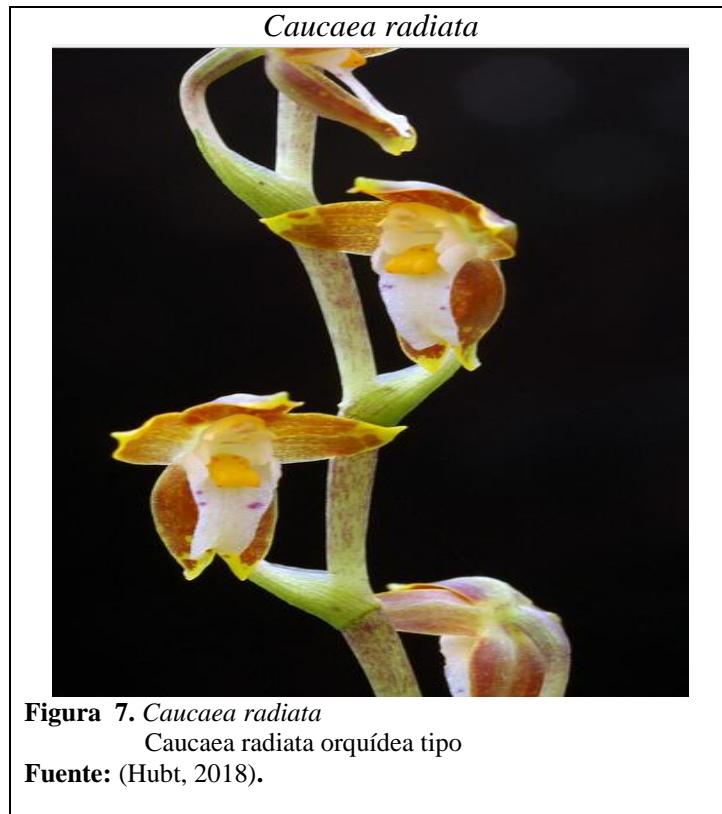
Raíces: Poseen raíces aéreas, que están recubiertas por velamen, bajo esta tienen clorofila para realizar la fotosíntesis (García, 2011).



1.4 Géneros en estudio

1.4.1 Género *Caucaea*.

Son plantas epífitas, pueden crecer por encima de los 2500 m.s.n.m y distribuidas en el continente americano (Szlachetko y Kolanowska, 2015). Dentro de este género existen 51 especies reportadas hasta la actualidad (The Plant List, 2017a).



1.4.1.1 Descripción botánica

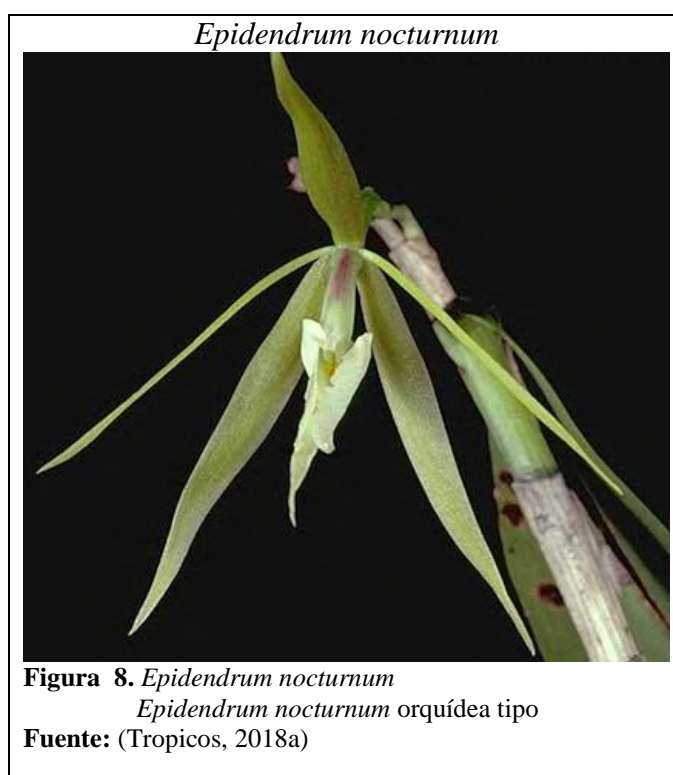
El género *Caucaea* se caracteriza porque sus especies poseen pseudobulbos ovoides a ovoides cilíndricos, sus flores son resupinadas; están dispuestas en inflorescencias que pueden ir de una a muchas flores, el pedicelo y los ovarios son mucho más largos que sus brácteas florales, el sépalo dorsal como los pétalos están libres, los sépalos laterales están parcialmente fusionados, el labelo es lobulado; tiene un callo con dos a tres crestas, la columna puede llegar a ser el doble o triple del tamaño que la antera (Szlachetko y Kolanowska, 2015).

1.4.1.2 Taxonomía

La taxonomía del género *Caucaea* está clasificada de la siguiente manera: clase Equisetopsida, subclase Magnoliidae, super orden Lilianae, orden Asparagales, familia Orchidaceae, género *Caucaea* (Tropicos, 2018b).

1.4.2 Género *Epidendrum*

Pueden ser plantas herbáceas, epífitas o litófitas; considerado uno de los géneros más diversos, se caracterizan por producir flores cada año, con gran adaptación a diversas condiciones ambientales, están distribuidas desde los Estados Unidos hasta Argentina (Daza, Pinta, Otero, y Bonilla, 2016). Dentro de este género existen 1435 especies reportadas hasta la actualidad (The Plant List, 2017b).



1.4.2.1 Descripción botánica

El género *Epidendrum* no es muy común que formen pseudobulbos, poseen flores de distintos tamaños y múltiples colores, que pueden ser resupinadas o no, con inflorescencia de varios tipos corimbosa, paniculada, racemosa, o terminal; posee hojas dísticas, sus brácteas florales son más pequeñas que el ovario y en ocasiones de la misma longitud; generalmente los pétalos son libres y más angostos que los sépalos, presenta un labelo que se encuentra totalmente adherido a la parte ventral de la

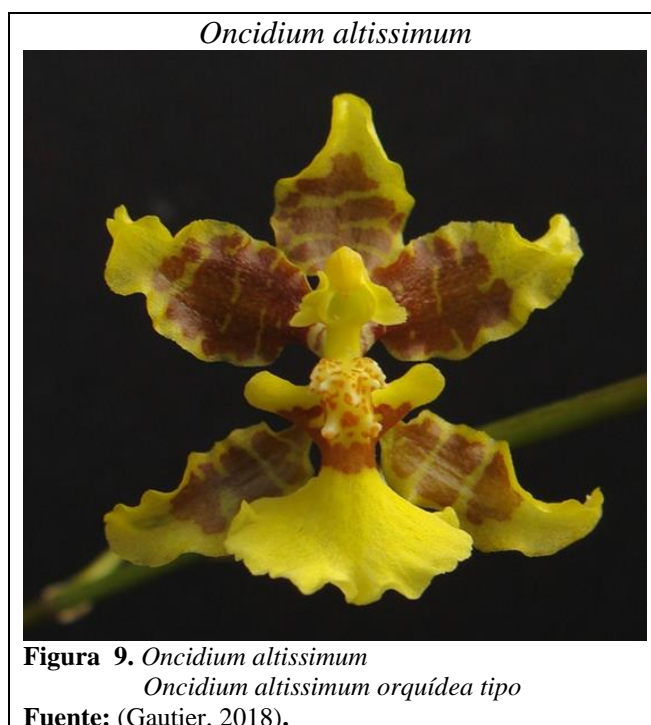
columna; presenta columna áptera y lobulada en el ápice (García-Cruz, Sánchez, Jiménez, y Solano, 2003).

1.4.2.2 Taxonomía

La taxonomía del género *Epidendrum* está clasificada de la siguiente manera: clase Equisetopsida, subclase Magnoliidae, super orden Lilianae, orden Asparagales, familia Orchidaceae, género *Epidendrum* (Tropicos, 2018c).

1.4.3 Género *Oncidium*

Pueden ser plantas herbáceas o epífitas, crecen en bosques húmedos de baja a alta elevación, distribuidos desde Estados Unidos hasta Argentina (Meisel, Kaufmann, y Pupulin, 2014). Dentro de este género existen 928 especies reportadas hasta la actualidad (The Plant List, 2017c).



1.4.3.1 Descripción botánica

El género *Oncidium* posee plantas vegetativamente diversas, en su mayoría presentan pseudobulbos aplanados, los cuales que producen de 1 a 2 hojas desde la punta, las hojas son de tamaño muy variable, delgadas y rígidas, con inflorescencias extremadamente largas, pueden tener de 1 a 100 flores las cuales nacen de los bulbos, sus flores son amarillentas y brillantes, con presencia de fragancia; sépalos y pétalos similares, perpendicular a la columna, se encuentra el labelo con un margen exterior ondulado (Meisel et al., 2014).

1.4.3.2 Taxonomía

La taxonomía del género *Oncidium* está clasificada de la siguiente manera: clase Equisetopsida, subclase Magnoliidae, super orden Liliales, orden Asparagales, familia Orchidaceae, género *Oncidium* (Tropicos, 2018d).

1.5 Usos etnobotánicos

Alrededor del mundo las orquídeas han sido consideradas una de las plantas más excéntricas por su peculiar composición y actualmente están siendo cultivadas con fines medicinales (Pant, 2013).

En la antigüedad las orquídeas eran empleadas en las prácticas tradicionales para el tratamiento enfermedades, especialmente con función antagónica de tumores; por lo cual se les ha vinculado a la investigación de nuevos medicamentos, factor que ha incrementado el conocimiento sobre las mismas y su consumo sustentable (Pant, 2013).

Si nos remontamos en la historia el papiro de Ebers muestra un opulento contenido sobre medicina y conocimiento ancestral, de tal manera que a partir de esto se hace

énfasis en las propiedades curativas de las orquídeas, a lo largo del siglo XVIII el conocimiento científico y desarrollo farmacológico evolucionó abriendo camino al mundo de la medicina y la química farmacéutica (Kong, Goh, Chia, y Chia, 2003).

A partir de estos avances, científicos del decimonónico empiezan a refinar los extractos de plantas que contenían elementos medicamentosos con la finalidad de aportar significativamente al avance de la ciencia y la salud; es así como nace el líder en farmacología Justus von Liebig, quien fue pionero en la formulación y el desarrollo de medicamentos, además propuso la elaboración de drogas con fines curativos elaborados a partir del aislamiento de principios activos de plantas (Kong et al., 2003).

En la actualidad los científicos han tomado con gran interés la investigación y el uso de estas plantas debido a sus propiedades medicinales y terapéuticas, se estima que las orquídeas están presentes desde hace más de 120 millones de años, las comunidades alrededor del mundo han descubierto un sin número de orquídeas las mismas que han sido identificadas por su género y además separadas en especies de tal manera que el estudio de las mismas ha sido más sencillo (Pant y Raskoti, 2013).

Pant (2013) establece que a partir de los estudios realizados a lo largo de la historia las orquídeas con mayor interés medicinal pertenecen a los géneros: *Anoctochilus*, *Coelogyne*, *Epidendrum*, *Oncidium*, entre otros. Por lo que a continuación se detalla algunos de sus usos etnobotánicos y estudios farmacológicos que se han realizado referentes a los géneros antes mencionados.

Las orquídeas son empleadas como uno de los componentes esenciales en el desarrollo de la medicina China e India conocida tradicionalmente como "Ayurveda", en el continente americano donde las orquídeas tienen una larga historia se destaca el uso de *Epidendrum pastoris* para la disentería (Pant, 2013).

En china de las casi 1400 especies nativas de orquídeas; un cuarto de ellas se usan en medicina tradicional o como suplementos alimenticios (Pant, 2015).

El género *Epidendrum* se usa en los trópicos americanos para tratar las llagas en los labios, en Sudáfrica, varias orquídeas se utilizan para el tratamiento de enfermedades infecciosas y la infertilidad, en India, se usan como agentes de curación de heridas, en el Himalaya, se utilizan los tubérculos de orquídeas para tratar trastornos renales y urinarios (Sut et al., 2017).

En países como Estados Unidos, México, entre otros consideran el estudio etnobotánico y farmacológico sobre orquídeas medicinales como un potencial de investigación debido a que existe escasa bibliografía enfocada en este tema, por tal razón Cano, Menchaca y Ruiz (2015) citan en su estudio realizado a *Epidendrum chlorocorymbos*, *Epidendrum anisatum*, *Epidendrum tuberosum* como especies empleadas en el tratamiento para la disentería, hipertermia, malestares abdominales; las hojas de *Epidendrum chlorocorymbos* se usan con el propósito de equilibrar el sistema cardiovascular específicamente los niveles de colesterol; incita al sueño y tiene uso como tratamiento de la otalgia.

Los pseudobulbos de *Epidendrum bifidum* se han utilizado para expulsar “tenias” y otros parásitos intestinales (Hossain, 2011).

Oncidium cavendishianum es utilizada como antihistamínico, *Oncidium ascendens* es aprovechada como un antiinflamatorio; el uso etnobotánico de *Oncidium ascendens* radica en la utilización de la especie como un instrumento para purificar el espíritu, en ritos ancestrales de las comunidades indígenas alrededor del continente americano (Cano y Arnao, 2005).

En Argentina el estudio etnobotánico realizado sobre especies de orquídeas con interés medicinal citan a una especie significativa del país *Oncidium bifolium* empleada como un antibleorrágico (Novoa, Vizcaíno, y Colares, 1998).

1.6 Estudios farmacológicos

Hoy en día el interés de indagar sobre plantas con valor agregado se ha incrementado significativamente, en este campo en estudios farmacológicos realizados sobre los metabolitos activos de orquídeas se menciona a la especie *Epidendrum chlorocorymbo*; Cano y otros, (2015) afirman que esta especie contiene en su extracto 24-metileno-cicloartenol, diclorometano y fenantrenos responsables de la acción de antinocicepción. También se menciona a la especie *Oncidium ascendens* referenciando el contenido de estilbenoides y 1, 4-Beta-mannan polisacáridos responsables del inicio de la apoptosis celular, además de controlar y disminuir las laceraciones inflamatorias en la piel (Cano et al., 2015).

