

Artículo original

Análisis químico cualitativo y actividad ecotóxica de la especie *Tristerix longibracteatus* (Desr.) Barlow & Wiens (Loranthaceae) colectada en Chimborazo, Ecuador.

Cualitative chemical analysis and ecotoxic activity of *Tristerix longibracteatus* species (Desr.) Barlow & Wiens (Loranthaceae) collected in Chimborazo, Ecuador.

Espinoza Carlos¹, Rojas Janne^{2*}, Buitrago-Díaz Alexis^{2,3}, Morillo Marielba⁴, Visbal Tomas⁴.

¹Odontología, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba-Ecuador. ²Grupo de investigación "Biomoléculas Orgánicas", Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis Universidad de Los Andes, ³Departamento de Análisis y Control, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, ⁴Grupo de investigación "Ecología y Nutrición", Departamento de Ciencia de Los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. 5101, Mérida-Venezuela.

Recibido: abril de 2022 –Aceptado: junio de 2022

RESUMEN

La familia Loranthaceae comprende aproximadamente 71 géneros y 1400 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales a nivel mundial. El género *Tristerix* consta de 11 especies las cuales se encuentran exclusivamente en Sudamérica donde habitan desde sectores adyacentes a la Cordillera de Los Andes en Chile y Argentina hasta el sub-páramo de Colombia y Ecuador. Las especies del género *Tristerix* son conocidas en la medicina popular principalmente, por su efecto hipotensor, pero, además se usan como agentes antioxidantes, para tratar úlceras estomacales y para bajar el colesterol, entre otros. El propósito de la presente investigación es realizar el análisis químico cualitativo y determinar la actividad ecotóxica del extracto etanólico de la especie *Tristerix longibracteatus* sobre nauplios de *Artemia salina*. El tamizaje fitoquímico reveló abundante presencia de antraquinonas, glicósidos, triterpenos, esteroides, xantonas, flavonas y taninos pirocatecólicos; presencia moderada de flavanonas, dihidrochalconas y taninos y, baja presencia de

alcaloides y compuestos fenólicos, sin embargo, no se evidenció la presencia de cumarinas, saponinas y mucílagos. Por otro lado, la evaluación ecotoxicológica del extracto etanólico sobre nauplios de *Artemia salina* mostró que dicho extracto presenta una toxicidad moderada con un valor de CL_{50} de 350,70 $\mu\text{g/mL}$. Es importante destacar que hasta la presente fecha no se han encontrado reportes de la actividad ecotóxica de la especie *T. longibracteatus* sobre nauplios de *A. salina* por lo que se considera como un aporte al estudio de esta especie.

PALABRAS CLAVES

Tristerix longibracteatus, tamizaje fitoquímico, actividad ecotóxica, toxicidad moderada

ABSTRACT

Family Loranthaceae comprises approximately 71 genera and 1400 species distributed in tropical and subtropical areas around the world. genus *Tristerix* includes about 11 species found

exclusively in South America where these inhabit from areas nearby to Andean mountain range from Chile and Argentina to subparamo of Colombia and Ecuador. Species of *Tristerix* genus are known in traditional medicine mainly by its hypotensive effect; however, these are also used as antioxidant agents, to treat stomach ulcers and to lower cholesterol, among others. The aim of present investigation is to perform the qualitative chemical analysis and to determine the ecotoxic activity of *Tristerix longibracteatus* ethanolic extract against *Artemia salina* nauplii. Phytochemical screening revealed abundant presence of anthraquinone, glycosides, triterpenes, steroids, xanthonas, flavones, and pyrocatecholic tannins; moderate presence of flavanones, dihydrochalcones and tannins, low presence of alkaloids and phenolic compounds. However, cumarins, saponins and mucilages were not observed. On the other hand, ecotoxicological analysis of ethanolic extract against *Artemia salina* nauplii revealed that this extract showed a moderate toxicity with LC_{50} value of 350.70 $\mu\text{g/mL}$. It is important to stand out that to present date there are no reports of ecotoxic activity of *T. longibracteatus* against *A. salina* nauplii, thus, it is considered as a contribution to the study of this species.

