

Actividad biológica y composición química en extractos de *Cucurbita ecuadorensis* H.C. Cutler & Whitaker

Biological activity and chemical composition in extracts of *Cucurbita ecuadorensis* H.C. Cutler & Whitaker

Jhon Castillo^{1*} & Shirley Moncayo²

¹Consultor egresado Facultad Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl
Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador

²Herbario GUAY, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez
Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil-Ecuador.

Recibido 25 de agosto 2019; recibido en forma revisada 6 de octubre 2019, aceptado 5 de noviembre 2019
Disponible en línea 20 de diciembre 2019

Resumen

Los metabolitos secundarios presentes en los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis* H.C. Cutler & Whitaker, una especie endémica de los bosques secos de la costa de Ecuador, fueron alcaloides, flavonoides, taninos, triterpenos, esteroides y cumarinas, mientras que las quinonas, antraquinonas y saponinas estuvieron ausentes. El mesocarpio del fruto de esta especie presentó contenidos de 9.19 ± 0.25 g de carbohidratos totales/ 100 g de peso seco, 14.90 ± 0.30 g de lípidos totales/ 100 g de peso seco y 3.39 ± 0.08 g de proteínas totales/ 100 g de peso seco, respectivamente. El mayor contenido fenólico fue para el extracto etanólico de los frutos con 20.82 ± 0.87 mg de GAE /g de extracto seco. El mayor contenido de flavonoides totales fue para el extracto etanólico de los frutos con 134.36 ± 0.34 mg de CE/ g de extracto seco. El extracto etanólico del fruto reveló la mayor capacidad antioxidante con $IC_{50} = 1.90$ mg/mL. Todos los extractos evaluados de esta especie, no presentaron actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* y *Listeria monocytogenes*. En base a estos resultados, los frutos de *C. ecuadorensis* se los puede considerar como un suplemento nutricional con un potencial antioxidante natural.

Palabras Clave: Actividad antioxidante, actividad antibacteriana, *Cucurbita ecuadorensis*.

Abstract

The secondary metabolites present in the ethanol and chloroform extracts of the fruits and leaves of *Cucurbita ecuadorensis* H.C. Cutler & Whitaker, an endemic species of the dry forests of the coast of Ecuador, were alkaloids, flavonoids, tannins, triterpenes, sterols and coumarins, while quinones, anthraquinones and saponins were absent. The mesocarp of the fruit of this species contains contents of 9.19 ± 0.25 g of total carbohydrates / 100 g of dry weight, 14.90 ± 0.30 g of total lipids / 100 g of dry weight and 3.39 ± 0.08 g of total proteins / 100 g of weight dry, respectively. The highest phenolic content was for the ethanolic extract of the fruits with 20.82 ± 0.87 mg of GAE / g of dry extract. The highest total flavonoid content was for the ethanolic extract of the fruits with 134.36 ± 0.34 mg of CE / g of dry extract. The ethanolic extract of the fruit revealed the highest antioxidant capacity with $IC_{50} = 1.90$ mg / mL. All extracts evaluated for this species, there is no antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* and *Listeria monocytogenes*. Based on these results, the fruits of *C. ecuadorensis* can be considered as a nutritional supplement with a natural antioxidant potential.

Key words: Antioxidant activity, antibacterial activity, *Cucurbita ecuadorensis*.

* Correspondencia del autor:
E-mail: cas-1994@hotmail.com



Introducción

Las primeras culturas del Ecuador que datan del periodo precerámico, obtuvieron información de manera empírica sobre los usos alimenticios, medicinales, tóxicos y otras numerosas propiedades biológicas que poseen las plantas. (Naranjo y Escaleras, 1995; Valencia, 1995; de la Torre, Navarrete, Muriel, Macías y Balslev, 2008; Torri, 2013).

En las plantas se encuentran muchos compuestos químicos producto del metabolismo primario y secundario, estos son utilizados para insumos alimenticios por poseer propiedades antioxidantes, anticancerígenas antibacterianas, entre otras (Williams, Stone, Hauck y Rahman, 1989; Lock, 1998; Cano, Macías, Pereira, Dranguet, Guzmán y Calzada, 2009), que son valoradas en la industria farmacéutica, debido a que permiten desarrollar medicamentos provenientes de fuentes naturales, capaces de prevenir o mitigar enfermedades y/o contrarrestar agentes patógenos en los seres vivos (Naranjo y Escaleras, 1995; Bingham *et al.*, 1998; Paganga, Miller y Rice-Evans, 1999; Kuklinski, 2000; de la Torre, Navarrete, Muriel, Macías y Balslev, 2008).

Actualmente, la medicina tradicional es analizada y valorada gracias a la importancia de los compuestos químicos y las propiedades biológicas con potencial medicinal que nos brindan las plantas (Lock, 1998; Neill y Ulloa-Ulloa, 2011; Vogelsang, 2011; Quispillo, 2013; Bailon-Moscoso Romero-Benavides, Tinitana-Imaicela y Ostrosky-Wegman, 2015; Rivas, Oranday y Verde, 2016).

En el presente estudio se determinó la composición química mediante el tamizaje fitoquímico, la actividad antioxidante y antibacteriana en extractos etanólico y clorofórmico de *Cucurbita ecuadorensis* H.C. Cutler & Whitaker, una especie endémica de los bosques secos de la costa de Ecuador.

Materiales y métodos

Material biológico

Los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis* fueron colectados en la parroquia San Vicente, provincia de Manabí (0° 57' 49.8'' S, 80° 41' 41.83'' W), en la costa de Ecuador. La identificación botánica fue realizada por el M.Sc. Xavier Cornejo, curador del herbario GUAY de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil.

Procesamiento del material vegetal

Del material vegetal se obtuvieron dos tipos de extractos: etanólico y clorofórmico. El extracto etanólico se obtuvo mediante el secado y maceración de las hojas y del mesocarpio del fruto de *C. ecuadorensis*. Se colocó el material vegetal en un matraz con etanol al 99%, se dejó en reposo durante cinco días, en oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, el extracto se concentró en un rotavapor Buchi r-3.

El extracto clorofórmico se obtuvo mediante una extracción líquido-líquido, se agregó en un embudo de decantación una solución de extracto etanólico del material vegetal y cloroformo a relación 1:1. Se dejó en reposo durante 24 h, la solución se separó en dos fases y se recogió la fase apolar clorofórmica. Posteriormente, el extracto se concentró en un rotavapor Buchi r-3.

Tamizaje fitoquímico

Se determinó la presencia de alcaloides, flavonoides, quinonas, antraquinonas, esteroides, triterpenos, saponinas, taninos y cumarinas mediante la metodología propuesta por Gudiel (2009) y Rondón (2017).

Determinación de alcaloides.

Se agregaron 2 mL de ácido clorhídrico al 5% a 10 mg de extracto seco.

Posteriormente, al extracto diluido se le añadieron 3 gotas de los reactivos Wagner, Mayer, Bouchardat y Dragendorff. Un precipitado rojo marrón (Wagner), precipitado de color blanco amarillento (Mayer), precipitado marrón (Bouchardat) y precipitado rojo anaranjado (Dragendorff), revela la presencia de alcaloides.

Determinación de flavonoides.

Prueba de Shinoda. Se añadieron 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado a 2 mL de extracto diluido en alcohol etílico. La presencia del color naranja, rojo o magenta revela la presencia de flavonas y flavonoles, respectivamente.

Prueba de hidróxido de sodio (10%). A 1 mL de extracto diluido en alcohol etílico, fueron añadidos 3 gotas de hidróxido de sodio al 10%. La coloración amarillorosa, café-naranja, púrpura-roja o azul, indica la presencia de flavonas, flavonoles, chalconas y antocianinas, respectivamente.

Determinación de saponinas.

Prueba de la espuma. Se agregó 1 mL de agua destilada caliente a 20 mg del extracto etanólico en un tubo de ensayo, se agitó vigorosamente para formar espuma, se dejó en reposo durante 10 minutos. El contenido de saponinas se reportó de la siguiente manera: sin espuma (ausencia); espuma menos de 3 mm de alto (pobre); espuma de 6 mm de altura (moderada) y espuma de más de 8 mm de altura (abundante).

Determinación de quinonas y antraquinonas.

Prueba de Borntrager. Se trató con 3 mL de cloroformo a 3 mL de extracto, la capa de cloroformo se separó. Posteriormente se agregaron gotas de hidróxido de potasio al 5%. La aparición de color rojo en fase alcalina indicó la presencia de quinonas.