En otro reporte realizado en Brasil sobre *Oncidium flexuosum* se menciona el uso de esta planta en el proceso de cauterización y desinflamación de lesiones, donde se atribuye esta acción a la existencia de flavonoides y taninos dentro de su composición, también se menciona al género *Epidendrum* por poseer acción antitumoral, debido a la presencia de fenantrenos en su composición (Chinsamy, Finnie, y Van Staden, 2014).

Varios metabolitos secundarios han sido aislados de las orquídeas, los cuales muestran una gran diversidad química, cabe destacar los derivados fenólicos que por su uso terapéutico han sido utilizados para tratamientos contra el cáncer, la inflamación y la neurodegeneración (Sut et al., 2017).

1.7 Screening fitoquímico

El screening fitoquímico o también llamado tamizaje fitoquímico, es uno de los primeros pasos que se realizan en un estudio fitoquímico; el cual es un análisis cualitativo de los principales componentes químicos, este método nos permite una evolución rápida, reproducible y con un costo muy bajo (Sharapin, 2000).

Para el screening fitoquímico se pueden utilizar muestras que pueden ser de diferentes partes de la planta, esta muestra puede estar en varios tipos de solventes y mediante la adición de reactivos que provocan cambios en las coloraciones dependiendo la presencia o no de los componentes químicos (de Marcano y Hasegawa, 2002).

1.8 Metabolitos secundarios

Son sustancias complejas, se los encuentra en concentración muy bajas, en el organismo del hombre ejercen una acción farmacológica o fisiológica, en las plantas su función no está muy clara; son usados como principios activos en la industria farmacéutica, también en dosis pequeñas son usados para estudiar procesos bioquímicos (Cuevas, Vaca, González, Maldonado, y Fernandes, 2016).

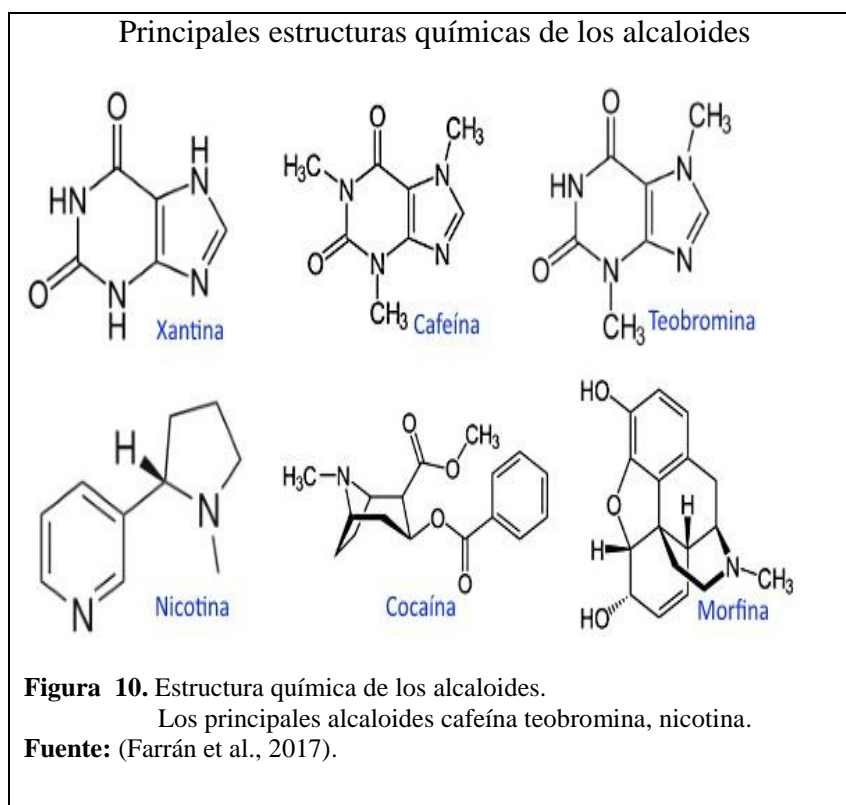
La diferencia entre los metabolitos primarios y secundarios, es que los primarios tienen una función definida, en cambio, los metabolitos secundarios no tienen una función definida y no todos se encuentran en todas las plantas (Robles-García et al., 2016).

Los principales metabolitos secundarios presentes en las orquídeas son: alcaloides, flavonoides, terpenoides y estilbenoides (Marjoka, Alam, y Huda, 2016). En diferentes orquídeas se ha logrado aislar un número significativo de fenantopiranos y estilbenoides (Sut et al., 2017). También se ha reportado la presencia de: saponinas y glucósidos (Marjoka et al., 2016).

Varios metabolitos secundarios se han encontrado en géneros como: *Bletilla*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Ephemerantha*, *Epidendrum* y *Maxillaria*; se han identificado y aislado diferentes alcaloides, en particular de *Dendrobium nobile* una especie que es utilizada en la medicina tradicional china (Sut et al., 2017).

1.8.1 Alcaloides

Alcaloide proviene de la palabra “álcali” que significa “base”, son compuestos nitrogenados orgánicos con una compleja estructura (ver figura 10), estos se encuentran presenten en todas las partes de la planta, tienen un papel defensivo contra patógenos (Farrán, López, Pérez, y Santa María, 2017). Debido a su gran actividad biológica, han sido usados como productos farmacéuticos, narcóticos y pociones (Crozier, Clifford, y Ashihara, 2008). Se han encontrado alcaloides en géneros como: *Acampe*, *Dendrobium*, *Epidendrum*, *Cymbidium*, *Rhyncostylis* (Marjoka et al., 2016; Sut et al., 2017).

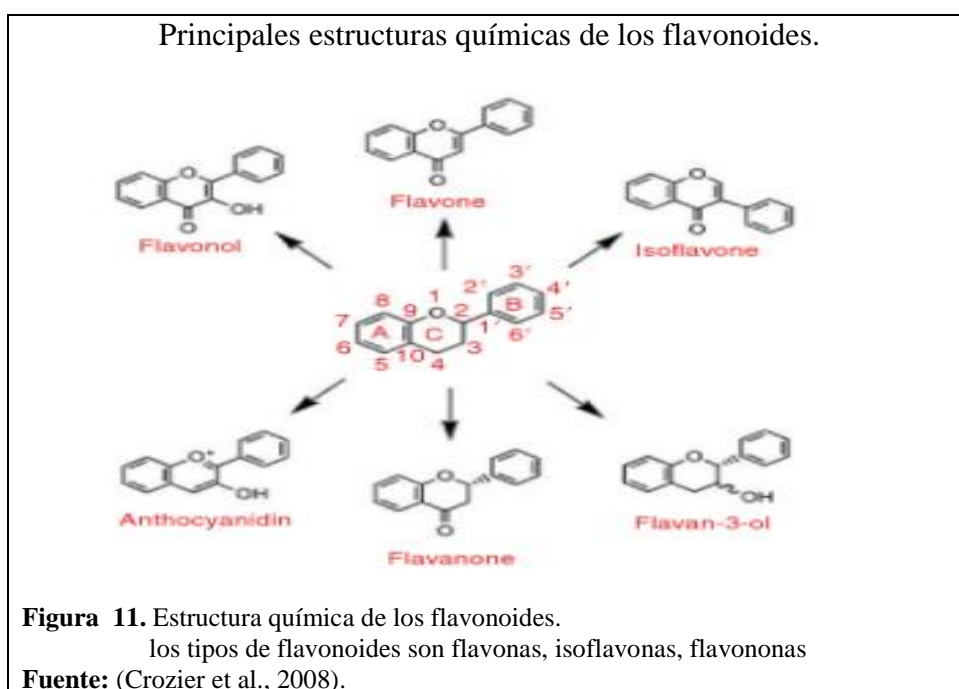


1.8.2 Flavonoides

Son compuestos polifenólicos con una estructura química de quince carbonos, con dos anillos aromáticos y pueden presentar numerosos sustituyentes en su esqueleto, un componente muy común en los flavonoides es el azúcar que se los encuentra naturalmente como glucósidos, tanto los azúcares como los grupos hidroxilo aumentan la solubilidad de los flavonoides, en cambio, otros sustituyentes, como los grupo metilos y los isopentilos, causan que los flavonoides sean lipófilos (Crozier et al., 2008). Ver figura 11.

Entre los compuestos fenólicos estos son lo más numerosos. Se los encuentra en la piel de las frutas, epidermis de las hojas y en la planta tienen funciones importantes como: resistencia a las enfermedades, protección UV, pigmentación y la fijación del nitrógeno. Los principales flavonoides son: las flavonas, flavonoles, isoflavonas y antocianinas (Crozier et al., 2008).

Se han encontrado flavonoides en géneros como: *Acampe*, *Dendrobium*, *Epidendrum*, *Cymbidium*, *Rhyncostylis* (Marjoka et al., 2016; Sut et al., 2017).



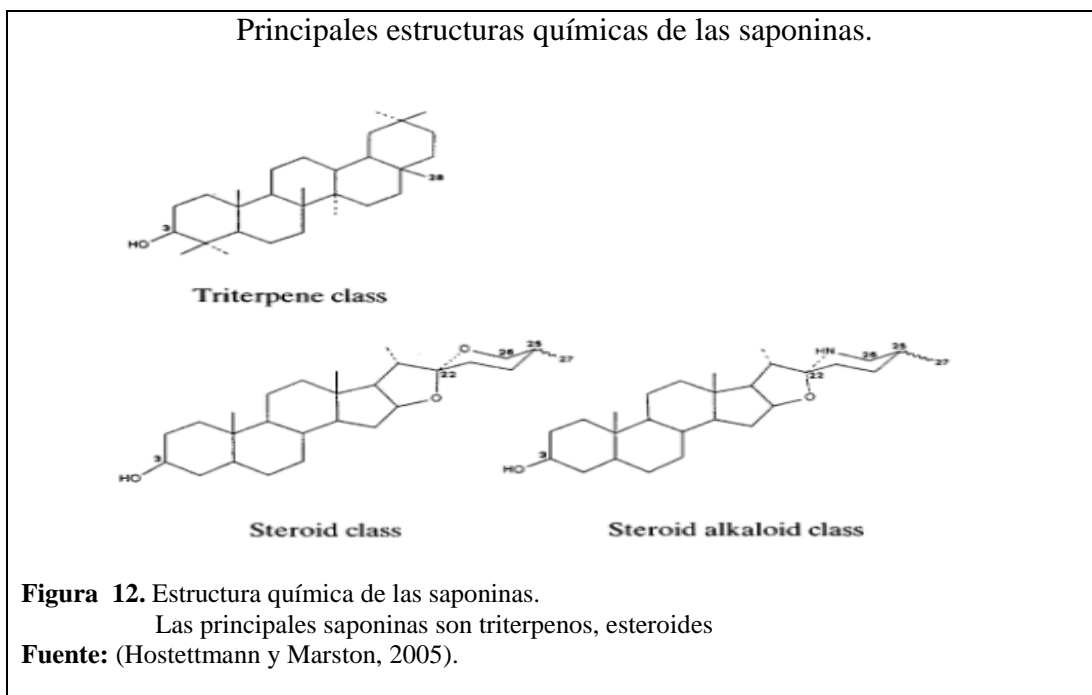
1.8.3 Saponinas

Su nombre proviene de la palabra latina “*sapo*” que significa “jabón”, esto debido a que han sido utilizados como jabones durante muchos años, son glucósidos de alto peso molecular, su estructura consiste en un azúcar unido a un triterpeno o a una aglicona esteroide (Hostettmann y Marston, 2005). Ver figura 12.

La definición clásica de saponinas se basa en su actividad ya que muchas tienen propiedades detergentes, tienen actividad hemolítica, con sabor amargo; estas características no son comunes en todas las saponinas (Hostettmann y Marston, 2005). Las saponinas han sido utilizadas en muchos medicamentos y medicina ancestral, especialmente en el continente Asiático, por tal motivo existe gran interés para realizar investigación de sus propiedades farmacológicas y biológicas (Hostettmann y Marston, 2005).

En su estructura tienen en común la unión de una o más cadenas de azúcar al alción, existen tres tipos de saponinas: glucósidos triterpénicos, glucósidos esteroideos y glucósidos alcaloides esteroideos; las saponinas monodesmosídicas tienen una sola cadena de azúcar, las bidesmosídicas tienen dos cadenas de azúcar y las tridesmosídicas tienen tres cadenas de azúcar (Hostettmann y Marston, 2005).

Se han encontrado saponinas en géneros como: *Acampe*, *Cymbidium*, *Paphiopedilum*, *Rhyncostylis* (Marjoka et al., 2016).



1.8.4 Taninos

Son un grupo de compuestos polifenólicos, su estructura le permite precipitar proteínas, se les da el nombre de taninos ya que estos compuestos forman parte del proceso para convertir la piel del animal en cuero (Cuevas et al., 2016).

Se los puede encontrar en diferentes especies de plantas, están presentes en hojas, frutas, y su función dentro de la planta es protegerla contra la infección, son utilizados para tratar enfermedades como: la diarrea, los tumores de estómago y duodeno. También en la medicina ancestral japonesa y china, se los ha usado como antiinflamatorios y antisépticos (Cuevas et al., 2016).

Debido a su gran diversidad estructural y propiedades químicas se pueden clasificar en cuatro grupos: taninos complejos, taninos condensados, galotaninos, elagitaninos; estos dos últimos son taninos hidrolizables (Cuevas et al., 2016). Ver figura 13.

Se han encontrado taninos en géneros como: *Acampe*, *Cymbidium*, *Paphiopedilum*, *Rhyncostylis* (Marjoka et al., 2016).

Estructura química de los taninos.

