



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA MEDICINA

Determinación de la actividad biológica de metabolitos fitoquímicos acuosos
extraídos de granos andinos

Trabajo de titulación para optar al título de Médico General

Autoras:

Larrea Martínez, Andrea Mishell

Sánchez Tixe, Nelly Pricila

Tutor:

Dr. Djabayan Djibeyan Pablo

Riobamba, Ecuador. 2023

DERECHOS DE AUTORÍA

Nosotras Andrea Mishell Larrea Martínez - Nelly Pricila Sánchez Tixe con cédula de ciudadanía 0603739301 y 0605018548, autoras del trabajo de investigación titulado: Determinación de la actividad biológica hemoaglutinante, anticoagulante, antimicrobiana y citotóxica de metabolitos fitoquímicos acuosos extraídos de granos andinos, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de nuestra entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, a los 19 días del mes de junio de 2023



Andrea Mishell Larrea Martínez
C.I: 0603739301



Nelly Pricila Sánchez Tixe
C.I: 0605018548

DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL

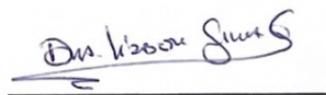
Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado del trabajo de investigación “Determinación de la actividad biológica hemoaglutinante, anticoagulante, antimicrobiana y citotóxica de metabolitos fitoquímicos acuosos extraídos de granos andinos” por Andrea Mishell Larrea Martínez - Nelly Pricila Sánchez Tixe, con cédula de identidad número 0603739301 y 0605018548, emitimos el DICTAMEN FAVORABLE, conducente a la APROBACIÓN de la titulación. Certificamos haber revisado y evaluado el trabajo de investigación y cumplida la sustentación por parte de sus autores; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 30 días del mes de junio de 2023

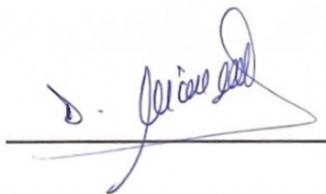
Dr. Patricio Vásconez
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



Dra. Lizbeth Silva
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



Dr. Wilson Nina
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



Dr. Pablo Djabayan Djibeyan
TUTOR



CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

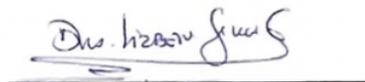
Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación “Determinación de la actividad biológica hemoaglutinante, anticoagulante, antimicrobiana y citotóxica de metabolitos fitoquímicos acuosos extraídos de granos andinos” por Andrea Mishell Larrea Martínez - Nelly Pricila Sánchez Tixe, con cédula de identidad número 0603739301 y 0605018548, bajo la tutoría de Dr. Pablo Djabayan Djibeyan; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de sus autores; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 30 días del mes de junio de 2023

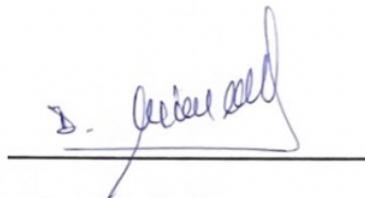
Dr. Patricio Vásquez
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



Dra. Lizbeth Silva
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



Dr. Wilson Nina
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO





UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO CID
Ext. 1133

Riobamba 27 de junio del 2023
Oficio N° 54-2023-1S-URKUND-CID-2023

Dr. Patricio Vásconez
DIRECTOR CARRERA DE MEDICINA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNACH
Presente.-

Estimado Profesor:

Luego de expresarle un cordial saludo, en atención al pedido realizado por el **Dr. Pablo Djabayan**, docente tutor de la carrera que dignamente usted dirige, para que en correspondencia con lo indicado por el señor Decano mediante Oficio N° 0383-D-FCS-ACADÉMICO-UNACH-2023, realice validación del porcentaje de similitud de coincidencias presentes en el trabajo de investigación con fines de titulación que se detalla a continuación; tengo a bien remitir el resultado obtenido a través del empleo del programa URKUND, lo cual comunico para la continuidad al trámite correspondiente.

No	Documento número	Título del trabajo	Nombres y apellidos del estudiante	% URKUND verificado	Validación	
					Si	No
1	0195-D-FCS-16-03-2023	Determinación de la actividad biológica de metabolitos fitoquímicos acuosos extraídos de granos andinos	ANDREA MISHELL LARRERA MARTINEZ NELLY PRICILA SANCHEZ TIXE	7	x	

Atentamente,

0603371907
GINA
ALEXANDRA
PILCO
GUADALUPE
Firmado digitalmente
por 0603371907 GINA
ALEXANDRA PILCO
GUADALUPE
Fecha: 2023.06.27
16:40:01 -05'00'

PhD. Alexandra Pilco Guadalupe
Delegado Programa URKUND
FCS / UNACH
C/c Dr. Gonzalo E. Bonilla Pulgar – Decano FCS

DEDICATORIA

El resultado del presente trabajo investigativo es imprescindible que lo dediquemos no solo al área de investigación médica, sino a todas aquellas personas con enfermedades tromboembólicas o infecciosas, que podrían beneficiarse tras la utilización de los resultados de este estudio. De la misma forma agradecer a Dios por permitirnos cumplir con nuestras aspiraciones día a día, al brindarnos salud y vida.