Prueba de hidróxido de amonio. A 2 mL de extracto disuelto en alcohol etílico se añadió una gota de hidróxido de amonio concentrado. Se dejó en reposo durante dos minutos, una formación de color rojo indicó la presencia de antraquinona.

Prueba de ácido sulfúrico. En 10 mg de extracto disuelto en alcohol etílico se añadió una gota de ácido sulfúrico concentrado, la formación de color rojo indicó la presencia de quinonas.

Determinación de esteroides y triterpenos.

Prueba de Salkowski. En 3 mL del extracto disuelto en alcohol etílico, se agregaron 2 mL de cloroformo y 1 mL de ácido sulfúrico concentrado lentamente hasta que se formó una doble fase. La presencia de color café pardo en la capa media indicó un anillo esteroideo.

Prueba Lieberman Bouchard. A 2 mL del extracto disuelto en alcohol etílico se agregó 1 mL de anhídrido acético y 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se dejó en reposo por 5 minutos, una capa intermedia de color azul-verde indicó esteroides, y el color rosado, rojo, magenta o violeta reveló la presencia de terpenoides.

Determinación de taninos.

Se disolvió 10 mg de extracto en 1 mL de etanol, seguido se añadió 4 gotas de solución acuosa de cloruro férrico al 10%. La formación de un color negro azulado o verdoso indicó la presencia de fenoles.

Determinación de cumarinas.

Se disolvió 10 mg de extracto seco en etanol. Se agregó 0.5 mL de agua destilada hirviendo. En un papel filtro se aplicó 2 manchas, a una mancha se agregó 1 gota de hidróxido de potasio al 10%. Se observó bajo luz ultravioleta en completa oscuridad. La fluorescencia azul o verde, reveló la presencia de cumarinas.

Cuantificación de carbohidratos, proteínas y lípidos

Se realizó la cuantificación de carbohidratos, lípidos y proteínas a la biomasa seca del fruto de *C. ecuadorensis*.

Extracción y cuantificación de carbohidratos totales.

Se utilizó el método de Fenol-sulfúrico propuesta por Dubois *et al.* (1956). A 10 mg de biomasa seca se añadieron 4 mL de NaOH 1M, Se agitó en vórtex y luego se sometieron las muestras en baño de maría a 95-100 °C por 1 hora. Se repartió 1 mL en tubos (triplicado). Se añadieron 25 µL de fenol al 80%. Se agregó 2,5 mL de ácido sulfúrico. Se repitió esta operación con todas las muestras y la curva patrón. Se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 30 minutos, las muestras se leyeron a 484 nm bajo a curva de calibración de glucosa (200, 400, 600, 800, 1000 mg/ mL) antes de las 2 horas en un espectrofotómetro Multiskan GO.

Thermo Scientific. El contenido total de carbohidratos se expresó como mg de carbohidratos totales/100 g de peso seco.

Extracción y cuantificación de proteínas totales.

Se utilizó el método colorimétrico propuesto por Lowry *et al.* (1951). Se agregaron 2 mL de NaOH 1 M a 10 mg de biomasa seca, las muestras se sometieron a baño

de maría a 95-100 °C por 1 hora y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Luego se centrifugaron por 10 minutos a 4000 rpm, se transfirió 100 µL del sobrenadante a un tubo de ensayo (por triplicado), se añadieron 400 µL de agua destilada, 500 µL de NaOH 1M. Se añadieron 2 mL de la disolución de 50 mL de Na₂CO₃ al 5% con 2 mL Tartrato de sodio-potasio al 1% y CuSO₄ · 5 H₂O al 0,5%, tanto a las muestras a analizar como a la curva patrón y al blanco, se agitó para homogenizar. Después de 10 minutos, se añadió 400 µL del reactivo Folin-Ciocalteu con agua destilada 1:1, se agitó inmediatamente. Para finalizar se dejó en reposo 30 minutos a temperatura ambiente y leyó a 750 nm bajo a curva de calibración de albumina de suero de bovino (BSA) (15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 mg/ mL) en un espectrofotómetro Multiskan GO Thermo Scientific. El contenido total de proteínas se expresó como mg de proteínas totales/100 g de peso seco.

Extracción y cuantificación de lípidos totales.

Se utilizó el método de carbonización simple propuesto por Folch *et al.* (1956). Se adicionó 1.5 mL de cloroformo y 3 mL de metanol a 10 mg de biomasa seca. Se almacenó a -4°C en oscuridad durante 24 horas. Posteriormente se centrifugó a 4000 rpm durante 10 min y se recolectó el sobrenadante. Se agregaron 1.5 mL de cloroformo y 2 mL de agua destilada. Se centrifugó nuevamente a 4000 rpm durante cinco minutos para separar la fase acuosa y orgánica. Se retiró la fase superior acuosa, posteriormente se evaporó la fase orgánica a 50°C durante 24 horas. Se resuspendió en 1 mL de cloroformo. Se tomó 500 µL de extracto lipídico resuspendido, se adicionó 2 mL de ácido sulfúrico concentrado y se llevó a 200°C durante 15 min, posteriormente se enfrió a -4°C durante 10 min. Se agregó 2 mL de agua destilada y se leyó a 375 nm bajo a una curva de calibración de tripalmitina (30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 mg/ mL) en un espectrofotómetro Multiskan GO.

Thermo Scientific. El contenido total de lípidos se expresó como mg de lípidos totales/ 100 g de peso seco.

Cuantificación de flavonoides y fenoles totales

Cuantificación de flavonoides totales.

Se aplicó el método colorimétrico de cloruro de aluminio propuesta por Zhishen *et al.* (1999). Se pesó 5 mg de los extractos etanólico y clorofórmico y se disolvieron en 5 mL de etanol absoluto. Se añadió una alícuota (0.25 mL) de extracto a un tubo de ensayo. Se agregó un 1 mL de H₂O destilada. Se añadió al tubo de ensayo 0.075 mL de NaNO₂ al 5%. Después de 6 minutos, se agregó 0,075 mL de AlCl₃ al 10%. Después de 5 minutos, 0.5 mL de NaOH 1 M y se completó el volumen total hasta 2.5 mL con H₂O. Se mezcló bien la solución. La absorbancia se midió frente a blanco de reactivo preparado a 510 nm, bajo a una solución estándar de Quercetina (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 mg/ mL) en un espectrofotómetro Multiskan GO Thermo Scientific. El contenido total

de flavonoides se expresó como mg equivalentes de quercetina (CE)/ g de masa fresca. Las muestras se analizan por triplicado.

Cuantificación de fenoles totales.

Se realizó el método de Folin-Cicalteou propuesta por Singleton *et al.* (1999). Se pesó 10 mg de los extractos etanólico y clorofórmico y se disolvieron en 2 mL de etanol absoluto. Se añadió una alícuota (150 mL) de extracto a un tubo de ensayo. Se agregó 75 mL de Folin-Cicalteou. Inmediatamente se agitó en vortex. Se esperó 10 minutos, en absoluta oscuridad. Se añadió 375 mL de la solución de Carbonato de sodio. Se agitó y guardó en absoluta oscuridad por 30 minutos. La absorbancia se midió frente a blanco de reactivo preparado a 760 nm bajo una solución estándar de Ácido gálico (30, 50, 80, 100, 120, 150, 180, 210 mg/ mL) en un espectrofotómetro Multiskan GO Thermo Scientific. El contenido total de flavonoides se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/ g de extracto seco. Las muestras se analizaron por triplicado.

Actividad Antioxidante

Se evaluó la actividad antioxidante mediante la técnica de eliminación de radicales libres de 2,2 difenil-1 picrilhidrazilo (DPPH) propuesta por Brand-Williams *et al.* (1995).

Preparación del DPPH y ácido ascórbico.

Se preparó una solución stock (A) de DPPH a 6×10^{-5} M diluida en metanol. Posteriormente, se preparó una solución stock (B), tomando 5 mL de la solución stock (A) diluido a 1 mL de metanol. Se preparó una solución de ácido ascórbico a 1 mM.

Preparación del extracto.

Se preparó una solución del extracto etanólico y clorofórmico del fruto y hoja de *C. ecuadorensis* a una concentración de 5 mg/mL.

Procedimiento.

Se colocó en un tubo de ensayo 100 μ L de la solución de cada extracto y 1400 μ L de la solución stock (B). Se dejó en oscuridad y tapados los tubos durante 30 minutos. Posteriormente, se midió las lecturas a 517 nm en un espectrofotómetro uv-visible BioMate 3S Thermo Scientific, utilizando como control negativo el metanol y control positivo el ácido ascórbico.

Cálculos del porcentaje de inhibición.