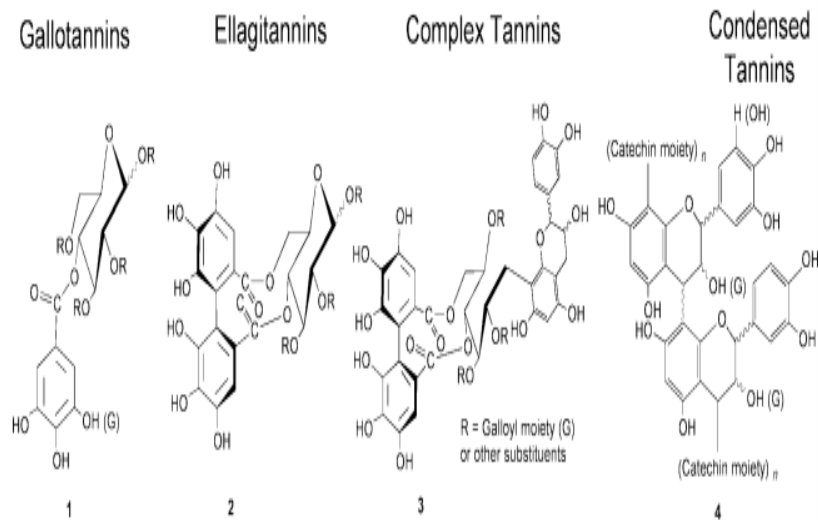


Figura 13. Estructura química y clasificación de los taninos.

Los principales taninos son taninos complejos, taninos condensados, galotaninos, elagitaninos

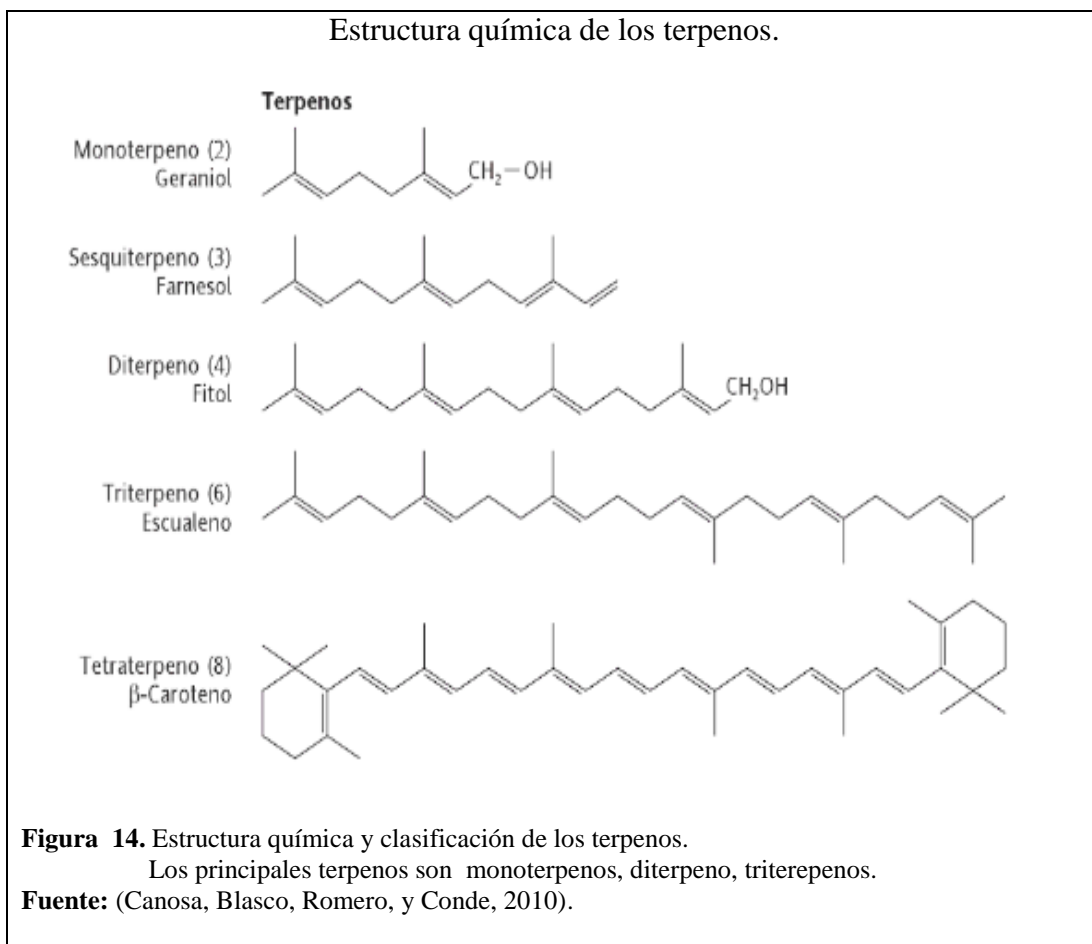
Fuente: (Khanbabaee y Van Ree, 2001)

1.8.5 Terpenos

Son la clase más común de compuestos químicos que se encuentran en los aceites esenciales, están formados de unidades de isopreno; dos unidades de isopreno combinadas se denomina terpeno, se clasifican de acuerdo con el número de unidades de isopreno: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpeno, triterpenos y tetraterpenos (Cuevas et al., 2016). Ver figura 14.

Los terpenos naturales se encuentran en plantas y animales en cantidades diminutas; se los puede encontrar en raíces, rizomas, tallos, hojas, flores, frutos y semillas, desempeñan un papel importante como reguladores del crecimiento de las plantas (Breitmaier, 2006).

Se han encontrado terpenos en géneros como: *Bulbophyllum*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Ephemerantha*, *Epidendrum*, *Maxillaria* y *Rhyncostylis* (Marjoka et al., 2016; Sut et al., 2017).



1.9 Radicales libres

Un radical libre es una molécula química con un electrón sin aparear; lo cual le convierte en una molécula altamente inestable y reactiva; debido a esto puede provocar daño a nivel celular y ruptura homeostática (Rubio, López, Vázquez, y Alcaraz, 2016). Son producto del metabolismo normal; proceden de la respiración, también se originan por contaminantes ambientales y la radiación; durante la reacción en cadena puede afectar a puede afectar un millón de moléculas (Coronado, Vega-León, Gutiérrez, Vázquez, y Radilla, 2015).

En la mitocondria se genera la mayor parte de radicales libres, debido a que estos son los responsables del consumo de oxígeno por parte de la célula, causando el daño oxidativo (Hicks, Torres, y Sierra-Vargas, 2006).

La vida de un radical es de microsegundos, pero en tan poco tiempo puede provocar un enorme daño a la molécula, membranas y tejidos celulares (Avello y Suwalsky, 2006).

Las principales especies reactivas del oxígeno son: Radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, anión superóxido, oxígeno nítrico, peróxido; los principales radicales libres del oxígeno pueden clasificarse en: Radicales libres inorgánicos o primarios, radicales libres orgánicos o secundarios y los intermediarios estables (Venereo, 2002).

1.10 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un daño potencial al organismo causado por las especies reactivas al oxígeno (ERO) debido a la inestabilidad entre los sistemas oxidantes y antioxidantes (Rubio et al., 2016). Existen tres niveles de afectación al organismo los cuales son: crónico, agudo e intenso; dependiendo del daño estructural y la especie reactiva (Hicks et al., 2006).

El estrés oxidativo está relacionado con el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, enfermedades cardíacas y cáncer (Avello y Suwalsky, 2006).

1.11 Actividad antioxidante

Se la puede definir como la capacidad que tiene una sustancia para retrasar la acción de los radicales libres (Londoño, 2012).

Se han realizados varios estudios de actividad antioxidante en orquídeas entre estos tenemos: en la especie *Eulophia macrobulbon* (Sut et al., 2017), en híbridos del género *Phalenopsis* (Minh et al., 2016), en *Dendrobium speciosum* (Moretti et al., 2013).

En el estudio realizado por Chinsamy y otros, (2014) encuentran varias especies con actividad antioxidante entre ellas: *Ansellia africana*, *Bulbophyllum scaberulum*,

Cyrtorchis arcuata, *Eulophia hereroensis*, *Eulophia petersii*, *Polystachya pubescens*,
Tridactyle tridentata.

1.11.1 Antioxidantes

Un antioxidante es una molécula química presente en bajas concentraciones cuya función es evitar o disminuir la acción de los radicales libres; debido a que es una molécula donadora de electrones que impide una reacción de óxido-reducción (Llacuna y Mach, 2012).

Los antioxidantes se pueden clasificar por su estructura química y función biológica, siendo antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos; así mismo, existen dos tipos de antioxidantes: los endógenos y los exógenos; los primeros que son propios del cuerpo y los segundos que se los obtiene de alimentos (Hicks et al., 2006).

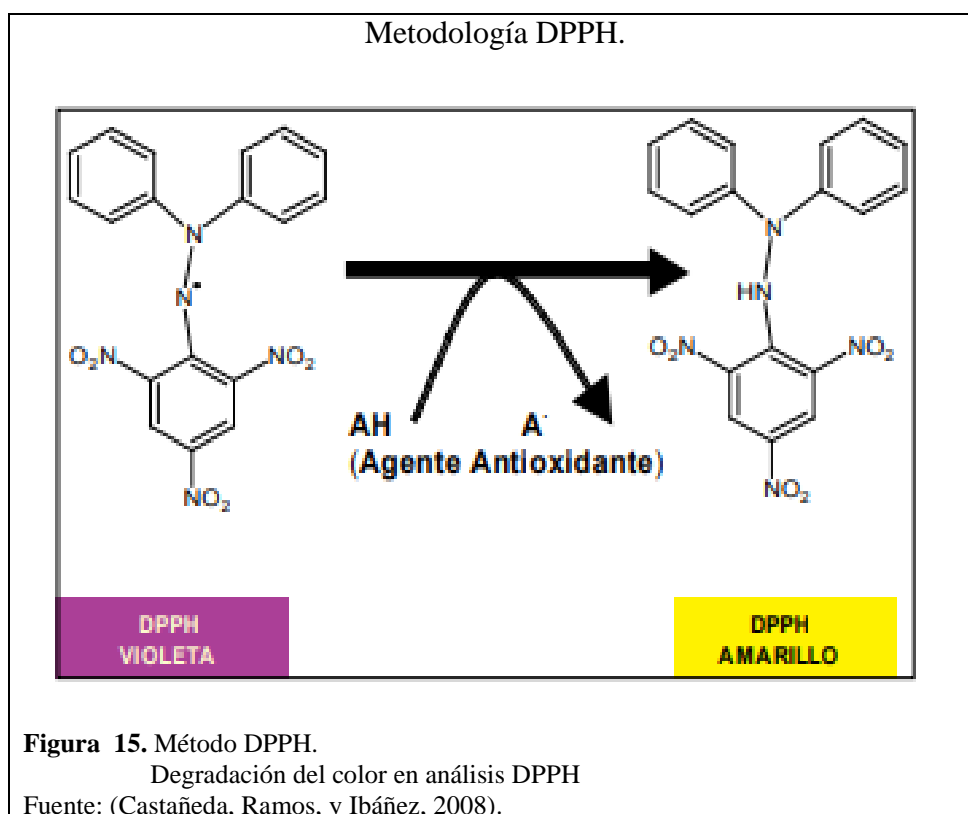
Existen varios mecanismos para evitar la formación de radicales libres, estos son eficaces debido a la corta vida que tiene los radicales libres; dentro de estas tenemos a las moléculas antioxidantes endógenas y exógenas (Avello y Suwalsky, 2006).

El organismo posee sistemas de defensa contra la acción de los radicales libres denominados antioxidantes, ellos pueden actuar de las siguientes maneras: previniendo la formación e interceptando el ataque de especies reactivas al oxígeno, ayudan a la reparación del daño causado por los radicales libres y transformando moléculas reactivas en menos reactivas (Llacuna y Mach, 2012).

Hoy en día se recomienda el uso de antioxidantes en enfermedades crónicas degenerativas, cardiovasculares, envejecimiento prematuro y el cáncer (García-Álvarez, Sánchez-Tovar, y García-Vigil, 2009).

1.11.2 Metodología DPPH

El método DPPH desarrollado por Brand-Williams, se fundamenta en que este radical posee un electrón sin aparear y que al añadirle una sustancia antioxidante en diferentes concentraciones va a decolorarse hasta un tono amarillo entre mayor es la degradación del color mayor es su actividad antioxidante; esto se evalúa en un espectrofotómetro a 517 nm; el porcentaje de captación de radicales libres se lo obtiene de la diferencia de las absorbancias (Mesa-Vanegas et al., 2015). Ver figura 15.



Capítulo 2

Marco metodológico

2.1 Ubicación y colección del material vegetal

La recolección del material vegetal de los tres géneros de orquídeas: *Caucaea*, *Epidendrum* y *Oncidium*; se realizó en la provincia de Pichincha, ciudad Quito, en la parroquia de El Quinche; en el “Orquideario de Sarina”.

El material vegetal seleccionado para este estudio fueron 10 g de hojas de cada especie, se cortaron las hojas con una tijera de podar previamente flameada y esterilizada con alcohol al 96 %, una vez cortadas fueron colocadas en bolsas de papel y almacenadas en fundas ziploc con silicagel.

Esta investigación se la realizó en los Laboratorios Ciencias de la Vida durante los meses de septiembre del 2017 hasta febrero 2018, en la Universidad Politécnica Salesiana.

2.2 Obtención del extracto etanólico

El extracto se obtuvo mediante maceración de acuerdo a la metodología descrita por Moreno y Jaramillo (2017), el proceso consistió en: se escogió 10 g de hojas jóvenes, sin presencia de enfermedades de cada una de las especies en estudio, se trituró en un mortero de porcelana de 80 mm de diámetro, se añadió 70 mL de etanol 96 % y se maceró en un frasco ámbar durante 8 días en condiciones ambientales y completa oscuridad. Luego se tamizó con papel filtro para eliminar los residuos de hojas y se almacenó en la oscuridad en condiciones ambientales para evitar la degradación de las moléculas presentes en los extractos a analizar.

2.3 Screening fitoquímico

Se utilizó pruebas preliminares colorimétricas las cuales son simples y rápidas para la determinación de los metabolitos secundarios. Se determinó en los extractos etanólicos la presencia de: alcaloides (Draggendorf;), flavonoides (Shinoda), saponinas (espuma), taninos (Gelatina-Sal) y triterpenos (Liebermann-Burchard).

En todas las pruebas se utilizó controles positivos y negativos para confirmar la efectividad de las pruebas. Los controles también fueron tomados como referencia para determinar el grado de presencia del metabolito en los extractos etanólicos.