A nuestros padres, hermanos, abuelos y nuestros mejores amigos por el apoyo incondicional durante nuestra formación académica en la Universidad Nacional de Chimborazo. De la misma forma a nuestros docentes por compartir sus conocimientos y ayudarnos a formar no solo en el ámbito profesional, sino también personal, para poder desempeñarnos de la mejor manera en el ámbito laboral como futuros médicos generales.

Con cordialidad

Andrea Mishell Larrea Martínez

Nelly Pricila Sánchez Tixe

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradecer a Dios, por todas sus bendiciones durante la realización de este proyecto y nuestra formación académica. A nuestros familiares y amigos por brindarnos su apoyo y consejo, para siempre seguir adelante pese a las dificultades y obstáculos que se pudieran presentar. A nuestros docentes, por incentivarlos y brindarnos su conocimiento y experiencia en las diversas cátedras, para formarnos como excelentes profesionales de la salud. Al Hospital José María Velazco Ibarra junto al Hospital General Docente Riobamba, por acogernos durante nuestro año de internado y permitir poner en práctica nuestros conocimientos con la atención de pacientes en sus diversos departamentos. Y por último a nuestra magna Universidad Nacional de Chimborazo por garantizar nuestra formación académica en sus instalaciones, para poder desempeñarnos como médicos en el ámbito laboral.

ÍNDICE GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA

DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

CERTIFICADO ANTIPLAGIO

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

RESUMEN

ABSTRAC

CAPITULO I.....	14
1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1. OBJETIVOS.....	16
1.1.1. GENERAL.....	16
1.1.2. ESPECÍFICOS.....	17
CAPÍTULO II.....	18
2. MARCO TEÓRICO.....	18
CAPÍTULO III.....	26
3. METODOLOGÍA.....	26
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	26
3.2. POBLACIÓN.....	26
3.3. MUESTRA.....	26
3.4. VARIABLES DE ESTUDIO.....	26
3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	26
3.6. MÉTODOS DE ESTUDIO.....	27
3.7. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	27

CAPÍTULO IV	32
4. RESULTADOS	32
4.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEMOAGLUTINANTE	32
4.1.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE	33
4.1.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	34
4.1.3. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA	35
4.2. DISCUSIÓN	36
CAPITULO V	41
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	41
5.1. CONCLUSIONES	41
5.2. RECOMENDACIONES	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Técnica para evaluar la actividad anticoagulante de los fitoquímicos sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca (TP).....	28
Tabla 2. Técnica para evaluar la actividad anticoagulante de los fitoquímicos sobre las proteínas de la coagulación de la vía intrínseca (TTPa)	28
Tabla 3. Clasificación de la toxicidad (CL50) para extractos vegetales expresada en µg/mL .	30
Tabla 4. Porcentaje de nauplios de <i>Artemia salina</i> muertos con SDS	30
Tabla 5. Actividad hemoaglutinante de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos en estudio	32
Tabla 6. Titulación de los extractos acuosos obtenidos de <i>Amaranthus hybridus</i> L. (Sangorache o Ataco) y <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet (Chocho) con glóbulos rojos del grupo sanguíneo A, B y O humanos no tratados enzimáticamente.	33
Tabla 7. Actividad anticoagulante de los extractos de los granos andinos Chocho (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) y Sangorache (<i>Amaranthus hybridus</i> L.) sobre el pool de plasma citratado.....	34
Tabla 8. Actividad antibacteriana de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos estudiados contra especies ATCC bacterianas, medida como halos de inhibición en milímetros (mm).	34
Tabla 9. Actividad antimicótica de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos estudiados contra especies ATCC de levaduras, medida como halos de inhibición en milímetros (mm).	35
Tabla 10. Porcentaje de nauplios de <i>Artemia salina</i> muertos con Extracto acuoso de Chocho	35
Tabla 11. Porcentaje de nauplios de <i>Artemia salina</i> muertos con Extracto acuoso de Sangorache	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Gráfico 1. Cascada de la coagulación	24
Gráfico 2. Dosis de letalidad de nauplios de Artemia salina	31

RESUMEN

Los granos andinos se encuentran entre los alimentos que han sido estudiados como fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica, que además forman parte de muchos sistemas de consumo y producción familiar en la sierra andina. Mediante el presente estudio se pudo determinar la presencia de fitoquímicos y su actividad biológica en los granos del sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) y del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), los resultados fueron contrastados con la información publicada en la bibliografía científica especializada que da cuenta del hallazgo de fitoquímicos con actividad biológica hemoaglutinante, anticoagulante, antimicrobiana y citotóxicas en los granos en general y en particular en granos andinos.

Dentro de los resultados obtenidos se demostró la presencia de fitoaglutininas (lectinas) en los dos granos andinos estudiados, a través de la capacidad de sus extractos acuosos para aglutinar eritrocitos humanos de forma no selectiva. Además, presentan una importante actividad anticoagulante actuando sobre las proteínas plasmáticas de la coagulación tanto de la vía extrínseca como de la vía intrínseca. Su actividad antimicrobiana reveló que ambos extractos acuosos obtenidos del chocho y sangorache inhibieron el crecimiento bacteriano de la cepa ATCC gram (+) de *Staphylococcus aureus* y de la cepa gram (-) de *Proteus mirabilis*. Sin embargo, los extractos no tuvieron ningún efecto antibacteriano contra *E. fecalis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*. Adicionalmente se constató que solo el extracto acuso del chocho, presento un porcentaje de toxicidad del 50% sobre los nauplios de *Artemia salina* en una concentración de 1000ug/ml en 24h.