KEY WORDS

Tristerix longibracteatus, phychemistry screening, ecotoxic activity, moderate toxicity

INTRODUCCIÓN

La utilización ancestral de las plantas con propósitos medicinales forma parte del conocimiento tradicional de los pueblos. Enseñanzas milenarias transmitidas entre los habitantes de las tribus indígenas ha propiciado un incremento en el interés de las organizaciones científicas y empresas farmacéuticas en la búsqueda de nuevas moléculas bioactivas con propiedades antimicrobianas, antineoplásicas, antiparasitarias, antiinflamatorias, entre otras [1-4].

Loranthaceae es una extensa familia de Santalales constituidas por 71 géneros y alrededor de 1400 especies de plantas hemiparásitas,

distribuidas principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de América, África, Asia y Australia, de igual manera, se ha observado la presencia de ciertas especies en las zonas templadas de Europa y Asia Oriental. La mayoría de los miembros de la familia de Loranthaceae conocidos como muérdagos, pertenecen a la tribu Psittacanthaceae que incluye al género *Tristerix*, una especie vegetal autóctona de la cordillera andina que se encuentra en Colombia, Ecuador, Perú, Argentina y Chile. Estas plantas de flores llamativas y frutos con forma de ovoides, parasitan las partes aéreas del huésped incubando sus semillas que se adhieren a las ramas para luego germinar y formar conexiones haustoriales [5-7].

Los estudios fitoquímicos reportados para las especies del género *Tristerix* relacionan los metabolitos secundarios aislados del tipo flavonas, xantonas, flavonoles, esteroides, quinonas, antocianinas y taninos, así mismo algunos alcaloides de núcleo isoquinolínicos con los árboles huéspedes *Ephedra andina*, *Quillaja saponaria*, *Acacia caven*, *Berberis montana*, *Aristolelia chilensis*, *Rhaphitammus spinosus*, *Populus nigra*, entre otros [8-10].

El propósito de esta investigación es determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la especie *T. longibracteatus* colectada en Chambo, provincia de Chimborazo, Ecuador, así como evaluar su ecotoxicidad frente a nauplios de *A. salina*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material botánico: la especie *T. longibracteatus* se recolectó en el sector Chambo, parroquia Llucut a 3400 m s. n. m ($1^{\circ}43'22''\text{S}$ - $78^{\circ}33'15''\text{W}$), provincia de Chimborazo, Ecuador.

Determinación taxonómica: la identificación de la especie vegetal recolectada fue realizada por el Ingeniero Jorge Caranqui. Una muestra testigo con el código 13389, fue depositada en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Selección y tratamiento del material vegetal: el material vegetal recolectado, (hojas 1000 g), se sometió a un proceso de selección para eliminar las

impurezas y partes en descomposición. Luego se procedió a secarlo utilizando un horno eléctrico a una temperatura constante de 40°C durante 72 horas. Transcurrido este tiempo, la muestra libre de humedad y quebradiza al tacto fue molida, obteniéndose 626,38 g de material vegetal molido y seco, el cual, fue colocado en un envase de vidrio rotulado y almacenado en un lugar apartado de la luz solar y de humedad.

Extracción por maceración: el material molido y seco se sometió a extracción sólido-líquido por maceración en frío utilizando como solvente etanol durante un periodo de diez días, divididos en dos ciclos de cinco días. La solución resultante se filtró por gravedad y concentró destilando el solvente a presión reducida utilizando un rotavapor y manteniendo una temperatura máxima de 40°C. El extracto (15,60 g) fue colocado en un frasco color ámbar identificado y conservado bajo refrigeración hasta el momento del análisis.

Tamizaje Fitoquímico: el ensayo preliminar del extracto de las hojas de la especie en estudio se realizó mediante una serie de reacciones colorimétricas y separaciones cromatográficas que permitieron identificar de forma cualitativa la presencia de alcaloides, antraquinonas, glicósidos, saponinas, flavonoides, cumarinas, mucílagos, taninos, esteroides y fenoles. Este procedimiento, consistió en tomar tres porciones del extracto colocados por separado en tubos de ensayo para luego disolverlos utilizando un solvente adecuado con la ayuda de un agitador tipo vortex. El contenido de cada tubo fue filtrado y su pH ajustado añadiendo gotas de ácido o base según los requerimientos para cada ensayo. Finalmente, se le adicionó a la solución resultante el correspondiente reactivo y luego de algunos minutos de reacción, se verificó la aparición de un color característico indicativo de la presencia de los metabolitos secundarios [11-13]. Los resultados para cada ensayo se describen a continuación:

Prueba para alcaloides: reactivo de Dragendorff: precipitado rojo-pardo.