Se determinó el porcentaje de inhibición del DPPH mediante la fórmula:

$$\%I = \frac{\text{absorbancia del DPPH} - \text{Absorbancia muestra}}{\text{absorbancia del DPPH}} \times 100$$

El porcentaje de inhibición de los extractos fue mayor al 50 %, por lo tanto, se realizó una solución estándar con concentraciones de 2.5, 1.25, 0.75, 0.5, 0.2 mg/mL, para encontrar la mínima inhibitoria del 50% (IC_{50}). El porcentaje de inhibición de la solución de ácido ascórbico sirvió como patrón de

antioxidante para la comparación de los porcentajes de inhibiciones.

Actividad antibacteriana

Condiciones de cultivo

Se utilizó el medio de cultivo Müller-Hinton Agar a 30 °C durante 24 h, para los cultivos de tres bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802) y tres Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115).

Evaluación de la actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se llevó a cabo mediante el ensayo de difusión de disco propuesta por Bauer-Kirby (1966). Se diluyó las colonias de bacterias Gram positivas y Gram negativas en solución salina estéril al 0,9 %, se midieron las lecturas a 550 nm en un espectrofotómetro uv-visible BioMate 3S Thermo Scientific hasta que se obtuvo una turbidez a un estándar McFarland N °1 (300-8 CFU / mL).

Se tomó 200 μ L del inóculo bacteriano estandarizado al McFarland N °1 y se incubó en agar Muller-Hinton a 36 °C durante 24 h. Posteriormente, los extractos etanólicos de los frutos y hojas se diluyeron en etanol al 99% a una concentración de 200 ppm (200 mg/mL). Se usó etanol al 99% como control negativo y como control positivo antibióticos para cada bacteria Gram negativa y Gram positiva (tabla 1). Se adicionaron 20 μ L de cada solución de los extractos en un disco de filtro estéril individual de 6,35 mm y se colocaron en la superficie del agar Muller-Hinton previamente inoculado.

Los perímetros de la circunferencia de la zona de inhibición fue medida con un calibrador vernier digital posicionando la placa de Petri sobre un fondo oscuro.

Análisis estadístico

Se comparó el porcentaje de inhibición del DPPH en extractos etanólico y clorofórmico de las hojas y mesocarpio del fruto de *Cucurbita ecuadorensis*, frente al ácido ascórbico, realizando un test de Anova simple, mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus.

Resultados

Tamizaje fitoquímico

El análisis fitoquímico de extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*, se realizó mediante varios ensayos químicos para identificar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, saponinas, quinonas, antraquinonas, triterpenoides, esteroides, taninos y cumarinas.

Los alcaloides fueron abundantes en todas las pruebas utilizadas en los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos de *C. ecuadorensis*. No obstante, en ambos extractos de las hojas, los alcaloides se encontraron en menor proporción.

Tabla 1. Antibióticos utilizados como control positivo contra bacterias Gram negativas (*) y Gram positivas.

Antibiótico	Dosis	Bacteria	Cepa
Gentamicin® Oxoid™	(10µg)	<i>Escherichia coli</i> *	ATCC 25922
Tobramicina® Oxoid™	(10µg)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	ATCC 15442
Tetracycline® Oxoid™	(30 µg)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> *	ATCC 17802
Ceftriaxone® Oxoid™	(30 µg)	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
Sulfamethoxazole® Oxoid™	(25 µg)	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>Spizizenii</i>	ATCC 6633
Penicillin® G Oxoid™	(10µg)	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19115

Los flavonoides fueron moderados en los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *C. ecuadorensis*. Posiblemente corresponden a los flavonoles, el cual se evidenció tratando la muestra con una solución de hidróxido de sodio al 10% y se observó la formación de una coloración cafénaranja. Mientras que las saponinas, quinonas y antraquinonas se encontraron ausentes en todos los extractos evaluados (tablas 2 y 3).

En los extractos evaluados de los frutos y hojas de *C. ecuadorensis*, los compuestos fenólicos estuvieron presentes en pequeñas cantidades, posiblemente corresponden a los taninos condensados como el catecol, el cual se evidenció cuando se trató la muestra con una solución de cloruro férrico al 10% y se observó la formación de un precipitado marrón. Las cumarinas se encuentran en moderadas cantidades. Los esteroides proporcionan moderadas en los extractos fueron más abundantes en el extracto etanólico de los frutos y hojas, mientras etanólico

de los frutos y moderados en el que en los extractos clorofórmicos de extracto etanólico de las hojas (tabla 2). estas partes aéreas, están en débiles.

Cuantificación de carbohidratos, lípidos y proteínas
 Se cuantificaron los carbohidratos, lípidos y proteínas totales en la biomasa seca del mesocarpio del fruto de *C. ecuadorensis*. Esta reveló concentraciones de 9.19 ± 0.25 g de carbohidratos totales/ 100 g de lípidos totales/ fruto de *Cucurbita ecuadorensis*. 100 g de peso seco y 3.39 ± 0.08 g de Proteínas totales/ 100 g de peso seco, respectivamente. La presencia de lípidos en el mesocarpio del fruto fue mayoritaria entre los metabolitos primarios evaluados (figura 1).

Cuantificación de fenoles y flavonoides totales

Cuantificación de fenoles totales
 Se determinó el contenido fenólico total del extracto etanólico y clorofórmico de los frutos y hojas de *C. ecuadorensis* por medio de una curva de calibración de

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico de extractos etanólicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

Extractos etanólicos	Alcaloides				Flavonoides		Saponinas	Quinonas/Antraquinonas			Esteroides/ Triterpenos		Taninos	Cumarinas
	RW	RM	RB	RD	RS	NaOH 10%	Espuma	RBg	NH ₄ OH 10%	H ₂ SO ₄	RS-L	RL-B	FeCl ₃ 10%	Luz UV
Frutos	+++	+++	+++	+++	-	++	-	-	-	+	+++	+	Negro	+++
Hojas	+	+	-	+	-	++	-	-	-	-	++	++	Negro	+

Claves: Ausente (-), Moderado (++) , Abundante (+++). Reactivo de Wagner (RW), Reactivo de Meyer (RM), Reactivo de Bouchardart (RB), Reactivo de Dragendorff (RD), Reactivo de Shinoda (RS), Reactivo de Borntreger (RBg), Reactivo de Salkoski (RS-L), Reactivo de Liberman Bouchard (RL-B).

Tabla 3. Tamizaje fitoquímico de extractos clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

Extractos clorofórmicos	Alcaloides				Flavonoides		Saponinas	Quinonas/Antraquinonas			Esteroides/ Triterpenos		Taninos	Cumarinas
	RW	RM	RB	RD	RS	NaOH 10%	Espuma	RBg	NH ₄ OH 10%	H ₂ SO ₄	RS-L	RL-B	FeCl ₃ 10%	Luz UV
Frutos	++	++	++	++	-	++	-	-	-	-	++	-	Negro	++
Hojas	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	Negro	+

Claves: Ausente (-), Moderado (++) , Abundante (+++). Reactivo de Wagner (RW), Reactivo de Meyer (RM), Reactivo de Bouchardart (RB), Reactivo de Dragendorff (RD), Reactivo de Shinoda (RS), Reactivo de Borntreger (RBg), Reactivo de Salkoski (RS-L), Reactivo de Liberman Bouchard (RL-B).

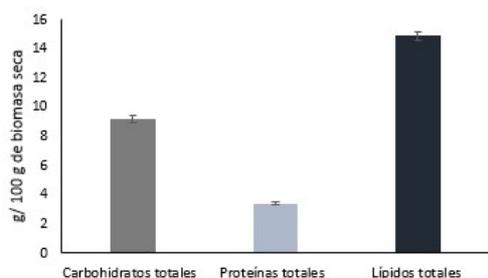


Figura 1. Contenidos totales de carbohidratos (■), proteínas (■) y lípidos (■), determinadas en la biomasa seca del mesocarpio del fruto de *Cucurbita ecuadorensis*.

ácido gálico (GAE), en la cual se obtuvo la ecuación de regresión lineal $y = 0.0071x + 0.0226$, $r^2 = 0.9961$ (figura 2).

Se observó que el extracto etanólico de los frutos de *C. ecuadorensis* posee el mayor contenido fenólico, con una concentración de 20.82 ± 0.87 mg GAE/ g de extracto seco, no obstante, el extracto clorofórmico de las hojas presentó el menor contenido fenólico de 5.44 ± 0.18 mg GAE/ g de peso seco (tabla 4).

Quantificación de flavonoides totales

Se determinó el contenido de flavonoides totales de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas por medio de una curva de calibración de quercetina (CE), en la cual se obtuvo la ecuación de regresión lineal $y = 0.00045x + 0.067$, $r^2 = 0.997$ (figura 3).