Palabras clave: actividad biológica, hemoaglutinina, anticoagulante, antimicrobiano, citotóxico, fitoquímicos, grano andino

ABSTRACT

Andean grains are among the foods that have been studied as a source of secondary metabolites with biological activity, which are also part of many family consumption and production systems in the Andean highlands. Through the present study was possible to determine the presence of phytochemicals and their biological activity in the grains of sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) and chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), the results contrasted with the information published in the specialized scientific bibliography that gives account of the finding of phytochemicals with hemagglutinating, anticoagulant, antimicrobial and cytotoxic biological activity in grains in general and particularly in Andean grains. Among the results obtained, the presence of phytoagglutinins (lectins) demonstrated in the two Andean grains studied, through the ability of their aqueous extracts to agglutinate human erythrocytes in a non-selective manner. In addition, It significant anticoagulant activity by acting on plasmatic coagulation proteins of both the extrinsic and intrinsic pathways. Its antimicrobial activity revealed that both aqueous extracts obtained from lupine and sangorache inhibited the bacterial growth of the ATCC gram (+) strain of *Staphylococcus aureus* and the gram (-) strain of *Proteus mirabilis*. However, the extracts did not have any antibacterial effect against *E. fecalis*, *E. coli* and *K. pneumoniae*. Additionally, it verified that only the aqueous extract of the chocho, presented a percentage of toxicity of 50% on *Artemia salina* nauplii in a concentration of 1000ug/ml in 24h.

Keywords: biological activity, hemagglutinin, anticoagulant, antimicrobial, cytotoxic, phytochemicals, Andean grain



Firmado electrónicamente por:
MARITZA DE LOURDES
CHAVEZ AGUAGALLO

Reviewed by:
Mgs. Maritza Chávez Aguagallo
ENGLISH PROFESSOR
c.c. 0602232324

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN.

Históricamente los nativos americanos han utilizado conocimientos medicinales ancestrales para tratar diversas enfermedades, principalmente con el uso de plantas medicinales, al explotar su potencial farmacológico como analgésicos, agentes antiinflamatorios, antioxidantes, agentes antihipertensivos, agentes antibacterianos, antidiarreicos y antitumorales. Las plantas medicinales contienen diversos fitoquímicos, conocidos como metabolitos secundarios, cuyos principios activos son responsables de los efectos terapéuticos que brindan a las plantas sus propiedades medicinales, ya sea solos o en conjunto determinan el valor terapéutico de estas plantas (1).

Entre los principales fitoquímicos reportados en la literatura científica encontramos polifenoles (taninos, florotaninos y flavonoides), saponinas, antraquinonas, terpenoides, esteroides, alcaloides, carbohidratos y glucósidos. Por lo tanto, es recomendable la utilización de estas plantas, que han sido empleadas en todo el mundo con el pasar de los años. Además, la comunidad científica ha sugerido la realización de más proyectos de investigación para aislar, purificar y caracterizar los fitoquímicos responsables de esta actividad biológica. (2).

Estos metabolitos secundarios son moléculas vegetales y marinas de diversas estructuras, que se modifican mediante síntesis química orgánica, por química de productos naturales y genética química para transformarlos en un nuevo potencial agente quimioterapéutico, más seguro y más eficaz, aumentando los suministros de medicamentos que permiten el tratamiento de enfermedades infecciosas y no infecciosas crónicas (3).

En nutrición, el paradigma alimentario ha cambiado de simplemente sobrevivir y satisfacer las necesidades básicas a uno que implica encontrar alimentos que no tengan efectos nocivos, sino que promuevan la salud y reduzcan el riesgo de contraer enfermedades crónicas, además de adquirir los beneficios de las proteínas, los carbohidratos, los minerales y las vitaminas presentes en los alimentos; los estudios científicos demuestran que también contienen compuestos bioactivos que ayudan a prevenir las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la desnutrición y la obesidad. (4).

Los granos andinos han sido estudiados como fuentes de metabolitos secundarios biológicamente activos; estos productos también forman la base de muchos sistemas productivos locales en el altiplano andino, los cuales están íntimamente relacionados con su historia, usos, costumbres y saberes ancestrales. Aunque Anaya-González et al. informan que se ha estudiado el uso de estos productos vegetales en la medicina ancestral en la provincia de Huamanga, Ayacucho, Perú. (5).

Sin embargo, con el paso de los años se ha incrementado el estudio de los granos andinos en la búsqueda de fitoquímicos, entre ellos: la quinoa o quinua, un pseudo-cereal cultivado en el altiplano andino hace más de 7.000 años e introducido por los incas al ser considerado como “Grano Madre”, cultivado en Bolivia, Perú, Ecuador y el sur de Colombia. Teniendo como función el prevenir las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), además de poseer una excelente fuente de compuestos bioactivos que aumentan con el tratamiento térmico y la germinación, sin mencionar sus efectos antioxidantes, citotóxicos, antidiabéticos y antiinflamatorios (6) (7).

Según las autoras del presente estudio, el auge de diversas enfermedades infecciosas y metabólicas que se encuentran alrededor del mundo son abordadas en la cosmovisión andina con plantas medicinales que recogen saberes médicos ancestrales y que tradicionalmente se utilizan para tratar estas afecciones o trastornos de la salud.

