

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**IMPLEMENTACION DE UN LABORATORIO
PARA LA OBTENCION DE EXTRACTOS VEGETALES
Y ESTUDIO FITOQUIMICO PRELIMINAR
DE CINCO ESPECIES VEGETALES
DEL MUNICIPIO DE COROICO**

Postulante: Ángela Jhamilka San Martín Ortíz

Docente Guía: Ph. D. Giovanna R. Almanza V.

**Trabajo para optar al Título de
Licenciada en Ciencias Químicas**

La Paz – Bolivia

2010

CAPITULO I

1.1. INTRODUCCION

Bolivia es un país con una gran biodiversidad vegetal, riqueza que llama la atención de investigadores y empresarios interesados en el desarrollo de productos naturales con valor agregado tanto de Bolivia como de otros países del mundo.

La región de Nor Yungas, del municipio de Coroico en el Departamento de La Paz Bolivia, es una de las regiones con una amplia y característica biodiversidad vegetal, difícil de encontrar en otros lugares del mundo debido a las condiciones ecológicas particulares de la región. Específicamente, en el Cerro Uchumachi, localizado cerca de la comunidad de Carmen Pampa, se cuenta con una gran variedad de recursos biológicos, que, como en otras regiones de nuestro país, aún no han sido bien estudiados para un potencial uso sostenible, que de alternativas de desarrollo económico en la región. Por este motivo, el cerro Uchumachi fue elegido como zona de estudio en el proyecto “Transferencia Tecnológica al Municipio de Coroico” dentro del cual se desarrolló el presente trabajo.

La transferencia de resultados de investigación y tecnología a regiones rurales de nuestro país, es una problemática constante dentro de nuestra realidad nacional. Debido a que esta conexión esta casi rota los productores de materia prima están siendo continuamente sobreexplotados, siendo ellos los pobladores de zonas de gran biodiversidad y ricas en recursos naturales. Por otra parte, se ve la continua depredación de recursos naturales con gran potencial económico, de extensos campos para el cultivo de plantas tradicionales como la coca, dañando todo el ecosistema; o simplemente el desmonte sin planificación de árboles para su uso

como recurso maderero, con graves consecuencias en el medio ambiente. Todo esto, debido en parte al desconocimiento de la gente del lugar del potencial uso que se puede dar a los recursos biológicos existentes.

Finalmente, debemos mencionar que se pretende fomentar la capacitación de los pobladores para fomentar su permanencia en el mismo, pues se ha visto que la alta migración a las ciudades está causando graves problemas sociales y económicos.

Por estos motivos se ha visto la necesidad de transferirles conocimientos científicos y desarrollo tecnológico de la UMSA a los comunitarios del municipio de Coroico, brindándoles oportunidades de desarrollo sostenible y alternativo. Estas mismas razones, son los principios de establecimiento de una Unidad Académica Campesina en Carmen Pampa (UAC-CP), con quienes trabajamos en forma conjunta bajo los mismos objetivos, en base a un acuerdo de colaboración establecido entre la UMSA y la UAC-CP, para poder determinar potenciales productos Fitoterapéuticos, mediante la transferencia tecnológica.

Concretamente en este trabajo se plantea la adecuada implementación de un laboratorio para la obtención de extractos etanólicos de especies vegetales de la región, para su posterior estudio profundo en unidades de investigación de la UMSA, ayudando de este modo a los pobladores con conocimientos científicos y capacitación.

1.2. MARCO TEORICO

1.2.1. IMPORTANCIA DEL USO DE PLANTAS CON POTENCIAL VALOR ECONOMICO

Durante las últimas décadas se ha intensificado el interés del hombre por la conservación de la Naturaleza, dentro de este contexto destaca la preocupación por la conservación de la Biodiversidad como fuentes de sustancias útiles en Medicina, Veterinaria, Agricultura, productos farmacéuticos, cosméticos, saborizantes, colorantes u otros usos industriales.¹

El uso de plantas en el mercado de productos de consumo masivo (alimentos, medicamentos y/o cosméticos) ha crecido considerablemente, generado un aumento en la producción y comercialización de los insumos necesarios para su fabricación, tales como las plantas medicinales frescas o deshidratadas, frutas, pulpas, aceites de frutas, extractos herbales, aceites vegetales, aceites esenciales, colorantes naturales, etc.²

Las cifras indicativas del crecimiento de este sector han sido ampliamente difundidas, además corroboradas por las empresas líderes de la industria europea y americana. Por ejemplo, en el año 2006 el mercado de productos naturales de cuidado personal tuvo un valor aproximado a los 10 mil millones de dólares.³

Asimismo, Natural Business Journal (NBJ) informó que los productos naturales representaron el 14% de las ventas dentro de la categoría de cuidado personal con un monto estimado de US\$ 4.6 mil millones en el año 2002.³

¹ Gonzales A. G., Galindo A. y Luis J. G., (pág. 7)

² www.biotrade.org/btftp/BTFP-docs/.../TU_Issue4-ESP-web.pdf

³ Presentación Bionativa (diapositiva 3)

En Sudamérica, la cordillera de Los Andes constituye la columna vertebral del continente y se le atribuye muchos de los fenómenos naturales, sociales y económicos que suceden. Sudamérica goza de una gran diversidad vegetal (Fig. 1). La población originaria asentada en esta región, aprovecha esta diversidad natural y ha adquirido conocimiento de las propiedades medicinales y alimenticias para satisfacer sus necesidades.⁴

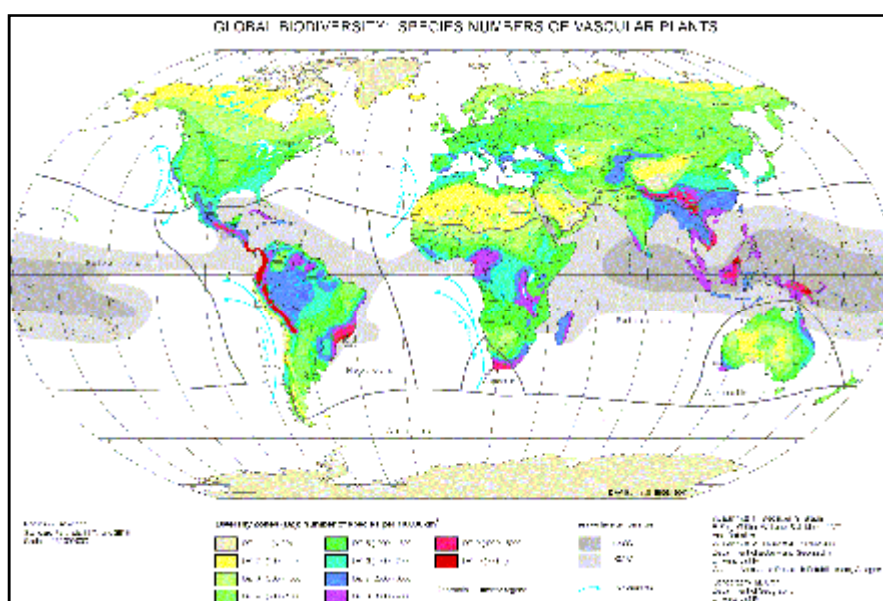


Fig.1. Biodiversidad en el mundo

Fuente: <http://www.brazadv.com/brasil/biodiversidad.htm>

Sin embargo, las actuales sociedades rurales de los países andinos, agobiadas por el impacto que les produce la expansión del capital transnacional, la crisis económica mundial, el injusto intercambio comercial entre el campo y la ciudad, la marginación cultural de que son objeto, se han visto obligados a alterar y hasta destruir a uno de los más valiosos recursos naturales, que es la vegetación,⁴ por lo que se deben buscar estrategias para que las comunidades protejan su biodiversidad de la sobre explotación, depredación o de la biopiratería.

⁴ Sánchez I. (pág. 39 - 40)

El residente interés en los productos de origen natural, se debe a que los productos químicos de origen sintéticos han ocasionaron efectos secundarios irreversibles y dañinos para la salud.⁵ Pero la explotación de estos recursos debe ser controlada y evitando la devastación de esta riqueza.

¿Qué es Biodiversidad?

La biodiversidad es un componente de los ecosistemas terrestres, generado por procesos de hibridación con otras especies relacionadas fitogenéticamente y por procesos co-evolutivos con otros organismos, principalmente animales y por la interacción con los elementos del ambiente (luz, temperatura, humedad, suelo).⁶

El término biodiversidad utilizado por primera vez por W.G Rosen⁷ en 1985 como una contracción de “biological diversity”, mientras planificaba la organización del “National Forum on Biological Diversity” en el Concilio Nacional de Investigación (NCR) que fue realizado en 1986 en Estados Unidos, inmediatamente el termino adquirió relevancia y en 1988 apareció publicado por el entomólogo E.O. Wilson⁸ en el libro titulado BioDiversity, que le dio popularidad. Desde entonces se han dado muchas definiciones para este concepto. Uno de estos es “La biodiversidad o diversidad biológica comprende el conjunto de seres vivos y los ecosistemas en que habitan” (Glowka et al. 1994)

El conocimiento de la biodiversidad terrestre es el resultado de las exploraciones botánicas a los diferentes ecosistemas del mundo. La colección de muestras botánicas, que tienen una larga historia y la incorporación de éstas a los diferentes herbarios, ha hecho posible que ahora se tengan inventarios florísticos más o menos completos para las diversas regiones del mundo.

⁵ Gonzales A.G., Galindo A. y Luis J. G. (pág. 40)

⁶ <http://www.biotech.bioetica.org/clase3-1.htm>

⁷ <http://www.worldlingo.com/ma/enwiki/es/Biodiversity>

⁸ E.O. Wilson (Biodiversity, National Academy of Science/Smithsonian Institution)

1.2.2. BOLIVIA Y SU RICA BIODIVERSIDAD VEGETAL

El territorio Boliviano presenta una mega diversidad con 14 eco regiones, 199 ecosistemas, 208 sistemas de tierra y unas 14.000 especies de plantas (ver Fig. 2). Algunos de estos ecosistemas son de particular valor e importancia para la conservación por ser centros de diversidad biológica, endemismo y por su condición o grado de amenaza. Entre estos ecosistemas por ejemplo se encuentran los bosques húmedos de la Amazonia y los bosques alto andinos.⁹ Paradójicamente, constituye uno de los países más pobres del orbe, pues la falta de políticas coherentes e inteligentes de la mayoría de nuestros gobiernos, ha hecho que nuestras etnias o habitantes originarios, no cuenten con el apoyo necesario para salir de la situación frustrante y tan difícil en la que se encuentran.

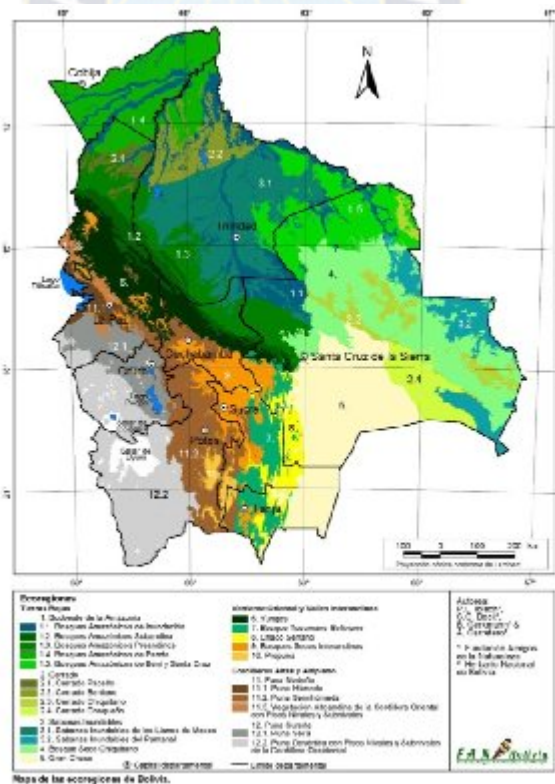


Fig. 2. Bolivia un país mega diverso

Fuente: <http://www.opinion.com.bo/informacion-general-de-bolivia/geografia/>

⁹ Ibish P.L. Beck S. G. (pág. 103-112)

Su gran Biodiversidad se atribuye a su tamaño (1.098.581 Km²), gran heterogeneidad geográfica, localización, entre 10-23° de latitud sud, lo que indica regiones subecuatoriales a subtropicales y extrema variedad fisiográfica, con altitudes entre los 150 m.s.n.m. en los llanos, hasta los 6540 m.s.n.m., en los Andes. ⁹ Sus características geográficas, demográficas y socio económicas, permite a este país gozar de recursos naturales renovables y no renovables. Físicamente, Bolivia se encuentra dividida en siete regiones biogeográficas: Amazonia, Yungas, Chaco, Cerrado, Prepala, Puna y región Alto Andina.

Importancia del estudio de plantas bolivianas

La población boliviana posee un gran conocimiento de sus recursos vegetales, siendo estos comúnmente utilizados en Medicina Tradicional, alimentación y otros. Existen muy pocos estudios científicos de las especies vegetales de plantas de Bolivia, por lo que resulta importante el hecho de tener inventarios botánicos y estudios fitoquímicos y farmacológicos de esta biodiversidad que pondrán las bases para un posible aprovechamiento sostenible de los recursos naturales donde los beneficiarios directos serían las etnias y los beneficiarios indirectos, los usuarios de la información científica acumulada, brindando así oportunidades de desarrollo a la población boliviana.

En los estudios realizados en Bolivia, se infiere que la recolección selectiva de partes de plantas silvestres, no presenta ningún peligro de disminución o extinción de las especies, si estas son correctamente practicadas.

1.2.3. IMPORTANCIA DEL USO DE PLANTAS MEDICINALES

A lo largo de numerosos años se pudo recolectar más de 980 plantas de especies botánicas diferentes, de las cuales un 25 o 30% tienen acción efectiva, en el mismo grado que los remedios de la medicina oficial.¹⁰

Según las “Estadísticas de la Organización Mundial de Salud (OMS). Sostienen que el 80 por ciento de la población mundial satisface y/o complementa sus necesidades de salud utilizando medicina natural, basada en hierbas.¹¹

La historia de la medicina y en particular de la fitoterapia, marca el uso de las plantas como recurso terapéutico, utilizado principalmente por shamanes, sacerdotes, curanderos, herbolarios y otros.¹² La farmacopea vegetal utilizada, todavía es empleada y es considerada como una de las más importantes del mundo. En Bolivia, las etnias, sobre la base de sus tradiciones milenarias, usan partes de especies vegetales en forma directa o de preparaciones semi-elaboradas, las mismas no están dosificadas, ni identificadas botánicamente en la mayoría de los casos.¹³

Medicina Tradicional

La Medicina Tradicional es una importante herramienta que la mayoría de los pueblos han utilizado, para restaurar la salud de las generaciones pasadas, por lo que nos da una alternativa curativa.

“La Medicina tradicional, es un conjunto de conocimientos y prácticas, que tienen como fundamento el saber médico ancestral de la población, modificado a lo largo

¹⁰ Girault L. (pág. 29)

¹¹ Costa R. Estrella E. y Cabieses F. (pág. 25)

¹² OPS/OMS (Plantas de Uso Medicinal en Centro América)

¹³ <http://www.univalle.edu/publicaciones/brujula/brujula17/pagina08.htm>

de los siglos por la influencia de la medicina popular europea, la religión cristiana, la tradición africana y los elementos popularizados de la medicina occidental".¹⁴

Las plantas medicinales constituyen un rico acervo biológico cultural de nuestros países, dándoles una gran utilidad en el campo terapéutico y beneficiando de este modo a la población. Sin embargo, no existen muchos avances para poder validar y estandarizar adecuadamente estos productos e incorporarlos a la medicina moderna.¹⁵

Si el conocimiento tradicional es considerado como base para la selección de plantas y de ahí, su posterior análisis en laboratorios, sirve como incentivo para la investigación. Pero se debe tener cuidado, ya que, esto podría conllevar a un abuso de parte de los países en desarrollo, apropiándose de la contribución intelectual de los grupos indígenas o pueblos, mediante la compra de sus conocimientos. Para evitar tales atropellos, los países están fijando bases legales que establecen el derecho de propiedad de dichos conocimientos y de sus especies vegetales.¹⁶

Medicina Tradicional en Bolivia

En Bolivia existen 31 grupos indígenas y comunidades mestizas que viven en diferentes áreas naturales del país, como del Altiplano, los Yungas, Chaco o tierras bajas (Díez Astete y Riester, 1996). Cada cultura étnica tiene su propia relación con el medio ambiente y un conocimiento médico para utilizar determinadas especies medicinales. La riqueza natural, con la cual goza nuestro país implica una gran responsabilidad de nuestra parte, para su conservación y el uso adecuado de sus recursos.¹⁷

¹⁴ <http://www.pieb.org/proyectospando/etnobotanico/referencial/>

¹⁵ Ocampo R. (pág. 112)

¹⁶ Elisabetsky E. *Journal of ethnopharmacology* (pág. 235-239)

¹⁷ Macía M. J., García E., Vidaurre P. J. *Journal of ethnopharmacology*

La medicina tradicional en Bolivia, sobre todo de la región andina, fue ocupada por varias culturas; de diferentes filosofías y cosmovisiones dando diversas interpretaciones de la vida, enfermedad y muerte.