2.3.1 Equipos, materiales y reactivos

Para esta investigación se utilizó: Cámara de extracción de vapores, baño maría, balanza analítica METTLER TOLEDO, tubos de ensayo, gradillas, pipetas, pinzas, goteros plásticos y de vidrio, reactivo de Draggendorf, limaduras de magnesio, ácido clorhídrico concentrado, anhídrido acético, ácido sulfúrico concentrado, cloruro de sodio, gelatina y agua destilada.

2.3.2 Alcaloides

El ensayo se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Carrera y otros, (2014) mediante el uso del reactivo de Draggendorf; para lo cual se colocó 2 mL de muestra en un tubo de ensayo, luego se agregó de 2 a 3 gotas del reactivo de draggendorf, se agitó fuertemente y se esperó por 30 minutos.

Se utilizó como control negativo alcohol al 96 % y como control positivo cafeína.

Si se observa opalescencia (+), turbidez (++) o precipitado (+++) se considera que la muestra contiene alcaloides.

2.3.3 Flavonoides

El ensayo se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Ramos y otros, (2012) mediante el uso del reactivo de Shinoda; para lo cual se colocó 2 mL de muestra en un tubo de ensayo, luego se agregó varias limaduras de magnesio, los tubos de ensayo se los colocó a baño maría a 60 °C, después se colocó 2 gotas de HCl concentrado.

Se utilizó como control negativo alcohol al 96 % y como control positivo manzana.

La aparición de colores: naranja, rojo, violeta o rosado, indican que la prueba es positiva (+) para flavonoides.

2.3.4 Saponinas

El ensayo se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Moreno y Jaramillo, (2017), mediante la prueba de espuma; para lo cual se colocó 2 mL de muestra en un tubo de ensayo, luego se agregó 5 mL de agua destilada y se agitó vigorosamente durante un minuto.

Se utilizó como control negativo alcohol al 96 % y como control positivo quinua.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma abundante estable al minuto y a los cinco minutos.

2.3.5 Taninos

El ensayo se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Bravo y Acuña, (2015), mediante el uso del reactivo Gelatina-Sal; para lo cual se colocó 1mL de muestra en un tubo de ensayo, luego se adicionó 1 mL de reactivo.

Se utilizó como control negativo alcohol al 96 % y como control positivo té negro

Si se observa turbidez (+) o precipitado (++) es prueba positiva.

El reactivo gelatina-sal se preparó con una mezcla de 10 g de sal, 1 g de gelatina y 100 mL de agua (Miranda y Cuellar, 2000).

2.3.6 Triterpenos

El ensayo se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Carrera y otros, (2014), mediante el uso del reactivo de Liebermann-Burchard; para lo cual se colocó 1 mL de muestra en un tubo de ensayo, luego se adicionó lentamente por la pared del tubo 1 mL de anhídrido acético, finalmente con precaución se añadió 1-2 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Se utilizó como control negativo alcohol al 96 % y como control positivo caléndula.

Si se observa coloraciones: verdes, azules, rojas o violeta determinan una reacción positiva (+) para esteroides y/o triterpenoides.

2.4 Evaluación de la actividad antioxidante

Para este ensayo se aplicó la técnica propuesta por Noriega y otros, (2012), para lo cual se elaboró una solución de DPPH (1×10^{-4} en etanol), como control positivo se usó vitamina C. Para cada extracto se preparó diluciones en diferentes concentraciones: 10 uL, 50 uL y 80 uL en viales ámbar, se completó con alcohol al 96 % obteniendo un volumen final de 100 uL; a las diluciones realizadas se les agregó 2,9 mL de DPPH hasta completar el volumen final de 3 mL y se homogeniza, luego se almacena en la oscuridad durante 30 minutos.

Las muestras se colocaron en celdas plásticas y se analizó tres veces en el espectrofotómetro de UV-visible (JASCO V-730) con el programa spectral manager, a 517 nm de longitud de onda. Previamente el espectrofotómetro fue encerado con alcohol al 96 %.

Se realizó el cálculo del porcentaje de inhibición mediante la siguiente fórmula:

$$\%Inhibición = \frac{Ab - Aa}{Ab} \times 100$$

Tomado de: Noriega y otros, (2012).

2.4.1 Equipos, materiales y reactivos

Para este análisis se utilizó: Balanza analítica METTLER TOLEDO, espectrofotómetro JASCO V-730, 3 vasos de precipitación, probeta 100 mL, micropipetas de 10-100 uL, Micropipetas de 5 mL, espátula, frascos ámbar, viales ámbar, celdas plásticas espectrofométricas, alcohol 96 %, DPPH y ácido ascórbico.

2.4.2 Preparación de la solución DPPH

24 horas previas al análisis se preparó 500 mL de DPPH 1×10^{-4} en etanol 96 %, para lo cual se pesó 19,70 mg de DPPH, se disolvió en 200 mL de alcohol potable, luego se aforó a 500 mL, esta solución se almacenó en un frasco ámbar envuelto en papel aluminio en refrigeración a 4 °C, técnica descrita por Castañeda y otros, (2008).

2.4.3 Curva estándar de vitamina C

El estándar se preparó disolviendo 20 mg de ácido ascórbico en 100 mL de agua ultrapura de acurdo a lo descrito por Noriega y otros, (2012),

La concentración obtenida de vitamina C fue de 0,2 mg/mL, con la cual se hicieron las siguientes diluciones:

- ✓ 100 uL de vitamina C + 0 uL de agua pura
- ✓ 80 uL de vitamina C + 20 uL de agua pura
- ✓ 60 uL de vitamina C + 40 uL de agua pura
- ✓ 40 uL de vitamina C + 60 uL de agua pura

- ✓ 20 uL de vitamina C + 80 uL de agua pura
- ✓ 0 uL de vitamina C + 100 uL de agua pura

Las soluciones preparadas se colocaron en viales ámbar y a estas se les añadió 2,9 mL de DPPH preparado previamente, se agitó y permaneció en la oscuridad por 30 minutos.

Las soluciones preparadas se colocaron en celdas plásticas de 3 mL para ser analizadas en el espectrofotómetro (JASCO V-730) a una longitud de onda 517 nm, se analizaron las muestras en orden creciente de su concentración, cada muestra se analizó por triplicado.

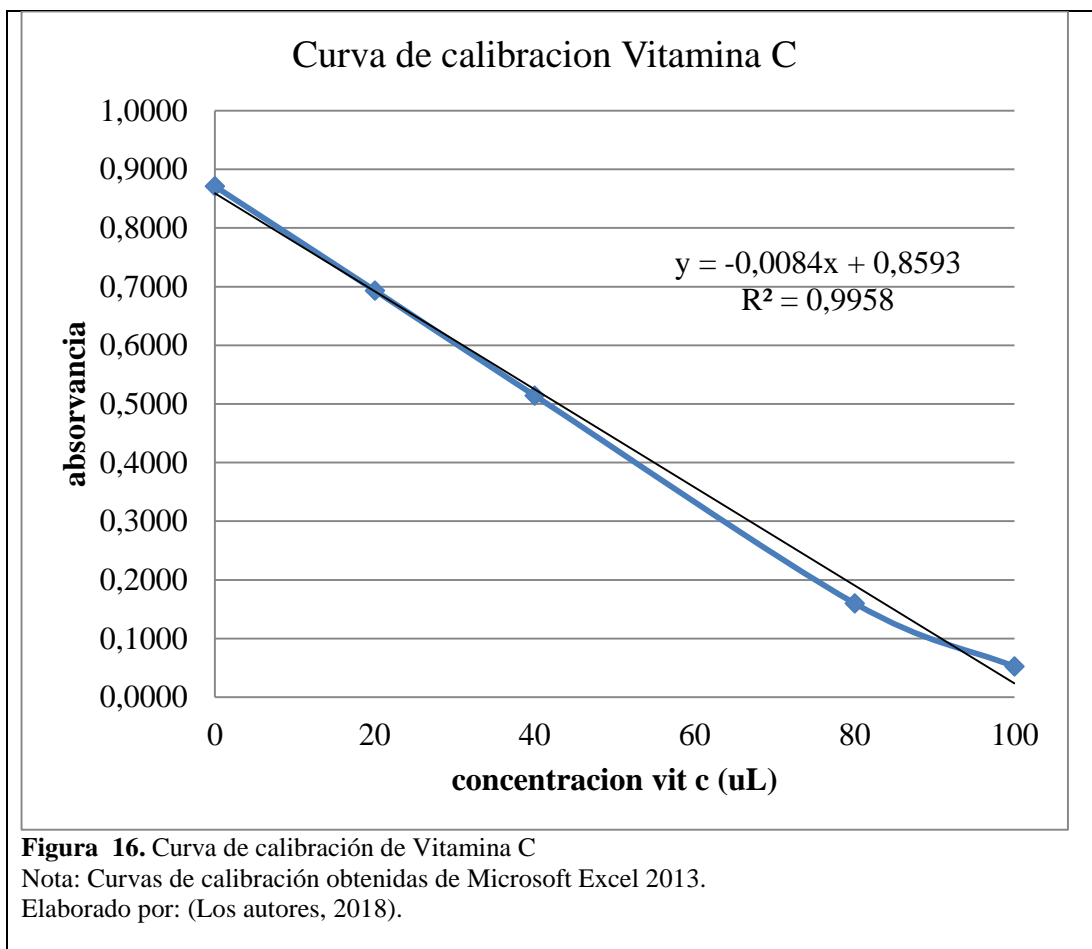
La curva de calibración obtenida en esta investigación se la puede observar en la figura 16, la cual presenta un $R^2 = 0,9958$ siendo aceptable debido a que es cercano a 1.

Tabla 1.

Datos para la curva de calibración de Vitamina C

Concentración Vitamina C (uL)	Absorbancia
0	0,8710
20	0,6934
40	0,5141
80	0,1600
100	0,0521

Nota: Datos de absorbancia obtenidos del espectrofotómetro
Elaborado por: (Los autores, 2018).



2.4.3.1 Cálculo % IC50 de vitamina C

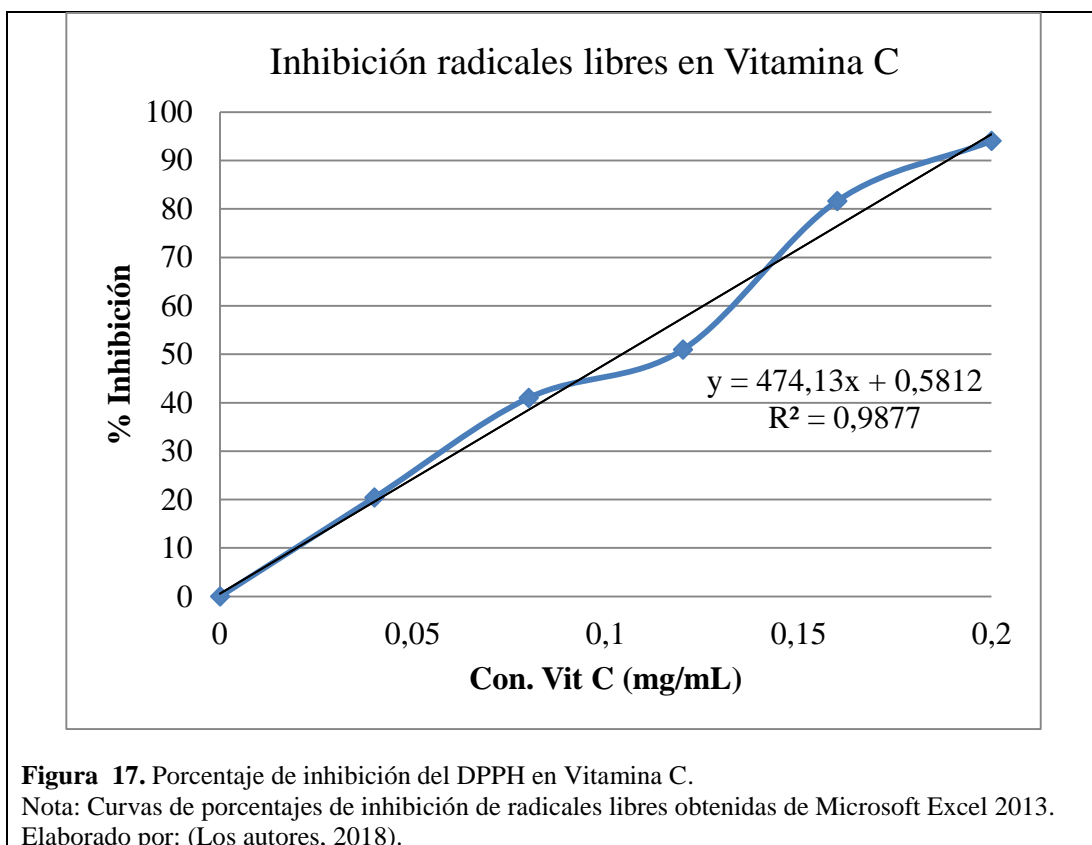
De acuerdo a los resultados del espectrofotómetro se pudo notar que por acción de la vitamina C existe una disminución de la absorbancia de DPPH, con esos datos se elaboró el cálculo del % IC50:

Tabla 2.

Absorbancia DPPH de Vitamina C

Vitamina C + DPPH			
Vit C (uL)	Con. Vit C (mg/mL)	abs DPPH	% I
100	0,2	0,0521	94,01
80	0,16	0,1600	81,63
60	0,12	0,4272	50,95
40	0,08	0,5141	40,97
20	0,04	0,6934	20,39
0	0	0,8710	0

Nota: Porcentaje de inhibición obtenidos de la vitamina C
Elaborado por: (Los autores, 2018).



De acuerdo a la figura 17, se puede ver que con una concentración de 0,104 ppm se reduce el 50 % de los radicales DPPH.