Ante la resistencia de los microorganismos a los efectos de los fármacos antimicrobianos y el aumento del número de enfermedades crónicas no infecciosas tratadas con fármacos alopáticos con importantes efectos secundarios, la Organización Mundial de la Salud ha animado a la comunidad científica, especialmente a las organizaciones científicas médicas y biológicas para llevar a cabo proyectos de investigación en el campo de los productos naturales destinados a encontrar compuestos bioactivos que puedan abordar los crecientes problemas de salud pública mundial (8). Ante el planteamiento de este problema cabe preguntar ¿Poseen actividad biológica hemoaglutinante, anticoagulante, antimicrobiana y citotóxica los metabolitos fitoquímicos acuosos extraídos de granos andinos?

Para responder a esta interrogante se realizó este estudio, el cual permitió determinar la presencia y actividad biológica de fitoquímicos en granos andinos, especialmente en el sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) y el chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). Los resultados se compararon con información publicada en referencias científicas especializadas, esclareciendo los fitoquímicos que se encuentran en los granos en general y en los granos andinos en particular con actividades biológicas hemoaglutinantes, anticoagulantes, antibacterianas y citotóxicas.

La medicina natural ancestral es la realidad subyacente, no solo a nivel local y nacional, sino en todas las regiones del mundo, pues reflejan las tradiciones, costumbres, creencias y saberes de nuestros antepasados sobre la medicina curativa. A partir de los siglos XVIII y XIX, la investigación química, el auge de los antibióticos, la industria farmacéutica y la fructífera relación entre la química y la medicina, desplazaron a un segundo plano el dominio de la medicina natural ancestral con sus medicamentos secos y extractos (9). Sin embargo, en 1976, con la ayuda de los Acuerdos de Alma-Ata, se reconoció e incluyó en la atención primaria la importancia de la medicina tradicional y su contribución a la salud humana (10).

Desde la época colonial y hasta el día de hoy, los pueblos indígenas han insistido en la inclusión de ciertos aspectos de la cultura, especialmente los aspectos médicos, espirituales y educativos, los artículos 3, 25, 32, 57, 360, 363 etc. de la Constitución del Ecuador de 2008 aseguran que se protegen las prácticas de medicina tradicional de sus ancestros y conocimientos. Por otra parte, la Ley de Orgánica de Salud, en los artículos 189 y 190, estipula el respeto y divulgación de la medicina tradicional ancestral. (11).

Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), en el país viven 14 pueblos indígenas con una población total de más de un millón. La provincia de la sierra con mayor población indígena rural es Chimborazo, con una población de 161.190 en 2010. (12). Según las autoras, las comunidades tradicionalmente utilizan medicinas ancestrales e integran como parte importante de su dieta a los granos andinos, es por ello que el detectar la presencia de metabolitos secundarios (fitoquímicos) y su actividad biológica, contribuyen a obtener información sobre posibles efectos terapéuticos que podrían causar mediante su acción biológica, en la prevención y control de enfermedades crónicas no transmisibles e infecciones como tratamientos complementarios para asegurar una mejor calidad de vida.

Actualmente, se investiga e incrementa el uso de fitoquímicos de origen vegetal para desarrollar nuevos medicamentos (fitofármacos), que puedan ser utilizados como tratamientos alternativos o complementarios que tienen un comportamiento en el organismo similar a las drogas sintéticas y pueden causar efectos secundarios o cierto grado de toxicidad. Algunas plantas al ser consumidas en conjunto con medicamentos convencionales, pueden inhibir o potenciar sus efectos farmacológicos (13).

Los elementos antes descritos han permitido fundamentar científicamente una investigación adecuada, que logre aislar el principio activo del fitoquímico que podría ser producido como un fitofármaco en la forma farmacéutica magistral más conveniente, como ejemplo se puede mencionar la actividad biológica anticoagulante de los metabolitos secundarios, que podría ser de ayuda en mejorar la calidad de vida de los pacientes que padezcan de enfermedad coronaria, fibrilación auricular, reemplazos de válvulas cardíacas, riesgos de coágulos en las cirugías, entre otros (14).

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. GENERAL

Determinar la actividad biológica hemoaglutinante, anticoagulante, antimicrobiana y citotóxica de metabolitos fitoquímicos acuosos extraídos de los granos andinos *Amaranthus hybridus* L. (Sangorache o Ataco) y *Lupinus mutabilis* Sweet (Chocho)

1.1.2. ESPECÍFICOS

- Obtener los fitoquímicos mediante extractos acuosos de las especies provenientes plantas seleccionadas y determinar actividad biológica.
- Determinar la actividad hemoaglutinante del chocho y sangorache.
- Demostrar la actividad anticoagulante del chocho y sangorache.
- Determinar la actividad antimicrobiana del chocho y sangorache, frente a bacterias Gram positivas, negativas y a levaduras de los fitoquímicos.
- Demostrar la actividad citotóxica de los extractos acuosos determinando la dosis letal 50 utilizando el crustáceo branquiópodo *Artemia salina*.

CAPÍTULO II.

2. MARCO TEÓRICO.

Los fitoquímicos generalmente se dividen en dos categorías según su función en los procesos metabólicos, pueden ser primarias o secundarias, las primeras involucradas en actividades vitales básicas muy similares en todas las células, mientras que las segundas son producidas por las células vegetales a través de las vías metabólicas derivadas de las vías metabólicas primarias, las plantas medicinales deben sus efectos farmacológicos a los metabolitos secundarios, que alivian las enfermedades tratadas por la medicina tradicional, y son también la fuente de los principios activos de los que nacen los medicamentos que sirven para tratar patologías desde la migraña al cáncer (15).