Los Incas tenían su propia tradición médica y al Incario está ligada la cultura Colla (Qulla, Qolla) de Bolivia que era denominada primero como Kollasuyo o País de médicos y medicinas, luego como el Collao, cultura estrictamente medicinal. En ella existían tres subgrupos: Los Kallawayas, de quienes afirma el investigador mexicano, Dr. Xavier Lozoya, que probablemente era el grupo médico más organizado de América. Los Qulla, o habitantes del Kollasuyo y los Kullawa o farmacéuticos itinerantes, siempre marginados, obligados a vivir en los pedregales de la Cordillera, donde la agricultura era imposible, nunca mencionados, quienes ni siquiera figuran en los actuales catálogos de las Etnias Bolivianas.¹⁸

En lo relacionado con su farmacopea vegetal, los Kallawayas se revelan como sorprendentes expertos, tanto en el plano farmacológico como en el botánico y ecológico. Sus conocimientos abarcan plantas medicinales del altiplano, de los yungas y de zonas tropicales de la selva.¹⁹

Por lo que, la Sociedad Boliviana de Medicina Tradicional (SOBOMETRA), un sindicato de herbolarios, preserva y difunde los conocimientos de los kallawayas, de curas a base de hierbas, mientras que el Servicio Integrado en Salud (SIENS) clínicas de La Paz utilizan médicos y herbolarios kallawayas, para proporcionar el tratamiento integrado etno-médico y bio-médico (Bastien, 1992) e información (Zalles Asin y Lucca-De, 1991) a la población.²⁰

A pesar de que la medicina tradicional aun es ejercida en Bolivia no es reconocida. Las organizaciones de médicos tradicionales y naturistas luchan por que sus

¹⁸ Fernández Juárez G. (pág. 25)

¹⁹ Girault L. (pág. 29)

²⁰ Abdel-Malek S., Bastien J. W., Mahler W. F., Jia Q., Reinecke M. G., Robinson Jr. W. E., Shu Y., Zalles Asin J. (pág. 157-166)

conocimientos sean respetados, valorados y que sus prácticas sean incorporadas en la nueva Constitución Política del Estado, a través de la Asamblea Constituyente. Asimismo, se socializó y aprobó el Anteproyecto de Ley de la Medicina Naturista y Tradicional en Bolivia.²¹

1.2.4. IMPORTANCIA DEL USO DE PLANTAS FOTOPROTECTORAS

La radiación ultravioleta es el principal factor de enfermedades tales como el cáncer en la piel, siendo la principal fuente de radiación UV el sol.²² La radiación ultravioleta se clasifica en tres zonas: la región UVC (100-290nm), región UVB (290-320 nm) y la región UVA (320-400 nm).²³ La radiación más energética es la UVB y la más importante desde el punto de vista biológico, pues es la que induce mayor respuesta biológica, afectando numerosos procesos metabólicos relacionados a la fotosíntesis y otros directamente vinculados con la actividad genética.

Esta radiación se incrementa en un 7% cada mil metros²⁴ por lo que a 4.000 m.s.n.m. se recibe alrededor de un 32% más de radiación UV solar que a nivel del mar. De acuerdo a los datos de SENAMI la radiación UV solar en el periodo 2003 a 2004 fue de 326 (Mw/m²).²⁵

Una de las condiciones que ocasiona estrés oxidativo en las plantas es una alta radiación UV. La acción de la radiación UV se produce principalmente a través de la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS Reactive Oxygen Species) Estas especies reactivas de oxígeno pueden reaccionar mediante diversos procesos oxidativos con proteínas, lípidos y el ADN produciendo daños a nivel

²¹ Carrizalos C. J. (pág. 9)

²² Rodes J. (pág. 303)

²³ Piédrola Gil (pág. 347)

²⁴ Palenque E. (pág. 99-104)

²⁵ SENAMHI (<http://sanamhi.gob.bo/metereologia/recordeinformacion.php>)

celular.²⁶ La radiación UV frecuentemente tiene un efecto inhibitor en el crecimiento de las plantas, como respuesta a este efecto las plantas producen una serie de metabolitos secundarios mayoritariamente de tipo fenólico, que actúan como agentes fotoprotectores.

Recientes investigaciones, muestran que los flavonoides (compuestos fenólicos), presentes en algunas plantas, han manifestado propiedades fotoprotectoras, debido a su capacidad de absorber las radiaciones visible y ultravioleta, pudiendo ser utilizadas en cremas solares y estabilizantes frente al envejecimiento por la luz.²⁷

1.2.5. IMPORTANCIA DEL USO DE PLANTAS BIO-PESTICIDAS

Etimológicamente, se define como bio-pesticida a cualquier pesticida de origen biológico, esto quiere decir, que son sustancias de origen natural.²⁸ Los bio-pesticidas se basan en el uso de agentes patógenos existentes en la naturaleza para reprimir las infestaciones producidas por insectos, hongos o malezas.²⁹

Se ha incorporado el uso de bio-pesticidas de origen vegetal en diferentes lugares del mundo, como por ejemplo pesticidas a partir de *Crysantemum Cinerariaefolium* (piretro). El incremento de pesticidas orgánicos aumento en los últimos años, debido a que, los pesticidas químicos sintéticos provocaron resistencia a las plagas, contaminan el ambiente, incrementan la mortalidad de especies insectibles benéficas e incluso se han reportado intoxicaciones de personas y animales.³⁰

²⁶ Speisky H. Cassels B., Lissit E. y Videla L. (pág.1575-1581) – Hiroshi O., Nobuko O. y Kunio Y. (pág. 95,351)

²⁷ Climent Olmedo M. J., Iborra Chornet S., García Gómez H. y Morera Bertomeu (pág. 153)

²⁸ Regnaul Roger C. Philogene Jr. B., Vicent C. y Urbano Terron P. (pág 13)

²⁹ Sukhwani A. (pág. 237)

³⁰ Fernández C. y Juncosa R. (pág. 1-8)

1.2.6. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO QUIMICO DE PLANTAS

La palabra “fitoquímico” proviene de la combinación del termino *phyto* (que significa “planta” en griego) con el vocablo “químico”. Así, los compuestos fitoquímicos son sustancias químicas presentes de forma natural en las plantas. Las plantas producen estos compuestos para protegerse del estrés producido por el clima, radiación, virus, bacterias, hongos y animales.³¹

La química de los productos naturales constituye una disciplina valiosa por su carácter formativo y aplicativo. Las investigaciones se basan esencialmente en la química orgánica moderna, la cual, se vale en la teoría de estructuras que permite predecir la existencia y relaciones de millones de compuestos. Paralelamente, la teoría de la reactividad, resulta importante en la correlación química.³²

Metabolitos Secundarios

Las plantas son laboratorios naturales donde se biosintetiza una gran cantidad de sustancias químicas, en ellas se ha encontrado una rica fuente de compuestos líderes (por ejemplo la morfina, cocaína, muscarina y muchos otros). En base a estos compuestos líderes se han sintetizado muchas drogas, por ejemplo el anestésico local desarrollado de la cocaína. Las plantas son aun una fuente promisoría de nuevas drogas y el interés en su estudio es aun importante.³³

“Los metabolitos secundarios desempeñan un papel clave en la supervivencia de los seres vivos, proporcionando sustancias de defensa, atracción, u otros compuestos fisiológicamente importantes”.³⁴

³¹ García J. (pág. 22)

³² Garbarino J.A. (pág. vi)

³³ Patrick G. L. (pág. 153)

³⁴ Galbis Pérez J. A. (pág. 206)

Últimos estudios demostraron que estos compuestos tenían importantes funciones en las plantas:

- Protegen a las plantas de la ingestión por herbívoros y de la infección por patógenos microbianos.
- Sirven como atrayentes de polinizadores y dispersadores de semillas, como agentes en la competencia planta-planta.³⁵

El estudio de los metabolitos secundarios fue iniciado por químicos orgánicos quienes los llamaron “productos naturales”. Estos están divididos en grupos como alcaloides, esteroides, flavonoides, terpenoides, quinonas, etc. los cuales deben ser extraídos, sin provocar modificaciones en su estructura química para mantener sus propiedades biológicas.³⁶

ALGUNOS METABOLITOS SECUNDARIOS

1. Compuestos Fenólicos

Se define como compuestos fenólicos a aquellas sustancias que tienen en su estructura uno o más anillos aromáticos (benceno) con, al menos, un sustituyente hidroxilo. Si en el benceno se reemplaza un hidrogeno por un hidroxilo se obtiene un fenol.

A) Clasificación

Existen dos grupos de compuestos fenólicos: los ácidos fenólicos y los flavonoides (flavonoles, antocianos y taninos)

³⁵ Zeiger E. y Taiz L. (pág. 534)

³⁶ IV Seminario Nacional, Frutales de Clima Frio Moderado (pág. 184)

Los ácidos fenólicos contienen un solo anillo fenólico y los flavonoides están constituidos por un esqueleto con dos anillos fenólicos unidos por una cadena de tres átomos de carbono, que forman un heterociclo.³⁷

Esqueleto carbonado	Clasificación
C6	Fenoles simples, benzoquinonas
C6-C1	Ácidos fenólicos
C6-C2	Ácido fenilacetico, acetofenoles
C6-C3	Acido hidroxicinamico, polipropano, cumarina, isocumarina
C6-C4	Naftoquinona
C6-C1-C4	Xantanos
C6-C2-C4	Estilbeno, antraquinonas
C6-C3-C4	Flavonoides, isoflavonas
(C6-C3)2	Lignanós, neolignanós
(C6-C3-C6)2	Bioflavonoides
(C6-C3)n	Ligninas
(C6)n	Melanoidinas
(C6-C3-C6)n	Taninos

Tabla 1.- Clasificación de compuestos fenólicos de origen vegetal, de acuerdo a su estructura química básica

B) Funciones de los Compuestos Fenólicos

Se ha demostrado que estos compuestos están involucrados en el crecimiento y reproducción de las plantas, además de la resistencia contra agentes patógenos y depredadores.

Los fenoles se encuentran en casi todos los alimentos de origen vegetal entre ellos en la cebolla, té, vino tinto, cacao, aceite de oliva, etc. Estos compuestos ayudan en la calidad y estabilidad de los alimentos, actuando como colorantes y antioxidantes

³⁷ Martínez de Toda F. (pág. 24)

En el campo nutricional se ha visto que el consumo de estos compuestos previene la obesidad, cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas.³⁸

C) Pruebas fitoquímicas preliminares

La prueba fitoquímica preliminar más utilizadas para la identificación de este grupo de compuestos es el Test de cloruro férrico.

Flavonoides

Flavonoide proviene de latín *flavus* que significa "amarillo", se denominó inicialmente como vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C2, porque algunos tenían propiedades similares a la vitamina C. El hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950.³⁹

Estos compuestos abundan, sobre todo, en las partes más expuestas al sol, como hojas, frutos y flores, ya que la luz solar favorece su biosíntesis y protegen a estos órganos del estrés oxidativo producido por la radiación UV.³⁹

La estructura general de los flavonoides es la que se muestra a continuación:

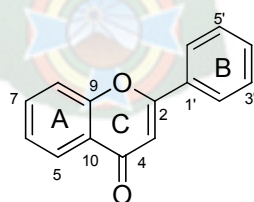


Fig. 3. Estructura y numeración básica de un flavonoide

Comprende un anillo A, derivado de la cadena policetídica, un anillo B, derivado del ácido Shikímico, tres átomos de carbono que unen los anillos A y B,

³⁸ Gil A. (pág. 399)

³⁹ Escobar Z. (pág. 28,29)

correspondientes a la parte alquílica del fenilpropano. Por eso se los conoce como C6-C3-C6.³⁹

Los flavonoides son sustancias sólidas cristalizadas de color amarillento. Estos compuestos son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares.³⁹

A) Clasificación

Los flavonoides que conservan su esqueleto, según las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados pueden clasificarse en:

- Chalconas
- Flavonas
- Flavonoles
- Flavandioles
- Antocianinas
- Dihidroflavonoides
- Catequinas

B) Funciones biológicas de los Flavonoides

Los compuestos fenólicos esta generalmente acumulados en la epidermis, donde evitan el paso de la radiación UV hacia los cloroplastos, de manera que no alcance los tejidos de fotosíntesis.⁴⁰ La epidermis bloquea la transmitancia del 95 al 99 % de la radiación UV entrante.⁴¹ La inducción de la biosíntesis de flavonoides puede prevenir daños de la UVB en la fotosíntesis,⁴² lo cual sugiere que la protección contra la radicación UV es una de las funciones de estos pigmentos.

⁴⁰ Halbrock K. y Scheel D. (pág. 347-369)

⁴¹ Robberecht R. y Caldwell M. M. (pág. 277-287)

⁴² Tevini M. Braun J. Fieser G. (pág. 329-333)

Banda I	Banda II	Tipo de flavonoide
250 - 280	310 - 350	Flavona
250 - 280	330 - 360	Flavonoles
245 - 275	310 - 330	Isoflavonas
275 - 295	300 - 330	Isoflavonas, dihidroflavonoles
230 - 270	340 - 390	Chalconas
230 - 270	380 - 430	Auronas
270 - 280	465 - 560	Antocianidinas, antocianinas

Tabla 2.- Rangos de absorción característicos de los diferentes tipos de flavonoides

Además, en los últimos años se ha observado la relación de los flavonoides con las propiedades defensivas de las plantas, encontrando, la presencia de algunos O-glicosidos que evitan el ataque de herbívoros en diferentes variedades de arroz, y cada año se encuentra reportes que informan de las propiedades alelopáticas de los flavonoides.⁴³

C) Pruebas fitoquímicas preliminares

Las pruebas fitoquímicas preliminares más utilizadas para la identificación de este tipo de compuestos son el Test de Shinoda y el Test de Ácido Sulfúrico.

Antocianinas

El grupo más extenso de flavonoides pigmentados son las antocianinas, responsables de la mayoría de los colores rojo, rosa, morado y azul de las plantas. Las antocianinas son glucósidos que tienen un azúcar en posición 3 y en ocasiones en alguna otra posición. Cuando las antocianinas carecen del azúcar se las conoce como antocianidinas. El color de las antocianinas depende de diferentes factores: el número de grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo B de la antocianina, la presencia de ácidos aromáticos esterificados en el anillo principal y

⁴³ Romo de Vivar Romo A. R. (pág. 64)

el pH de las vacuolas celulares en las que se almacenan estos pigmentos. Las antocianinas también pueden presentarse como complejos supramoleculares junto a iones metálicos quelados y flavonas.⁴⁴

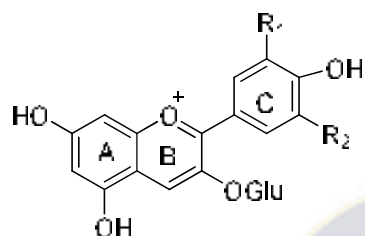


Fig. 4. Estructuras químicas de algunas antocianinas

Antocianinas	R ₁	R ₂
Cianidina	OH	H
Peonidina	OCH ₃	H
Delfinidina	OH	OH
Petunidina	OCH ₃	OH
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

A) Funciones de las Antocianinas

Debido a que colorean flores y frutos, las antocianinas son muy importantes en la atracción de animales para la polinización y la dispersión de las semillas.

Estudios muestran la actividad vasodilatadora generada por las antocianinas presentes en la piel de las uvas tintas. Entre las propiedades de las antocianidinas, destacan las farmacológicas, ya que son anticarcinogénicas, antiinflamatorias, vasoprotectoras, preventivas de la obesidad y la diabetes.⁴⁵

B) Pruebas fitoquímicas preliminares

Debido a la deficiencia electrónica (carga positiva) del catión flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH, por lo que su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran. A pH ácidos adquieren una estructura estable de catión flavilio, por lo regular rojo, cuando se incrementa el pH, la estructura electrónica se modifica

⁴⁴ Zeiger E. y Toiz L. (pág. 151)

⁴⁵ Gil A. (pág. 409)

hasta llegar a la forma de base quinoidal que se percibe con coloración azul.⁴⁶ Por esto, la prueba más utilizada para la identificación de este tipo de compuestos es el Test de pH.

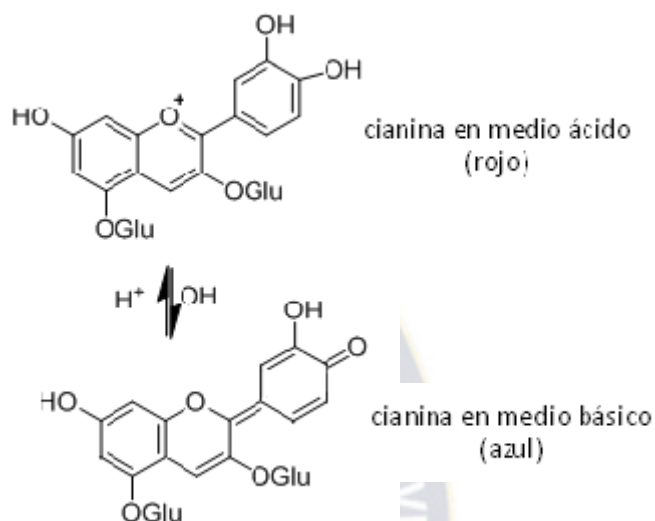


Fig. 5. Reacciones de cianina en medio ácido y básico

Taninos

El término tanino fue usado por primera vez para describir compuestos que podían convertir la piel del animal en cuero, en el proceso conocido como curtido.⁴⁷

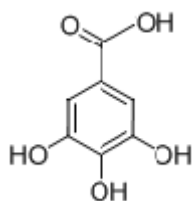


Fig. 6. Taninos (Acido gálico)

⁴⁶ Guarnizo Franco A. y Martínez Yepes P. N. (pág. 69)

⁴⁷ Zerger E. y Toiz L. (pág. 554)

Los taninos son compuestos polifenólicos, que tienen un peso molecular entre 500 y 3000. Son sustancias químicas de sabor astringente que generan varias especies de plantas.

Los taninos son compuestos ácidos, lo cual se debe a la naturaleza de los grupos fenólicos y del grupo carboxilo.

A) Clasificación

Los taninos usualmente se dividen en dos clases: los que pueden ser hidrolizados con agua y los que no pueden hidrolizarse.

Los taninos que pueden ser hidrolizados se encuentran en el té, estos pueden producir glucosa y ácido gálico. Son ésteres del ácido gálico y de la glucosa.

Los taninos no hidrolizables encontrados también en el té son polímeros condensados del catequino y uniformes en su estructura.⁴⁸

B) Funciones de los Taninos

Las plantas y árboles, generan taninos con el fin de protegerse de los herbívoros, de modo que no puedan comerse grandes cantidades. También actúan sobre las proteínas de las pieles, transformándolas en cuero, es decir, se vuelven imputrescibles, duras y resistentes.

Los taninos presentes en las uvas son normalmente denominados catequicos o taninos condensados. Según el número de unidades elementales y los modos de enlace, existe una gran diversidad de estos compuestos presentes en la uva con propiedades particularmente gustativas.⁴⁹

⁴⁸ Ocampo R., Ríos L. A., Betancur L. A. y Ocampo D. M. (pág. 54)

⁴⁹ Blouin J. y Gumberteau G. (pág. 73)

Son poderosos astringentes por lo que tienen usos medicinales y veterinarios, particularmente como anti diarreicos y antiinflamatorios, últimamente se les ha dado uso para el tratamiento de aguas.⁵⁰

C) Pruebas fitoquímicas preliminares

Una de las pruebas fitoquímicas preliminares más utilizadas para la identificación de taninos es el Test de la gelatina.

Cumarinas

Las cumarinas son compuestos derivados del ácido cinámico, por ciclación de la cadena lateral del ácido o-cumarico.⁵¹ Las α -pironas también generan cumarinas por la lactonización del ácido o-cumarico

Están ampliamente distribuidas en el reino vegetal. La estructura más sencilla, la cumarina misma, es utilizada como aromatizante en confitería.⁵²

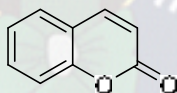


Fig. 7. Cumarina

Las cumarinas se encuentran dentro el grupo de compuestos fenólicos, ya que comparten la misma vía biosintética y esqueleto químico. Presentes en semillas, frutos, flores, raíces, hojas, y tallos de las plantas, en mayor concentración en frutos y flores.