2.4.4 Preparación de las muestras para análisis en el espectrofotómetro

De los extractos de cada especie en estudio y se realizaron las siguientes disoluciones:

- ✓ 10 uL de extracto + 90 uL de etanol 96 %
- ✓ 50 uL de extracto + 50 uL de etanol 96 %
- ✓ 80 uL de extracto + 20 uL de etanol 96 %
- ✓ 100 uL de alcohol96% + 2,9 mL DPPH

Para analizar las muestras en el espectrofotómetro se replicó el procedimiento usado para la vitamina C (2.4.3).

2.5 Análisis estadístico

Para este análisis se utilizó el programa estadístico “Infostat 2018”. El modelo estadístico elegido fue el de análisis por conglomerados; ya que este modelo facilitó clasificar todas las especies dentro de diferentes grupos homogéneos mediante la similitud de datos que estos presenten (distancia Euclidea) dependiendo del potencial antioxidante que estos posean. Se eligió clasificarlos en 3 clústers, ya que esto permitió que las especies se vayan agrupando según la actividad antioxidante, que puede ser baja, moderada y alta.

Capítulo 3

Resultados y discusión

3.1 Identificación de metabolitos secundarios

Mediante pruebas colorimétricas se identificó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y triterpenos en las orquídeas colectadas, usando la técnica cualitativa del Manual de Miranda y Cuellar, (2000).

3.1.1 Resultados screening fitoquímico género *Caucaea*.

El porcentaje de presencia de metabolitos en las especies en estudio del género *Caucaea* fueron: flavonoides y triterpenos en un 100 %, saponinas en un 88 %, alcaloides y taninos con un 44,4 %; no existen otros estudios fitoquímicos del género *Caucaea* debido a que es un género nuevo que fue separado de *Oncidium* y se ha discutido mucho sobre la pertenencia de algunas especies del género *Caucaea* y *Oncidium* como lo señala Szlachetko y Kolanowska, (2015). Sin embargo en este trabajo se evidenció la presencia de los mismos grupos de metabolitos: flavonoides y triterpenos en los 2 géneros. Sobresale entre todas la especie *Caucaea* sp4 que tuvo presencia de todos los metabolitos ensayados. Ver tabla 3.

Tabla 3.Resultados metabolitos secundarios género *Caucaea*

Género	Especies	Metabolitos secundarios					
		Alcaloides	Flavonoides	Saponinas		Taninos	Triterpenos
				1 min	5 min		
<i>C a u c a e a</i>	<i>Caucaea</i> sp1	-	+	+	-	-	+
	<i>Caucaea</i> sp2	-	+	++	++	++	++
	<i>Caucaea</i> sp3	-	+++	+	+	++	+++
	<i>Caucaea</i> sp4	+	++	++	++	++	+
	<i>Caucaea</i> sp5	-	++	+	+	++	++
	<i>Caucaea</i> sp6	+	++	-	-	-	+
	<i>Caucaea cucullata</i>	-	++	+	+	-	+
	<i>Caucaea nubigena</i>	+	++	++	++	-	+
	<i>Caucaea phalaenopsis</i>	+	+	+	+	-	+
	% Presencia	44,4	100	88,8	77,7	44,4	100

Nota: Negativo (-), poca presencia (+), moderada presencia (++), alta presencia (+++).

Elaborado por: (Los autores, 2018).

3.1.2 Resultados screening fitoquímico género *Epidendrum*

El porcentaje de presencia de metabolitos en las especies en estudio del género *Epidendrum* fueron: saponinas 100 %, triterpenos 90,9 %, taninos 63,6 %, flavonoides 45,4 % y alcaloides 0 %, ninguna muestra presentó alcaloides lo que contrasta con el estudio hecho por Sut y otros (2017), que encontró alcaloides fenantrénicos en especies del género *Epidendrum*; esto indicaría que las especies colectadas no han tenido una amenaza externa que induzca la producción de alcaloides, como lo explica Farrán y otros, (2017).

Las especies que destacan en este género por presentar los metabolitos restantes son: *Epidendrum secundum* de flores blancas y *Epidendrum cochlidium* sp2. Ver tabla 4.

Tabla 4.Resultados metabolitos secundarios género *Epidendrum*

Género	Especies	Metabolitos secundarios					
		Alcaloides	Flavonoides	Saponinas		Taninos	Triterpenos
				1 min	5 min		
<i>Epidendrum</i>	<i>blepharoclinium</i>	-	-	++	++	+	+
	<i>blepharoclinium blanco</i>	-	-	++	+	-	+
	<i>cochlidium sp1</i>	-	-	++	++	+	+
	<i>cochlidium sp2</i>	-	+++	++	+	+	++
	<i>Jamiesonis</i>	-	-	+	+	+	+
	<i>medusae</i>	-	-	+	+	-	+
	<i>nocturnum</i>	-	+++	+	-	++	-
	<i>paniculatum</i>	-	++	+++	++	-	+++
	<i>porphyreum</i>	-	-	+	+	+	+
	<i>secundum</i>	-	++	+++	+++	-	++
	<i>secundum blanco</i>	-	+	+++	+++	++	+
	% Presencia	0	45,4	100	90,9	63,6	90,9

Nota: Negativo (-), poca presencia (+), moderada presencia (++), alta presencia (+++).

Elaborado por: (Los autores, 2018).

3.1.3 Resultados del screening fitoquímico del género *Oncidium*

El porcentaje de presencia de metabolitos en las especies en estudio del género *Oncidium* fueron: flavonoides y triterpenos 100 %, saponinas 93,3 %, taninos 73,3 %, alcaloides 66,6 %, Amar y otros (2017) presentan un estudio realizado en *Oncidium baueri*, en el que también se encontró flavonoides y triterpenos. Particularmente en el presente estudio se encontró un alto contenido de flavonoides en las especies *Oncidium excavatum* y *Oncidium sp1*; factor indicador de actividad antioxidante, como lo señala González y otros (2009).

En este género destacan 6 especies por poseer todos los metabolitos que se analizaron: *Oncidium excavatum*, *Oncidium sp1*, *Oncidium sp3*, *Oncidium sp5*, *Oncidium strictum* y el híbrido *Oncidium "Sweet Sugar"*, Ver tabla 5.

Tabla 5.

Resultados metabolitos secundarios género *Oncidium*

Género	Especies	Metabolitos secundarios					
		Alcaloides	Flavonoides	Saponinas		Taninos	Triterpenos
				1 min	5 min		
<i>Oncidium</i>	<i>Oncidium sp1</i>	+	+++	++	++	++	++
	<i>Oncidium sp2</i>	-	+	++	++	++	++
	<i>Oncidium sp3</i>	+	+	++	++	+	++
	<i>Oncidium sp4</i>	-	+	++	++	++	+
	<i>Oncidium sp5</i>	+	++	++	++	++	+
	<i>Oncidium sp6</i>	++	+	++	++	-	+
	<i>Oncidium sp7</i>	-	++	+++	+++	++	+
	<i>Oncidium camilita portilla</i>	++	++	+	+	-	++
	<i>Oncidium excavatum</i>	+	+++	+++	+++	++	+
	<i>Oncidium fuscatum</i>	-	++	-	-	++	++
	<i>Oncidium obryzatum</i>	-	+	+++	+++	+	+
	<i>Oncidium portmannii</i>	++	+	+	+	-	+
	<i>Oncidium selecoanum</i>	+	+	++	++	-	+
	<i>Oncidium strictum</i>	+	++	+	+	+	+
<i>Oncidium sweet sugar</i>	+	++	+	+	++	+	
	% Presencia	66,6	100	93,3	93,3	73,3	100

Nota: Negativo (-), poca presencia (+), moderada presencia (++) , alta presencia (+++).

Elaborado por: (Los autores, 2018).

De acuerdo a los resultados obtenidos en los 3 géneros estudiados podemos ver la similitud entre *Oncidium* y *Caucaea* ya que estos 2 géneros poseen flavonoides y triterpenos en un 100 % de las especies estudiadas. Los resultados nos señalan alta presencia de flavonoides en un 81,8 % de las especies estudiadas, este compuesto está relacionado con los colores vivos de las flores que poseen las orquídeas estudiadas como lo señala González y otros, (2009).

En cuanto a los triterpenos, está presente en un 96,96 % de las especies analizadas, este metabolito protege a las plantas de los rayos UV como lo señala Romo (2013) , lo que sugiere que estas plantas han desarrollado mayores defensas contra la radiación solar.

Es importante señalar que los metabolitos secundarios escogidos para este trabajo no son los únicos presentes en las orquídeas ya que en estudios como los de Amar y otros, (2017), señalan además la presencia de fenantrenos, glucósidos, xantonas y cumarinas.

3.2 Actividad antioxidante

Para cuantificar este parámetro se utilizó la técnica espectrofotométrica descrita por Noriega y otros (2012), para evaluar la inhibición del DPPH por acción de las partículas antioxidantes presentes en el extracto etanólico del material vegetal de las orquídeas.

Las especies que sobresalieron en el cálculo del % IC₅₀ al presentar una alta capacidad antioxidante fueron: *Epidendrum nocturnum* y *Oncidium excavatum* que presentaron la capacidad de inhibir el 50 % de radicales libres del DPPH con tan solo 3,5 y 31 ppm respectivamente. Cabe recalcar que dentro del género *Caucaea* no se evidenció actividad antioxidante significativa.

3.2.1 Actividad antioxidante del género *Caucaea*

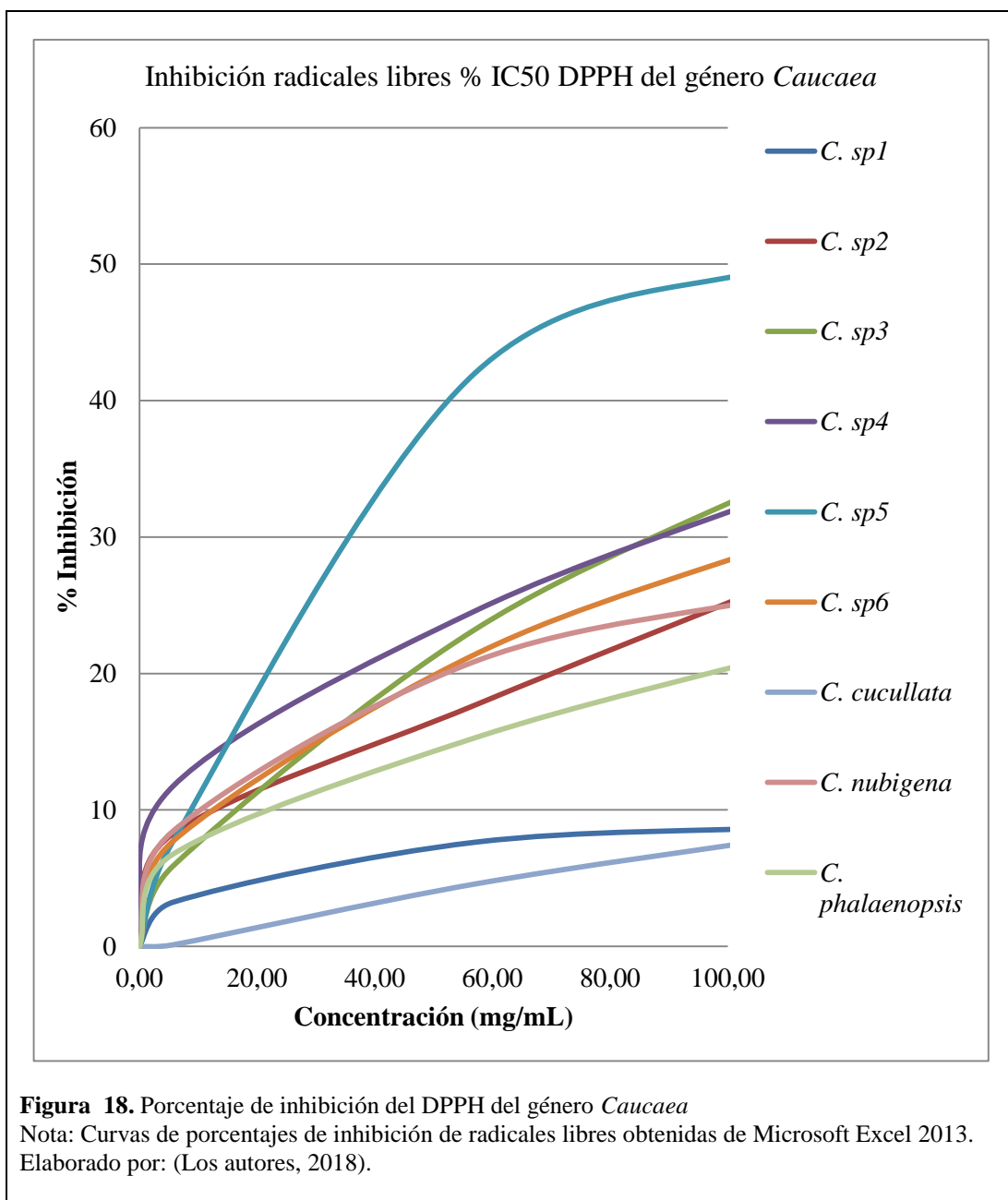
3.2.1.1 Cálculo % IC₅₀ del género *Caucaea*

Se observó que las especies analizadas de este género no tienen actividad antioxidante significativa ya que ninguna logra sobrepasar el 50 % de inhibición, Ver tabla 6 y figura 18.

Tabla 6.Calculo de del DPPH de especies del género *Caucaea*

Concentración material vegetal (mg/ml)	% IC50								
	C. sp1	C. sp2	C. sp3	C. sp4	C. sp5	C.sp6	<i>C. cucullata</i>	<i>C. nubigena</i>	<i>C. phalaenopsis</i>
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5,71	3,24	8,26	5,89	11,74	7,70	7,71	0,12	8,45	6,76
57,12	7,64	17,70	23,25	24,60	42,05	21,42	4,58	20,90	15,30
114,24	8,77	27,64	35,31	34,08	50,50	30,40	8,29	26,07	21,97

Nota: Curvas de porcentajes de inhibición de radicales libres obtenidas de Microsoft Excel 2013.
Elaborado por: (Los autores, 2018).



3.2.2 Actividad antioxidante del género *Epidendrum*

3.2.2.1 Cálculo % IC50 del género *Epidendrum*

Entre las especies analizadas se destaca *E. nocturnum* que presentó capacidad antioxidante del 50 % de los radicales DPPH con una concentración de 3,50 ppm, las demás especies tienen una actividad antioxidante muy baja, Ver tabla 7 y figura 19.