Pruebas para antraquinonas: ácido sulfúrico concentrado: rojo (quinonas). Hidróxido de amonio concentrado: rojo (antraquinonas).

Pruebas para glicósidos y glicósidos cardiotónicos: solución de hidróxido de sodio 2N:

amarillo (glicósidos). Reactivo de Keller-Killiani interfase marrón (azúcares 2-desoxigenados).

Pruebas para saponinas: altura de la espuma entre 8-10 mm estable por 30 minutos. Bicarbonato de sodio con formación de espuma con estructura en forma de panal de abeja (saponinas).

Pruebas para flavonoides: reacción de Shinoda: rojo (auronas, flavonas, flavonoles y/o chalconas), anaranjado a rojo, (flavonas) y magenta (flavononas). Reacción de Pew's: rojo púrpura o rojo cereza (dihydroflavonas), rosa o café (flavanonas y/o dihydrochalconas). Solución de hidróxido de sodio 10%: amarillo a rojo (xantonas y/o flavonas), café a púrpura rojizo (chalconas) y azul (antocianinas).

Prueba para cumarinas: hidróxido de amonio concentrado: fluorescencia de color azul, verde o amarillo a una longitud de onda de 365 nm.

Pruebas para taninos: solución de gelatina al 1% y solución de gelatina 1% con cloruro de sodio al 10%: precipitado blanco (taninos). Solución de tricloruro férrico al 10%: rojo-vino (compuestos fenólicos), verde intenso (taninos pirocatecólicos) y azul (taninos pirogalactánicos). Solución de ferricianuro de potasio al 1%: azul (compuestos fenólicos).

Prueba para mucílagos: enfriamiento a 0-5°C: consistencia gelatinosa.

Pruebas para esteroides y triterpenoides: reacción de Lieberman Bouchard: interfase azul o verde (esteroides), interfase amarillo-anaranjado (triterpenoides). Reacción de Rosenthaler vainillina: Interfase violeta (triterpenoides). Ensayo de Salkowski: interfase marrón-rojizo (anillo esteroideo).

Prueba para fenoles: solución de tricloruro de hierro en cloruro de sodio 0,9% m/v: rojo vino, verde o azul.

Toxicidad del extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* sobre *A. salina*: La evaluación de toxicidad sobre nauplios (larvas) de *A. salina* del extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* se realizó en el Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA. Este método estándar se basa en la determinación de la dosis letal 50 (**DL₅₀**), es decir, concentración que causa la muerte al 50% de una población de nauplios, en 24 h.

Reactivos: Los reactivos utilizados para evaluar la toxicidad del extracto etanólico frente a *A. salina*, de marca Sigma-Aldrich y Merck fueron: cloruro de sodio (NaCl), sulfato de magnesio hexahidratado ($MgSO_4 \cdot 6H_2O$), cloruro de magnesio hexahidratado ($MgCl \cdot 6H_2O$), cloruro de potasio (KCl), bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$), carbonato de sodio (Na_2CO_3), cloruro de calcio ($CaCl_2$) y dodecil sulfato de sodio, levadura comercial y quistes del crustáceo *A. salina* (Brine Shrimp Egg. Artemia cysts O.S.I. Pro 100. Ocean Star International. INC. Snowville. UT 84336. EE.UU.). En el desarrollo del bioensayo, primero se preparó una solución marina de aproximadamente 1000 mL (agua de mar artificial), que proporcionó las condiciones necesarias para el desarrollo de los nauplios de *A. salina*. Esta solución se mantuvo en aireación constante (burbujeo) 72 h previas al bioensayo, con la finalidad de oxigenar la misma [14].

Eclosión de los quistes: Al finalizar el tiempo de aireación de la solución marina (72 h), ésta se dividió en dos recipientes (fiolas) con 500 mL aproximadamente en cada una. En una de las fiolas se añadieron alrededor de 250 mg de quistes, manteniendo una temperatura constante de $28 \pm 2^\circ C$ por 48 h. En la otra fiola se colocó solución marina libre de nauplios, la cual, se utilizó como disolvente para preparar las diferentes diluciones del extracto etanólico y llenado de las placas [14].