⁵⁰ Lastra J. J. (pág. 104)

⁵¹ Iglesias Neira J. (pág. 64)

⁵² Marcano D. y Hasegawa M. (pág. 217)

Estas son de naturaleza hidrófila y liposolubles, dado que se extraen con etanol y cloroformo. Son sólidos cristalizables, blancos o amarillentos, algunos sublimables.

A) Clasificación

Las cumarinas se pueden clasificar en tres grupos: hidroxycumarinas, furanocumarinas y piranocumarinas. Las hidroxycumarinas y sus correspondientes heterosidos, se encuentran en plantas superiores, aproximadamente en 100 familias. Las furocumarinas y piranocumarinas aparecen generalmente en forma libre en frutos y raíces de las familias *Umbeliferae*, *Rutaceae*, *Compositae*, *Fabaceae*, *Moraceae* y *Solanaceae*.⁵³

B) Funciones de las Cumarinas

Originalmente la cumarina se aisló de la Haba de Tonka (*Dipteryx odorata*). Su rol en las plantas parece ser de defensa, dándole propiedades de rechazo a la alimentación, antimicrobiana, captadora de radiación UV e inhibidora de la germinación.

La ingesta de cumarinas de plantas como el trébol puede causar hemorragias internas en mamíferos. Este descubrimiento llevó al desarrollo del anticoagulante Warfarin (R) y al uso de compuestos relacionados para tratar la apoplejía

Estos metabolitos pueden poseer propiedades vitamínicas, disminución de permeabilidad capilar y aumento de resistencia en las paredes capilares (protegen la fragilidad capilar y actúan como tónico venoso), las furanocumarinas son fotosensibilizadoras de la piel, las piranocumarinas tienen acción antiespasmódica, vasodilatadora de coronarias, antiinflamatoria, antibacteriana, hipotérmica, analgésica, anticoagulante y sedante.

⁵³ Castillo García E. y Martínez Solís I. (pág. 35)

Algunas furanocumarinas preniladas en C-5 y en C-8, han sido aisladas y son utilizadas en la medicina tradicional de Nigeria, como tónicos estomacales y para curar mordeduras de animales venenosos.⁵⁴

C) Pruebas fitoquímicas preliminares

La prueba más utilizada para identificar este tipo de compuestos es el Test de fluorescencia, debido a que las cumarinas al tener un sistema benzo-alfa-pirona con anillo lactónico, son estructuras solubles en soluciones alcalinas, produciendo fluorescencia bajo la luz UV- 365 nm.

2. Alcaloides

El término “alcaloide” significa literalmente “análogo a un álcali”. Esta determinación fue dada originalmente a todas las sustancias con carácter básico aisladas de las plantas.⁵⁵ Como su propio nombre sugiere, los alcaloides son alcalinos.

Son sustancias venenosas extraídas de las plantas. Pueden definirse desde un punto de vista químico como sustancias vegetales con nitrógeno básico, generalmente cíclico y por lo común de gran toxicidad.

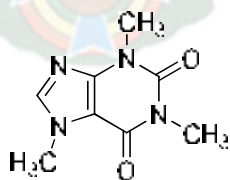


Fig. 8. Estructura química de la cafeína

⁵⁴ Marcano D. y Hasegawa M. (pág. 218)

⁵⁵ Gonzales Alcaraz F. (pág. 590)

La mayoría de los alcaloides son insolubles o muy poco solubles en agua, pero se disuelven fácilmente en alcohol, éter y cloroformo. Son sólidos de color blanco con sabor amargo y cristalizables. Se combinan con ácidos formando sales solubles en agua, cristalizables e insolubles en disolventes orgánicos. El método general de extracción de alcaloides (método de Stas-Otto) se basa en la diferencia de solubilidades, en agua y disolventes orgánicos, de la base alcaloidea y de sus sales.⁵⁶

A) Clasificación

Los alcaloides han sido clasificados de muchas maneras, una de ellas es según los aminoácidos de procedencia:

- Alcaloides derivados de la ornitina y la lisina
- Alcaloides derivados de la tirosina y la fenilalanina
- Alcaloides derivados del triptófano
- Alcaloides derivados del ácido nicótico
- Y alcaloides derivados de la histidina.⁵⁷

B) Funciones de los Alcaloides

El papel de los alcaloides en las plantas ha sido objeto de especulación durante los últimos cien años. Se pensó que eran desechos nitrogenados, compuestos de almacenamiento de nitrógeno o reguladores del crecimiento, pero muy pocas pruebas apoyan algunas de estas funciones. Actualmente se cree que la mayoría de los alcaloides actúan como defensas frente a predadores, especialmente mamíferos, debido a su toxicidad y capacidad de disuasión.⁵⁸

⁵⁶ Gisbert Calabuig J. A. y Villanueva Cañadas E. (pág. 898)

⁵⁷ Castillo García E. y Martínez Solís I. (pág. 39)

⁵⁸ Zerger E. y Toiz L. (pág. 558)

C) Pruebas fitoquímicas preliminares

Las pruebas más utilizadas para la identificación de este tipo de compuestos son el Test de Mayer y el Test de Dragendorff.

Saponinas

Las saponinas (del latín *sapo*=jabón) son glicosidos que aparecen en una gran variedad de plantas. Son moléculas muy estables, se caracterizan por la producción de espuma en solución acuosa y sabor amargo.⁵⁹

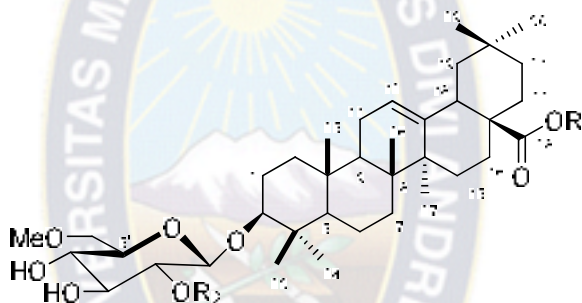


Fig. 9. Estructuras de saponinas aisladas de *Chenopodium quinoa*

A) Clasificación

Se clasifican en dos grupos de glucósidos: como triterpenicos y esteroidales, el primero compuesto por glucósidos triterpenoides de reacción ligeramente acida, y el otro por derivados del perhidro 1,2-ciclopentanofenantreno, es decir, esteroides.⁶⁰

B) Funciones de las Saponinas

De las varias actividades atribuidas a las saponinas las más frecuentes son las antiinflamatorias y la antiviral para casi todas las triterpenoidales. Reducen la

⁵⁹ Vioque J., Clemente A., Bautista J. y Millán F. (pág. 135)

⁶⁰ Tapia M. (pág. 177)

tensión superficial, alteran la permeabilidad de las membranas celulares, esto por la característica de hemolisis descomponiendo los glóbulos rojos lo que las convierte en venenos para peces. Su actividad antibacteriana también está relacionada a la hemolisis.⁶¹

Debido a su amargura pueden disminuir la apetitibilidad, pero sobre todo, debido a su afinidad por los esteroides, interfieren en la absorción intestinal de estos compuestos y limitan el reciclaje de las sales biliares

Las saponinas aportan su cualidad limpiadora y antiséptica, actuando al mismo tiempo como suavizantes.

C) Pruebas fitoquímicas preliminares

La prueba más utilizada para la determinación de este tipo de compuestos es el Test de la espuma.

Esteroides

La característica general de los esteroides es el esqueleto de ciclopentanoperhidrofenantreno, en el que los ciclos se denominan A, B, C y D, además, contienen generalmente funciones oxigenadas y muchos son portadores de grupos metilo en C10 y C13.⁶²

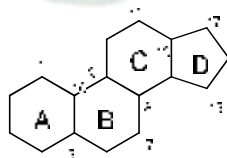


Fig. 10. Estructura química del ciclopentanoperhidrofenantreno

⁶¹ Marcano D. y Hasegawa M. (pág. 368)

⁶² Griffin Jr. R. W. (pág. 494)

Los esteroides son un grupo de productos naturales, forman parte de este el colesterol y otros esteroides, los ácidos biliares, las hormonas sexuales, las hormonas de la corteza suprarrenal o corticoides, compuestos cardiotónicos, las sapogeninas esteroideas, la vitamina D y los alcaloides esteroideos.⁶³

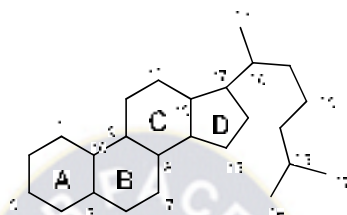


Fig. 11. Estructura química del colestano

A) Clasificación

Los investigadores utilizan métodos ligeramente diferentes para clasificar los esteroides. Uno de estos métodos consiste en dividir estos en cinco clases de acuerdo con el tipo del grupo sustituyente en el carbono 17, es decir, el grupo R. Una clasificación de uso frecuente es la siguiente: Esteroides, Hormonas sexuales, Glucósidos cardíacos, Ácidos biliares y Sapogeninas.⁶⁴

B) Funciones de los Esteroides

Los esteroides presentan gran variedad de actividades biológicas. Varios se obtienen a partir de materias primas de origen vegetal, que junto con un número considerable de compuestos esteroideos sintéticos y semi-sintéticos se emplean en medicina para corregir trastornos de salud. Muchos son indispensables para el funcionamiento del cuerpo humano, como las hormonas sexuales y los corticoides.⁶⁵

⁶³ Gonzales Alcaraz F. (pág. 141)

⁶⁴ Genaro A. R. (pág. 479)

⁶⁵ Romo de Vivar Romo A. (pág. 145)

C) Pruebas fitoquímicas preliminares

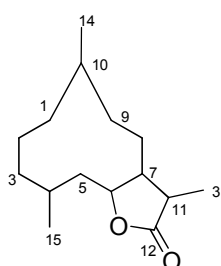
Para la identificación de este tipo de compuestos la prueba más utilizada es el Test de Lieberman-Burchard.

Sesquiterpenlactonas

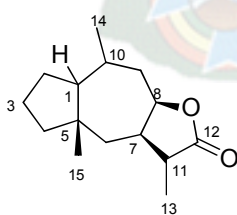
Son una clase de sesquiterpenoides (Terpenoides C15) con un anillo lactónico. Sustancias amargas que se encuentran distribuidas por toda la planta, en concentraciones que varían entre 0.01 y 8% del peso seco, siendo las concentraciones generalmente en las hojas; bastante solubles en cloroformo y en éter etílico.⁶⁶

A) Clasificación

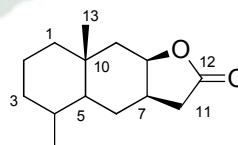
Las sesquiterpenlactonas se clasifican comúnmente de acuerdo con el tipo de núcleo que posean con la terminación ólico que indica la existencia de un grupo funcional lactona; por ejemplo las que tienen el núcleo tipo Germacrano se las llama Germacranólidos; las que tienen el núcleo tipo Eremofilano son Eremofilanólidos, las que contengan núcleo tipo Eudesmano son Eudesmanólidos, Heliangólidos, Michampanólidos, etc.⁶⁷



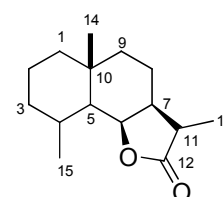
Germacranólidos



Pseudoguaianólidos



Eremofilanólidos



Eudesmanólidos

⁶⁶ Lock de Ugaz O. (pág. 41)

⁶⁷ Martínez A. (pág. 1-19)

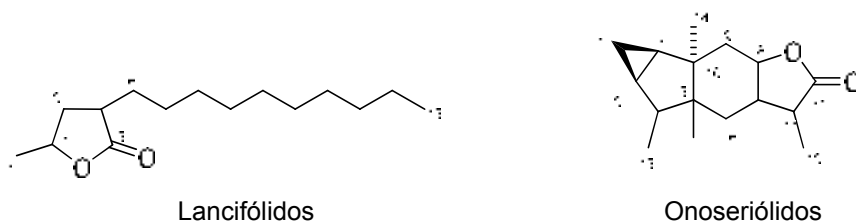


Fig. 12. Estructuras y enumeración de los carbonos de seis sesquiterpenlactonas

B) Funciones de las Sesquiterpenlactonas

En diversas drogas de origen vegetal se encuentran cantidades menores de sesquiterpenlactonas, presentando acción citotóxica, antitumoral, analgésica e inhibidoras del crecimiento de bacterias.⁶⁷

C) Pruebas fitoquímicas preliminares

Para la identificación de este tipo de compuestos se utiliza generalmente el Test de Kedde.

1.2.7. ANTECEDENTES DEL TRABAJO REALIZADO

Descripción de la zona de estudio

La región de los Yungas se encuentra a tres horas de La Paz. Se considera una zona de transición ya que aparece tras el descenso de la Cumbre, más específicamente en las estribaciones de la Cordillera Real, dando inicio a las tierras bajas o Amazonía Boliviana, con el consiguiente ascenso de la temperatura a medida que se baja, sumergiéndose en la característica humedad de las tierras tropicales. Yungas es un término que caracteriza a un ecosistema, conocido como bosques nubosos

El paisaje es una mezcla de verdes laderas, precipicios, ríos, cascadas y una avasallante vegetación. Esta zona se considera como una gran reserva de flora y

fauna regionales, por lo que instituciones y comunidades involucradas han emprendido una labor de conservación y protección; dentro de las propuestas está la de fomentar un turismo ecológico y controlado.

La vegetación típica de los Yungas presenta diversidad de especies vegetales, entre las cultivadas por los agricultores se destacan: forestales como el nogal (*Juglans boliviana*), sikili (*Inga sp.*), cedrillo (*Cedrela fissilis*), ciprés (*Cupresus sp.*) espeke (*Clusia haughtii*) chojo laurel (*Nectandra membranacea*), frutales como la naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus deliciosa*), plátano (*Musa paradisiaca*), enano (*Musa sapientum*) y maracuyá (*Pasiflora edule*), especies hortícolas como racacha (*Arracacea xanthorrhiza*), walusa (*Xanthosoma sagittifolia*) y otras típicas de la zona como el café (*Coffea arabica*), además de grandes extensiones de producción de coca (*Erythroxylum coca*).

Localización de la zona de estudio

EL presente trabajo fue realizado en la comunidad de Carmen Pampa, en la UAC, perteneciente al municipio de Coroico, de la provincia Nor-Yungas del departamento de La Paz, Bolivia.

Geográficamente se sitúa a 16 15' 29,7" de Latitud Sur y 67 41' 30,3" de Longitud Oeste, a una altura de 1850 msnm a una distancia de 96 km de la ciudad de La Paz y 15 Km de Coroico

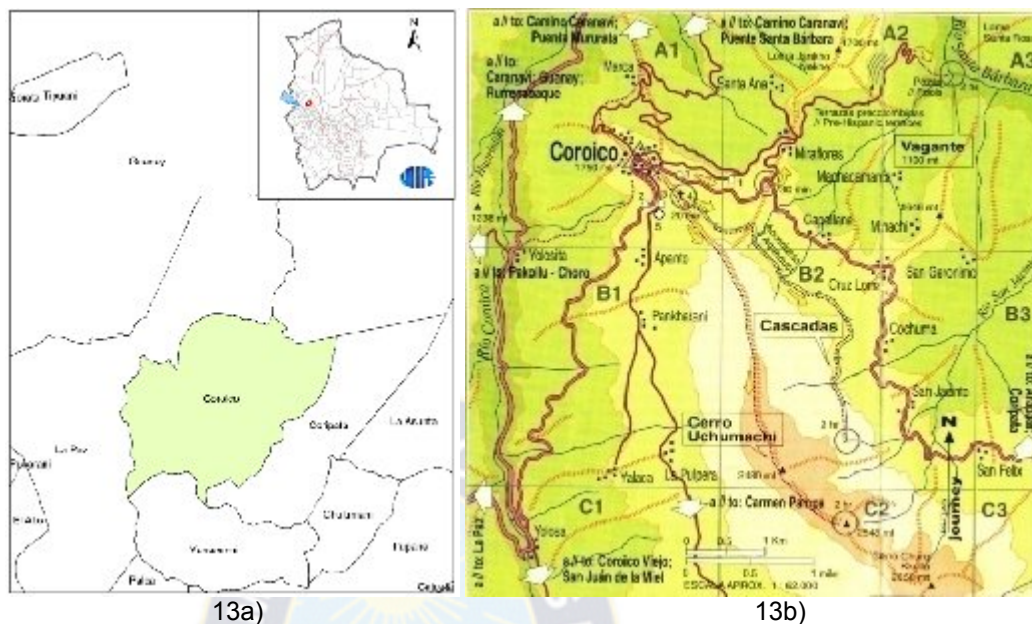


Fig. 13. Localización de Carmen Pampa, Nor Yungas

13a) Fuente: <http://www.udape.gov.bo/portalsig/municipiosRef.htm>

13 b) Fuente: http://www.guia4x4.com.ar/viajes_mapas_sudamerica.html

Descripción agroecológica

Clima

Según Holdridge (1987), el clima de la localidad de Carmen Pampa pertenece a la categoría de “Bosque húmedo premontano tropical”. La zona se caracteriza por presentar los siguientes datos: temperatura media anual de 18,4 C, humedad relativa promedio anual de 78,5 %, precipitación media anual de 2330 mm y velocidad del viento es de 0,79 m/s.⁶⁸

Suelo

El suelo de Carmen Pampa pertenece a la asociación de suelos orden ULTISOLES, con horizonte argílico. El material coluvial-aluvial deriva de rocas

⁶⁸ 73-Estación Meteorológica de Carmen Pampa 1996-2005

lutita, pizarra, limonita y arenisca. Estos suelos son moderadamente profundos de color pardo o pardo oscuro con textura franco arcillosa en la superficie, arcillosa en el subsuelo y con una ligera acidez (pH de 4.9), presentando una topografía moderada. (Villca, 2001)

Vegetación



Fotografía 1.- Vegetación de Carmen Pampa

Fuente: San Martín 2010

La vegetación del lugar presenta especies como el helecho (*Cyathea amazónica*), ambaibo (*Cecropia angustifolia*), pili mora (*Myriocarpa sipitata*), matico (*Piper angustifolium*) especies vegetales pertenecientes a la familia *Compositae* utilizadas en la mayoría por sus propiedades medicinales como la charara (*Baccharis genistelloides* sp. Crispa), kanapaco hembra (*Sonchus oleraceus*), kanapaco macho (*Sonchus asper*), diente de león (*Taraxacum officinale*), laili-laili (*Acmella ciliata*), toco-toco (*Liabum hastifolium*) y chiriri (*Bidens alba*); otras cultivadas en los alrededores de sus casas como paja cedrón (*Cymbopogon citratus*), manzanilla (*Matricaria chamomilla*), anís (*Pimpinella anisum*) y menta (*Mentha piperita*).