Los metabolitos secundarios no solo son un grupo importante de productos naturales, sino que también forman una parte importante del sistema de defensa de la planta contra patógenos y estrés ambiental, además tienen implicaciones biológicas prominentes que justifican su uso como materia prima, que hace posible su uso como ingredientes y aditivos culinarios con fines terapéuticos (16).

Como se mencionó anteriormente, los granos generalmente contienen fitoquímicos, según el estudio de Siyuan et al. en 2018, informaron que los cereales integrales contienen altos niveles de fitoquímicos, lo que reduce el riesgo de enfermedades agudas. Con eso en mente, los investigadores informaron que el maíz, el grano más consumido en el mundo, tiene un perfil nutricional único de vitaminas A, B, E y K, minerales Mg, P, K, además de fitoquímicos: ácidos fenólicos (ácido ferúlico, ácido cumárico, ácido siríngico), carotenoides, flavonoides (antocianinas) y fibra. La evidencia científica muestra que el consumo regular de cereales integrales reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, obesidad y mejora la digestión. (17).

Los fitoquímicos se utilizan actualmente como tratamientos complementarios contra el cáncer, especialmente para reducir los efectos secundarios de los tratamientos convencionales como la resección quirúrgica, la quimioterapia y la radioterapia. Por ejemplo, un estudio para determinar el efecto de la combinación de agentes antirresortivos epigalo-3-catequingalato (EGCG) y ácido zoledrónico (ZA), mediante el examen de la viabilidad, la mineralización, el depósito de colágeno y la migración en los osteoblastos; se descubrió que estos fitoquímicos reducían la viabilidad, aumentaban la apoptosis, alteraban el ciclo celular y disminuían la migración, teniendo un efecto quimioterapéutico en el cáncer bucal, contribuyendo a reducir los efectos secundarios del tratamiento (18).

Otro ejemplo es un estudio realizado por Vera Karla entre los años 2013-2017 con 113 mujeres lactantes en Argentina, que encontró que los alimentos de origen vegetal reducían ciertas

enfermedades crónicas no transmisibles. Esto se debe al aporte de antioxidantes quimiopreventivos, por lo que es fundamental consumir una dieta adecuada, especialmente vegetales que contengan antioxidantes y anticoagulantes derivados de los alimentos. (19).

La Amazonía ecuatoriana contiene una gran variedad de plantas aún no estudiadas, que representan un vasto reservorio de fitoquímicos con beneficios terapéuticos potenciales. En este sentido, el estudio de Navas-Flores et al. (2021), cuyo objetivo fue encontrar plantas de la Amazonía que contuvieran látex y resina que pudieran ser utilizadas como agentes embolizantes, en donde se pudieron identificar 33 plantas, cinco de las cuales (Sapotaceae: *Pouteria caimito*, Apocynaceae: *Lacmellea spaciola*, Moraceae: *Ficus yoponensis*, Euphorbiaceae: *Sapium glandulosum*), se consideraron altamente tóxicas según los criterios de Williams para toxicidad aguda y subaguda, sin embargo, poseen un alto contenido de resina que podría ser utilizada como agente embolizante. (20) .

También hay plantas en el altiplano ecuatoriano en las que se están investigando fitoquímicos con actividad biológica, con beneficio terapéutico. Un estudio fitoquímico de extractos etanólicos de hojas y ramas de *Hedyosmum* sp, recolectadas en el bosque natural de Jacarón, Chimborazo, han aislado metabolitos secundarios (fitoquímicos) con actividad antibacteriana contra cepas ATCC Gramnegativas (21).

En otro estudio, esta vez en la ciudad de Machala, El Oro, Ecuador, se inventariaron en un mercado local plantas medicinales identificadas en la medicina ancestral como efectivas contra la diabetes y se identificaron como: *Artemisia absinthium*, *Cynara scolymus*, *Schkuhria pinnata*, *Chuquiraga jussieui* y *Taraxacum officinale*. Cuando se investigaron los efectos antidiabéticos y la toxicidad aguda de los extractos de estas plantas medicinales en ratas Wistar (hembras) y ratones OF1 (hembras); solo las especies *C. scolymus*, *A. absinthium* y *T. officinale* fueron antidiabéticos sin efectos tóxicos agudos a dosis de 2.000 mg/kg. Los autores concluyeron que la actividad antioxidante de estas plantas podría utilizarse como posible terapéutica para la prevención y control de la diabetes (22).

Para estudiar las partes aéreas de la planta *Lupinus angustifolium* en busca de metabolitos secundarios, Erdemoglu et al. (2007) evaluaron la bioactividad en Turquía y demostraron actividad antibacteriana contra bacterias y levaduras, informando del aislamiento de 15 alcaloides que inhibían el crecimiento de las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, así como de las levaduras: *Candida albicans* y *Candida krusei* (23).

Asimismo, Cuadrado et al. (2015) evaluaron la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos etanólicos obtenidos del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) y del sangoroche o ataco (*Amaranthus hybridus* L.) entre otros, sobre las bacterias *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Escherichia coli* (ATCC-9637), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC-10031), *Micrococcus*

flavus (ATCC-14452), *Candida albicans* (ATCC-10231) y *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC-2601) reportando que el extracto etanólico obtenido de los granos del chocho no exhibieron actividad antibacteriana, sin embargo, los extractos obtenidos de las hojas y flores inhibieron discretamente el crecimiento de *S. aureus*, *E. coli* y *M. flavus* (24).