Desarrollo de la prueba: Primero, se colocaron 130 μL de solución salina (aireada) en cada pozo de una placa de microtitulación, posteriormente, se agregaron a cada pozo 10 μL de solución que contenían entre 10 y 15 nauplios de *A. salina*, luego se le adicionó 10 μL de una solución de levadura comercial marca Fleischmann (5 mg/mL) a cada pozo y se incubaron las placas en un área con iluminación permanente por 24 h para estimular su actividad metabólica. Finalmente, se colocaron 50 μL del extracto etanólico, a distintas concentraciones (5, 25, 150, 500, 750, 1250 y 2500 ppm). El extracto se diluyó en solución salina: DMSO (9:1). Se incluyó, además, un grupo control negativo (con todos los elementos del ensayo, excepto la muestra a ensayar) y un grupo control positivo (Dodecil sulfato de sodio, DDSS 10%) con 6 réplicas para cada grupo. Se registraron el número de nauplios presentes inicialmente en cada

pozo (NV), y al cabo de 24 h de contacto con los extractos se realizó el conteo del número de nauplios muertos (NM). Se calculó el porcentaje de letalidad mediante la siguiente ecuación [15]:

$$\% \text{ letalidad} = \frac{NM}{NV} * 100$$

Se determinó la dosis letal 50 (DL50) con un intervalo de confianza del 95%, se usó el método de análisis Probit y el programa estadístico SPSS, 21.0 para Windows. Se clasificó la DL₅₀ del extracto evaluado según la toxicidad, tomando como referencia las recomendaciones del Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el desarrollo (CYTED) [15].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto metanólico obtenido de las hojas de la especie *T. longibracteatus* fue sometido a una serie de reacciones químicas con el propósito de identificar la presencia de los posibles metabolitos secundarios. Los resultados que se presentan en la Tabla 1, establecen la presencia principalmente de compuestos aromáticos oxigenados; en ese sentido, la adición del NH_4OH reveló una elevada proporción de antraquinonas y quinonas. Las reacciones de Lieberman Bouchard y Komarowsky indican abundante cantidad de compuestos triterpénicos y esteroidales. Igual comportamiento se observó para los flavonoides al reaccionar con NaOH, de igual manera, el proceso de óxido reducción originado por el cloruro férrico en contacto con los taninos. Por otra parte, los ensayos correspondientes demostraron mínimas cantidades de alcaloides y compuestos fenólicos, así como, la ausencia de cumarinas, saponinas y mucílagos.

Algunos estudios sugieren que las estructuras químicas identificadas en los muérdagos provienen de su relación con el hospedero, debido a la conexión haustorial que favorece el paso de nutrientes, agua y toxinas, así como flavonoides, iridoides, alcaloides, glicósidos cardiotónicos, entre otros [10,16].

El tamizaje fitoquímico realizado por Torres y cols. (2019), con los extractos en diferentes polaridades para las hojas y flores obtenidos de *Tristerix corymbosus*, especie nativa de la región

indígena Mapuche de Chile y Argentina y que parasita los árboles *Aristolelia chilensis*, *Rhaphitamnus spinosus* y *Populus nigra*, demostró la presencia, para todos los extractos, de compuestos oxigenados del tipo flavonas,

xantonas, flavonoles, esteroides, quinonas y taninos, destacando la presencia de glicósidos cardiotónicos y saponinas para los extractos de menor polaridad con el muérdago proveniente de la especie *R. spinosus* [9].

TABLA 1.
Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de la especie *Tristerix longibracteatus*

Metabolitos secundarios	Ensayo	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	+
Quinonas y Antraquinonas	Reacción con NH ₄ OH	+++
	Reacción con H ₂ SO ₄	++
Glicósidos	Reacción con NaOH	+++
	Reacción de Lieberman Bouchard	+++
	Reacción de Rosenthaler Vainillina	-
	Prueba de Salkowski	-
Triterpenos y Esteroides	Prueba de Komarowsky	+++
	Reacción de Pew's	++
Flavonoides	Reacción de NaOH	+++
	Reacción con NH ₄ OH	-
Cumarinas	Prueba de la altura de la espuma	-
	Prueba de NaHCO ₃	-
Taninos	Gelatina 1%	++
	Gelatina (1%) Sal (10%)	+
	FeCl ₃ 10%	+++
Mucílagos	Enfriamiento a 0.5°C	-
Compuestos fenólicos	Prueba de FeCl ₃	+