Además de especies vegetales arbustivas y herbáceas; plantas inferiores como helechos, musgos, líquenes y hongos.

Cerro Uchumachi



Fotografía 2.- Cerro Uchumachi en Carmen Pampa, Nor Yungas

Fuente: San Martín 2010

El Cerro Uchumachi es un bosque húmedo tropical premontano, cuenta con una amplia diversidad de especies animales y vegetales. Actualmente esta siendo afectado, según los comunarios, por la excesiva explotación de sus productos naturales, especialmente árboles de uso maderero, por este motivo los pobladores requieren de estrategias para preservar este recurso, que es el más importante de todas las comunidades aledañas al cerro, además de ser su única fuente de agua durante todo el año.⁶⁹

La vegetación existente en el cerro Uchumachi es inmensamente variada, existen plantas que podrían ayudar al desarrollo productivo de la comunidad, que aun no han sido estudiadas. Por lo tanto es necesario iniciar el estudio de esta potencial fuente de recursos naturales, manteniendo su biodiversidad.⁶⁹

⁶⁹ Endara Agramont A. R. (pág. 1)

Bosque nublado

El bosque nublado está ubicado en la clasificación de bosques húmedos, siempre verdes de niveles altitudinales superiores, con una precipitación pluvial elevada y regularmente distribuida durante todo el año, su ubicación es tal, que el aire ascendente y saturado de vapor de agua, proveniente de regiones bajas, húmedas y cálidas se condensa regularmente, especialmente durante la tarde y produce nubosidad o niebla envolvente (Lamprecht, 1990)

Bosque tropical

Hoy en día el clima tropical se caracteriza principalmente por la periodicidad térmica, fotoperiodicidad y periodicidad hídrica. En cuanto a la periodicidad térmica diaria anual, las oscilaciones de temperatura durante el día son mayores que las anuales, en la fotoperiodicidad esta zona se caracteriza porque la duración del día y de la noche presentan ligeras variaciones, mientras que en la línea del ecuador el día y la noche duran 12 horas durante todo el año, en las latitudes de Cáncer y Capricornio, la duración del día más largo es de 13,5 y el del más corto es de 10,5 respectivamente. En lo referente a la periodicidad hídrica no se presentan características específicamente tropicales (Lamprecht, 1990)

Malleus (1982) distingue las siguientes características que predominan en un bosque tropical:

- Alto número de especies forestales por unidad de superficie.
- Difícil accesibilidad desde el punto de vista topográfico
- Densa cobertura de vegetación lo cual también dificulta su acceso.

CARACTERIZACION DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

khari-khari

Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Género:	<i>Rubus</i>
Especie:	<i>Rubus boliviensis</i>
Nombre común:	khari-khari, Wari chchapi Zarza común.



Morfología de la especie

Planta herbácea de 1.8 cm de alto, perenne, con tallos y hojas espinosas. Hojas trifolidas y folíolos aserrados. Flores blancas o rojizas. Frutos inmaduros rojizos, morados y dulces al madurar de hasta 1,3 cm de largo, comestibles, formados por numerosas drupas, fruto muy similar a una frutilla. Se la encuentra en los bordes de los caminos y chacras de la zona. Es consumida por aves.

Usos y aplicaciones de la especie

Es utilizada para tratar afecciones del hígado, calmar la tos, el resfrío y afonías, tiene propiedades antisépticas urinarias, diuréticas y levemente laxativas, utilizada también para tratar el paludismo. Se prepara una infusión con las hojas trituradas y colocadas en agua hervida.

El fruto conocido como mora negra o zarzamora contiene sales minerales vitaminas A, B y C, por su alto contenido de hierro es utilizada para prevenir o combatir la anemia y afecciones hepáticas. El triturado es utilizado en forma directa o en infusión, contra anginas e inflamaciones de la garganta.

vira-vira

Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Scrophulariales
Familia:	Scrophulariaceae
Género:	<i>Castilleja</i>
Especie:	<i>Castilleja arvensis</i>
Nombre común:	Vira-Vira



Morfología de la especie

Hierba anual, erecta de unos 25 a 50 cm de alto. Tallo erecto, estriado, cilíndrico, rojizo-purpúreo, con pelos, la parte basal generalmente cubierta de pequeños tubérculos. Hojas alternas, simples, espatulado-lanceoladas a lanceolado-oblongas, de 1.5 a 7 cm de largo, ápice agudo u obtuso, borde entero, liso o crespado, base atenuada, con pelos, trinervadas. Flor con simetría bilateral, sus segmentos con pelos, obtusos o redondeados y teñidos de color rojo en el ápice.

Usos y aplicaciones de la especie

La infusión de toda la planta es utilizada para tratar afecciones renales.

charara

Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae (Compositae)
Género:	<i>Baccharis</i>
Especie:	<i>Baccharis genistilloides</i>
Subespecie:	<i>Baccharis genistilloides subsp. crispa</i>
Nombre común:	Charara, Carqueja Quimsacucho



Morfología de la especie

Hierba perenne, crece casi verticalmente hasta una altura de 2 m, Las flores numerosas, tubulares, de hasta 5 mm de largo, color blanco amarillentas, situadas en la parte superior de la planta, tallos y ramas marcadamente aplanados, con segmentos alados y las “alas” toman el lugar de las hojas, de sabor amargo. Crece al borde de los caminos, en las partes altas de la zona.

Usos y aplicaciones de la especie

Su infusión presenta propiedades amargas siendo empleada para trastornos gastrointestinales, enfermedades reumáticas, fiebre, diabetes, problemas de hígado, cicatrizante de heridas, quemaduras, llagas y ulceraciones. También utilizada para el control de pulgas en los niños. Externamente se usa para hacer compresas y lavajes

Los pobladores la usan para el control de plagas, enfermedades de las verduras y hortalizas en los pequeños huertos familiares. Preparan una cocción con trozos de tallo en agua que, luego de enfriar es esparcido en las verduras.

toco-toco

Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae (Compositae)
Género:	<i>Liabum</i>
Especie:	<i>Liabum hastifolium</i>
Nombre común:	Toco-Toco



Morfología de la especie

Planta herbácea, arbusto de hasta 2 metros de alto. Tallo hueco, con vellosidades, pequeñas manchas negras alargadas y látex lechoso. Hojas hastiformes, simples, opuestas y con un suave aroma. Flores amarillas.

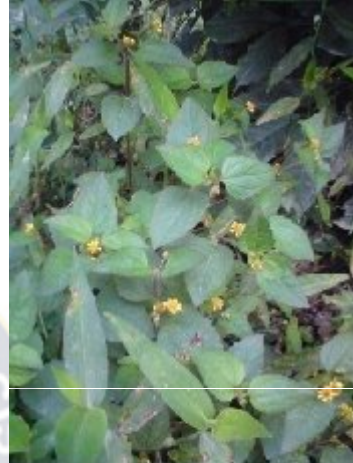
Usos y aplicaciones de la especie

Utilizada en el tratamiento de golpes e inflamaciones. Existe la creencia popular de que de sus flores nacen los "Tábanos", un insecto endémico de la zona. Con las hojas enteras y soasadas se prepara un emplasto que es colocado en la parte afectada. La resina de los tallos (gotas) se coloca en las heridas y en las picaduras de avispas.

laili-laili

Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Asterales
Familia:	Asteraceae (Compositae)
Género:	<i>Acmella</i>
Especie:	<i>Acmella ciliata</i>
Nombre común:	Laili-Laili



Morfología de la especie

Hierbas anuales o perennes, de unos 70 cm de alto, hojas simples y opuestas, dentadas, flores amarillas. Se encuentran mayormente en las chacras y bordes de caminos

Usos y aplicaciones de la especie

Es utilizada la infusión de las hojas y flores en caso de dolor de muelas e inflamaciones. Algunos pobladores colocan la flor directamente en el diente adolorido o también preparan un macerado en alcohol, que colocan en los dientes afectados con un algodón

Se han reportado sus propiedades como planta biocida, siendo empleada para fumigar verduras y hortalizas de los “pulgonos” y algunas enfermedades.

1.3. JUSTIFICACION

Los compuestos químicos sintéticos han sido necesarios para el desarrollo de la medicina moderna y la agricultura (como drogas y pesticidas). Estas necesidades están relacionadas a factores socioeconómicos, por lo que países del Tercer Mundo no cuentan con los recursos necesarios para su compra y se ven obligados a recurrir reiteradamente al uso de productos naturales.

En los últimos años se ha dado mayor importancia al uso de productos de origen natural, pero cabe recalcar, que la sobre explotación de estas especies está amenazando la biodiversidad, por lo tanto, los países deben fijar estrategias para aprovechar los beneficios que les brinda la naturaleza, sin afectar el equilibrio de sus ecosistemas.

La química de los productos naturales constituye una disciplina valiosa por su carácter formativo y aplicativo, que muestra grandes oportunidades a Bolivia ya que este consta de una gran biodiversidad que aun no ha sido explotada económicamente. También se debe tomar en cuenta que con el avance tecnológico de los últimos años, las técnicas para estudiar a los metabolitos secundarios que poseen las plantas, son más factibles, fáciles de realizar y nos permiten estudios totalmente exhaustivos, llevándonos así al conocimiento de las funciones que algunos compuestos realizan en las plantas.

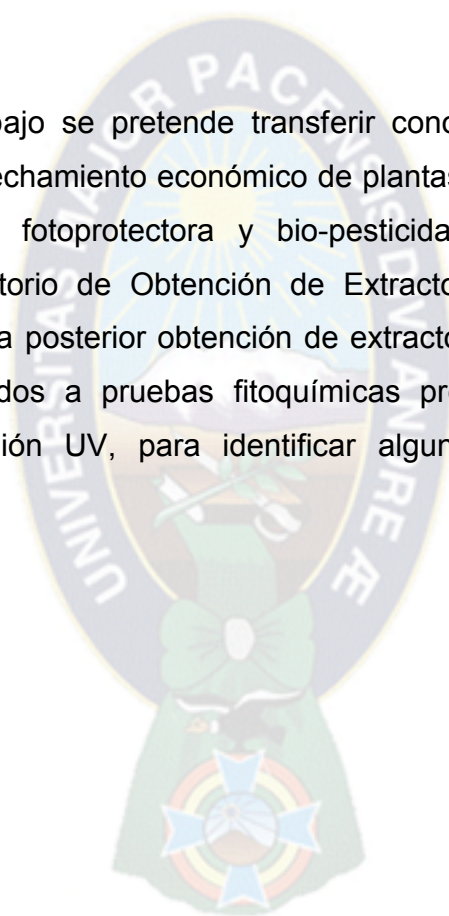
Se ha comprobado que los productos fitoterapéuticos son menos tóxicos, debido a que tienen como principio activo extractos y no así compuestos puros como en los fármacos, los cuales pueden producir efectos negativos.

De igual modo se ha ampliado la visión de las propiedades de las plantas al campo agrícola utilizándolas como bio-pesticidas, en forma de extractos acuosos o como aceites esenciales, ya que el uso irracional de pesticidas de origen químico,

han reportado casos de intoxicación de personas y animales, además de contaminación del medio ambiente.

Por estos motivos es necesario identificar especies vegetales con potencial valor económico, que debe ser basando en el conocimiento y experiencia de los pobladores, la gran biodiversidad existente (particularmente en el cerro Uchumachi) y el uso tradicional de plantas medicinales y bio-pesticidas de la región.

A partir de este trabajo se pretende transferir conocimiento y tecnología a la región, para el aprovechamiento económico de plantas cultivables y silvestres con aplicación medicinal, fotoprotectora y bio-pesticida. Para tal fin se plantea establecer un laboratorio de Obtención de Extractos Crudos bajo normas de seguridad básicas y la posterior obtención de extractos vegetales etanólicos. Los cuales serán sometidos a pruebas fitoquímicas preliminares y se medirá su absorción en la región UV, para identificar algunos grupos de metabolitos secundarios.



CAPITULO 2

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

- Implementar un laboratorio para la Obtención de Extractos Vegetales Crudos en el municipio de Coroico, UAC-CP.

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Implementar el ambiente destinado a ser el Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales Crudos, bajo normas básicas de seguridad.
- Recolectar información de las especies vegetales existentes en el lugar, utilizadas como medicinales, fotoprotectoras y bio-pesticidas.
- Colectar las especies vegetales.
- Identificar botánicamente a las especies recolectadas.
- Obtener extractos vegetales crudos de las especies vegetales más utilizadas como medicinales, fotoprotectoras y bio-pesticidas en el lugar.
- Determinar los rendimientos de los extractos obtenidos.
- Realizar pruebas preliminares de los extractos vegetales crudos obtenidos, por métodos cromatográficos (placas cromatográficas TLC) y pruebas específicas para algunos grupos de metabolitos secundarios existentes en las plantas.
- Determinar el grado de absorbanza UV de los extractos etanólicos obtenidos.
- Capacitar a los estudiantes de la UAC de Carmen Pampa interesados en la obtención de extractos vegetales crudos.

CAPITULO 3

3. METODOLOGIA

3.1. IMPLEMENTACIÓN DEL LABORATORIO

Para la implementación del Laboratorio se han realizado los siguientes pasos:

- Solicitud de un ambiente adecuado para el Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales en la UAC-CP
- Estudio de las condiciones existentes en ambiente destinado para el laboratorio en la UAC-CP (tamaño de ambiente, conexiones eléctricas y agua existentes, posición de mesones además de estar apropiadamente contruidos, esto quiere decir, resistentes a derrames de reactivos corrosivos, no ser fácilmente inflamables, resistir el peso de los equipos, etc.)
- Determinación de las necesidades de instalación eléctricas y de plomería que la UAC-CP debe instalar.
- Inventariado de material y equipos disponibles en la UAC-CP
- Determinación de materiales, equipos e infraestructura complementarios para la implementación del laboratorio
- Clasificación de equipos que la UAC-CP deberá conseguir, a adquirir con fondos del proyecto y solicitar en calidad de préstamo de la UMSA.
- Listado de materiales a adquirir con fondos del proyecto
- Adquisición e implementación de materiales y equipos

3.2. RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

La recolección de información se realizó mediante las siguientes tareas:

- Revisión minuciosa de trabajos realizados por docentes y estudiantes en la UAC-CP, ilustrados en tesis, perfiles de tesis, además de libros en la Biblioteca de la UAC-CP.
- Entrevistas a los comunitarios del lugar acerca de las plantas de mayor uso tradicional.

3.3. METODOLOGIA DE COLECTA Y ANALISIS FITOQUIMICO DE ESPECIES VEGETALES

La metodología descrita en los acápites posteriores fue la considerada para el estudio de las especies vegetales así como en la enseñanza de estas metodologías a estudiantes de la región, en los cursos de capacitación que fueron impartidos.

3.3.1. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES

Para la colecta e identificación de las especies vegetales se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- Colecta de la planta: se la realiza según el órgano de la planta que se desee estudiar; si es necesario la planta entera, una parte o varias partes de ella.
- Generalmente se colecta las partes aéreas. El material colectado debe ser homogéneo, es decir, ejemplares de idéntico porte y desarrollo.
- Las plantas no deben presentar rasgos de haber sido alimento de animales, estar enmohecido o tener características macroscópicas anormales como la falta de pigmentación, manchas de color diferentes al normal, etc.

- Se debe utilizar un cuchillo afilado o una tijera de podar, el corte debe ser transversal al tallo y evitando dañar el resto de la planta.
- Nunca se debe sacar una planta de raíz, a no ser que sus propiedades se encuentren precisamente en este órgano.
- No se debe coleccionar después de una lluvia ya que se encontrarían húmedas.
- No recolectar en lugares contaminados tales como: Calles, orillas de caminos (por las emanaciones tóxicas que las movi­lidades producen), alrededor de industrias, cerca de cultivos (porque en ellos se emplean plaguicidas), en canales, u otros cursos de agua contaminados, etc.
- Para la identificación botánica es necesario la realización de herbarios; esto comprende, la colecta de un ejemplar completo (órganos subterráneos y órganos aéreos, si es posible con flor, fruta y semilla) de cada especie, que deberá ser prensado sobre cartones y papel absorbente.

Listado de materiales necesarios para la colecta

Cuaderno de laboratorio; Prensas; Pitas; Cartones y periódicos; Bolsas de yute; Guantes; Tijeras podadoras; Scotch; Masquin; GPS

1) Secado y molienda

El secado y molienda se realiza bajo las siguientes premisas:

- El secado debe ser efectuado bajo techo y al abrigo de la luz solar, en un lugar fresco y cálido, sobre papel absorbente.
- El secado tiene por finalidad retirar el agua impidiendo reacciones de hidrólisis y crecimiento microbiano.
- La molienda puede ser manual o con ayuda de tijeras, morteros o molinos metálicos. Este proceso se realiza con el objetivo principal de aumentar la

superficie de contacto de la muestra con el solvente, de este modo se facilita la extracción de metabolitos secundarios presentes en las plantas.

2) Extracción

La extracción es “La transferencia selectiva de uno o varios compuestos desde un sólido a un líquido, o desde un líquido a otro líquido inmiscible con él”. Para este proceso se tomo en cuenta lo siguiente:

- Según el o los compuestos a estudiar y tomando en cuenta que estos no deben sufrir ningún riesgo de desnaturalización, se han utilizado solventes orgánicos, tales como el éter etílico, cloroformo, acetato de etilo, butanol, etanol y metanol, entre otros.
- Los métodos de extracción más utilizados son por Percolación o Lixiviación, Extracción por Soxhlet, Maceración por solvente e Infusión generalmente con agua caliente, los métodos seleccionados en este estudio fueron: Maceración y Extracción en Soxhlet.

3.3.2. PRUEBAS FITOQUIMICAS PRELIMINARES

Una vez obtenido el extracto, este es sometido a una serie de pruebas fitoquímicas preliminares, que nos permite determinar cualitativamente los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en una planta, y a partir de esto, orientar la extracción y fraccionamiento de los extractos, para el aislamiento de los grupos de mayor interés o en particular del compuesto específico a aislar.

Método para identificación de Compuestos Fenólicos

TEST DE CLORURO FERRICO: 5 mg del extracto es disuelto en 1 ml de etanol, a esta mezcla se le añade algunas gotas de cloruro férrico al 5% (neutro). Un color verde oscuro, azul, azul oscuro indica la presencia de polifenoles.