Para el sangorache, el extracto obtenido del grano inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus*: el extracto obtenido de la hoja inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *E. coli*, y el extracto obtenido de la mazorca también inhibe el crecimiento de *S. aureus* y *K. pneumoniae* (24).

Con respecto a la actividad antifúngica, Cuadrado et al. (2015) determinaron que los extractos de hojas y flores del chocho inhibieron de manera similar el crecimiento de *C. albicans* y *S. cerevisiae*, mientras que las hojas, granos y panoja del Sangorache inhibieron el crecimiento de *C. albicans* (24).

En otro estudio realizado por Coloma Ramírez en 2010, reveló que los alcaloides presentes en extracto acuoso liofilizados obtenido en el proceso de desamargado del chocho no exhibieron actividad antimicótica contra las especies *Candida albicans* ATCC 10231, *Mycosporum canis* ATCC 10214 y *Trichophyton rubrum* ATCC 22402, concluyendo que se deben aplicar técnicas de purificación de los alcaloides para evaluar su efecto sobre estos hongos (25).

De igual manera, un estudio realizado por Rodríguez Basantes (2010) reportó que el extracto acuoso liofilizados obtenido en el proceso de desamargado del chocho a dosis altas inhibió el crecimiento de: *Staphylococcus aureus* ATCC 13709; *Escherichia coli* ATCC 9637; *Salmonella gallinarum* ATCC 9184; *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031; *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607; *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 (26).

Esta actividad antimicrobiana también se evaluó en los extractos proteicos desengrasados semipurificados y purificados obtenidos de semillas de sangorache (*Amaranthus hybridus* L.), frente a las siguientes bacterias patógenas *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* β -hemolíticos del grupo G y C, *Micrococcus luteus* y *Escherichia coli*. El resultado reportado demostró la inhibición del crecimiento de *E. coli*, *S. marcescens* y *Streptococcus* β -hemolíticos del grupo G y C (27).

De igual manera se evaluó la actividad antimicótica de extractos metabólicos y etanólicos de las especies *Amaranthus deflexus* L, *Amaranthus retroflexus* L. y *Amaranthus hybridus* L. contra las especies fúngicas *Penicillium verrucosum* var. *Verrucosum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus niger*, el resultado indicó que los extractos: etanólicos obtenido de las flores de *Amaranthus deflexus* L. y de *Amaranthus hybridus* L., etanólico obtenido de las raíces de *Amaranthus retroflexus* L.; y metanólico de

hojas y tallo de *Amaranthus retroflexus* L. inhibieron el crecimiento de todas las cepas micóticas evaluadas (28).

La actividad antimicrobiana de extractos obtenidos con solventes orgánicos de las hojas de *Amaranthus hybridus* L. mediante el ensayo de difusión en disco, revelaron que todos los extractos evaluados inhibieron el crecimiento de: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Aspergillus niger*, los autores concluyen indicando que las hojas de *A. hybridus* poseen compuestos bioactivos que contribuyen a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. (29)

Especies del género *Amaranthus* estudiadas por Al-mamum et al. (2016) *Amaranthus lividus* y *Amaranthus hybridus*, utilizando extractos apropiados de tallo y semillas respectivamente, fueron evaluados para determinar la actividad biológica antioxidante, hemoaglutinante, antiproliferativa y antimicrobiana; los resultados publicados revelaron que ambas especies: poseen un potencial antioxidante, contienen lectinas que aglutinaron la sangre de ratones, inhibieron el crecimiento de las células de carcinoma de ascitis de Ehrlich (CAE) en ratones albinos suizos y no inhibieron el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi* y *Staphylococcus aureus* (30).

La evaluación de la actividad hemoaglutinante de un extracto acuoso de los granos del chocho (*Lupinus mirabilis* Sweet) obtenido en solución salina fisiológica permitió demostrar la presencia de una lectina capaz de aglutinar selectivamente a los grupos sanguíneo humanos B y AB a una temperatura de 4 °C, esta aglutinación no fue observada a temperatura ambiente de 25 °C (31). Otro estudio realizado en granos de las especies del género *Amaranthus* (*Amaranthus cruentus*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaranthus caudatus* L. y *Amaranthus pumilus*) para evaluar la actividad hemoaglutinante de los extractos acuosos crudos y precipitados en búfer fosfato salino (PBS), demostró la presencia de Lectinas que aglutinaron fuertemente, aunque de manera no selectiva, los eritrocitos humanos de los grupos sanguíneos A, B, AB y O, adicionalmente eritrocitos de ratones y perros (32).

Sabbione en 2015 reportó la actividad antitrombótica de las proteínas obtenidas con tratamiento enzimático con proteasas comerciales de los granos de amaranto de las especies *Amaranthus mantegazzianus* y *Amaranthus hypochondriacus*, los resultados mostraron que este tratamiento generó péptidos con mayor bioactividad, aumentando actividad antitrombótica in vitro, demostrada mediante el alargamiento del Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa) en la fracción albuminas y con el alargamiento del Tiempo de Trombina (TT) y del Tiempo de Protrombina (TP) con las fracciones gluteinas y gluteinas hidrolizadas (33).