El mayor contenido de flavonoides de los extractos evaluados se encontró en el extracto etanólico de los frutos de *C. ecuadorensis*, con una concentración de 134.36 ± 0.34 mg CE/ g de extracto seco, no obstante, el extracto clorofórmico de las hojas presentó el menor contenido fenólico de 44.05 ± 1.65 mg CE/ g de extracto seco (tabla 5).

Actividad antioxidante

Las actividades antioxidantes (porcentaje de inhibición del radical DPPH) de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas fueron comparadas frente al ácido ascórbico. El ácido ascórbico obtuvo un 95.00 ± 0.0 % de inhibición de DPPH, semejante al extracto etanólico del fruto que reveló un 86.32 ± 1.49 % de inhibición del DPPH.

Seguido del extracto clorofórmico de los frutos con el 70.50 ± 0.10 % de inhibición, el extracto etanólico de las hojas con el 77.21 ± 0.11 % de inhibición; y el extracto clorofórmico de las hojas con el 66.91 ± 0.12 % de inhibición, siendo estos resultados considerables frente al ácido ascórbico (fig. 4).

Puesto que el p-valor del test de Anova simple fue inferior a 0.05, hubo diferencia significativa estadísticamente entre las medias de la actividad antioxidante entre los extractos evaluados de *C. ecuadorensis* y el ácido ascórbico, para un nivel de confianza del 95%. El extracto etanólico del fruto de *C. ecuadorensis* presentó una concentración de

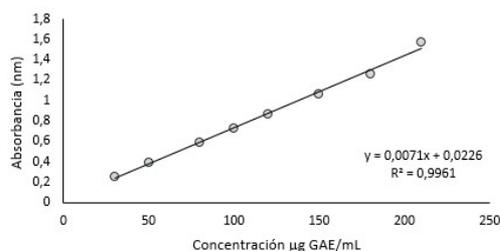


Figura 2. Curva de calibración de ácido gálico (GAE) para la determinación de contenidos de fenoles totales de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

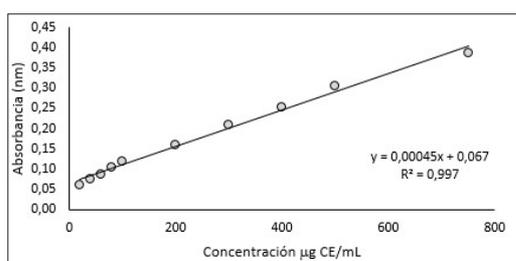


Figura 3. Curva de calibración de quercetina (CE) para la determinación de contenidos de flavonoides totales de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

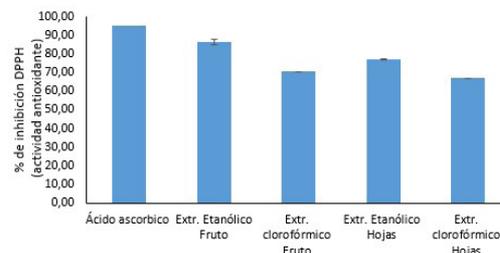


Figura 4. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis* comparadas con el ácido ascórbico.

Tabla 4. Contenidos de fenoles totales determinados en los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

Muestras	Fenoles totales (mg GAE/ g extracto seco)
Extracto etanólico de los frutos	20.82 ± 0.87
Extracto clorofórmico de los frutos	18.04 ± 0.75
Extracto etanólico de las hojas	10.79 ± 0.61
Extracto clorofórmico de las hojas	5.44 ± 0.18

Tabla 5. Contenidos de fenoles totales determinadas en los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

Muestras	Flavonoides totales (mg CE/ g extracto seco)
Extracto etanólico de los frutos	134.36 ± 0.34
Extracto clorofórmico de los frutos	132.38 ± 1.69
Extracto etanólico de las hojas	44.22 ± 0.59
Extracto clorofórmico de las hojas	44.05 ± 1.65

inhibición del 50% (IC₅₀) de 1.90 mg/mL, seguidos del extracto clorofórmico del fruto que presentó un IC₅₀ = 1.95 mg/mL, el extracto etanólico de las hojas presentó un IC₅₀ = 1.91 mg/mL, el extracto clorofórmico de las hojas presentó un IC₅₀ = 2.00 mg/mL (tabla 6).

Por otro lado, en la figura 5 se observa un estudio comparativo del contenido de flavonoides y fenoles totales con la actividad antioxidante. Los contenidos de fenoles totales expresados como mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/ g de los extractos etanólicos y clorofórmicos del fruto de *C. ecuadorensis*, se encuentran relacionados con la actividad antioxidante los mencionados extractos. Sin embargo, la actividad antioxidante de los extractos etanólicos y clorofórmicos de las hojas no está relacionada con los contenidos de fenoles totales de dichos extractos.

Además, los contenidos totales de flavonoides expresados como mg equivalentes de quercetina (CE)/ g de los extractos etanólico y clorofórmico del fruto de *C. ecuadorensis*, no están relacionadas con la actividad antioxidante de dichos extractos (fig. 6). Sin embargo, la actividad antioxidante de los extractos etanólico y clorofórmico de las hojas está directamente relacionadas con los contenidos totales de los mencionados extractos (fig. 6).

Actividad antibacteriana

Los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *C. ecuadorensis* no presentaron actividad antibacteriana contra las tres bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802), y las tres Gram positivas ensayadas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115) (tabla 7).

Discusión

Tamizaje fitoquímico

Todos los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis* analizados, revelaron la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, triterpenos, esteroides y cumarinas, mientras

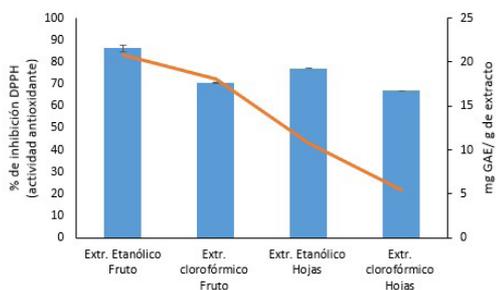


Figura 5. Comparación de los porcentajes de inhibición del DPPH (actividad antioxidante) frente a los contenidos de fenoles totales (mg GAE/ g; línea café) de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

Tabla 6. Porcentaje de inhibición y IC₅₀ de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

Muestras	Capacidad antioxidante IC ₅₀ mg/mL
Ácido ascórbico	-
Extracto etanólico de los frutos	1.90
Extracto clorofórmico de los frutos	1.95
Extracto etanólico de las hojas	1.91
Extracto clorofórmico de las hojas	2.00

que las saponinas, quinonas y antraquinonas se encontraron ausentes. Estos metabolitos secundarios que podrían ser responsables a las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antidiabéticas, antihipertensivas y antiparasitarias (De Tommasi, De Simone, Speranza y Pizza, 1999; Basch, Gabardi, y Ulbricht, 2003; Siciliano, De Tommasi, Morelli y Braca 2004; Pozner y Novara 2010; Khan, Hussain, Matjais, Zakaria y Khan, 2011; Okunrobo, Uwaya, Imafidon, Osarumwense y Omorodion, 2012; Yue, Xu, Cao, Zhang y Zhao, 2013; Noumedem *et al.*, 2013; Thiruvengadam y Ill-Chung, 2015).

La familia Cucurbitaceae es conocida debido a la presencia de saponinas (Karpagam, Varalakshmi, Bai y Gomathi, 2011; Gurav, Mondal, y Vijayakumar, 2014; Kushawaha, Chatterji, Yadav, y Watal, 2016); no obstante, en algunas especies del género *Cucurbita* se las encuentra con menor frecuencia o ausentes (Singh, 2012; Noumedem *et al.*, 2013; Salehi *et al.*, 2019). Por otro lado, los estudios sobre los contenidos de las quinonas y sus derivados en esta familia son escasos.

En todas las pruebas utilizadas en los extractos etanólicos y clorofórmicos de *C. ecuadorensis* se detectaron presencias considerables de alcaloides en los frutos, mientras que en las hojas los alcaloides se encuentran en menor proporción. Diversos estudios sobre el contenido de alcaloides presentes en el género *Cucurbita*, indican que la mayor proporción se encuentran en las semillas, las mismas que han sido estudiadas por ser los responsables de propiedades

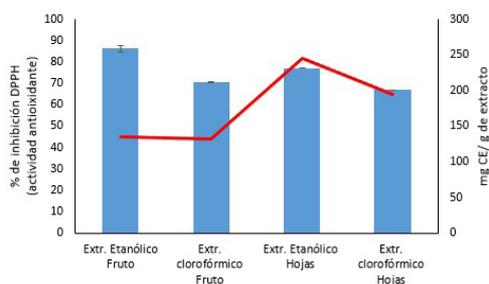


Figura 6. Comparación de los porcentajes de inhibición del DPPH (actividad antioxidante), frente a los contenidos de flavonoides totales (mg CE/ g; línea roja) de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*.