Esta prueba no es específica para taninos, otros compuestos fenólicos dan resultados positivos.

Método de identificación de Flavonoides

TEST DE SHINODA: 10 mg de la muestra es disuelta en alcohol y algunos fragmentos de magnesio metálico son añadidos seguidos de unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. En un segundo tubo se prepara la solución de extracto y se añade solo el ácido clorhídrico como blanco. Flavonas, flavonoles, sus correspondientes 2,3-dihidro derivados y xantonas producen una coloración anaranjada, rosa, roja a purpura con este test.

Si se reemplaza zinc en lugar de magnesio, solo los flavononoles dan un color rojo intenso a magenta: flavanonas y flavonoles dan una coloración rosa débil a magenta, o directamente ningún color.

TEST DE ACIDO SULFURICO: flavonas y flavonoles disueltos en ácido sulfúrico concentrado, producen un color amarillo intenso, chalconas y auronas producen soluciones rojas o rojo azuladas y flavanonas dan colores de anaranjado a rojo.

Método de identificación de Antocianinas

Primero se mide el pH de unos cuantos gramos de extracto disueltos en etanol, luego se le añade ácido clorhídrico hasta pH 3-4 después se basifica a pH 8-9. El cambio de color rojo en medio ácido a otro en básico, indica la presencia de

antocianinas. El color de las antocianinas varía en función del pH y de su estructura algunas de ellas a pH ácido se muestran de color rojo y a pH básico de color azul.

Método de identificación de Taninos

TEST DE GELATINA: Se disuelve 50 mg de extracto, repetir el procedimiento dos veces y llevar las soluciones a tres diferentes tubos, al primero se le añade una solución al 1% de cloruro de sodio, al segundo una solución al 1% de gelatina conteniendo un 10 %de cloruro de sodio y al tercero una solución de cloruro férrico. Si no existe precipitado en el primer tubo, se continúa con el test en el segundo tubo. Si en el segundo se observa la presencia de un precipitado blanco el test es positivo para taninos.

La presencia de un precipitado en el primer tubo descarta las pruebas positivas en el segundo y tercer tubo.

Método de identificación de Cumarinas

Las soluciones a las que las contienen presentan fluorescencia a UV-365nm e incrementan su intensidad después de añadir hidróxido de amonio al 10%. Detecta cumarinas color azul, además de antraquinonas color rojo y antronas color amarillo

Método de identificación de Alcaloides

50 mg de extracto son agitados con algunos ml de ácido clorhídrico diluido y filtrados. El filtrado es cuidadosamente analizado con el siguiente test:

TEST DE MAYER: A unos pocos ml de filtrado, se añade una o dos gotas del reactivo de Mayer por la pared del tubo de ensayo. Un precipitado blanco o crema indica que el test es positivo.

Método de identificación de Saponinas

TEST DE ESPUMA: 2.5 mg de la muestra es diluida con agua destilada y se afora a 5 ml. La suspensión se agita en una probeta de 10 ml y se deja reposar 15 min. Una columna de 2 cm de espuma indica la presencia de saponinas.

Método de identificación de Esteroides y/o Triterpenos

TEST DE LIEBERMAN-BURCHARD: 50 mg de la muestra es disuelto en 2 ml de anhídrido acético, a esta solución se la añaden lentamente por las paredes del tubo 1 o 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Un conjunto de cambios de color muestra la presencia de esteroides y/o triterpenos.

Método de identificación de sesquiterpenlactonas y glicosidos cardiacos (lactonas α , β - insaturadas)

TEST DE KEDDE: Disolver 10 mg del extracto en 1 ml de metanol, añadir una gota de las soluciones I y II a 0,2-0,4 ml de la muestra. Una coloración de azulada a púrpura luego de 15 min. nos muestra que la prueba es positiva.

Listado de materiales, solventes y reactivos necesarios para las pruebas fitoquímicas preliminares:

Equipo: Lámpara UV SPECTROLINE

SOLVENTES Y REACTIVOS
Virutas de Magnesio
Acido clorhídrico (concentrado)
Cloruro férrico
Gelatina sin sabor
Cloruro de sodio
Cloruro mercuríco
Yoduro de potasio
Anhidro acético
Acido sulfúrico (concentrado)
Amoniaco
Hidróxido de potasio
acido 3,5-dinitrobenzoico
etanol
metanol
agua destilada

3.3.3. DETERMINACION DEL GRADO DE ABSORBANCIA UV DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS.

Para la obtención de espectros UV se realizó lo siguiente:

- Secar totalmente los extractos etanólicos
- Preparar soluciones a diferentes concentraciones y determinar la concentración apropiada para el barrido.
- Realizar los correspondientes barridos.

Equipos, materiales y solventes:

Equipo : Espectrofotómetro UV CECIL

MATERIALES Y SOLVENTES
Matraz aforado de 25ml
Matraz aforado de 10ml
Pipeta aforada de 5ml
Pipeta graduada de 5ml
Metanol

3.1.6. CAPACITACION DE LOS ESTUDIANTES DE LA UAC-CP

Para la capacitación de los estudiantes de la UAC-CP, se realizaron los siguientes pasos:

- Determinación de características de las personas que recibirán la capacitación.
- Identificación de temáticas importantes a exponer
- Preparación de los cursos
- Dictado de cursos

CAPITULO 4

4. RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSION

4.1. IMPLEMENTACION DEL LABORATORIO

4.1.1. SOLICITUD DEL AMBIENTE

Se solicitó un ambiente adecuado para instalar el Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales Crudos, al Lic. Rubén Darío Gómez, responsable del área de Investigación en la UAC-CP.

4.1.2. ESTUDIO DE LAS CONDICIONES EXISTENTES EN EL AMBIENTE

El Lic. Rubén Darío Gómez vio la disposición de dos ambientes que podrían ser el Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales Crudos de los cuales se estudio sus condiciones de la siguiente manera:

- El primer ambiente constaba de:
 - a) Espacio, pero nos percatamos que tenía muchas deficiencias en cuanto a infraestructura, ya que no poseía un ventilador o extractor, mesones, además que las instalaciones eléctricas y de agua no estaban adecuadamente distribuidas.
- El segundo ambiente que se vio, era el más adecuado ya que constaba de:

a) Espacio para la instalación del Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales Crudos.



Fotografía 3.- Ambiente asignado para el Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales Crudos

Fuente: San Martín 2010

b) Mesones apropiadamente contruidos que incluían gaveteros, lo que nos facilitaría el almacenamiento de solventes y materiales de vidrio a utilizar.



Fotografía 4.- Posiciones de los mesones contruidos en hormigón armado

Fuente: San Martín 2010

c) Una lavandería, una ducha de disparo rápido, de las cuales se verifico que sus respectivas conexiones de agua sean seguras.



5 a)



5 b)

Fotografía 5.- 5 a) Lavandería y 5 b) Ducha

Fuente: San Martín 2010

d) Un ventilador, necesario para evitar la acumulación de vapores de solventes volátiles, tóxicos o que podrían formar mezclas explosivas con el aire.



Fotografía 6.- Ventilador

Fuente: San Martín 2010

- e) Siete puntos de toma de corriente, las cuales fueron revisadas para evitar accidentes eléctricos.

4.1.3. DETERMINACIÓN DE LAS NECESIDADES DE INSTALACION ELÉCTRICAS Y DE PLOMERÍA

Debido a las falencias de plomería del ambiente se determinó instalar:

- a) Dos grifos, ya que la mayoría de los equipos de obtención de extractos vegetales crudos necesitan de agua para su funcionamiento.

De la instalación eléctrica se determinó que la disposición de las toma de corriente estaban adecuadamente dispuestos, solo se cortó y aisló dos cables descubiertos.

4.1.4. INVENTARIADO DE MATERIAL Y EQUIPOS DISPONIBLES EN LA UAC-CP

Se inventarió la disponibilidad de equipos y materiales con los cuales disponía la UAC-CP, junto al Ing. Pedro Salaz, encargado de los laboratorios del Campus Leahay de la UAC-CP.

Materiales y equipos de laboratorio disponibles en la UAC-CP:

MATERIALES DE LABORATORIO	CAPACIDAD (ml)	CANTIDAD
Balón cuello largo y base plana	500	3
Vaso de precipitado alargado	200	2
Vaso de precipitado alargado	250	1
Vaso de precipitado alargado	100	1
Probeta	25	1
Probeta	250	1
Matraz erlenmeyer	250	1
Kitasato	250	1
Embudo de separación	1000	1
Pipeta graduada	10	1
Jarra de plástico	2500	1
Tubos de ensayo	10	15
Refrigerante serpentín		1
Soporte universal		1
Pinza con nuez incluida		4
Pinzas metálicas		2
Nueces		2
Cajas petrit		2
Balanza de plato		1
Aros metálicos		2
Gradilla		1
Pro-pipetas		1
Embudo de plástico pequeño		2

EQUIPOS	CAPACIDAD (ml)	CANTIDAD
Equipo soxhlet		1
Refrigerante de bolas		1
Balón base plana con cuello esmerilado	1000	1
Hornilla		1

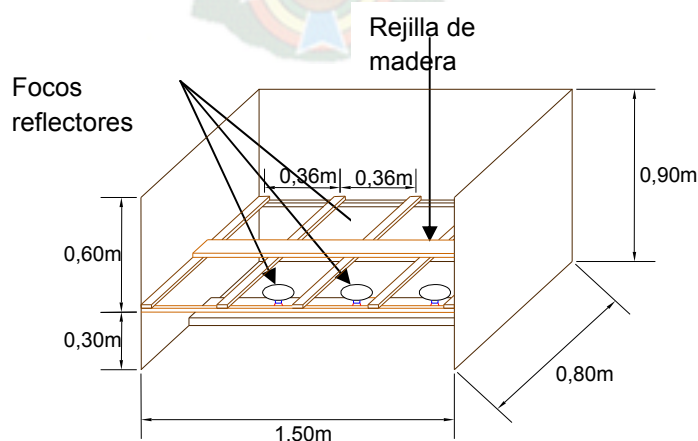
4.1.5. DETERMINACIÓN DE MATERIALES, EQUIPOS E INFRAESTRUCTURA COMPLEMENTARIOS PARA LA IMPLEMENTACIÓN DEL LABORATORIO

Después de realizar en inventario de materiales y equipos, disponibles en la UAC-CP, se determinó algunas falencias y se propuso:

- a) Adicionar dos soportes metálicos, uno de 1m de ancho x 1.25 m de alto y el otro de 1.2 m de ancho x 1.2 m de alto, divisiones de 25 cm x 25 cm y 30 cm x 30 cm de fierro redondo de 3/8", que estarán empotrados en los mesones facilitando y asegurando la instalación de los equipos para la obtención de extractos vegetales crudos.
- b) Adicionar dos grifos, extensiones de cañería de la lavandería principal, que son necesarios para el funcionamiento de los equipos.
- c) Pintar de un color crema pálido los vidrios de la ventana, esto para evitar la exposición directa del sol a los solventes, reactivos y extractos ya que podrían tener compuestos fotosensibles.

Además de los materiales anteriormente mencionados se vio la necesidad de construir:

- a) Un herborizador de 1.5 m x 90 cm x 80 cm con sus respectivas prensas (rejillas de madera de 60 cm x 31 cm)





Fotografía 7.- Rejillas de madera

Fuente: San Martín 2010

- b) 20 prensas (rejillas de madera) de 31 cm x 40 cm para un herborizador ya construido.

Para evitar que el material vegetal colectado sufra algún deterioro, debido a la humedad existente en el lugar.

4.1.6. CLASIFICACIÓN DE EQUIPOS

Se procedió a clasificar los equipos y materiales necesarios para la implementación del Laboratorio destinado a la Obtención de Extractos Vegetales Crudos de la siguiente manera:

Materiales que la UAC-CP deberá conseguir:

MATERIAL ELECTRICO EXTRA	CANTIDAD
Transformador de corriente	1
Extensor de corriente	1
Estufa	1
Refrigerador	1

Material y equipos que se deberán adquirir con fondos del proyecto:

Material de infraestructura para la implementación del laboratorio:

MATERIALES
Soportes metálicos
Grifos
Pintura en aerosol

Material auxiliar:

MATERIAL
Frascos grandes de 3000ml
Frascos pequeños
Viales
Embudos de plástico
Bolsas de yute
Masquin
Schotch
Tijeras podadoras
Guantes
Focos reflectores de 200 W
Soquet
Pitas
Manguera
Enchufes
Cable # 10

Reactivos y solventes:

SOLVENTES Y REACTIVOS
Etanol
Metanol Acetona Diclorometano Éter de petróleo
H ₂ SO ₄
FeCl ₃

Material de laboratorio:

MATERIAL
Balones base plana con cuello esmerilado
Erlenmeyers
Kitazatos
Vasos de precipitado
Probetas de plástico
Moledora metálica
Manto calefactor graduado
Refrigerante serpentín
Termómetro (hasta 100 o 300 C)
Embudos de vidrio
Embudo Buchner
Embudos de plástico grandes
Pesas de balanza de 1 Kg
Pesa de balanza de 500 gr
Nueces
Pinza metálica de tenazas
Pro-pipeta
Espátula metálica
Pinzas metálicas pequeñas
Pipetas pasteur
Gomas para pipetas pasteur
Columna de destilación fraccionada
Placas de silica gel
Papel filtro

Equipos en calidad de préstamo de la UMSA:

EQUIPO	CARACTERISTICAS	USO
Rota-evaporador	Buchi	Para la concentración de solventes
Bomba de vacío	Vacuubrand	Complemento del equipo rota-evaporador
Lámpara UV	254 nm y 365 nm SPECTROLINE	Para la observación de compuestos en las placas cromatográficas, visibles a estas longitudes

4.1.7. LISTADO DE MATERIALES A ADQUIRIR CON FONDOS DEL PROYECTO

Con el inventario de los materiales y equipos anteriormente presentados, se procedió a realizar la lista, de los que deben ser comprados con fondos del proyecto, especificando la capacidad y cantidad:

Material de infraestructura para la implementación del laboratorio:

MATERIALES	CANTIDAD
Dos soportes metálicos	2 (uno de 1 m de ancho x 1.25 m de alto y el otro de 1.2 m de ancho x 1.2 m de alto, divisiones de 25 cm x 25 cm y 30 cm x 30 cm de fierro redondo de 3/8")
Grifos	2
Pintura en aerosol	1

Material de laboratorio:

MATERIALES	CAPACIDAD (ml)	CANTIDAD
Balón con cuello esmerilado	3000	1
Balón base plana con cuello esmerilado	1000	1
Balón base plana con cuello esmerilado	500	1
Erlenmeyer	500	2
Kitazato	1000	1
Vaso de precipitado	150	1
Vaso de precipitado	250	1
Probeta de plástico	1000	1
Jarra de plástico	2000	1
Jarra de plástico	1000	1
Moledora metálica		1
Manto calefactor y graduado		1
Refrigerante serpentín		1
Termómetro (hasta 100 o 300 C)		1
Embudo de vidrio (6,5 de diámetro)		2
Embudo Buchner (12 cm de diámetro de porcelana)		1
Embudos de plástico grandes		6
Pesas de balanza de 1 Kg		2
Pesa de balanza de 500 gr		1
Nueces		4
Pinza metálica de tenazas		1
Pro-pipeta		1
Espátula metálica		1
Pinzas metálicas pequeñas		2
Pipetas pasteur		6
Gomas para pipetas pasteur		20
Columna de destilación fraccionada		1
Placas de sílica gel		3 placas
Papel filtro		5 hojas

Material auxiliar:

MATERIAL	CANTIDAD
Frascos grandes de 3000ml	5
Frascos pequeños	30
Viales	50
Embudos de plástico	6
Bolsas de yute	15
Masquin	2
Schotch	2
Tijeras podadoras	2
Guantes	2
Focos reflectores de 200 W	6
Soquet	4
Enchufe	2
Pitas	4m
Manguera	15m
Cable # 10	5m

Reactivos y solventes:

SOLVENTES Y REACTIVOS	CANTIDAD (ml)	APLICACION
Etanol	1 java	Maceraciones
Metanol	1000	Eluyentes para análisis cromatográfico
Gasolina (Éter de petróleo)	5000	
Acetato de etilo	1000	
Diclorometano	1000	
H ₂ SO ₄ AL 5 % v/v	300	Revelador en TLC
FeCl ₃ al 1 % v/v	300	Revelador en TLC

4.1.8. ADQUISICION E IMPLEMENTACION DE EQUIPOS Y MATERIALES EN EL LABORATORIO DE OBTENCION DE EXTRACTOS VEGETALES

Finalmente, el ambiente fue entregado con la infraestructura propuesta:

a) Adición de dos soportes metálicos:

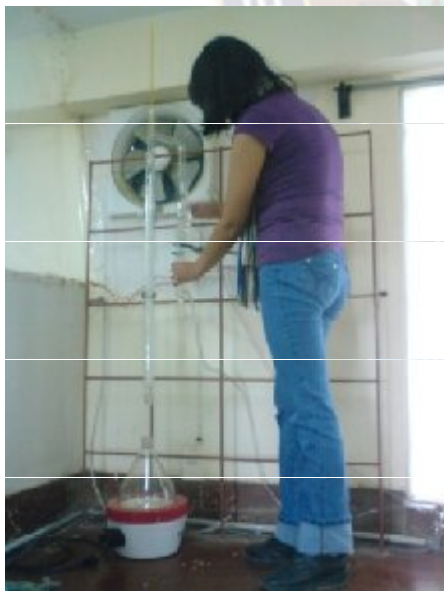


Foto 8a)



Foto 8b)

Fotografía 8.- Soportes metálicos

Fuente: San Martín 2010

Uno de ellos, como se muestra en la foto 7a), fue destinado para la instalación del equipo de destilación, bajo el ventilador, esto para evitar acumulación de vapores

volátiles. El otro soporte, como se muestra en la foto 7b), fue utilizado para la instalación del equipo soxhlet.

a) Adición de dos grifos, extensiones de cañería de la lavandería principal.



Fotografía 9.- Grifos
Fuente: San Martín 2010



Fotografía 10.- Equipo de destilación y rota-evaporador
Fuente: San Martín 2010

El primer grifo adicionado, el que se muestra al lado de la ventana fue utilizado para dos equipos, el destilador y el rota evaporador.