En otro estudio se evaluó el potencial trombolítico del extracto etanólico de las hojas de *Amaranthus spinosus* (Katamarish), utilizando a la estreptoquinasa como control positivo y agua como control negativo, los resultados revelaron una actividad trombolítica del extracto del

41,87%, el control positivo del 86,20% y el control negativo un 5,20% de actividad coagulante, concluyen los autores que el extracto etanólico de las hojas de *Amaranthus spinosus* (Katamarish) posee propiedades trombolíticas in vitro y proponen realizar estudios que permitan establecer el posible uso del Katamarish como agente trombolítico en el tratamiento de pacientes que sufren enfermedades trombo-oclusivas (34).

Como ya fue indicado *Amaranthus hybridus* posee fitoquímicos que le confieren actividad antimicrobiana y antioxidante, adicionalmente, en un estudio realizado por Chinko et al. en 2020, se evaluó los efectos de extractos etanólicos de *A. hybridus* sobre el recuento plaquetario sanguíneo, el tiempo de protrombina (PT) y el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa) en ratas Wistar, que fueron alimentadas con los extractos etanólicos evaporados preparados a una concentración de 30 y 60 mg/Kg por 28 días, con un grupo control que fue alimentado con agua destilada, los resultados arrojaron un aumento del recuento plaquetario estadísticamente significativo ($p < 0,05$) respecto del grupo control, mientras que se redujo significativamente el TP y el TTPa en comparación con los animales de control, de manera estadísticamente significativa ($p < 0,05$) (35).

En un estudio realizado por Castañeda et al. (2002), se evaluó la actividad tóxica del extracto acuoso obtenido por cocimiento de los granos de *Lupinus mutabilis* en ratones *Mus musculus* cepa Balb C53, determinándose que la dosis letal 50 (DL50) fue de 3.500 mg/Kg en el extracto acuoso y de 600 mg/Kg para los alcaloides totales purificados, estableciendo que esta especie se ubica dentro de plantas ligeramente tóxicas (36).

Con relación a las especies que se pretende estudiar en el presente proyecto, sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) y chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), Djabayan-Djibeyan et al. en 2022 reportaron la actividad biológica de las lectinas obtenidas a partir de extractos acuosos de los granos, ambas especies mostraron poseer una fuerte actividad hemoaglutinante inespecífica contra eritrocitos humanos de los grupos A, B y O. En relación con la actividad anticoagulante *Lupinus mutabilis* (chocho) inhibió completamente las proteínas plasmáticas de la coagulación de la vía intrínseca y parcialmente las de la vía extrínseca, mientras que *Amaranthus caudatus* L. (amaranto) no mostró poseer efecto sobre las proteínas de la vía extrínseca, pero si una acción parcial sobre las proteínas de la vía intrínseca. Ninguna actividad antibacteriana fue reportada para estas dos especies (37).

Por otra parte, la *Artemia* spp. se divide en seis especies bisexuales conocidas en un gran número de poblaciones partenogénicas, es decir especies en donde la hembra consigue tener descendencia sin que se produzca la fecundación. Se caracterizan por una buena adaptabilidad en un amplio rango de salinidad de 5-250 g L⁻¹ y temperaturas de 6-35 °C. Tienen un ciclo de vida corto, alta fecundidad y se pueden obtener al eclosionar de quistes. Además, las Artemias son ideales para estudios toxicológicos porque ofrecen fácil implementación, eficiencia y alto costo-beneficio en relación con las prácticas de laboratorio. *Artemia* spp. se puede utilizar en

pruebas de toxicidad a corto y a largo plazo para identificar posibles sustancias químicas peligrosas en muestras de agua, fármacos efectivos, extractos de plantas, residuos químicos, ambientes áridos y, más recientemente, las propiedades de toxicidad de los nanomateriales. *Artemia* spp. representan organismos eurihalinos adecuados y fáciles de usar que pueden adaptarse a salinidades desde 10 partes por mil (ppt) hasta ambientes hipersalinos. La prueba de toxicidad aguda con camarones de salmuera (*Artemia* spp.) está diseñada para exponer un número conocido de larvas de *Artemia* en estadio II y III a un compuesto de levadura en una solución salina acuosa durante 24 horas. Después de este tiempo, se cuantifica el número de organismos muertos para determinar la toxicidad letal (38).

ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS

LA HEMAGLUTINACIÓN

Es la aglutinación de glóbulos rojos; una respuesta biológica común contra ciertos microorganismos como los virus y se usa a menudo en técnicas de tipificación o clasificación de grupos sanguíneos o carga de virus. La hemaglutinación es causada por la presencia de antígenos en los eritrocitos, antígenos capaces de reaccionar con anticuerpos o proteínas específicas de ciertos microorganismos. Las pruebas de hemaglutinación (HA) e inhibición de la hemaglutinación (HAI) se han utilizado desde los inicios de la virología moderna. El primer enfoque (HA) utiliza la capacidad de los virus para unirse a las membranas de los glóbulos rojos de ciertas especies, mientras que sus homólogos serológicos se utilizan como indicadores de reactividad para evaluar los niveles de anticuerpos. Estas propiedades se han utilizado para caracterizar e identificar los receptores de superficie celular de varios virus (39).