Tabla 7. Actividad antibacteriana contra tres bacterias Gram negativas (***) y tres Gram positivas (*).

BACTERIAS	Zona del halo de inhibición (mm)				Antibióticos de referencia
	Extractos etanólicos	FRUTOS HOJAS	FRUTOS HOJAS	FRUTOS HOJAS	
** <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	NI	NI	NI	NI	CN
** <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	NI	NI	NI	NI	TOB
** <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	NI	NI	NI	NI	TE
* <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	NI	NI	NI	NI	CRO
* <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	NI	NI	NI	NI	SXT
* <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	NI	NI	NI	NI	P

Claves: No presentó inhibición (NI), Gentamicin (CN) (10 µg), Tobramicina (TOB) (10µg), Tetracycline (TE) (30 µg), Ceftriaxone (CRO) (30 µg), Sulfamethoxazole (SXT) (25 µg), Penicillin.

antibacterianas (Noumedem *et al.*, 2013; Kushawaha, Chatterji, Yadav, y Watal, 2016; Bahramsoltani *et al.*, 2017; Wang, Liu, Wang, Yu, Xu y Yang, 2017).

Los contenidos de flavonoides en los extractos etanólico y clorofórmico de los frutos y hojas de *C. ecuadorensis* fueron moderados, posiblemente corresponden a los flavonoles. Esto coincide con Iswaldi, Gómez, Lozano, Arráez, Segura y Fernández (2013), quienes mencionaron que los flavonoles como la quercetina y otros derivados responsables de la actividad antioxidante y antibacteriana en especies del género *Cucurbita*.

En el extracto etanólico y clorofórmico de los frutos y hojas de *C. ecuadorensis*, los compuestos fenólicos fueron pocos frecuentes, estos posiblemente corresponden a los taninos condensados como el catecol. Sin embargo, Salehi *et al.*, 2019 mencionan que los taninos y otros derivados, son abundantes en algunas especies del género *Cucurbita*.

Los triterpenos estuvieron presentes en moderadas proporciones en los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos de *C. ecuadorensis*. Este metabolito, podría estar relacionado con la presencia del cucurbitano o cucurbitacina, un triterpenoide localizado en los frutos de esta familia responsable de las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, además es el responsable del sabor amargo en los frutos, lo cual es apetecible por equinos (Kunoshima *et al.*, 1994; Lira, 1995; Dandawate, Subramaniam, Padhye y Anant, 2016), esto podría explicar el uso de los frutos de *C. ecuadorensis* en caso de afecciones de la piel y su consumo por equinos en Ecuador (de la Torre *et al.*, 2008).

En los extractos etanólicos de los frutos y hojas de *C. ecuadorensis*, las cumarinas se encuentran en proporciones moderadas, mientras que en los extractos clorofórmicos de estas partes aéreas se encuentran en débiles proporciones. Esta variación de cumarinas en ambos extractos podría estar relacionados al tipo de solvente orgánico que se ha

utilizado, debido a que éste compuesto es soluble en solventes polares como el etanol, mientras que en solventes apolares como el cloroformo mantiene su proporción (Dominguez, 1973).

No todas las familias del reino vegetal poseen cumarinas, sin embargo, en Cucurbitaceae este compuesto se encuentra distribuido en hojas y frutos. Estas son de gran interés por sus propiedades terapéuticas, vasodilatadoras, antitumorales, espasmolíticas, alelopáticas y antioxidantes (Dominguez, 1973; Jain y Joshi, 2012). No obstante, los registros de cumarinas en especies del género *Cucurbita* son muy escasos.

Contenidos totales de carbohidratos, lípidos y proteínas

Como producto del metabolismo primario se encuentran los carbohidratos, lípidos y proteínas. Con el consumo adecuado, estos metabolitos pueden ser beneficiosos para el ser humano, además poseen una gran importancia en el campo biotecnológico, debido a que permiten innovar nuevos suplementos alimenticios de origen natural para producciones industriales (Petiard y Bariaud-Fontanel, 1987; Rivas, Oranday y Verde, 2016; Fang, Fernie y Luo, 2018).

Los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* contienen un elevado valor nutricional y exhiben diferencias marcadas en cuanto a las concentraciones de carbohidratos, lípidos y proteínas totales, en comparación con otras conocidas especies de Cucurbitaceae de uso alimenticio y medicinal (tabla 8).

El elevado valor nutricional registrado en los frutos de *C. ecuadorensis* (Tabla 8) concuerda con Piperno, Andres y Stothert (2000); Pickersgill (2007); Stothert (2011), el cual mencionan que esta especie fue semidomesticada y utilizada como alimento por habitantes de la cultura Las Vegas, hasta su posterior remplazo por *Cucurbita moschata*, presumiblemente porque posee un sabor más agradable.

Tabla 8. Tabla comparativa de los contenidos totales de carbohidratos, lípidos y proteínas de los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* con los frutos de las especies de Cucurbitaceae de uso alimenticio y/o medicinal

Frutos	g de carbohidratos totales/ 100 g de peso seco	g de lípidos totales/ 100 g de peso seco	g de proteínas/ 100 g de peso seco	Fuente
<i>Cucurbita ecuadorensis</i>	9.19 ± 0.25	14.90 ± 0.30	3.39 ± 0.08	Autor
<i>Citrullus lanatus</i> (sandía)	4.50	0.15	0.40	Valero, Rodríguez, Ruiz y Ávila (2018)
<i>Cucumis melo</i> (melón)	6.00	0.00	0.60	
<i>Cucumis sativus</i> (pepino)	1.90	2.00	0.70	
<i>Cucurbita pepo</i> (calabacín)	2.20	0.20	0.65	
<i>Cucurbita moschata</i>	1.90	0.16	0.97	Jacobo, Maróstica, Zazueta y Gallegos (2011)
<i>Cucurbita maxima</i> (zapallo)	2.10	0.25	0.70	Ortega (2013); Estrada, Sánchez y Alcántar (2018)
<i>Cucurbita ficifolia</i> (zambo)	4.40	0.30	0.40	
<i>Momordica charantia</i> (achochilla)	4.80	0.18	0.15	Semeniuk, Bela, Vonka, Romero y Núñez (2018)

Los altos contenidos de lípidos totales que posee el mesocarpio de los frutos de *C. ecuadorensis*, sugieren su uso como antihipercolesterolemicos debido a que los triterpenos podrían inhibir los componentes lipídicos, y reducir las concentraciones de colesterol en la absorción del intestino delgado (Plat *et al.*, 2019).

Contenidos totales de fenoles y flavonoides

Contenidos de fenoles totales

Los fenoles son de estructura compleja con grupos hidroxilos adheridos a proteínas o a leves cantidades de iones de hierro, presentan una amplia distribución en cualquier parte aérea de una planta, poseen propiedades astringentes, vasoconstrictoras, antibacterianas y antiinflamatorias (García y Carril, 2009; Sieniawska y Baj, 2017).

Los extractos etanólico y clorofórmico de los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* mostraron 20.82 ± 0.87 mg de GAE /g de extracto seco y 18.04 ± 0.75 mg de GAE /g de extracto seco, respectivamente. Estas concentraciones de fenoles totales están entre las más altas comparadas con el de otras especies en el mismo género; los contenidos fenólicos son solamente comparables a los de *Cucurbita moschata* (tabla 9). Las elevadas concentraciones de contenidos fenólicos de esta especie al tener relación con la actividad antioxidante en los frutos, son uno de los metabolitos responsables de dicha actividad.

Los extractos etanólico y clorofórmico de las hojas de *Cucurbita ecuadorensis* mostraron contenidos fenólicos totales de 10.79 ± 0.61 mg de GAE/ g de extracto seco y 5.44 ± 0.18 mg de GAE / g de extracto seco. Por lo tanto se podría considerar que este es el primer registro de los contenidos fenólicos totales en extractos etanólicos y cloroformicos de las hojas de una especie de este género.

Contenidos de flavonoides totales

Los flavonoides son pigmentos conformados por compuestos fenólicos que se encuentran en todas las partes aéreas del reino vegetal; son metabolitos de interés debido a sus potenciales propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias (Singleton *et al.*, 1999; Zhishen *et al.*, 1999; Rondón *et al.*, 2017).