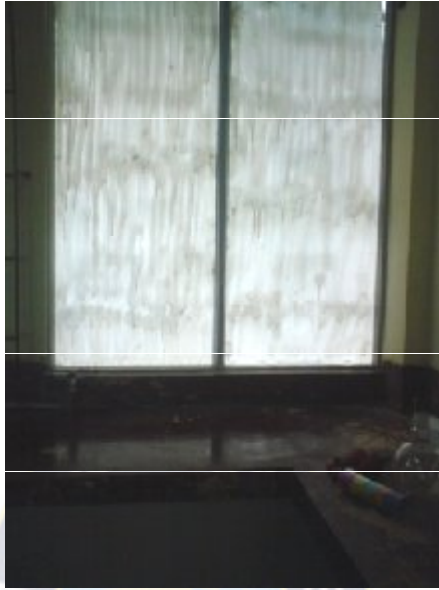


Fotografía 11.- Equipo soxhlet y de destilación por arrastre de vapor

Fuente: San Martín 2010

El otro grifo que se muestra al lado del segundo soporte metálico, fue utilizado para dos equipos, el soxhlet y el de destilación por arrastre de vapor.

- b) Pintado de los vidrios de la ventana color crema pálido, para evitar la exposición directa del sol ya que algunos solventes, reactivos y extractos podrían tener compuestos fotosensibles.



Fotografía 12.- Pintado de los vidrios de la ventana
Fuente: San Martín 2010

La instalación de materiales y equipos total es la que se muestra a continuación:



Fotografía 13.- Implementación completa del Laboratorio de
Obtención de Extractos Vegetales Crudos
Fuente: San Martín 2010



Fotografía 13.- Implementación completa del Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales Crudos

Fuente: San Martín 2010

Para la implementación total del laboratorio se tomó en cuenta la disposición de las instalaciones eléctricas y de agua, asegurándose que estas estén debidamente protegidas, basándose en normas de seguridad básicas que debe seguir para un laboratorio de química.

Como los mesones disponían de gavetas, dos fueron habilitadas, las más alejadas de las fuentes de calor, una para el almacenamiento de reactivos y solventes a utilizar y la otra para guardar los materiales de laboratorio.

4.2. RECOLECCION DE INFORMACION

4.2.1. REVISIÓN DE TRABAJOS REALIZADOS, EN LA BIBLIOTECA DE LA UAC-CP

Se confirmó con el Lic. Rubén Darío Gómez, responsable del área de Investigación en la UAC-CP, la existencia de documentos con información de plantas medicinales, fotoprotectoras y bio-pesticidas.

Posteriormente se procedió a revisar de forma minuciosa trabajos realizados por docentes y estudiantes de la institución UAC de Carmen Pampa, ilustrados en tesis o perfiles de tesis y libros.

Encontrándose así los siguientes datos:

LIBROS

TITULO	AUTOR
Manual de plantas económicas de Bolivia	Cardenas Martin
Journal of Tropical Medicinal Plants	
Las plantas medicinales de los Kallawayas	Bastien Joseph
Contribuciones a la flora boliviana	Cardenas Martin
Contribuciones al diccionario etnobotánico andino	Duke James A.
Enciclopedia Ilustrada-Flora Medicinal, Toxica, aromática condimenticia	Juscáfresa Baudilio
Plantas Medicinales de Bolivia	Oblitas Poblete Enrique

Tabla 3.- Libros con información de plantas medicinales y bio-pesticidas de la UAC-CP

TESIS

CARRERA	TITULO	AUTOR	AÑO
Agronomía	"Evaluación de la eficacia insecticida de extractos vegetales en condiciones de laboratorio"	Tito Calle Bautista	2006
Agronomía	"Efecto insecticida del aceite esencial del Neem (Azadirachta indica) en la broca del café (Hypothenemus hampei) en condiciones de laboratorio"	Carlos Rene Gutierrez Coarite	2007
Agronomía	"Inventario de las especies forestales del bosque húmedo tropical premontano del cerro Uchumachi sector Carmen Pampa (Coroico-Nor Yungas-La Paz)"	Angel Rolando Endara Agramont	2001
Agronomía	"Identificación de especies forestales exóticas y nativas de uso múltiple en cuatro comunidades del Municipio de Coroico (Nor Yungas-La Paz)"	Felix Mendoza Tito	2001
Agronomía	"Eficacia de hongos entomopatogenos para el control de la larva del ulo de la coca (Eloriannoyesi) en condiciones de laboratorio"	Inocencio Ajarachi Mamani	2008

CARRERA	TITULO	AUTOR	AÑO
Enfermería	"Efectividad del extracto de la hoja de Baccharis trimera (charara) en relación al Hexacloruro de Gamabenceno shampoo lindano en tratamiento de pediculosis capitis en estudiantes del internado y atiqan uta San Juan Fe y Alegría del Municipio de Coripata 2006"	Lucia Quispe Cuno	2007
Enfermería	"Plantas Medicinales de mayor uso identificadas por familias y curanderos en el tratamiento de diez enfermedades más frecuentes en la Sub Central Villa Nilo, gestión 2004 Departamento de La Paz"	Claudia Jhovana Carrizalos	2007

Tabla 4.- Tesis con información de plantas medicinales, fotoprotectoras y bio-pesticidas

De las cuales nos llamaron mucha la atención cuatro de ellas; las dos primeras en la lista que mencionaban el uso de aceites esenciales como bio-pesticida y las dos últimas, en las cuales nos basamos para la identificación de algunas plantas medicinales.

4.2.2. ENTREVISTAS A LOS COMUNARIOS DEL LUGAR ACERCA DE LAS PLANTAS DE MAYOR USO TRADICIONAL

Para mayor información y reconocimiento de las plantas, requerimos de la ayuda del Ing. Desiderio Flores, docente de la UAC-CP, quien nos mostró las plantas de mayor uso tradicional por sus propiedades medicinales y bio-pesticidas, existente en los alrededores de la UAC-CP y con su colaboración se procedió a encuestar a algunos pobladores, enseñándoles las plantas colectadas, ellos corroboraron la información obtenida.

4.3 COLECTA Y ANALISIS DE ESPECIES VEGETALES DE LA REGIÓN

Para la selección de las plantas a estudiar nos basamos en la información obtenida de libros, tesis y encuestas.

Debido a que las entrevistas y tesis fueron realizadas en el lugar de estudio, nos sirvieron como base para la selección de las especies. Una de las tesis la de Claudia Jhovana Carrizalos se enfocaba estrictamente al tema de plantas medicinales, sus usos tradicionales y a las enfermedades más frecuentes que afectaban a la región; la otra tesis de Lucia Quispe Cuno trataba del estudio de una sola planta, la *Baccharis genistelloides subesp. Crispa* (charara)

4.3.1.RECOLECCION E IDENTIFICACION DE LAS ESPECIES VEGETALES

Con la información recolectada se determino estudiar cinco especies vegetales, las que tenían mayor uso y abundancia en la región: *Rubus boliviensis* (khari-khari), *Castilleja arvensis* (vira-vira), *Baccharis Genistelloides subesp. crispa* (charara), *Labum hastifolium* (toco-toco) y *Acmella ciliata* (laili-laili)

Las cinco especies vegetales ya mencionadas, fueron colectadas por alrededores de la UAC-CP y del camino Trinidad Pampa-Coroico, perteneciente al Municipio de Coroico, en diferentes fechas, ya que, para su secado se disponía de herborizadores que tenían una capacidad limitada.



Fotografía 14.- Colecta de las especies vegetales

Fuente: San Martín 2010

Se codifico las plantas de la siguiente manera para evitar confusiones del lugar y fecha de recolección:

NOMBRE CODIFICADO	FECHA	LUGAR	POSICION	PROPIEDADES
charara-1	25/05/2010	Camino Trinidad Pampa-Coroico	S 16°15'20,9" O 67°41'30,9" Altura 1918m	Dolor de estomago Cicatrizante Bio-pesticida (control de pulgas)
khari-khari-1	01/06/2010	Camino campus Leahy-Manning	S 16°15'38,7" O 67°41'33,9" Altura 1798m	Calmar la tos, el resfrió y afonías
laili-laili-1	01/06/2010	Camino campus Leahy-Manning	S 16°15'38,2" O 67°41'38,1" Altura 1783m	Anestésico (dolor de muelas)
vira-vira-1	01/06/2010	Camino campus Leahy-Manning	S 16°15'38,4" O 67°41'39,0" Altura 1782	Tratar afecciones renales
laili-laili-2	16/06/2010	Huerta orgánica Campus Leahy	S 16°15'30,8" O 67°41'33,0" Altura 1862m	Anestésico (dolor de muelas)
vira-vira-2	16/06/2010	Camino Trinidad Pampa-Coroico	S 16°15'24,0" O 67°41'12,8" Altura 1941m	Tratar afecciones renales
toco-toco-1	29/06/2010	Camino Campus Leahy-Manning	S 16°15'36,4" O 67°41'29,4" Altura 1839m	Antiinflamatorio
laili-laili-3 (flores)	01/07/2010	Alrededores Campus Leahy	S 16°15'30,8" O 67°41'33,0" Altura 1862m	Anestésico (dolor de muelas)
khari-khari-2G	21/07/2010	Camino Trinidad Pampa-Coroico	S 16°15'21,0" O 67°41'37,2" Altura 1906m	Calmar la tos, el resfrió y afonías

Tabla 5.- Codificado de las plantas colectadas

Se colectaron las partes aéreas de dichas plantas, solo en el caso de las especies vegetales *Acmella ciliata* (laili-laili) y *Castilleja arvensis* (vira-vira), se procedió a la colecta de la planta en su totalidad y por información de la planta *Acmella ciliata* (laili-laili) también se colecto solo sus flores.

Las plantas fueron secadas por medio de prensas, cartones y papel periódico en dos herborizadores, Se procedió a este tipo de secado, debido a que, las plantas podrían deteriorarse por el secado tradicional, debido al alto porcentaje de humedad existente en el lugar.

Se separaron tres ejemplares de cada especie, para su identificación botánica con ayuda de la Lic. Arely Palabral del Herbario Nacional de Bolivia.





NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO	POSICION	FOTO
khari-khari	(Rosaceae) <i>Rubus boliviensis</i>	S 16°15'21,0" O 67°41'41" Altura 1906m	
vira-vira	(Scrophulariaceae) <i>Castilleja arvensis</i> Schltl. & Cham	S 16°15'37" O 67°41'37" Altura 1782	
charara	(Asteraceae) <i>Baccharis genistelloides</i> (Lam) Pers. ssp. <i>crispa</i> (Spreng) Jochen Mull	S 16°15'21,5" O 67°41'39,0" Altura 1908m	
toco-toco	(Asteraceae) <i>Liabum hastifolium</i> Poepp & Endl.	S 16°15'36,4" O 67°41'29,4" Altura 1839m	
laili-laili	(Asteraceae) <i>Acmella ciliata</i>	S 16°15'27" O 67°41'29" Altura 1864m	

Tabla 5.- Identificación de las cinco especies colectadas

4.3.2. OBTENCION DE EXTRACTOS ETANOLICOS

En cada colecta se tomó la materia vegetal seca, se procedió a molerla lo más finamente posible con ayuda de una moledora, de este modo el solvente estará en mayor contacto con la planta y extraerá mayor cantidad de metabolitos secundarios. Posteriormente la materia vegetal fue macerada en alcohol etílico al 96%, por dos maceraciones sucesivas, la primera 1 día y la segunda 3 días, esto para observar si existe diferencia o selectividad de extracción de los compuestos a estos diferentes tiempos. Una vez macerada la muestra fue filtrada a vacío y concentrada en un rota-evaporador acoplado a una bomba de vacío, estos no pudieron ser totalmente secados, debido a la humedad existente en el lugar.



Fotografía 15.- Obtención de extractos etanólicos

Fuente: San Martín 2010

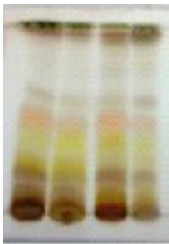

4.3.3 DETERMINACION DE RENDIMIENTOS Y ANALISIS POR TLC

Con los extractos etanólicos finales de las cinco especies *Rubus boliviensis* (khari-khari), *Castilleja arvensis* (vira-vira), *Baccharis genistelloides subesp. crista* (charara), *Liabum hastifolium* (toco-toco) y *Acmella ciliata* (laili-laili) se determino los siguientes rendimientos:

NOMBRE CODIFICADO	TIEMPO DE MACERACION (hrs)	MASA PLANTA SECA (g)	MASA EXTRACTO (g)	RENDIMIENTO (%)
Charara-1	24	318,15	23,7	7,45
Charara-1	72	318,15	9,3	2,92
Kari-kari-1	24	238,45	22,1	9,27
Kari-kari-1	72	238,45	12,15	5,24
Laili-laili-1	24	154,25	3,85	2,50
Laili-laili-1	72	154,25	4,8	3,11
Vira-vira-1	24	32,0	1,7	5,31
Vira-vira-1	72	32,0	0,9	2,81
Laili-laili-2	24	328,5	8,6	2,62
Laili-laili-2	72	328,5	11,3	3,44
Vira-vira-2	24	32,1	1,4	4,36
Vira-vira-2	72	32,1	1,5	4,67
Toco-toco-1	24	159,7	8,5	5,32
Toco-toco-1	72	159,7	7,9	4,95
Laili-laili-3 (flores)	24	60,8	3,8	6,25
Laili-laili-3 (flores)	72	60,8	2,7	4,44
Kari-kari-2 G	24	167,0	10	5,99
Kari-kari-2 G	72	167,0	10,9	6,53

Tabla 6.- Determinación de rendimientos de los extractos etanólicos obtenidos

Para el análisis de los extractos etanólicos se usaron placas cromatográficas de 20 x 20 cm de Silicagel F₂₅₄ de ½ mm de espesor, con soporte de aluminio. Para la visualización y seguimiento de las diferentes cromatografías se uso como reveladores soluciones de H₂SO₄ al 5% v/v y FeCl₃ al 1% v/v, para observar a grandes rasgos los posibles grupos de metabolitos secundarios que poseían las plantas, placas que se muestran a continuación:

NOMBRE COMUN	REVELADOR	
	H ₂ SO ₄ AL 5 %	H ₂ SO ₄ AL 5 % y FeCl ₃ al 1 %
khari-khari	10 % MeOH-CH ₂ Cl ₂	10 % MeOH-CH ₂ Cl ₂
	khari-1 khari-2G  24 72 24 72	khari-khari-2G  24 72 24 72



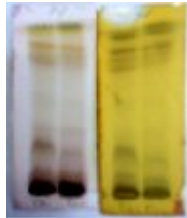
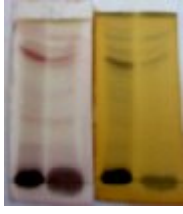
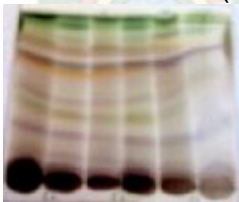
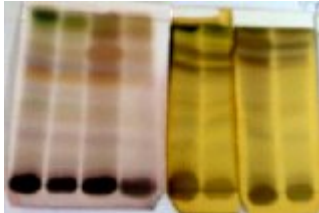
	REVELADOR	
NOMBRE COMUN	H ₂ SO ₄ AL 5 %	NOMBRE COMUN
	2 % MeOH-CH ₂ Cl ₂	2 % MeOH-CH ₂ Cl ₂
vira-vira	vira-vira-1 vira-vira-2  24 72 24 72	vira-vira-2  24 72 24 72
charara		5 % MeOH-CH ₂ Cl ₂ charara-1  24 72 24 72
toco-toco		2 % MeOH-CH ₂ Cl ₂ toco-toco-1  24 72 24 72
laili-laili	100 % CH ₂ Cl ₂ laili-1 laili-2 laili-3 (f)  24 72 24 72 24 72	100 % CH ₂ Cl ₂ laili-laili-1 laili-laili-3 (f)  24 72 24 72 24 72 24 72

Tabla 7.- Placas cromatografías (TLC)

Como se observa en las placas, las plantas en general tienen varios compuestos, algunos que gracias a la gran diferencia entre sus R_f s, posteriormente podrían ser aislados fácilmente mediante técnicas cromatográficas.






También se pudo constatar que los extractos de las plantas de la misma especie, pero de colectas diferentes, tenían los mismos compuestos, de este modo se simplificó el trabajo realizando placas de la especie de una sola colecta. En el caso de la especie *Acmella ciliata* (laili-laili) se realizó placas para los extractos de toda la planta y de sus flores, ya que existían diferencias en las placas.

Los extractos fueron llevados al Laboratorio de Bioorgánica para secarlos en una estufa de flujo continuo a no más de 45°C evitando así el deterioro de estos, ya que la UAC-CP disponía de una estufa en mal estado.

4.3.4. PRUEBAS FITOQUÍMICAS PRELIMINARES

Después de los datos obtenidos del análisis de placas cromatográficas (TLC) se realizó pruebas fitoquímicas preliminares a los extractos de cada especie con el fin de identificar algunos grupos de metabolitos secundarios presentes en las plantas, solo en el caso de la especie *Acmella ciliata* (laili-laili) se hizo las pruebas para los extractos de toda la planta y de sus flores, ya que existían diferencias al revelar las placas cromatográficas.

Las técnicas utilizadas fueron estandarizadas en el Laboratorio de Bioorganica del Instituto de Investigaciones Químicas y están descritas en el apartado **3.3.2**.

PRUEBAS FITOQUIMICAS PRELIMINARES															
		PATRON	PRUEBA POSITIVA	NOMBRE COMUN											
				khari-khari		vira-vira		charara		toco-toco		laili-laili		laili-laili (flores)	
				24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	24 hrs.	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.
FENOLES	TEST DEL FeCl ₃	EFPM de Baccharis papillosa subesp. papillosa		+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++
FLAVONOIDES	TEST DE SHINODA	Flavonoide		-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-
	TEST DE ACIDO SULFURICO			-	+	-	-	+++	++	-	-	-	-	-	-
ANTOCIANINAS	TEST DEL pH	Extracto de maiz morado		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TANINOS	TEST DE LA GELATINA			+++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++






PRUEBAS FITOQUIMICAS PRELIMINARES															
		PATRON	PRUEBA POSITIVA	NOMBRE COMUN											
				khari-khari		vira-vira		charara		toco-toco		laili-laili		laili-laili (flores)	
				24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	24 hrs.	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.	24 hrs.	72 hrs.
CUMARINAS	TEST DE FLUORESCENCIA			-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+++	+++
ALCALOIDES	TEST DEL MAYER	Extracto de coca		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
SAPONINAS	TEST DE ESPUMA			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ESTEROIDES Y/O TRITERPENOS	TEST DE LIEBERMAN-BURCHARD	Acido oleanolico		+++	+++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++
SESQUITERPEN LACTONAS	TEST DE KEDDE	Damsin		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 8.- Pruebas preliminares

(+++) Prueba positiva; (++) Prueba intermedia; (+) Prueba no concluyente; (-) Prueba negativa

Los resultados de las pruebas fitoquímicas preliminares (Tabla 8), nos muestra que todos los extractos etanólicos obtenidos contienen compuestos fenólicos, taninos, esteroides y/o triterpenos en diferentes concentraciones; flavonoides en el caso del *Rubus boliviensis* (khari-khari) y la *Baccharis genistelloides subesp. crispera* (charara); y por ultimo cumarinas y alcaloides en la *Acmella ciliata* (laili-laili).