Tabla 7.

Calculo de del DPPH de especies del género *Epidendrum*

Concentración material vegetal (mg/mL)	% IC50										
	<i>E. blepharoclinium</i>	<i>E. blepharoclinium</i>	<i>E. cochlidium</i> sp1	<i>E. cochlidium</i> sp2	<i>E. jamiesonis</i>	<i>E. medusae</i>	<i>E. nocturnum</i>	<i>E. paniculatum</i>	<i>E. porphyreum</i>	<i>E. secundum</i>	<i>E. secundum blanco</i>
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5,71	11,40	13,29	14,99	19,93	7,02	7,35	50,34	11,39	17,52	7,02	9,73
57,12	17,37	20,01	29,36	41,20	16,01	20,22	82,71	44,08	45,16	16,01	40,01
114,24	26,76	29,60	40,46	62,93	20,08	28,12	92,78	59,23	59,36	20,08	54,01

Nota: Curvas de porcentajes de inhibición de radicales libres obtenidas de Microsoft Excel 2013. Elaborado por: (Los autores, 2018).

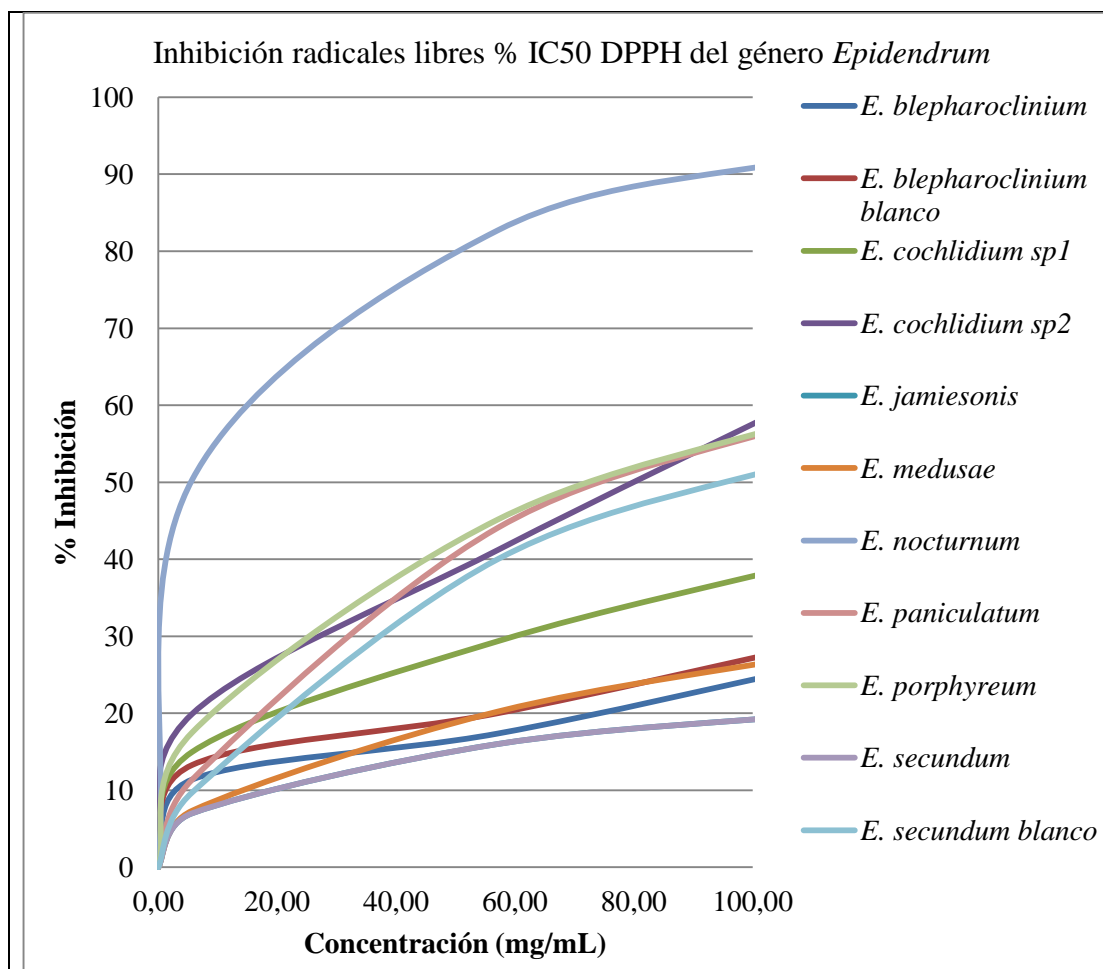


Figura 19. Porcentaje de inhibición del DPPH del género *Epidendrum*

Nota: Curvas de porcentajes de inhibición de radicales libres obtenidas de Microsoft Excel 2013. Elaborado por: (Los autores, 2018).

3.2.3 Actividad antioxidante del género *Oncidium*

3.2.3.1 Cálculo % IC50 del género *Oncidium*

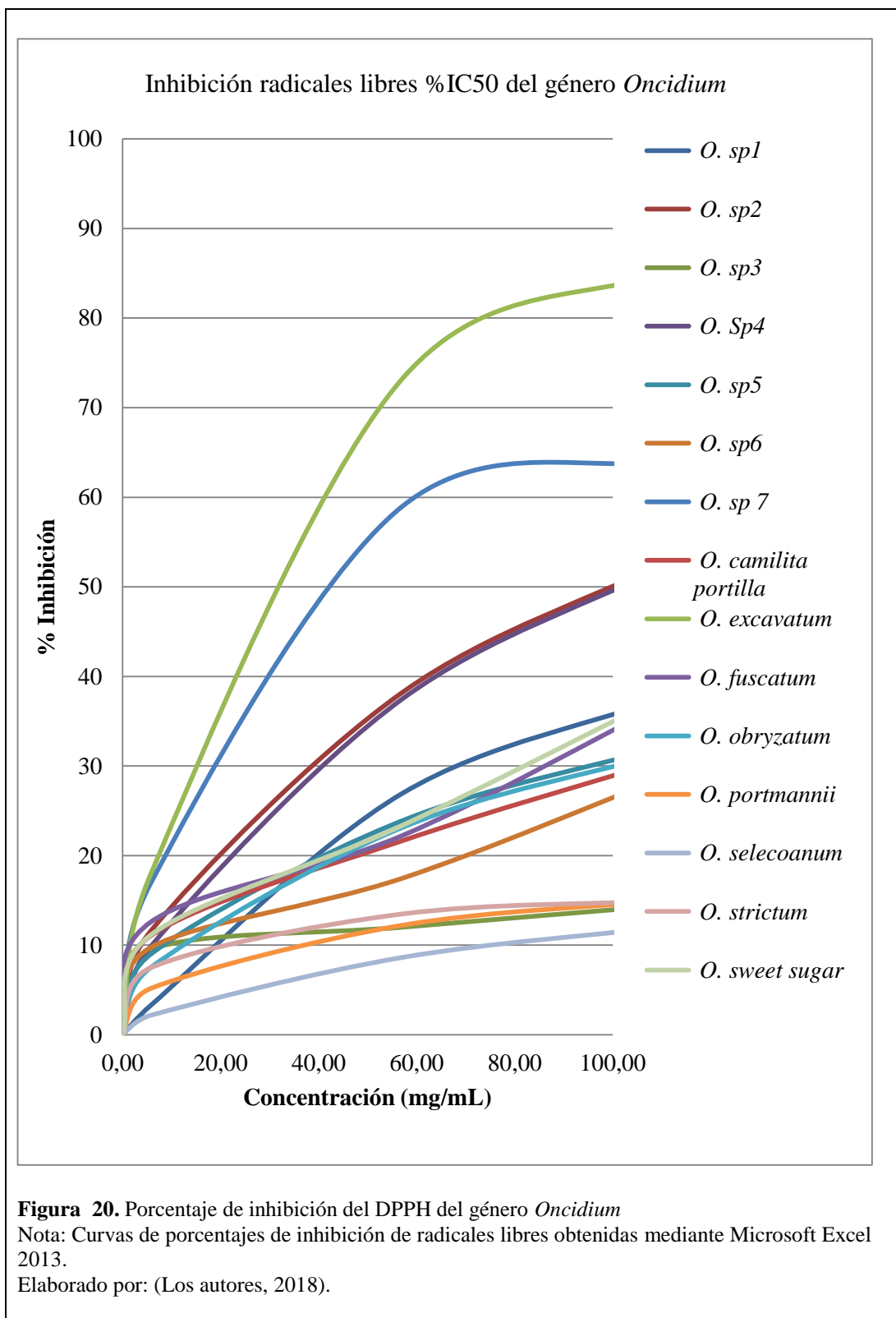
Se puede observar que destacan 2 especies por su potencial antioxidante las cuales son: *O. sp7* y *O. excavatum*, las cuales a una concentración de 43 y 31 ppm respectivamente, reducen el 50 % de los radicales DPPH; las otras especies no tienen una actividad antioxidante significativa. Ver tabla 8 y figura 20.

Tabla 8.

Calculo de del DPPH de especies del género *Oncidium*

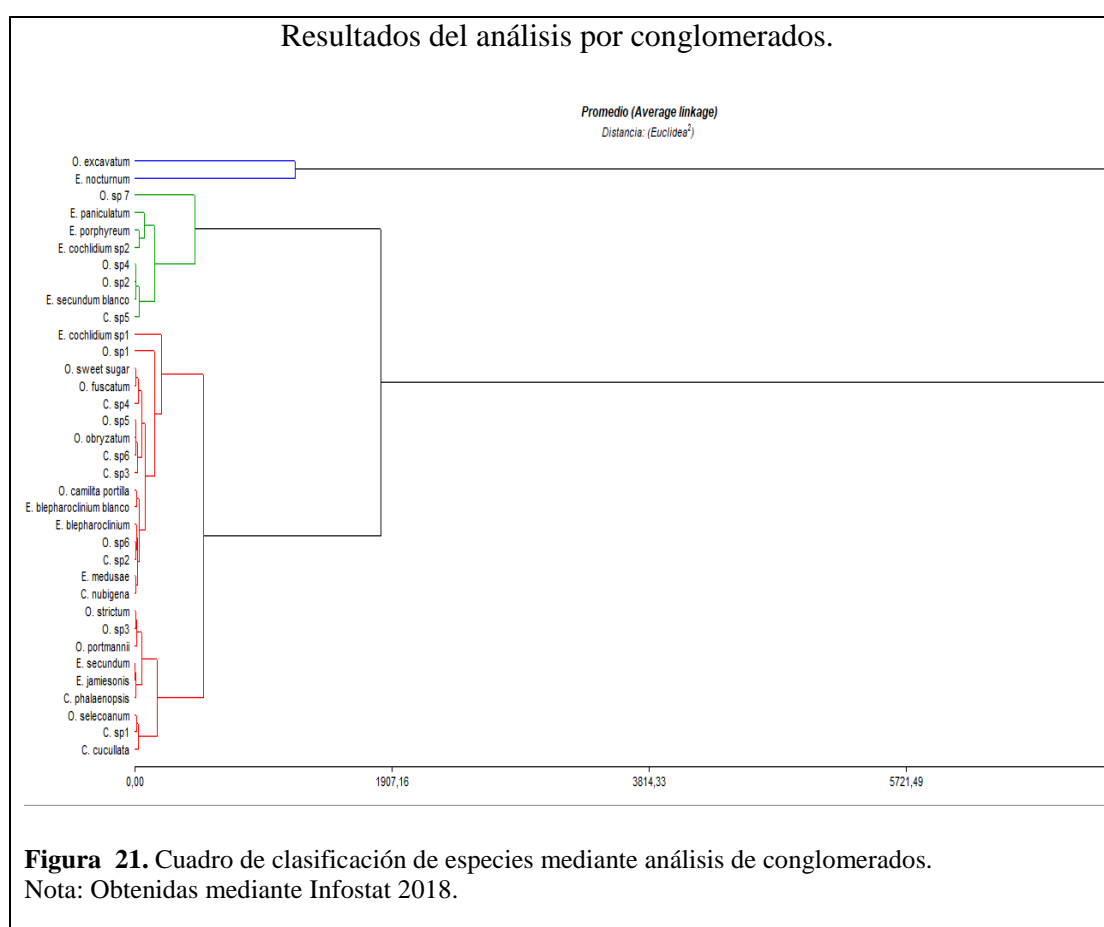
Concentración material vegetal (mg/mL)	% IC50							
	<i>O. sp1</i>	<i>O. sp2</i>	<i>O. sp3</i>	<i>O. sp4</i>	<i>O. sp5</i>	<i>O. sp6</i>	<i>O. sp7</i>	
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
5,71	3,26	11,56	9,52	9,83	8,98	9,73	16,90	
57,12	26,96	38,23	12,00	37,51	23,90	17,47	59,01	
114,2	38,23	53,58	14,58	53,17	32,65	29,55	64,17	
Concentración material vegetal (mg/mL)	% IC50							
	<i>O. camilita porilla</i>	<i>O. excavatum</i>	<i>O. fuscatum</i>	<i>O. obryzatum</i>	<i>O. portmannii</i>	<i>O. selecoanum</i>	<i>O. strictum</i>	<i>O. sweet sugar</i>
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5,71	11,05	17,90	12,57	7,49	5,16	2,16	7,47	11,12
57,12	21,66	73,27	22,24	23,15	12,22	8,63	13,48	23,38
114,2	31,26	85,71	38,02	31,93	15,14	12,21	15,00	38,84

Nota: Curvas de porcentajes de inhibición de radicales libres obtenidas de Microsoft Excel 2013. Elaborado por: (Los autores, 2018)



3.2.4 Análisis estadístico de la actividad antioxidante

Se realizó un análisis estadístico por conglomerados, el cual se dividió en 3 clústers: poca actividad, moderada actividad y alta actividad. De color rojo el conglomerado 1 nos muestra las especies con poca actividad antioxidante; de color verde el conglomerado 2 muestra especies que tienen una actividad antioxidante moderada y por ultimo de color azul el conglomerado 3 nos muestra especies que tienen una alta actividad antioxidante. Ver figura 21.