Los extractos etanólico y clorofórmico de los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* presentaron 134.36 ± 0.34 mg de CE/ g de extracto seco y 132.38 ± 1.69 mg de CE/ g de extracto seco. Estas concentraciones de fenoles totales están entre las más altas comparadas con dos especies del mismo género (tabla 10).

Los extractos etanólico y clorofórmico de las hojas de *Cucurbita ecuadorensis* mostraron contenidos de flavonoides totales de 44.22 ± 0.59 mg de CE/ g de extracto seco y 44.05 ± 1.65 mg de CE / g de extracto seco. Estas concentraciones de fenoles totales están entre las más altas comparadas con el de otras especies del mismo género (tabla 11).

Actividad antioxidante

A pesar de que hubo diferencia significativa estadísticamente entre los extractos evaluados de *C. ecuadorensis* y el ácido ascórbico, el porcentaje de inhibición del radical DPPH en el extracto etanólico de los frutos fue de 86.32%, cercano al del ácido ascórbico (Vitamina C) que obtuvo un porcentaje del 95.00%.

La actividad antioxidante de los frutos de *C. ecuadorensis* poseen un 86.32 ± 1.49 % de inhibición del DPPH, con un $IC_{50} = 1.90$ mg/mL. Esta propiedad está relacionada con los contenidos de fenoles totales presentes en los frutos y coincide con Bahramsoltani *et al.* (2017), quienes mencionaron que los contenidos de fenoles totales de los frutos atribuyen a la actividad antioxidante. Estos resultados están entre las más altas comparadas con el de otras especies en el mismo género (Tabla 12).

Adicionalmente, las hojas de *C. ecuadorensis* poseen un 77.21 ± 0.11 % de inhibición del DPPH con un $IC_{50} = 1.91$ mg/mL. Estos resultados demuestran la actividad antioxidante presente en hojas de *C. ecuadorensis*, esta propiedad está relacionada con los contenidos de flavonoides totales de dichos extractos y coinciden con Moyo, Amoo, Ncube, Ndhlala, Finnie, y Van Staden (2013), quienes indican que los contenidos de flavonoides totales están relacionados con la actividad antioxidante de los frutos en *Cucurbita maxima*. Estos resultados están por debajo comparadas con el de otras especies en el mismo género que presentaron triterpenos, esteroides y otros compuestos bioactivos en mayores proporciones (Tabla 13).

Actividad antibacteriana

A pesar de que los extractos de *C. ecuadorensis* poseen alcaloides en todas las pruebas utilizadas, no presentaron actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* y *Listeria monocytogenes*.

La causa podría ser la ausencia de otros compuestos con actividad antibacteriana como quinonas, antraquinonas y saponinas, debido a que estas sustancias desestabilizan la membrana y se adhieren a polipéptidos de la pared celular de las bacterias que inactivan o inhiben la función de las enzimas o de las proteínas, ocasionando complejos irreversibles en su estructura (Ravishankar *et al.*, 2012; Singh, 2012; Rivas, Oranday y Verde, 2016).

Adicionalmente, ambos extractos de las hojas de *C. ecuadorensis* tampoco poseen actividad antibacteriana contra las bacterias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* y *Listeria monocytogenes*. Este resultado coincide con Castillo, Molinares, Campo, y Bettin (2017), quienes mencionan que el extracto etanólico de las hojas de *Cucurbita moschata* no posee actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Tabla 9. Tabla comparativa de los contenidos de fenoles totales en los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* con los frutos de algunas especies de *Cucurbita* de uso alimenticio y/o medicinal.

Material vegetal	Fenoles totales (mg de GAE/ g de extracto seco)		Fuente
Frutos	Extracto etanólico	Extracto clorofórmico	
<i>Cucurbita ecuadorensis</i>	20.82 ± 0.87	18.04 ± 0.75	Autor
<i>Cucurbita moschata</i>	22.92 ± 1.06	S/D	Jacobo, Maróstica, Zazueta y Gallegos (2011)
<i>Cucurbita maxima</i>	7.34 ± 0.4	S/D	Deng, Lin, Xu, X, Gao, Xie, y Li (2013); Gurav, Mondal, y Vijayakumar (2014)
<i>Cucurbita pepo</i>	4.99 ± 0.29	S/D	

Claves: Sin datos (S/D)

Tabla 10. Tabla comparativa de los contenidos de Flavonoides totales en los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* con los frutos de algunas especies de *Cucurbita* de uso alimenticio y/o medicinal

Material vegetal	Flavonoides totales (mg de CE/ g de extracto seco)		Fuente
Frutos	Extracto etanólico	Extracto clorofórmico	
<i>Cucurbita ecuadorensis</i>	134.36 ± 0.34	132.38 ± 1.69	Autor
<i>Cucurbita moschata</i>	77.77 ± 1.82	S/D	Valenzuela, Cravzov, Soro, Tauguinas, Giménez y Gruszycki (2014)
<i>Cucurbita maxima</i>	80.14 ± 0.18	S/D	Kushawaha, Chatterji, Yadav, y Watal (2016)

Claves: Sin datos (S/D)

Tabla 11. Tabla comparativa de los contenidos de Flavonoides totales en las hojas de *Cucurbita ecuadorensis* con las hojas de algunas especies de *Cucurbita* de uso alimenticio y/o medicinal

Material vegetal	Flavonoides totales (mg de CE/ g de extracto seco)		Fuente
Hojas	Extracto etanólico	Extracto clorofórmico	
<i>Cucurbita ecuadorensis</i>	44.22 ± 0.59	44.05 ± 1.65	Autor
<i>Cucurbita maxima</i>	26.50 ± 1.40	S/D	Saha, Mazumder y Haldar (2011)
<i>Cucurbita pepo</i>	25.43	S/D	Koh, Lu, y Zhou (2019)

Claves: Sin datos (S/D)

Tabla 12. Tabla comparativa de la actividad y capacidad antioxidante de los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* con los frutos de algunas especies de *Cucurbita* de uso alimenticio y/o medicinal

Material vegetal	Actividad antioxidante	Capacidad antioxidante	Fuente
Frutos	Porcentaje de inhibición (%)	IC ₅₀ (mg/mL)	
<i>Cucurbita ecuadorensis</i>	86.32 ± 1.49	1.90 ± 0.14	Autor
<i>Cucurbita maxima</i>	29.60	4.07	Valenzuela, Cravzov, Soro, Tauguinas, Giménez y Gruszycki (2014); Indrianiingsih, Rosyida, Apriyana, Hayati, Nisa, Darsih, Kusumaningrum, Rath y Indriyati (2019)
<i>Cucurbita moschata</i>	23.85	4.02	Bahramsoltani et al. (2017); Indrianiingsih, Rosyida, Apriyana, Hayati, Nisa, Darsih, Kusumaningrum, Rath y Indriyati (2019)

Tabla 13. Tabla comparativa de la actividad y capacidad antioxidante en las hojas de *Cucurbita ecuadorensis* con las hojas de algunas especies de *Cucurbita* de uso alimenticio y/o medicinal

Material vegetal	Actividad antioxidante	Capacidad antioxidante	Fuente
Hojas	Porcentaje de inhibición (%)	IC ₅₀ (mg/mL)	
<i>Cucurbita ecuadorensis</i>	77.21 ± 0.11	1.91	Autor
<i>Cucurbita pepo</i>	84.28	0.49	Dar, Farman, Dar, Khan, Munnir, Rasheed y Waqas (2017)
<i>Cucurbita maxima</i>	85.15	0.47	Yenda, V-Rao y Rao (2014)

Tabla 14. Tabla comparativa de la actividad antibacteriana de los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* con los frutos de algunas especies de *Cucurbita* de uso alimenticio y/o medicinal.

Especie	Inhibición de crecimiento	
	Bacterias	Fuente
<i>Cucurbita ecuadorensis</i>	NI	Autor
<i>Cucurbita moschata</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pichia fermentans</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	Wang, Liu, Wang, Yu, Xu y Yang (2017); Salehi et al. (2019)
<i>Cucurbita pepo</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>Providencia stuartii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Magassouba et al. (2010); Noumedem et al. (2013)
<i>Cucurbita maxima</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus wernerii</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ravishankar et al. (2012); Singh (2012)

Claves: No presentó inhibición (NI).