4.4. DETERMINACION DEL GRADO DE ABSORBANCIA UV DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS

4.4.1. SECADO DE EXTRACTOS

Para analizar el grado de absorbancia de los extractos etanólicos, se procedió a secarlos en su totalidad. En el caso de la especie *Acmella ciliata* (laili-laili) se hizo el barrido para los extractos de toda la planta y de sus flores, al existir diferencias importantes en los anteriores análisis.

4.4.2. PREPARADO DE SOLUCIONES

Se preparó soluciones de los extractos a 200 ppm, 100 ppm y 50 ppm.

De las cuales se determinó que la concentración optima para realizar los barridos era de 100 ppm.

4.4.3. BARRIDOS DE ABSORBANCIA UV DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS

Con los espectros UV obtenidos, se analizó la región correspondiente a las radiaciones UVA y UVB (290-400nm) de interés, por el posible potencial efecto fotoprotector.

***Rubus boliviensis* (khari-khari)**

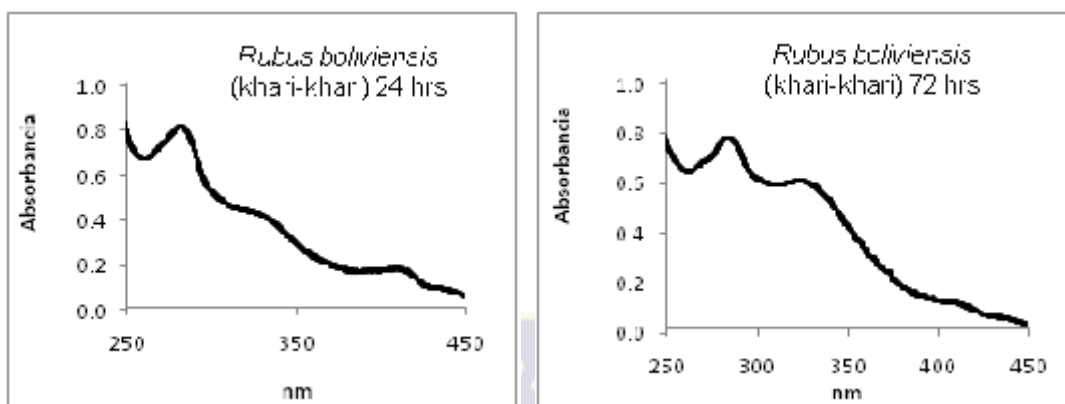


Fig.14. Espectros de absorbancia de la especie vegetal *Rubus boliviensis* (khari-khari)

Los espectros nos muestran que el Ex. EtOH de 24 hrs. posee bandas de baja absorbancia. El Ex. EtOH de 72 hrs presenta dos bandas seguidas la de mayor importancia por su posible potencial fotoprotector, es la que tiene una longitud de onda máxima de 324,9 correspondiente a una absorbancia de 0,59.

***Castilleja arvensis* (vira-vira)**

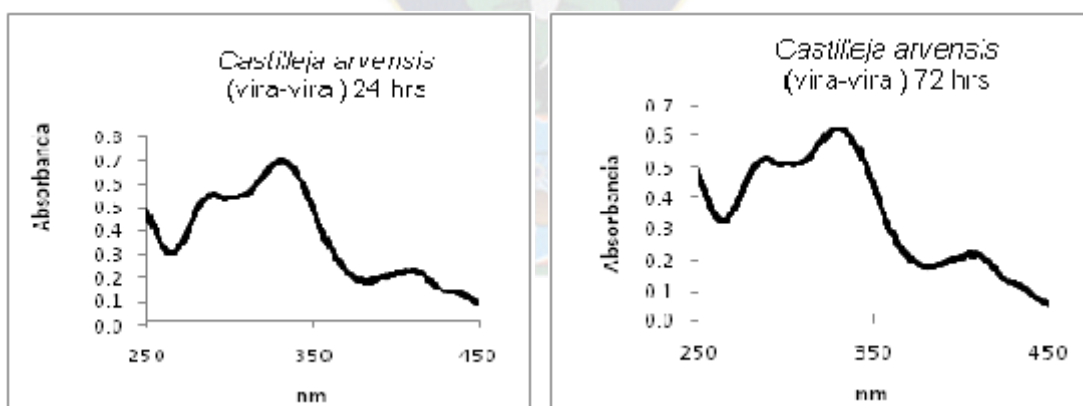


Fig.15. Espectros de absorbancia de la especie vegetal *Castilleja arvensis* (vira-vira)

Los espectros nos muestran que el Ex. EtOH de 24 hrs. posee dos bandas seguidas pronunciadas, la primera a 291nm con una absorbancia de 0,53 y la segunda a 332nm con una absorbancia de 0,67. El Ex. EtOH de 72 hrs presenta

de igual modo dos bandas seguidas, la primera a 290,7nm con una absorbancia de 0,50 y la segunda a 332,1nm con una absorbancia de 0,60.

Ambos extractos poseen bandas en la región de interés y podrían tener propiedades fotoprotectoras.

Baccharis genistelloides subesp. crispa (charara)

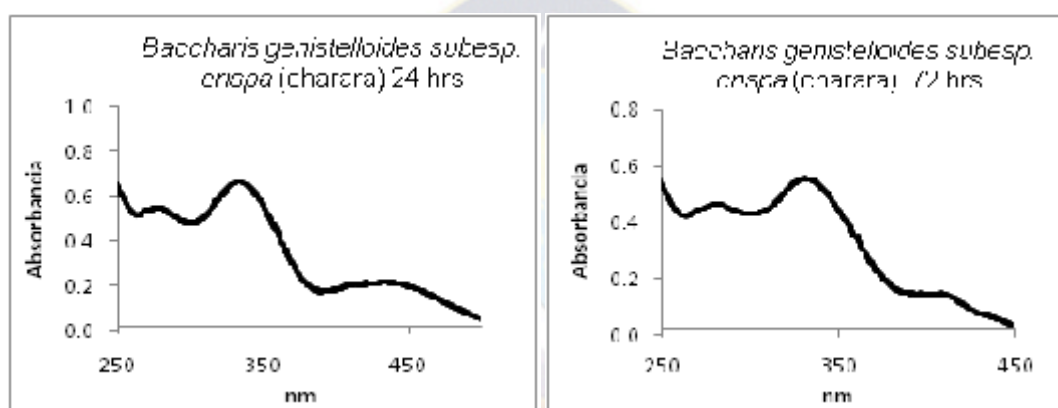


Fig.16. Espectros de absorbancia de la especie vegetal *Baccharis genistelloides subesp. crispa (charara)*

Los espectros nos muestran que el Ex. EtOH de 24 hrs. posee una banda pronunciada a 335,7nm con una absorbancia de 0,64. El Ex. EtOH de 72 hrs presenta también una banda a 332,7nm con una absorbancia de 0,54.

Ambos extractos presentan absorbancia en la región UV de interés y podrían tener propiedades fotoprotectoras.

***Liabum hastifolium* (toco-toco)**

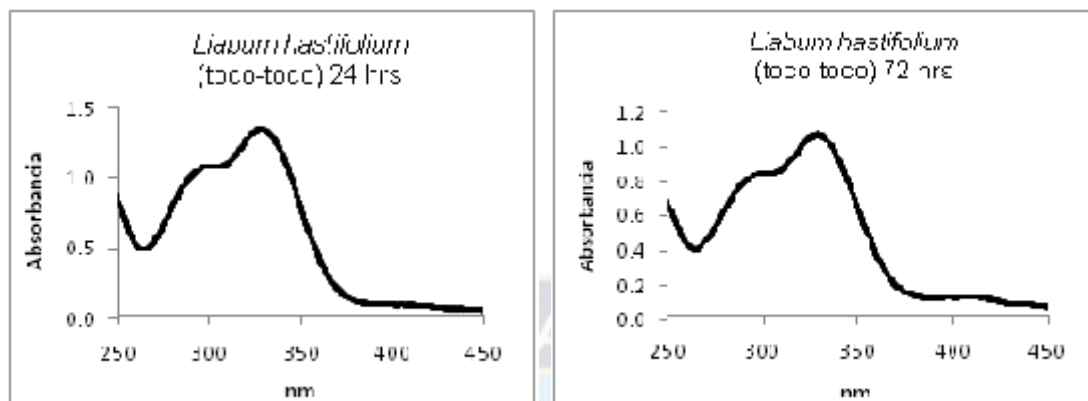
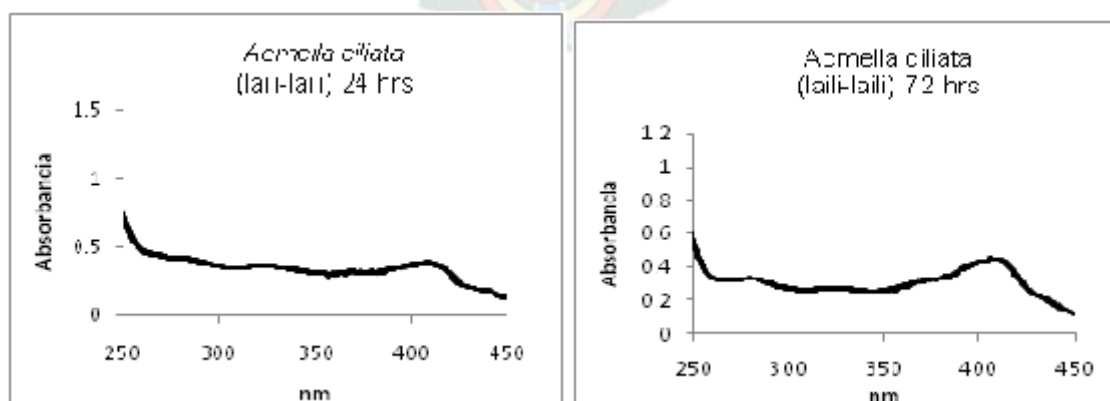


Fig.17. Espectros de absorbancia de la especie vegetal *Liabum hastifolium* (toco-toco)

Los espectros nos muestran que el Ex. EtOH de 24 hrs. posee dos bandas seguidas pronunciadas, la primera a 301,2nm con una absorbancia de 1,06 y la segunda a 320nm con una absorbancia de 1,32. El Ex. EtOH de 72 hrs presenta de igual modo dos bandas seguidas, la primera a 302,7nm con una absorbancia de 0,83 y la segunda a 330,3nm con una absorbancia de 1,05.

Ambos extractos poseen bandas en la región de interés y podrían tener propiedades fotoprotectoras.

***Acmella ciliata* (laili-laili)**



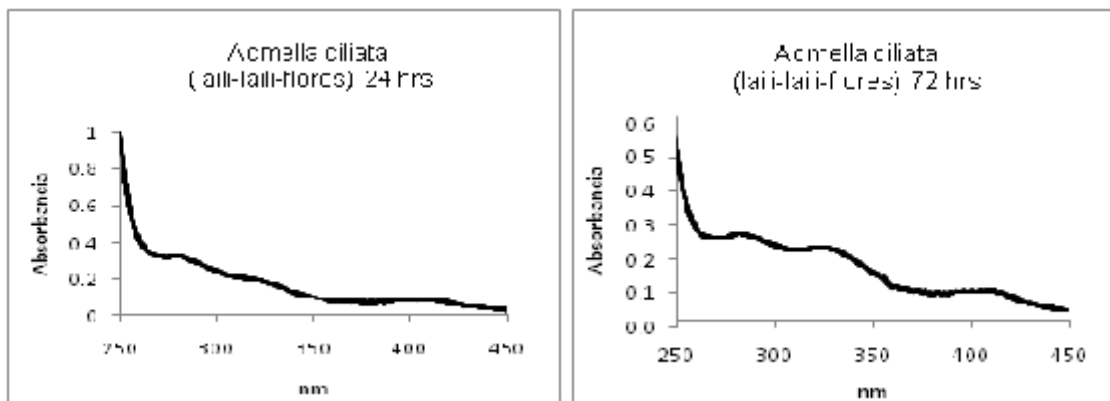


Fig.18. Espectros de absorbancia de la especie vegetal *Acnella ciliata* (laili-laili)

Para el caso de la especie vegetal *Acnella ciliata* (laili-laili), los espectros obtenidos de toda la planta y de las flores no presentan bandas importantes de absorbancia en la región de interés.

4.5. CAPACITACIÓN DE LOS ESTUDIANTES DE LA UAC-CP

4.5.1. DETERMINACIÓN DE CARACTERÍSTICAS DE LAS PERSONAS QUE RECIBIRAN LA CAPACITACIÓN.

Con ayuda del Lic. Rubén Darío Gómez, se procedió a determinar a las posibles personas interesadas en el nuevo Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales Crudos. Seleccionando para su capacitación, a estudiantes de las carreras de Agronomía y Enfermería. Ya que en la recolección de información se constató que estas carreras eran las más interesadas en el tema.

4.5.2. IDENTIFICACIÓN DE TEMÁTICAS IMPORTANTES A EXPONER

Debido a que el Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales Crudos era nuevo, se propuso al Lic. Darío Rubén Gómez exponer los siguientes temas:

TEORICOS

TEMA 1.- NORMAS DE SEGURIDAD DEL LABORATORIO DE QUÍMICA

- 1.1 Instalaciones.
- 1.2 Personal y Zona de Emergencia
- 1.3 Productos y Procesos
- 1.4 Protección Individual
- 1.5 Trabajar con Seguridad en el Laboratorio
- 1.6 Eliminación de Residuos
- 1.7 Desactivación de Reactivos
- 1.8 Procedimiento de Desactivación
- 1.9 Actuación en caso de Accidente: Primeros Auxilios
- 1.10 Botiquín
- 1.11 Sustancias Químicas Peligrosas (Fichas de Seguridad)

TEMA 2.- BIODIVERSIDAD Y PRODUCTOS NATURALES

- 2.1 Definición
- 2.2 Importancia de la Biodiversidad
- 2.3 La evaluación de la Biodiversidad
- 2.4 Oportunidades
- 2.5 Productos Naturales
- 2.6 Aplicación de los Productos Naturales
- 2.7 Agricultura Orgánica
- 2.8 Extractos y preparados Vegetales

TEORICO-PRACTICOS

TEMA 1.- FITOQUIMICA

1.1 Importancia del estudio químico de las plantas

1.2 ¿Qué es fitoquímica?

1.3 Etapas del análisis fitoquímico

- Recolección e identificación de la especie vegetal

- Secado y molienda

- Extracción

- Métodos de separación y purificación

TEMA 2.- DESTILACION

2.1 Destilación Simple

2.2 Destilación fraccionada

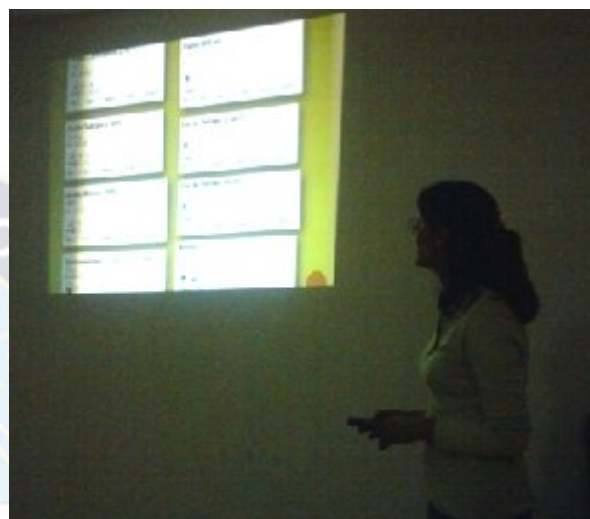
Se escogieron estos temas para familiarizar a los estudiantes con los equipos, materiales, reactivos y solventes, utilizados en el Laboratorio para la obtención de extractos vegetales crudos.

4.5.3. PREPARACIÓN DE LOS CURSOS

Una vez aprobado el programa para los cursos de capacitación, se procedió a preparar las exposiciones en base a trabajos del Laboratorio de Bioorganica del IIQ y a otros antecedentes en el área de estudio, se fijó fechas para las presentaciones y prácticas de laboratorio.

4.5.4. DICTADO DE CURSOS

Se dictaron clases de capacitación a los estudiantes de agronomía, específicamente al módulo de EXTRACTOS VEGETALES.



Fotografía 16.- Exposiciones, clases de capacitación a los estudiantes de Agronomía

Fuente: San Martín 2010



Fotografía 17.- Prácticas en el Laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales
Fuente: San Martín 2010

También se dictaron clases de capacitación a los estudiantes de enfermería.



Fotografía 18.- Exposiciones, clases de capacitación a los estudiantes de Enfermería.

Fuente: San Martín 2010

Los temas expuestos fueron distribuidos de la siguiente forma:

- Normas de Seguridad del Laboratorio de Química expuesto por la Univ. Ángela San Martín (Anexo I)
- Biodiversidad y Productos Naturales expuesto por la Univ. Esther Villanueva
- Fitoquímica expuesto por la Univ. Ángela San Martín (Anexo II)

CAPITULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Se instaló el laboratorio de Obtención de Extractos Vegetales, bajo la supervisión del Lic. Rubén Darío Gómez y del coordinador del proyecto de Transferencia Tecnológica al Municipio de Coroico Dr. Yonny Flores.

En base a revisiones bibliográficas y entrevistas en el lugar, se colectaron cinco especies vegetales de uso medicinal en la región, el *Rubus boliviensis* (khari-khari), *Castilleja arvensis* (vira-vira), *Baccharis genistelloides subesp. crispa* (charara), *Liabum hastifolium* (toco-toco) y *Acmella ciliata* (laili-laili).

Las cinco especies fueron identificadas en el Herbario Nacional de Bolivia (LPB) como: *Rubusurticifolius* de nombre común khari-khari, *Castilleja arvensis* de nombre común vira-vira, *Baccharis genistelloides subesp. crispa* de nombre común charara, *Liabum hastifolium* de nombre común toco-toco y *Acmell aciliata* de nombre común laili-laili. Una muestra de herbario fue dejada en el HNB.