El clúster 3 está compuesto de las especies *Epidendrum nocturnum* y *Oncidium excavatum*; las cuales redujeron el 50 % de los radicales libres de DPPH con tan solo 3,5 y 31 ppm respectivamente lo cual las cataloga como especies con alta actividad antioxidante respecto a las otras muestras, destacando la especie *Epidendrum*

nocturnum la cual llegó al 50 % de inhibición de los radicales con una cantidad mucho menor de concentración que su compañera de clúster.

Se pudo observar que la especie *Epidendrum nocturnum* superó la capacidad antioxidante de *Prosthechea michuacana* reportada por González y otros, (2009) en su estudio “Aislamiento e identificación de los compuestos con actividad antioxidante de la orquídea comestible *Prosthechea michuacana*”, que requirió 13,22 ppm para inhibir el % IC50 de DPPH.

Según señala González y otros, (2009) compuestos como los flavonoides influyen en el potencial antioxidante de las plantas, lo que confirman los resultados de este ensayo, ya que en el screening fitoquímico de las 2 especies con alta actividad antioxidante presentaron un alto contenido de flavonoides en las pruebas colorimétricas que se realizaron.

Conclusiones

Los metabolitos secundarios encontrados en las especies estudiadas fueron: triterpenos 96,96 %, saponinas 96,65 %, flavonoides 81,8 %, taninos 60,43 % y alcaloides 37 %; todas las especies analizadas del género *Caucaea* presentaron flavonoides y triterpenos, además un 88 % presentaron saponinas; las especies del género *Oncidium* analizadas presentaron flavonoides y triterpenos, también saponinas en un 93,3 %; finalmente las especies ensayadas del género *Epidendrum* presentaron saponinas en un 100 %, triterpenos en un 90,9 % y taninos en un 63,6 %.

Las especies estudiadas del género *Caucaea* y *Oncidium* mostraron una estrecha similitud al presentar 2 metabolitos en las especies analizadas, los cuales fueron: flavonoides y triterpenos en un 100% de las especies.

El análisis de actividad antioxidante señaló a 2 especies como las de mayor acción, las cuales fueron *Epidendrum nocturnum* con un % IC50 de 3,5 ppm, casi 10 veces más capacidad antioxidante que la segunda especie con más acción la cual fue *Oncidium excavatum* con un % IC50 de 31 ppm. Las especies estudiadas del género *Caucaea* no presentaron actividad antioxidante significativa en ninguna de las muestras colectadas.

Las 2 especies que presentaron una capacidad antioxidante significativa mostraron una presencia alta de flavonoides en su composición, lo que confirma que este metabolito secundario aporta a la capacidad antioxidante de estas plantas.

Recomendaciones

Analizar los diferentes tipos de flavonoides que están presentes en *Epidendrum nocturnum* y *Oncidium excavatum*, mediante cromatografía de capa fina; y cuantificar su concentración mediante técnicas como espectrofotometría UV, de capa fina y HPLC.

Realizar estudios similares al presente en *Epidendrum nocturnum* así como también *Oncidium excavatum*, sometidos a condiciones de estrés y estabilidad, usando extractos etanólicos de otros sectores de la planta (bulbos, flores, raíces, etc.) para determinar en qué sección de la planta se encuentran la mayor concentración de metabolitos secundarios.

Estudiar posibles aplicaciones farmacológicas y fitocosméticas de las especies *Epidendrum nocturnum* y *Oncidium excavatum*, debido a su capacidad antioxidante y a los metabolitos secundarios como: flavonoides, saponinas y taninos que están presentes en estas especies.

Realizar un análisis similar al presente trabajo en especies afines a *Epidendrum nocturnum* ya que podrían presentar también alta capacidad antioxidante.

Referencias

- Amar, M., Baba, S., Singh, A., Singh, J., Sembi, J., Arora, M., & Mahajan, A. (2017). A review on phytochemical and pharmacological potential of family orchidaceae. *Article in International Research Journal of Pharmacy Mamta Arora et Al. Int. Res. J. Pharm*, 8(10), 9–24. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.0810176>
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales Libres, Antioxidantes naturales y Mecanismos de Protección. *Atenea*, (494), 161–172. <https://doi.org/10.4067>
- Bravo, A., & Acuña, W. D. (2015). Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L. *Xilema*, 28(1), 61–67.
- Breitmaier, E. (2006). *Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*. Weinheim: John Wiley & Sons.
- Cano, A., & Arnao, M. (2005). Hydrophilic and lipophilic antioxidant activity in different leaves of three lettuce varieties. *International Journal of Food Properties*, 8(3), 521–528. <https://doi.org/10.1080/10942910500269584>
- Canosa, E., Blasco, I., Romero, C., & Conde, E. (2010). *Bioquímica: Conceptos esenciales* (Primera). Madrid: Médica Panamericana.
- Carrera, G., Benedito, E., Souza-Leal, T., Pedroso-De-Moraes, C., & Gaspi, F. (2014). Testes fitoquímicos em extratos foliares de *Oeceoclades maculata* Lindl. (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16(4), 938–944. https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_174
- Castañeda, B., Ramos, E., & Ibáñez, L. (2008). Evaluación de la capacidad

antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Medico*, 8(1), 56–72.

Chinsamy, M., Finnie, J., & Van Staden, J. (2014). Anti-inflammatory, antioxidant, anti-cholinesterase activity and mutagenicity of South African medicinal orchids. *South African Journal of Botany*, 91, 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.12.004>

Coronado, M., Vega-León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>

Crozier, A., Clifford, M., & Ashihara, H. (2008). *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*. New Jersey: John Wiley & Sons.

Cuevas, P., Vaca, S., González, A., Maldonado, Y., & Fernandes, W. (2016). Importancia de los taninos en especies del género *Quercus* como metabolitos secundarios asociados a defensa contra insectos herbívoros. *Biológicas*, 18(1), 10–20.

Daza, M., Pinta, A., Otero, J., & Bonilla, M. (2016). El establecimiento de keikis de *Epidendrum melinanthum* Schltr. (Orchidaceae: Laelinae) bajo condiciones de invernadero. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12, 136–141.

de Marcano, D., & Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Orgánica* (Segunda). Caracas: Torino.

Endara, L., & Jost, L. (2011). Orchidaceae. In S. León-yáñez, R. Valencia, N. Pitman, L. Endara, C. Ulloa, & H. Navarrete (Eds.), *Libro rojo de las plantas endémicas*

del Ecuador (Segunda, p. 80). Quito: Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Endara, L., Williams, N., & León-Yáñez, S. (2010). 1. Explorando los patrones de endemismo de las orquídeas ecuatorianas: Implicaciones para su conservación. In *X congreso Latinoamericano de Botánica*. La Serena.

Farrán, A., López, C., Pérez, M., & Santa María, M. (2017). *Química bioorgánica y productos naturales*. (R. Claramunt, Ed.) (Segunda). Madrid: UNED.

Fischer, A. (2007). Cultivo de orquídeas, 5–24.

Freuler, M. (2008). *Orquídeas*. Buenos Aires: Albatros.

García-Álvarez, J., Sánchez-Tovar, M., & García-Vigil, J. (2009). Uso de antioxidantes para prevenir enfermedad cardiovascular. Metaanálisis de ensayos clínicos. *Aportaciones Originales*, 47(1), 7–16.

García-Cruz, J., Sánchez, L., Jiménez, R., & Solano, R. (2003). Orchidaceae, Tribu Epidendreae. *Flora Del Bajío Y de Regiones Adyacentes*, 119, 178.

García, R. (2011). Manual para la propagación de orquídeas, 7–18. Retrieved from http://www.conafor.gob.mx/biblioteca/documentos/MANUAL_PARA_LA_PROPAGACION_DE_ORQUIDEAS.PDF

Gautier, R. (2018). *Oncidium altissimum*. Retrieved April 12, 2018, from <http://www.orchidspecies.com/ocnidiumaltissimum.htm>

González, A. (2009). *Aislamiento e identificación de los compuestos con actividad antioxidante del extracto de cloroformo de la orquídea comestible Prosthechea michuacana*. Instituto Politécnico Nacional.

- Hicks, J., Torres, Y., & Sierra-Vargas, M. (2006). Estrés oxidante. Concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología Y Nutrición*, 14(4), 2–5.
- Hossain, M. (2011). Therapeutic orchids: Traditional uses and recent advances - An overview. *Fitoterapia*, 82(2), 102–140.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.09.007>
- Hostettmann, K., & Marston, A. (2005). *Saponins*. New York: Cambridge University Press.
- Hubt, E. (2018). *Caucaea radiata*. Retrieved April 12, 2018, from <http://www.orchidspecies.com/caucaradiata.htm>
- Khanbabae, K., & Van Ree, T. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports*, 18(6), 641–649. <https://doi.org/10.1039/B101061L>
- Kong, J.-M., Goh, N.-K., Chia, L.-S., & Chia, T.-F. (2003). Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacologica Sinica*, 24(1), 7–21.
- Llacuna, L., & Mach, N. (2012). Papel de los antioxidantes en la prevención del cáncer. *Revista Española de Nutrición Humana Y Dietética*, 16(1), 16–24.
[https://doi.org/10.1016/S2173-1292\(12\)70067-4](https://doi.org/10.1016/S2173-1292(12)70067-4)
- Londoño, J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad*. Medellín: Corporación Universitaria Lasallista.
- Marjoka, A., Alam, O., & Huda, M. (2016). Phytochemical screening of three medicinally important epiphytic orchids of Bangladesh. *Jahangirnagar University Journal of Biological Sciences*, 5(1), 95–99.
- Meisel, J., Kaufmann, R., & Pupulin, F. (2014). *Orchids of tropical America: an*

introduction and guide. New York: Cornell University Press.

- Mesa-Vanegas, A., Zapata-Uribe, S., Arana, L., Zapata, I., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe de Plantas Medicinales Y Aromáticas*, *14*(1), 1–10.
- Minh, T., Khang, D., Tuyen, P., Minh, L., Anh, L., Quan, N., ... Xuan, T. (2016). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Phalaenopsis* Orchid Hybrids. *Antioxidants*, *5*(3), 31. <https://doi.org/10.3390/antiox5030031>
- Ministerio de Turismo del Ecuador. (2013). Ecuador, el primer “País de las Orquídeas” del mundo. Retrieved February 2, 2018, from <http://www.turismo.gob.ec/ecuador-el-primer-pais-de-las-orquideas-del-mundo/>
- Miranda, M., & Cuellar, A. (2000). *Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales* (Primera). La Habana: Universidad de la Habana.
- Moreno, N., & Jaramillo, B. (2017). Análisis fitoquímico preliminar de *Pachira quinata* (Jacq.) W.S. Alverson, Bogotá, Colombia. *Boletín Semillas Ambientales*, *11*(1), 30–39.
- Moretti, M., Cossignani, L., Messina, F., Dominici, L., Villarini, M., Curini, M., & Marcotullio, M. (2013). Antigenotoxic effect, composition and antioxidant activity of *Dendrobium speciosum*. *Food Chemistry*, *140*(4), 660–665. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.022>
- Noriega, P., Mosquera, T., Baldisserotto, A., Abad, J., Aillon, C., Cabezas, D., ... Manfredini, S. (2012). Chemical Composition and Biological Activities of the

- Essential Oil from Leaves of *Cleidion javanicum* Bl. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(2), 29–31. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644035>
- Novoa, M., Vizcaíno, C., & Colares, M. (1998). Anatomía y Etnobotánica de las Especies Medicinales de Monocotiledóneas de la Estepa Pampeana de Argentina: Cyperaceae. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 17(1), 11–22.
- Pant, B. (2013). Medicinal orchids and their uses: Tissue culture a potential alternative for conservation. *African Journal of Plant Science*, 7(10), 448–467. <https://doi.org/10.5897/AJPS2013.1031>
- Pant, B. (2015). Conservation of Medicinal Orchids. *IUCN*, (1), 1–6.
- Pant, B., & Raskoti, B. (2013). *Medicinal orchids of Nepal*. (Primera). Nepal: Himalayan map house.
- Patiño, N. (2008). *Farmacología médica*. México D.F.: Médica Panamericana.
- Pitman, N., Valencia, R., & León-Yáñez, S. (2012). *El libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador* (Segunda). Quito: Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Ramos, P., Colareda, G., Rosella, M., Debenedetti, S., Spegazzini, E., & Consolini, A. (2012). Phytochemical profile and anti-inflammatory effect of the orchid *Catasetum macroglossum*. *Latin American Journal of Pharmacy*, 31(1), 62–67.
- Ramya, M., An, H., Baek, Y., Reddy, K., & Park, P. (2018). Orchid floral volatiles: Biosynthesis genes and transcriptional regulations. *Scientia Horticulturae*, 235(December 2017), 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.049>
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M., & Verde-Star, M. (2016). *Investigación en*

plantas de importancia médica. Nuevo León: OmniaScience.

Robles-García, M., Aguilar, A., Gutiérrez-Lomelí, M., Rodríguez-Félix, F., MoralesDel-Río, J., Guerrero-Medina, P., ... Del-Toro-Sánchez, C. (2016). Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri pittier*). *Biotecnia*, *XVIII*(3), 3–8.

Romo, A. (2013). *Química de la Flora Mexicana*.

Rubio, J., López, J., Vázquez, M., & Alcaraz, Y. (2016). Evaluación de la actividad antioxidante de análogos del BHT. *Verano de La Investigación Científica*, *2*(1), 351–354.

Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (Primera). Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello.