Por el contrario, El-Aziz, El-Kalek y City (2011), reportan que el extracto etanólico de las hojas de *Cucurbita pepo* inhibe el crecimiento de las cepas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Los resultados de la actividad antibacteriana de los extractos evaluados, difieren con numerosos estudios realizados de los frutos de varias especies del género *Cucurbita*. Es decir, la mayoría de las especies de este género se caracterizan por inhibir el crecimiento de las cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae* (Noumedem et al., 2013; Kushawaha, Chatterji, Yadav, y Watal, 2016; Bahramsoltani et al., 2017; Wang, Liu, Wang, Yu, Xu y Yang, 2017; Salehi et al., 2019). Por lo tanto, se considera que *C. ecuadorensis* podría ser la única especie de este género que no posee actividad antibacteriana en los frutos y hojas (tabla 14).

Conclusiones

Es importante evaluar las propiedades terapéuticas de las plantas con usos etnobotánicos, a través de técnicas científicas que permitan proporcionar información sobre las especies de plantas que poseen potenciales terapéuticos que aportan uno o varios beneficios para la salud.

Según la bibliografía, este trabajo podría considerarse como el primer registro sobre el tamizaje fitoquímico, los contenidos totales de carbohidratos, lípidos y proteínas, los contenidos totales de fenoles y flavonoides, la actividad antioxidante y la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de *Cucurbita ecuadorensis*. Los extractos etanólicos y clorofórmicos de los frutos y hojas de esta especie revelaron la mayoría de los metabolitos secundarios. Sin embargo, es importante destacar que los taninos, flavonoides, triterpenos, esteroides y cumarinas fueron los compuestos que contribuyen con la eliminación de radicales libres (actividad antioxidante). Los extractos evaluados de los frutos de *Cucurbita ecuadorensis* poseen un gran potencial de actividad antioxidante siendo cercanos a la propiedad antioxidante del ácido ascórbico (vitamina C).

El mesocarpio del fruto de *Cucurbita ecuadorensis* posee altos contenidos de carbohidratos, lípidos y proteínas, en comparación con los componentes nutricionales de los frutos de otras especies de la familia Cucurbitaceae, que son mayormente consumidos en el Ecuador y que poseen una alta demanda alimenticia a nivel mundial, como: *Citrullus lanatus* (sandía), *Cucumis melo* (melón), *Cucumis sativus* (pepino), *Momordica charantia* (achochilla), *Cucurbita maxima* (zapallo) y *Cucurbita ficifolia* (zambo).

Los altos contenidos de lípidos totales que posee el mesocarpio de los frutos de *C. ecuadorensis*, y el hecho de que los triterpenos podrían inhibir los componentes lipídicos, y reducir las concentraciones de colesterol en la absorción del intestino delgado (op. cit.), indican la factibilidad de poder realizar ensayos de consumo de los frutos de esta especie por sus propiedades medicinales, para contribuir a regular los elevados niveles de colesterol en seres humanos.

La actividad antibacteriana no fue satisfactoria en todos los extractos evaluados.

Esta investigación reporta importante información sobre el elevado potencial antioxidante y nutricional que poseen los frutos de *Cucurbita ecuadorensis*, por lo que podría considerarse como un efectivo suplemento nutricional con un gran potencial antioxidante natural.

Referencias

Bahramsoltani et al. (2017). Evaluation of phytochemicals, antioxidant and burn wound healing activities of *Cucurbita moschata* Duchesne fruit peel. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20: 798.

Bailon-Moscoco, N., Romero-Benavides, J., Tinitana-Imaicela, F. y Ostrosky-Wegman, P. (2015). Medicinal plants of Ecuador: a review of plants with anticancer potential and their chemical composition. *Medicinal Chemistry Research*, 24: 22832296.

Basch, E., Gabardi, S., y Ulbricht, C. (2003). Bitter melon (*Momordica charantia*): A review of efficacy and safety.

Am. J. Health-Syst. Pharm., 65: 356-359.

Bingham, S., Atkinson, C., Liggins, J., Bluck, L. y Cobarde, A. (1998). Fitoestrógenos: ¿Somos ahora? *Br. J. Nutr.*, 79: 393-406.

Blanco, M. T., Font, R., Martínez, D., y Del Río, M. (2015). Diversity of natural pigments and phytochemical compounds from exocarp and mesocarp of 27 *Cucurbita pepo* accessions. *Scientia Horticulturae*, 197: 357-365. doi:10.1016/j.scienta.2015.09.064

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.

Cano, D., Macías, C., Pereira, E., Dranguet, Y., Guzmán, V y Calzada, A. (2009). *Farmacología de las plantas medicinales*. Facultad de ciencias Médicas. Cuba. 1-13 pp.

Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI, 2016. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; Approved standard. M7-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Cutler, H. C y Whitaker, T. W. (1968). A New Species of *Cucurbita* from Ecuador. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 55: 392-396.

de la Torre, L., Muriel, P. y Balslev, H. (2006). Etnobotánica en los Andes del Ecuador. Universidad Mayor de San Andrés. 246-267.

de la Torre, L., H. Navarrete, P. Muriel., M. J. Macía y H. Baslev (eds.). (2008). Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA de la escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. Quito & Aarhus.

Dandawate, P. R., Subramaniam, D., Padhye, S. B., y Anant, S. (2016). Bitter melon: a panacea for inflammation and cancer. *Chinese journal of natural medicines*, 14(2), 81100.

Dar, P., Farman, M., Dar, A., Khan, Z., Munnir, R., Rasheed, A y Waqas, U. (2017). Evaluation of antioxidant potential and comparative analysis of antimicrobial activity of various extracts of *Cucurbita pepo* L. leaves. *Journal of Agricultural Science and Food Technology*. 3 (6). 103-109.

Deng, G.-F., Lin, X., Xu, X.-R., Gao, L.L., Xie, J.-F., y Li, H.-B. (2013). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 260-266. doi:10.1016/j.jff.2012.10.015

De Tommasi, N., De Simone, F., Speranza, G. y Pizza, C. (1999). Studies on the Constituents of *Cyclanthera pedata* Fruits: Isolation and Structure Elucidation of New Triterpenoid Saponins. *American Chemical Society*. Italy. 47, 4512-4519.

Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P y Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Ann. Chem.*, 28: 350-356.

El-Aziz, A. B., El-Kalek, H. A. y City, N. (2011). Antimicrobial proteins and oil seeds from pumpkin (*Cucurbita moschata*). *Nature and Science*, 9(3), 105-119.

Estrada, C., Sánchez, M., Alcántar J. (2018). Caracterización parcial del chilacayote (*Cucurbita ficifolia* Bouché), como alternativa de uso industrial para la región Cañada de Oaxaca. Universidad de Papaloapam. vol. 22 número 66.

Fang, C., Fernie, R., y Luo, J. (2018). Exploring the diversity of plant metabolism. *trends in plant science*. doi:10.1016/j.tplants.2018.09.006

García, A y Carril, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*. Madrid. 2(3).

Gudiel, L. (2009). Evaluación Fitoquímica y actividad antioxidante de *Polypodium triseriale* Sw. (calahuala). Trabajo de tesis. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Gurav, A., Mondal, D. B., y Vijayakumar, H. (2014). In vitro