bajo: +, moderado: ++, alto:+++; no hay presencia: -

La separación de los componentes químicos presentes en el extracto alcohólico de las partes aéreas del muérdago endémico chileno *Tristerix tetrandus* por UHPLC-PDA-HESI-Orbitrap realizada por Simirgiotis y cols. (2016), logró identificar los derivados de la antiocidina 3-*O*-glucósido de delfinidina y cianidina. De igual manera, los ácidos fenólicos feruloilquinico, feruloil glucosa, ácido clorogénico, así como, los flavonoles luteolina, quercetina, apigenina, isorhamnetina [8].

Por otra parte, Cabezas y cols. (2009), estudiaron la presencia en el extracto metanólico de *Tristerix verticillatus* de algunos compuestos alcaloidales probablemente biosintetizados por la planta hospedera, *Berberis montana*. En ese sentido, lograron identificar la (-)-pronuciferina como el alcaloide principal encontrado en esa especie. De igual manera, demostraron la

inhabilidad de *T. verticillatus* para biosintetizar y obtener por vía translocación, los compuestos proaporfirina, (+)-9-hidroxiciferina y (+)-orientina. Cabe destacar que el derivado isoquinolínico (+)-glaucina fue observado únicamente en *T. verticillatus* [10].

Por otro lado, en la Tabla 2 se muestran los resultados del bioensayo de letalidad en *A. salina*, aplicado al extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* y los controles, además, en la Fig. 1 se muestra el % de letalidad del extracto sobre *Artemia salina*.

De acuerdo con la clasificación de toxicidad según el CYTED [15] y los intervalos de confianza allí establecidos, el extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus*, es moderadamente tóxico ya que la concentración a la cual murieron el 50% de nauplios de *A. salina*, fue de 350,70 ppm. Con respecto al porcentaje de letalidad, el extracto

etanólico de las hojas de *T. longibracteatus*, ocasionó el 56,9% de mortalidad a la concentración de 500 ppm, y 100% de mortalidad entre 750 a

2500 ppm lo que refleja la moderada toxicidad observada, como se muestra en la Fig. 1.

Tabla 2
Cuantificación de la DL₅₀ y DL₉₅ del extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* y los controles sobre *A. salina*.

Análito	DL (ppm)		Límite de confianza (95% ppm)		Categoría según el CYTED
			Límite inferior	Límite superior	
Extracto etanólico hojas	DL ₅₀	350,70			moderadamente tóxico
	DL ₉₅	793,37			moderadamente tóxico
DMSO	-	-	-	-	Inocuo
DDSS	DL ₅₀	28,026	23,372	33,507	Altamente tóxico

DL₅₀: Dosis letal 50; DL₉₅: Dosis letal 95; signo (-) valores muy altos; DMSO: Dimetilsulfóxido DDSS: Dodecil sulfato de sodio.

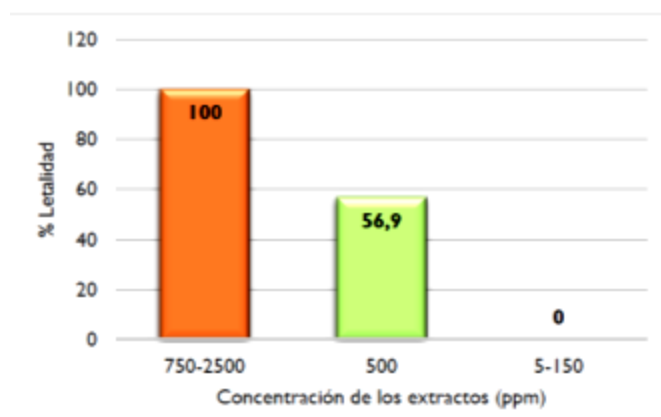


Fig. 1. Porcentaje (%) de letalidad del extracto metanólico de las hojas de *T. longibracteatus* sobre *A. salina* a las concentraciones probadas en unidades de ppm ($\mu\text{g/mL}$).