Sut, S., Maggi, F., & Dall'Acqua, S. (2017). Bioactive secondary metabolites from orchids (Orchidaceae). *Chemistry & biodiversity*, 2017. *Chemistry & Biodiversity*, *14*(11), 1–30. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>

Szlachetko, D., & Kolanowska, M. (2015). Five new species of *Caucaea* (orchidaceae) from Colombia and Ecuador. *Polish Botanical Journal*, *60*(2), 127–134. <https://doi.org/10.1515/pbj-2015-0026>

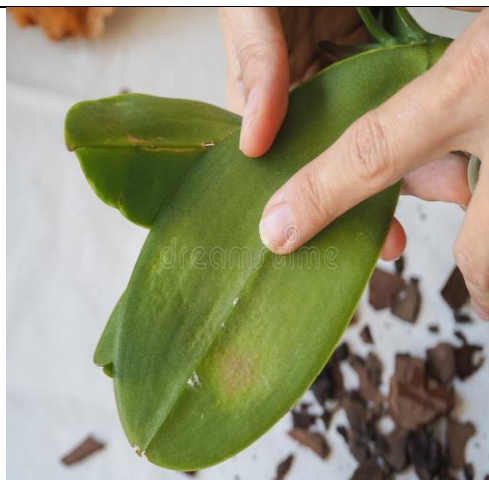
The Plant List. (2013). The Plant List: A working list of all plants species. Retrieved February 2, 2018, from <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Orchidaceae/>

The Plant List. (2017a). *Caucaea*. Retrieved April 11, 2018, from <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Orchidaceae/Caucaea/>

- The Plant List. (2017b). Epidendrum. Retrieved April 11, 2018, from <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Orchidaceae/Epidendrum/>
- The Plant List. (2017c). Oncidium. Retrieved April 11, 2018, from <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Orchidaceae/Oncidium/>
- Tropicos. (2018a). Catalogue of the Vascular Plants of the Department of Antioquia (Colombia). Retrieved April 11, 2018, from <http://www.tropicos.org/Image/65350?projectid=11&langid=66>
- Tropicos. (2018b). Taxonomy Orchidaceae. Retrieved February 28, 2018, from <http://www.tropicos.org/Name/40002994>
- Tropicos. (2018c). Taxonomy Orchidaceae. Retrieved February 28, 2018, from <http://www.tropicos.org/Name/40004089>
- Tropicos. (2018d). Taxonomy Orchidaceae. Retrieved February 28, 2018, from <http://www.tropicos.org/Name/40031779>
- Venereo, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), 126–133. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00046-X>
- Youngson, R. (2003). *Antioxidantes y radicales libres*. Madrid: EDAF.

Anexos

Anexo 1. Elaboración de extractos.



Selección de hojas jóvenes y sanas



Trituración mediante el uso de mortero



Maceración durante 8 días con etanol 96 %



Filtración para eliminar los residuos de hojas

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 2. Prueba de Dragendorff para alcaloides *Caucaea*.



Reacción negativa para alcaloides *Caucaea cucullata*



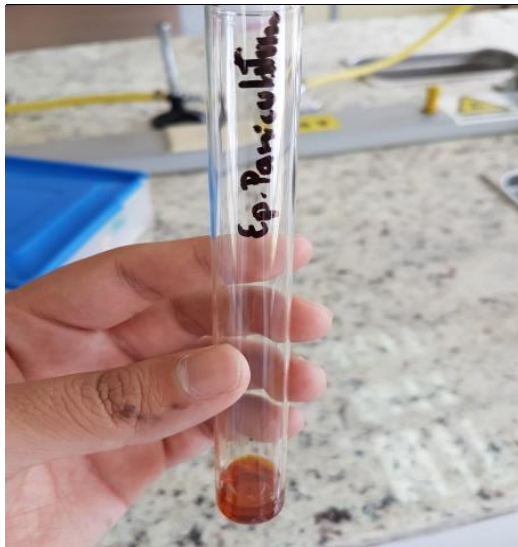
Reacción positiva para alcaloides *Caucaea nubigena*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 3. Prueba de Dragendorff para alcaloides *Epidendrum*.



Reacción negativa para alcaloides *Epidendrum medusae*



Reacción negativa para alcaloides *Epidendrum paniculatum*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 4. Prueba de Dragendorff para alcaloides *Oncidium*.



Reacción negativa para alcaloides *Oncidium* sp2



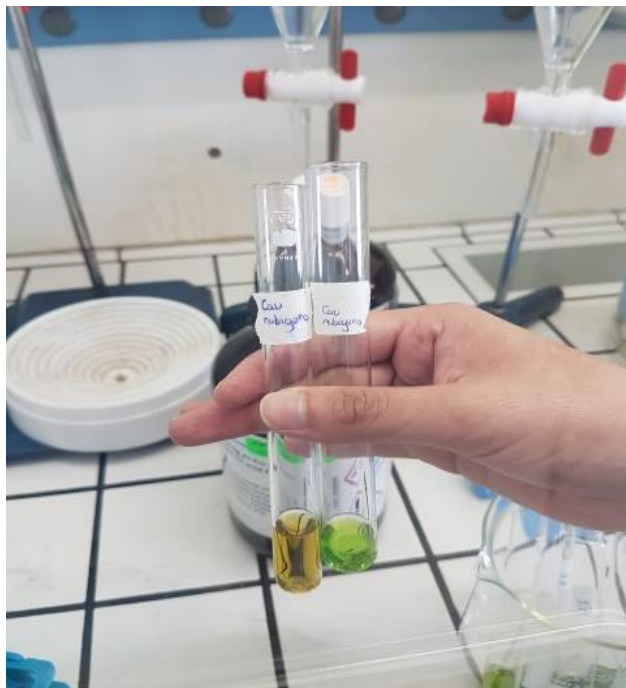
Reacción positiva para alcaloides *Oncidium portmannii*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 5. Prueba de Shinoda para flavonoides *Caucaea*.



Reacción positiva para flavonoides *Caucaea cucullata*



Reacción positiva para flavonoides *Caucaea nubigena*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 6. Prueba de Shinoda para flavonoides *Epidendrum*.



Reacción negativa para flavonoides *Epidendrum porphyreum*



Reacción positiva para flavonoides *Epidendrum nocturnum*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 7. Prueba de Shinoda para flavonoides *Oncidium*.



Reacción positiva para flavonoides *Oncidium selecoanum*



Reacción positiva para flavonoides *Oncidium strictum*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 8. Prueba de espuma para saponinas *Caucaea*.



Reacción negativa para saponinas *Caucaea* sp1



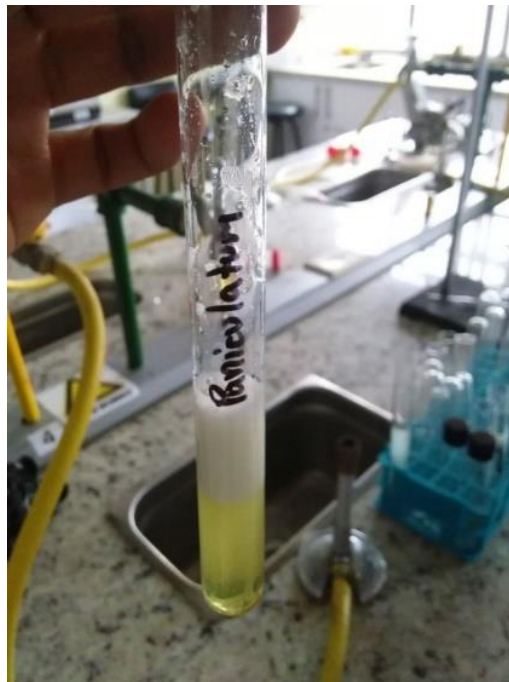
Reacción positiva para saponinas *Caucaea nubigena*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 9. Prueba de espuma para saponinas *Epidendrum*.



Reacción negativa para saponinas *Epidendrum nocturnum*



Reacción positiva para saponinas *Epidendrum secundum*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 10. Prueba de espuma para saponinas *Oncidium*.



Reacción negativa para saponinas *Oncidium fuscatum*



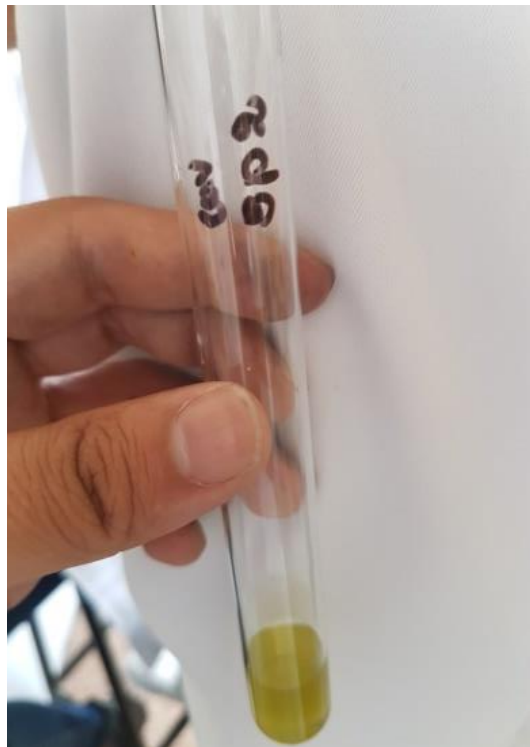
Reacción positiva para saponinas *Oncidium obryzatum*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 11. Prueba de Gelatina-Sal para taninos *Caucaea*.



Reacción negativa para taninos *Caucaea nubigena*



Reacción positiva para taninos *Caucaea sp2*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 12. Prueba de Gelatina-Sal para taninos *Epidendrum*.



Reacción negativa para taninos *Epidendrum secundum*



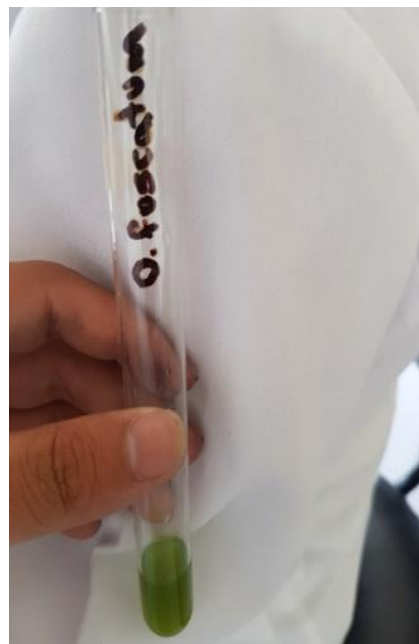
Reacción positiva para taninos *Epidendrum nocturnum*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 13. Prueba de Gelatina-Sal para taninos *Oncidium*.



Reacción negativa para taninos *Oncidium selecoanum*



Reacción positiva para taninos *Oncidium fuscatum*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 14. Prueba de Liebermann-Burchard para triterpenos *Caucaea*.



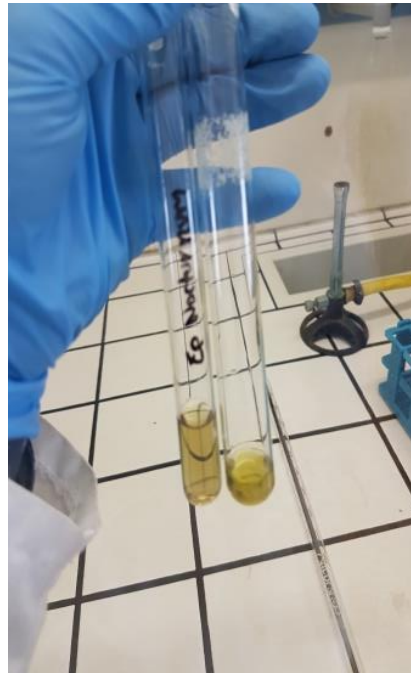
Reacción positiva para triterpenos *Caucaea nubigena*



Reacción positiva para triterpenos *Caucaea* sp3

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 15. Prueba de Liebermann-Burchard para triterpenos *Epidendrum*.



Reacción negativa para triterpenos *Epidendrum nocturnum*



Reacción positiva para triterpenos *Epidendrum paniculatum*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 16. Prueba de Liebermann-Burchard para triterpenos *Oncidium*.



Reacción positiva para triterpenos *Oncidium fuscatum*



Reacción positiva para triterpenos *Oncidium portmannii*

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 17. Preparación de la curva de calibración vitamina C.



Pesaje de vitamina C



Preparación de viales para análisis



Lectura e espectrofotómetro para elaborar la curva de calibración



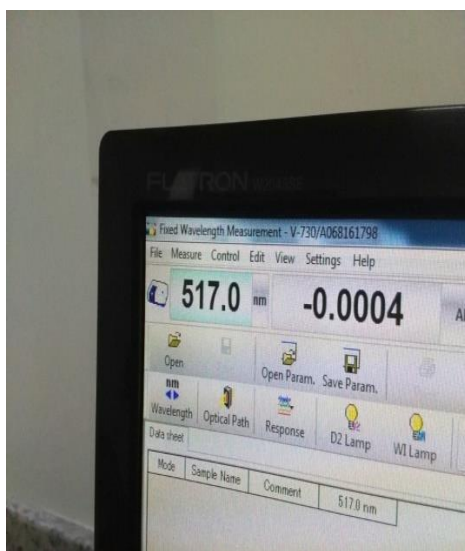
Reacción DPPH en vitamina C

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 18. Evaluación actividad antioxidante.



Preparación viales para análisis en espectrofotómetro



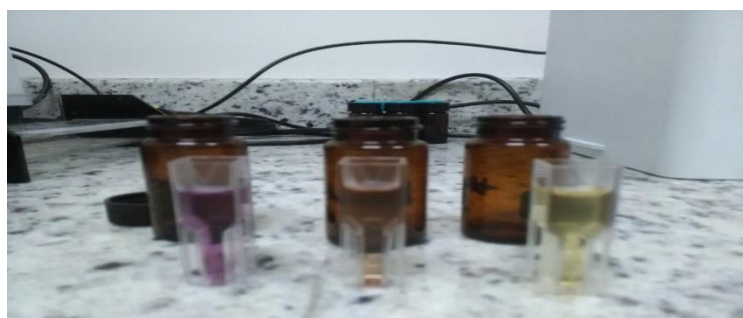
Calibración espectrofotómetro para análisis de muestras

Tomado por: (Los autores, 2018).

Anexo 19. Actividad antioxidante géneros *Caucaea*, *Epidendrum*, *Oncidium*.



Reacción DPPH género *Caucaea*



Reacción DPPH género *Epidendrum*



Reacción DPPH género *Oncidium*

Tomado por: (Los autores, 2018).