- qualitative and quantitative phytochemical analysis of ethanolic and 50% ethanolic extracts of *Tinospora cordifolia*, *Momordica charantia*, *Cucurbita maxima* and *Raphanus sativus*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(5), 1937.
- Indrianingsih, A. W., Rosyida, V. T., Apriyana, W., Hayati, S. N., Nisa, K., Darsih, C., Kusumaningrum, A., Ratih, D y Indirayati, N. (2019). Comparisons of antioxidant activities of two varieties of pumpkin (*Cucurbita moschata* and *Cucurbita maxima*) extracts. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 251, No. 1, p. 012021). IOP Publishing.
- Iswaldi, I., Gómez, A., Lozano, J., Arráez, D., Segura, A., y Fernández, A. (2013). Profiling of phenolic and other polar compounds in zucchini (*Cucurbita pepo* L.) by reversephase high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Food Research International*, 50(1), 77-84.
- Jacobo, N., Maróstica, M. R., Zazueta, J. J., y Gallegos, J. (2011). Physicochemical, technological properties, and health-benefits of *Cucurbita moschata* Duchense vs. Cehualca; a Review. *Food Research International*. 25872593 pp.
- Jain, P y Joshi, H. (2012). Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. *Journal of applied pharmaceutical science*, 02 (06), 236-240.
- Jørgensen, P y León-Yáñez, S. (1999). Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. *Missouri Botanical Garden Press*, U.S.A., p. 1181.
- Karpagam, T., Varalakshmi, B., Bai, J. S., y Gomathi, S. (2011). Effect of different doses of *Cucurbita pepo* Linn extract as an antiinflammatory and analgesic nutraceutical agent on inflamed rats. *IJPRD* 2011, 3:184-192.
- Khan, M. S., Hussain, S. A., Matjais, A. M., Zakaria, Z. A., y Khan, M. (2011). Antiulcer activity of *Ficus religiosa* stem bark ethanolic extract in rats. *J. Med. Plant. Res* 5(3): 354-359.
- Konoshima, T et al. (1994). Inhibitory effects of cucurbitane triterpenoids on Epstein-Barr virus activation and two-stage carcinogenesis of skin tumors. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 17(5), 668-671.
- Koh, H. S. A., Lu, J., y Zhou, W. (2019). Structure characterization and antioxidant activity of fucoidan isolated from *Undaria pinnatifida* grown in New Zealand. *Carbohydrate polymers*, 212, 178-185.
- Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. 1ª ed. Ed. Ediciones Omega S.A. España.
- Kushawaha, D. K., Chatterji, S., Yadav, M., y Watal, G. (2016). Antimicrobial potential and preliminary phytochemical evaluation of *Cucurbita maxima* seeds. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 7, 578-582.
- Lira, R. (1995). Estudios Taxonómicos y Ecogeográficos de las Cucurbitaceae Latinoamericanas de Importancia Económica: *Cucurbita*, *Sechium*, *Sicana* y *Cyclanthera*. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Gene Pools.9. *International Plant Genetic Resources Institute*. Rome, Italy. 281p.
- Lock, O. (1998). Investigación Fitoquímica. 1ª ed. Ed. Pontificia Universidad Católica del Perú. Domínguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica. 1ª ed. pp 1-3.
- Lowry O., Rosenbrough H., Farr A. y Randall R. (1951). Protein measurement with the folinphenol reagent. *J. Biol. Biochem.*, 193: 265-275.
- Magassouba, F et al. (2010). Corrigendum to "Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine" [Journal of Ethnopharmacology 114 (1) (2007) 44-53]. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(3), 705-708.
- Moyo, M., Amoo, S. O., Ncube, B., Ndhhlala, A. R., Finnie, J. F., y Van Staden, J. (2013). Phytochemical and antioxidant properties of unconventional leafy vegetables consumed in southern Africa. *South African Journal of Botany*, 84, 65-71. doi:10.1016/j.sajb.2012.09.010
- Neill, D.A., Ulloa-Ulloa, C., 2011. Adiciones a la Flora de Ecuador: Segundo Suplemento, 2005-2010. *Fundación Jatun Sacha*, Quito-Ecuador.
- Noumedem, J. A. K., Mihan, M., Lacmata, S. T., Stefan, M., Kuate, J. R. y Kuete, V. (2013). Antibacterial activities of the methanol extracts of ten Cameroonian vegetables against Gram-negative multidrug-resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 1-9pp.
- Okunrobo O. L., Uwaya, O. J., Imafidon, E. K., Osarumwense, O. P., y Omorodion E. J. (2012). Quantitative determination, Metal analysis and Antilucer evaluation of Methanol seeds extract of *Citrullus lanatus* Thunb (Cucurbitaceae) in Rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. Benin-Nigeria. S8045808.
- Ortega, D. (2013). Utilización de la pulpa de zambo (*Cucurbita ficifolia*) en la elaboración de compotas como suplemento alimenticio infantil. Internet. <http://dspace.ucaecue.edu.ec/bitstream/reducacue/5403/4/Utilizaci%C3%B3n%20de%20la%20pulpa%20de%20zambo>, 20.
- Paganga, G., Miller, N y Rice-Evans, C. (1999). El contenido polifenólico de frutas y hortalizas y sus actividades antioxidantes. ¿Qué constituye una porción? *Radix libre*. Res. 30: 153-162.
- Petiard, V y Bariaud-Fontanel, A. (1987). El cultivo de células. *Mundo Científico* 7: 730-736.
- Pickersgill, B. (2007). Domestication of Plants in the Americas: Insights from Mendelian and Molecular Genetics. *Annals of Botany* 100: 925-940. doi:10.1093/aob/mcm193.
- Piperno, D. R., Andres, T. C., y Stothert, K. E. (2000). Phytoliths in *Cucurbita* and other Neotropical Cucurbitaceae and their Occurrence in Early Archaeological Sites from the Lowland American Tropics. *Journal of Archaeological Science*. 27:193-208.
- Plat, J et al (2019). Plant-based sterols and stanols in health y disease: "Consequences of human development in a plant-based environment?" *Progress in Lipid Research*. doi:10.1016/j.plipres.2019.02.003
- Pozner, R., y Novara, L. (2010). Cucurbitaceae. *Aportes Botánicos de Salta-Serie Flora*, 9(8), 1-57.
- Quispillo, J. (2013). Separación, purificación y posible identificación de metabolitos secundarios del escobillón rojo (*Callistemon speciosus*). Tesis de Grado. Riobamba-Ecuador.
- Ravishankar, K et al. (2012). Preliminary phytochemical screening and in-vitro antibacterial activity of *Cucurbita maxima* seed extract". *International journal of research in pharmacy and chemistry*, 2(1), 86-91.
- Rivas, C., Oranday, M. A., y Verde, M. J. (2016). Investigación en plantas de importancia médica. *Omnia Science*.
- Rondón, M et al. (2017). Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. *Journal of King Saud University - Science*. Guayaquil-Ecuador.
- Saha, P., Mazumder, U. K., y Haldar, P. K. (2011). In vitro antioxidant activity of *Cucurbita maxima* aerial parts. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(1), 42-48. doi:10.5530/ax.2011.1.8
- Salehi, B et al. (2019). Cucurbits Plants: A Key Emphasis to Its Pharmacological Potential. *Molecules*, 24(10), 1854.
- Semeniuk, L. V., Bela, A. J., Vonka, C. A., Romero, M. C., y Nuñez, M. B. (2018). Composición fitoquímica y nutricional de *Momordica charantia* y actividad antioxidante. *Dominguezia*, 34(1), 39-44.
- Siciliano, T., De Tommasi, N., Morelli, I., y Braca, A. (2004). Study of flavonoids of *Sechium edule* (Jacq) swartz (Cucurbitaceae) different edible organs by liquid chromatography photodiode array mass spectrometry. *J Agr Food Chem*. 52:6510-6515.
- Sieniawska, E y Baj, T. (2017). Tannins. In A, Hany; *Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature*.

- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152-178.
- Thiruvengadam, M., y Ill-Min, C. (2015) Phenolic compound production and biological activities from in vitro regenerated plants of gherkin (*Cucumis anguria* L.). *Electronic Journal of Biotechnology.* Korea Del Sur. 7pp.
- Torri, M. (2013). Perception and Uses of Plants from Reproductive Health among Traditional Midwives in Ecuador: Moving Towards Intercultural Pharmacological Practices. *Midwifery.* 29, 809- 817.
- Ulloa-Ulloa, C y Jørgensen, P. M. (1995). Árboles y arbustos de los Andes del Ecuador. Abya-Yala, Quito.
- Valencia, C. (1995). Fundamentos de Fitoquímica. Primera edición. Editorial Trillas. Mexico. 235p.
- Valenzuela, G. M., Cravzov, A. L., Soro, A. S., Tanguinas, A. L., Giménez, M. C., y Gruszycycki, M. R. (2014). Relación entre actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides totales en semillas de *Cucurbita* spp. *Dominguezia*, 30(1), 19-24.
- Vogelsang, E. (2011). Plantas Ornamentales y Fitomedicina. Revista de la Facultad de Agronomía. La Plata - Venezuela. LUZ. pp. 157.
- Wang, L., Liu, F., Wang, A., Yu, Z., Xu, Y., y Yang, Y. (2017). Purification, characterization and bioactivity determination of a novel polysaccharide from pumpkin (*Cucurbita moschata*) seeds. *Food hydrocolloids*, 66, 357-364.
- Williams, D., Stone, M., Hauck, P., y Rahman, S. (1989). ¿Por qué se metabolizan los metabolitos secundarios (productos naturales)? *Diario de productos naturales*, 52 (6), 11891208. Doi: 10.1021 / np50066a001
- Yenda, B., V-Rao, B y Rao, G. (2014). In vitro antioxidant activity studies on leaves of *Cucurbita maxima*. *Int. J. Adv. Res. Sci Technol.* (4): 241-244.
- Yue, J., Xu, J., Cao, J., Zhang, X y Y, Zhao, (2013). Cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* L. and their inhibitory activity against α -glucosidase, amylase and protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B). *Journal of Functional Foods.* China. 37: 624-631.
- Zhishen, J., Mengcheng T y W. Jianming. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64:555-559.