En cuanto a la toxicidad de la especie *T. longibracteatus* sobre *A. salina*, no se han encontrado estudios previos, considerándose los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación como un nuevo aporte, donde se muestra que el extracto etanólico de las hojas de la especie *T. longibracteatus* es moderadamente tóxico, según la tabla CYTED [19]. Este resultado muestra una relación directa con la presencia de metabolitos secundarios en el extracto etanólico donde fueron identificados cualitativamente, alcaloides, quinonas, antraquinonas, glicósidos, triterpenos, esteroides, flavonoides, taninos, fenoles y no se observó presencia de mucilagos ni saponinas (Tabla 1).

Las plantas medicinales contienen gran variedad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales son responsables de sus propiedades

beneficiosas, sin embargo, otros pueden ser tóxicos, pudiendo provocar efectos graves en los organismos vivos [17]. Es así como, algunos investigadores determinaron que la presencia de alcaloides, fenoles totales, taninos, glucósidos cianogénicos, saponinas, cumarinas y lactonas terpenicas [18,19] en distintas especies vegetales están relacionadas con el efecto citotóxico sobre el crustáceo *Artemia salina*, observando que, a mayor concentración de alcaloides en los extractos estudiados, mayor toxicidad. Según, Sanabria y cols. (1997) [19], la letalidad sobre *A. salina* depende de la concentración de los metabolitos secundarios antes mencionados, aspecto que concuerda con lo reportado por Bun y cols. (2009) [20], quienes indicaron que altas concentraciones de alcaloides aumentan la toxicidad de las plantas. Por lo que se podría decir que, la toxicidad frente

a *A. salina* no solo depende de la presencia de ciertos metabolitos secundarios, sino además de la concentración y la posible interacción entre los mismos.

Por otra parte, Zhao y cols. (1999) [21], indicaron que las saponinas pueden ser letales para la *A. salina* incluso a bajas concentraciones. Cabe mencionar que en el extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus*, no se encontró presencia de saponinas, pero sí de taninos, alcaloides, glicósidos y fenoles (Tabla 1), esto podría explicar la moderada toxicidad mostrada por el extracto etanólico de esta especie sobre *A. salina*, en la presente investigación. Es importante señalar que, factores como el nivel de oxígeno, la temperatura y el valor promedio de salinidad durante la realización del bioensayo, también podrían influir en la toxicidad del extracto sobre los nauplios de *A. salina* [22].

CONCLUSIONES

El análisis químico cualitativo realizado a la especie en estudio reveló abundante presencia de antraquinonas, glicósidos, triterpenos, esteroides, xantonas, flavonas y taninos pirocatecólicos, así como presencia moderada de antraquinonas, flavanonas, dihidrochalconas, taninos y baja presencia de alcaloides y compuestos fenólicos. Además, el ensayo de letalidad en *A. salina* mostró que el extracto etanólico de las hojas de *T. longibracteatus* es moderadamente tóxico sobre este crustáceo, lo cual podría deberse a la presencia de metabolitos secundarios tales como taninos, alcaloides y fenoles que aunque se observaron en presencia entre media y baja podrían actuar de forma sinérgica causando este efecto tóxico moderado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo reconocen y agradecen al Instituto de Investigaciones y al Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Arias B. Diversidad de usos, prácticas de recolección y diferencias según género y edad en el uso de plantas medicinales en Córdoba, Argentina. *B Latinoam Caribe Pl.* 2009; 8(5): 389-401.
- [2] Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Plantas medicinales de uso en Chile: química y farmacología. 2^{da} Edición. Santiago de Chile (Chile): Editorial Universitaria; 2001. 15-16.
- [3] Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana. 2^{da} Edición. Lima (Perú): Editorial Tarea Asociación Gráfica Educativa; 2000. 8-11.
- [4] Castillo G, Zavala D, Carrillo M. Análisis Fitoquímico: Una herramienta para develar el potencial biológico y farmacológico de las plantas. Tlatemoani. *Revista académica de investigación.* 2017; 8(24): 71-86.
- [5] Lamilla LA, Robayo CA, Castaño F, Marquín X, Raz L. Floral anatomy of *Tristerix longibracteatus* (Loranthaceae). *Rev Biol Trop.* 2020; 68(1): 87-97. [dx.doi.org/10.15517/rbt.v68i1.36991](https://doi.org/10.15517/rbt.v68i1.36991)
- [6] Liu B, Le CT, Barrett RL, Nickrent DL, Chen Z, Lu L, Vidal-Russell R. Historical biogeography of Loranthaceae (Santalales): Diversification agrees with emergence of tropical forests and radiation of songbirds. *Mol Phylogenet Evol.* 2018; 124: 199-212. doi: 10.1016/j.ympev.2018.03.010
- [7] Mathiasen RL, Nickrent DL, Shaw DC, Watson DM. Mistletoes: Pathology, systematics, ecology, and management. *Plant Dis.* 2008; 92(7):988-1006. doi.org/10.1094/PDIS-92-7-0988
- [8] Simirgiotis MJ, Quispe C, Areche C, Sepúlveda B. Phenolic compounds in Chilean mistletoe (Quintral, *Tristerix tetrandus*) analyzed by UHPLC-Q/Orbitrap/MS/MS and its antioxidant properties. *Molecules.* 2016; 21(3):245. doi: 10.3390/molecules21030245.
- [9] Torres P, Saldaña C, Ortega R, González C. Determination of reducing power and phytochemical profile of the Chilean mistletoe "Quintral" (*Tristerix corymbosus* (L) Kuijt) hosted in "Maqui" (*Aristotelia chilensis*), "Huayún" (*Rhaphitammus spinosus*) and "Poplar" (*Populus*