Las cinco especies fueron sometidas a extracción con etanol a 24 hrs y 72 hrs, obteniéndose extractos etnólicos que fueron analizados por cromatografía (TLC), pruebas fitoquímicas preliminares y espectroscopía de absorción UV con los siguientes resultados:

- Para la especie vegetal *Rubus boliviensis* (khari-khari), utilizada para calmar la tos, el resfrió y afonías, se encontró un rendimiento promedio del 7.63 % para los extractos de 24 hrs y del 5.9 % para los extractos de 72 hrs; se determinó la presencia de compuestos fenólicos, taninos, esteroides y/o triterpenos y flavonoides, estos últimos en baja concentración; los espectros de absorción nos revelan una banda de absorción en la región UVA. Esta especie se encuentra ampliamente distribuida, por toda la región de Carmen Pampa, esto quiere decir, que tiene una disponibilidad física amplia. Por su uso tradicional, composición y absorbancia en UV muestra

interés para posteriores estudios como potencial producto fitoterapéutico o fotoprotector.

- Para la especie vegetal *Castilleja arvensis* (vira-vira), utilizada para el tratamiento de afecciones renales, tuvo un rendimiento promedio del 4.84 % para los extractos de 24 hrs y del 3.74 % para los extractos de 72 hrs, se determinó una concentración no muy alta de compuestos fenólicos y una baja concentración de taninos y esteroides y/o triterpenos; los espectros de absorción nos revelan dos bandas de absorción, una en la región UVB y la otra en la región UVA. Esta planta se encuentra escasamente distribuida, por toda la región de Carmen Pampa, esto quiere decir, que tiene una disponibilidad física muy baja, pero por su uso tradicional, composición y absorbancia en UV la especie tiene principalmente interés como fotoprotector.
- Para la especie vegetal *Baccharis genistelloides subesp. crispa* (charara), utilizada para dolores de estomago, cicatrizante y bio-pesticida, tuvo un rendimiento promedio del 7.45 % para el extracto de 24 hrs y del 2.92 % para el extracto de 72 hrs; se determinó la presencia de compuestos fenólicos y taninos en altas concentraciones; en concentraciones no tan altas flavonoides y esteroides y/o triterpenos; los espectros de absorción de los extractos nos revelan una banda de absorción en la región UVA. Esta planta se encuentra ampliamente distribuida, por toda la región de Carmen Pampa, esto quiere decir, que tiene una disponibilidad física factible. Por su uso tradicional, composición y absorbancia en UV muestra interés para posteriores estudios como potencial producto fitoterapéutico o fotoprotector.
- Para la especie vegetal *Liabum hastifolium* (toco-toco), utilizada como antiinflamatorio, tuvo un rendimiento promedio del 5.32 % para el extracto de 24 hrs y del 4.95 % para el extracto de 72 hrs; se determinó la presencia de compuestos fenólicos y taninos en alta concentración; en concentración no tan alta esteroides y/o triterpenos; los espectros de absorción nos revelan dos bandas de absorción, una en la región UVB y la otra en la región UVA. Esta planta se encuentra ampliamente distribuida, por toda la región de Carmen Pampa, esto quiere decir, que tiene una disponibilidad física amplia. Por su uso tradicional, composición y absorbancia en UV muestra interés para posteriores estudios como potencial producto fitoterapéutico o fotoprotector
- Para la especie vegetal *Acmella ciliata* (laili-laili), utilizada como anestésico en caso de dolor de muelas, tuvo un rendimiento promedio del 2.56 % para los extractos de 24 hrs y del 3.28 % para los extractos de 72 hrs; se determinó una concentración no tan alta de taninos, cumarinas y esteroides y/o triterpenos; en poca concentración la presencia de compuestos fenólicos; los espectros de absorción de los extractos nos revelan que no

existen banda importantes de absorción en la región UVA y UVB. Esta planta se encuentra ampliamente distribuida, por toda la región de Carmen Pampa, esto quiere decir, que tiene una disponibilidad física factible. Por su uso tradicional y composición muestra interés para posteriores estudios como potencial producto fitoterapéutico.

- Por último para la especie vegetal *Acmella ciliata* (laili-laili), de la que se estudió las flores se determinó una concentración alta de compuestos fenólicos, taninos y cumarinas; una concentración media de esteroides y/o triterpenos y una concentración baja de alcaloides; los espectros de absorción de los extractos nos revelan que no existen banda importantes de absorción en la región UVA y UVB. En base a estos resultados la planta presenta interés para estudios posteriores como potencial producto fitoterapéutico.

Finalmente, gracias a las exposiciones y prácticas de laboratorio algunos estudiantes demostraron tener conocimientos e interés respecto al tema, de este modo se seleccionó a un estudiante el Univ. Guido Huchani para continuar el trabajo del proyecto.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con este trabajo de investigación, de colaboración conjunta entre los Institutos de Investigación de la UMSA (IIQ, IE, Medicina), el Instituto de Investigaciones de la Unidad Académica Campesina-Carmen Pampa (UAC-CP) y el Gobierno Municipal de Coroico, para la identificación de mayor cantidad de especies vegetales con potencial valor económico, utilizadas tradicionalmente por sus propiedades medicinales, fotoprotectoras o bio-pesticidas en la región.
- Proseguir con el estudio de los metabolitos secundarios de las especies vegetales seleccionadas, en base a los resultados de las pruebas fitoquímicas preliminares y de absorbancia obtenidos, para hallar los compuestos activos, que contribuyen a su potencial medicinal, fotoprotector o bio-pesticida.
- La universidad Campesina de Carmen Pampa cuenta con la Carrera de Agronomía y cuenta con cultivos experimentales donde los extractos que se obtienen pueden ser sometidos a prueba como Bio-pesticidas, con esto se puede fortalecer la línea en búsqueda de Pesticidas Orgánicos que puedan ser utilizados por los pobladores de los Yungas de La Paz.

CAPITULO 6

6. BIBLIOGRAFIA

- Bastien J. W., *Drum and Stethoscope: Integrating, Ethnomedicine and Biomedicine in Bolivia*, University of Utha Presss Editorial, Salt Lake City **1992**
- *Biodiversity, National Academy of Sciences/Smithsonian Institution*, Washigton, **1988**
- Blowin J., Gumberteau G., *Maduración y Madurez de la Uva*, Mundi Prensa Editorial, **2003**, Pág. 73
- Carrilazos C. J., *Plantas Medicinales de Mayor uso identificadas por familias y curanderos en el tratamiento de diez enfermedades más frecuentes en la Sub Central Villa Nilo, gestión 2004 Departamento de La Paz*, Tesis de Grado Carrera de Enfermería, **2007**, Pág. 9
- Castillo García E., Martínez Solis I., *Manual de Fitoterapia*, Elsevier España Editorial, **2007**, Pág. 35, 39
- Climent Olmedo M. J., Iborra Chornel S., García Gómez H., Morera Bertomeu I., *Experimentación en Química: Química Orgánica, Ingeniería Química*, Universidad Politécnica de Valencia Editorial, **2005**, Pág. 153
- Costa R., Estrella E. y Cabieses F. *Bibliografía Andina de Medicina Tradicional (Bolivia, Ecuador, Perú)*, Universidad Andina Simón Bolívar sede Ecuador, **1998**
- Costa R., Estrella E. y Cabieses F., *Bibliografía Andina de Medicina Tradicional: Bolivia, Ecuador, Perú*; Publicaciones de la Sede de Ecuador Editorial, **2008**, Pág. 25
- Diez Astete A., Riestter J., *Etnias y Territorios Indígenas*, Mihotek K. Editor, Comunidades, Territorios Indígenas y Biodiversidad en Bolivia, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Centro de Investigación y Manejo de Recursos Naturales Renovable Editor, Santa Cruz **1996**, Pág. 19 -150
- Elisabetsky E., "Sociopolitical, economical and ethical Issues in medicinal plant research", *Journal of Ethnopharmacology*, **1991**, Pág. 32 (235 – 239)

- Endara Agramont A. R., *Inventario de especies forestales del bosque húmedo tropical premontano del cerro Uchumachi sector Carmen Pampa, (Coroico - Nor Yungas - La Paz)*, Tesis de Grado Carrera de Agronomía, **2001**
Introducción
- Escobar Z., *Aislamiento de Compuestos Fenólicos de Polaridad Media de Baccharis Papillosa sub especie Papillosa (Baccharis obtusifolia)*, Tesis de Grado, **2008**, Pág. 28 – 29
- Estación Metereológica de Carmen Pampa, **1996 al 2005**
- Fernández C. y Juncosa R., *Biopesticidas: La agricultura del futuro?*, Futureco SL Rossello 224 Zon. C. 08008 Barcelona Editorial, **2007**, Pág. 1 – 8
- Fernández Juárez Gerardo, *Testimonio Kallawayá: Medicina y Ritual en Los Andes de Bolivia*, Abya Yala Editorial, **1997**, Pág. 25
- Galbis Pérez J. A., *Panorama Actual de la Química Farmacéutica*, Universidad de Sevilla Editorial, **2004**, Pág. 206
- Garbarino B. J. A. Presidente Comisión Organizadora, *Discurso inaugural, Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones* Garbarino J. A. y Fiedler P. Editores, Impreso Talleres Gráficos U.T.F.S.M. Valparaiso Chile **1992**, 1er. Simposio Internacional, Pág. VI
- Garcia J., *Especies: Delicias Exóticas*, Intermon Oxfam Editorial, **2007**, Pág. 22
- Genaro A. R., *Remington Farmacia*, Médica Panamericana Buenos Aires Editorial, 20 ava. Edición, **2003**, Tomo I, Pág. 479
- Gil A. I., *Tratado de Nutrición, Tomo II: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*, Médica Panamericana Editorial, 2da. Edición, Pág. 339, 409
- Girault L., Kallawayá, *Curanderos Itinerantes de Los Andes*, UNICEF – OPS – OMS – PL – 480 Editores, ORSTOM Paris Editorial, Girault A. Edición, **1987**, Pág. 29
- Gisbert Calabuig J. A., Villanueva Cañadas E., *Medicina Legal y Toxicología*, Elsevier España Editorial, **2007**, Pág. 39
- Glowka L. F. Burhenne – Guilmin, J. A. McNeely y L. Gunding, *A guide to the Convention on Biological Diversity. Enviromental Policy and Law. Paper No.*

- 30 *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*, Publication Services Unit. Editor, Reino Unido **1994**
- Glowka L., Burhenne – Guilmin and Synge H., *A. Guide to the Convention on Biological diversity*, Gland Editorial, **1994**
 - Gonzales Alcaraz F., *Nomenclatura de Química Orgánica*, Editum Editorial, **1991**, Pág. 141, 590
 - Gonzáles A. G., Galindo A. y Luis J. G, *Síntesis y Transformaciones Biogénicos de Diterpenos de Salvias y Lactonas Sesquiterpénicas Compuestas, Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones*, Garbarino J. A. y Fiedler P. Editores, Impreso Talleres Gráficos U.T.F.S.M. Valparaíso Chile, **1992**, 1er. Simposio Internacional, Pág. 7
 - Graham L. P. *Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press, 2da. Edición, **2001**, Pág. 153
 - Guarnizo Franco A., Martínez Yepes P. N., *Experimentos de Química Orgánica*, Elizcom Armenio, Quindío Colombia Editorial, Pág. 69
 - Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Metailler R., *Nutrición y Alimentación de Peces y Crustáceos*, Mundi Prensa Libros España Editorial, **2004**, Pág. 358
 - Halbrock K., Scheel D., *Physiology and Molecular Biology of Phenylpropanoid Metabolism*, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **1989**, Pág. 347 – 369
 - Hiroshi O., Nobuko O. Y Kunio Y., *Analytical Biochemistry*, **1979**, Pág. 95, 351
 - Holdrige L. R. *Ecología basada en zonas de vida tradicional*, Jiménez Saa H. Editor, Ilca Editorial, Costa Rica **1987**
 - <http://www.orldingo.com/ma/enwiki/es/biodiversity>
 - <http://www.biotech.bioetica.org/clase3-1.htm>
 - <http://www.pieb.org/proyectospando/etnobotanico/referencia/>
 - <http://www.univalle.edu/publicaciones/brujula/brujula17/pagina08.htm>
 - Ibish P. L. Beck S. G., *Biodiversidad: La Riqueza de Bolivia*, Ibish P. L. Mérida G. Editor, Fundación Amigos de la Naturaleza Santa Cruz Editorial, **2003**, Pág. 103 – 112

- Iglesias Neira J., *Diseño de Ingredientes Antioxidantes de Origen Natural y su Aplicación en su Estabilización en Productos Derivados de la Pesca*, Universidad Santiago de Compostela Editorial, Pág. 64
- *IV Seminario Nacional, Frutales de Clima Frio Moderado, 2002*, Pág. 184
- Lamprecht H. *Sivicultura en los trópicos*, Instituto de Sivicultura de la Universidad de Gottingen, Alemania **1990**
- Lastra J. J., *Bosques Naturales de Asturias*, Universidad de Oviedo Editorial, **2001**, Pág. 104
- Lock de Vega O., *Manual de Fitoquímica, Análisis Fitoquímico y Metabolitos Secundarios*, Pág. 41
- Macia M. J., Garcia E., Vidaurre P. J. , “An ethnobotanical survey of medical plants commercialized in the markets of La Paz and El Alto, Bolivia”, *Journal of the ethnopharmacology*, **2005**
- Malek S. A., Bostien J. W., Mholer Qijia W. F., Reinecke M. G., Robinson Jr. W. E., Shu Yong-Hua Jr., Zalles Asin J., “Drug leads from kallawaya herbalists of Bolivia. I. Background, rationale, protocol and anti-HIV activity”, *Journal of ethnopharmacology*, **1996**, Pág. 50(157 – 166)
- Malleux J. *Inventarios Forestales en Bosques Tropicales*, U. N. A. Editorial, Lima **1982**
- Marcano D. y Hasegawa M., *Fitoquímica Orgánica - Cumarinas*, Torino Venezuela Editorial, 1ra. Edición, **1991**, Pág. 217, 218, 368
- Martínez A., *Sesquiterpenlactonas*, **2001**, Pág. 1 – 19
- Martínez de Toda F., *Claves de la Viticultura de Calidad*, Mundi - Prensa Libros Editorial, **2008**, Pág. 24
- Ocampo R. A. Editor, *Domesticación de Plantas Medicinales en Centroamérica*, Ocampo R. A. Editor, Tomo I Especies Nativas, Pág. 112
- Ocampo R., Ríos L. A., Betancur L. A., Ocampo D. M., *Curso Práctico de Química Orgánica Enfocado a la Biología y Alimentos*, Escobar Velazques L. F. Editor, Universidad de Caldas Editorial, 1ra. Edición, **2008**, Pág. 54
- OPS/OMS, *Plantas de Uso Medicinal en Centro América*, OPS/OMS Guatemala Editorial, Lic. Eva Saso de Méndez Edición, **1993**

- Palenque E., *Los efectos de la RUV solar sobre plantas y materiales de uso tecnológico. La radiación ultravioleta en Bolivia*, **2003**, Capítulo 8, Pág. 99 – 104
- Piérola Gil G., *Medicina Preventiva y Salud Pública*, MASSON S.A. España Editorial, 10ma. Edición, **2002**, Pág. 347
- Presentación Bionativa, *Asociación Andino Amazónico*, Justificación, 3 diapositiva.
- Robberecht R., Caldwell M. M., *Leaf Epidermal Fransmittance of Ultraviolet Radiation and its Implication For plant Sensitivity to Ultraviolet – Radiation Induced Injury Oecologia*, **1978**, Pág. 277 – 287
- Rodes J., *Libro de la Salud del Hospital de Barcelona y la Fundación BBVA*, Fundación BBVA Editorial, **2007**, Pág. 303
- Rodger W., Griffin Jr., *Química Orgánica Moderna*, Mcgraw – Hill Book Company Editor, Reverte S.A. Encarnacion 86 Barcelona Editorial, **1981**, Pág. 494
- Rognaul Roger C., Philogene B. Jr., Vincent Ch., Terrón P., *Biopesticidas de Origen Vegetal*, Mundi – Prensa Libros S.A. Editorial, **2004**, Pág. 13
- Romo de Vivar Romo A. *Editor, Química de la Flora Mexicana Investigaciones en el Instituto de Química UNAM*, México Editorial, 1ra. Edición, **2006**, Pág. 64, 145
- Sánchez I. Editor, *Raíces Andinas, Biodiversidad Vegetal en Los Andes*, Arnez T. de Icochea Centro Internacional de la Papa Editorial, Pág. 39 – 40
- SENAMHI,
<http://www.senamhi.gob.bo/metereologia/recorddeinformacion.php>, *Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología*, **2007**
- Speisky H., Cassels B., Lissit E., Y Videla, *Biochemistry Pharmacology*, **1991**, Pág. 1575 – 1581
- Sukhwani A., *Patentes Naturistas*, Oficina Española de Patentes y Marcas Panamá Editorial, Pág. 237
- Tapia M., *La Quinoa y la Kañawa: Cultivos Andinos*, Ilca Editorial, **1979**, Pág. 177

- Teveni M., Braun J., Fieser G., *The Protective Function of the Epidermal Layer of Rye Seedlings Against Ultraviolet – B. Radiation Photochem. Photobiol*, **1991**, Pág. 329 – 333
- Villca H., *Evaluación de la erosión hídrica en un sistema agroforestal café (coffea arabica) con siquilli (inga adenophilla) bajo dos métodos de control de maleza con chonta y machete en Carmen Pampa*, Tesis de Grado Universidad Católica Boliviana – Unidad Académica Campesina de Carmen Pampa La Paz Bolivia, **2001**
- Vioque J., Clemente A., Bautista J., Millan F. Editorres, *Jornada Internacional sobre Proteínas Alimentarias*, España Editorial, **2000**, Pág. 135
- Zalles – Asin J. and De Lucca, *El Verde de la Salud*, Ministerio de Prevesión Social y Salud Pública Editor, Punata - Cochabamba **1991**
- Zeiger E., Toiz L., *Fisiología Vegetal, Las Antocianinas son Flavonoides Coloreados que atraen animales*, Universitat Jaumel Editorial, **2007**, Pág. 151
- Zeiger E., Toiz L., *Fisiología Vegetal, Los Alcaloides tienen efectos fisiológicos en los animales*, Univerisitat Jaumel Editorial, **2007**, Pág. 135
- Zeiger E., Toiz L., *Fisiología Vegetal, Los Metabolitos Secundarios defienden a las plantas de herbívoros y patógenos*, Univerisitat Jaumel Editorial, **2007**, Pág. 534
- Zeiger E., Toiz L., *Fisiologia Vegetal, Los Taninos disuaden a los herbívoros*, Universitat Jaumel Editorial, **2007**, Pág. 554