- nigra). J. Chil. Chem. Soc. 2019; 64(4): 4645-4650. [dx.doi.org/10.4067/S0717-97072019000404645](https://doi.org/10.4067/S0717-97072019000404645).
- [10] Cabezas N, Urzúa A, Niemeyer H. Translocation of isoquinoline alkaloids to the hemiparasite, *Tristerix verticillatus* from its host, *Berberis montana*. Biochem Syst Ecol. 2009; 37(3): 225-227
- [11] Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: A review. Int Pharma Sci. 2011; 1: 98-106.
- [12] Trease GE, Evans WC. Pharmacognosy. London, England: Saunders Publishers; 2002.
- [13] Shyamala-Gowri S, Vasantha K. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Syzygiumcumini* (L.) (Myrtaceae) leaves extracts. Int J Pharm Tech Res. 2010; 2; 1569-1573.
- [14] Plaza, C. Identificación y estudio de actividades biológicas de nueve especies de líquenes, colectadas en el estado Mérida, Venezuela, Tesis doctoral, Universidad de Los Andes, Venezuela, 2015, p. 208.
- [15] Sánchez L, Neira A., Bioensayo general de Letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava* L. y *Psidium guineense*, Cultura Científica. 2005; 3: 39-45.
- [16] Scharenberg F, Zidorn C. Genuine and sequestered natural products from the genus *Orobanche* (Orobanchaceae, Lamiales). Molecules. 2018; 23(11): 2821. doi: 10.3390/molecules23112821.
- [17] Ochoa L, Sarmiento A. Estudio Fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (L.F.) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica. (Trabajo de Grado). Colombia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; 2018.
- [18] Jaramillo C, Jaramillo A, D' Armas, H, Troccoli L, Rojas L. Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. Rev. Biol. Trop. 2016; 64 (3): 1171-1184.
- [19] Sanabria-Galindo A, López SI, Gualdrón R. Estudio fitoquímico preliminar y letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas, Rev Colomb Cienc Quím Farm. 1997; 26(1): 15-19.
- [20] Bun S, Laget M, Chea A, Bun H, Ollivier E, Elias R. Cytotoxic activity of alkaloids isolated from *Stephania rotunda*. In Vitro cytotoxic activity of cepharanthine. Phytotherapy Research. 2009; 23: 587-590.
- [21] ZhaoW, Qin G, Lou L. Evaluation of toxicity of some saponins on *Brine shrimp*. J Asian Nat Prod Res. 1999; 1(1): 307-311.
- [22] Malave MJ, Mendoza Z, Morillo M, Visbal T, Rondón ME, Carmona J. Composición química y actividad biológica de los extractos de las partes aéreas de *Leonurus japonicus* (Houtt.). Rev Fac Farm. 2019; 61 (Número Especial): 25-35 33.
- Espinoza Carlos**, Orcid ID: 0000-0002-0932-6299
- Rojas Janne**, Orcid ID: 0000-0001-5161-6778
- Buitrago-Díaz Alexis**, Orcid ID: 0000-0001-6482-5907
- Morillo Marielba**, Orcid ID: 0000-0002-6048-0590
- Visbal Tomas**, Orcid ID: 0000-0003-1644-2228