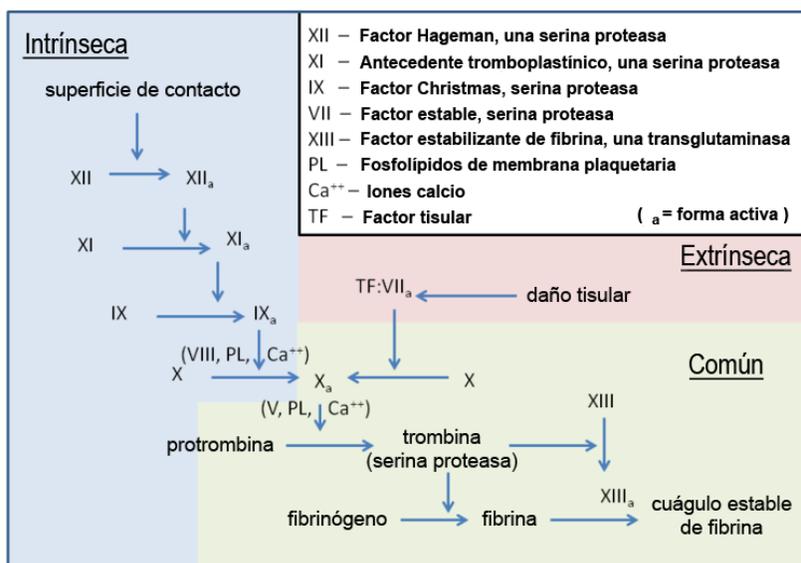
ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE

Es la capacidad que tienen ciertos fitoquímicos de reducir la capacidad de coagulación de la sangre. Esta propiedad ha sido empleada en muchos medicamentos anticoagulantes como la heparina, acenocumarol o warfarina, que han sido ampliamente utilizados en la prevención y tratamiento de enfermedades tromboembólicas ya sea en un infarto agudo de miocardio, tromboembolia pulmonar, accidente cerebrovascular o trombosis venosa profunda (40).

La hemostasia es un mecanismo de protección del cuerpo que es necesario para mantener la integridad de las paredes de los vasos sanguíneos, prevenir la pérdida de sangre cuando los vasos sanguíneos están dañados y restaurar la circulación después de reparar el daño. Su función incluye cuatro componentes: el sistema vascular, el sistema plaquetario, el sistema de coagulación y el sistema fibrinolítico. El sistema de coagulación consta de una serie de proteínas plasmáticas a las que se asignan números romanos según el orden en que fueron descubiertas (41).

En la vía intrínseca, el factor XII, el cininógeno de alto peso molecular, la precalicreína y el factor XI activado (factor XIa) interactúan para producir factor IXa a partir del factor IX. Luego, el factor IXa se combina con el factor VIIIa y el fosfolípido procoagulante (presente en la superficie de las plaquetas activadas, las células endoteliales, y las células tisulares) para formar un complejo que activa el factor X. En la vía extrínseca, el factor VIIa y el factor tisular (FT) activan directamente al factor X y es probable que también al factor IX. Finalmente, en la vía común, convergen las dos vías antes mencionadas, a nivel del FXa que conforma junto con el FVa, la protrombina, iones de Ca^{++} y fosfolípidos, el complejo Protrombinasa, encargado de generar trombina, la cual actúa sobre el fibrinógeno transformándolo en monómeros de fibrina que se polimerizan y se estabilizan por acción del FXIIIa, formando junto con los elementos formes de la sangre, el tapón hemostático o coágulo (41).

Gráfico 1. Cascada de la coagulación



Fuente: Libretexts

Link: https://espanol.libretexts.org/Salud/Anatom%C3%ADa_y_Fisiolog%C3%ADa/Libro%3A_Anatom%C3%ADa_y_Fisiolog%C3%ADa_%28Sin_1%C3%ADmites%29/16%3A_Sistema_Cardiovascular_-_Sangre/16.5%3A_Hemostasia/16.5D%3A_Coagulaci%C3%B3n

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

El término "antimicrobiano" se utiliza para describir una sustancia que tiene la capacidad de reducir la presencia de microorganismos como bacterias y hongos. Esta propiedad presente en varias fitoquímicos, representan un punto de partida en la elaboración de múltiples medicamentos que puedan contrarrestar infecciones bacterianas o fúngicas. Existen varios medicamentos que cumplen una función bactericida en virtud de su mecanismo de acción que

puede ser: inhibiendo la síntesis de la pared celular, alterando tanto la permeabilidad de las membranas externas como la membrana citoplasmática de las bacterias gramnegativas o inhibiendo la síntesis y actividad de los ácidos nucleicos (42).

ACTIVIDAD CITOTÓXICA

La citotoxicidad se define como un efecto adverso causado por la interrupción de estructuras o procesos celulares, o ambos, que ocurre en todas las células y que son esenciales para la función, supervivencia y proliferación celular. Esta propiedad es de vital importancia a la hora de emplear fitoquímicos extraídos de productos naturales para la elaboración de medicamentos, pues deben ser selectivamente tóxicos para los patógenos microbianos y mínimamente tóxicos para el huésped humano (43).

Los factores que determinan la toxicidad de una sustancia son: sus propiedades fisicoquímicas, tiempo de exposición, frecuencia, dosis, vía de entrada, portador, velocidad de absorción, tiempo de concentración en plasma (sangre), órganos diana, características genéticas, factores individuales y factores ambientales. El método Artemia para evaluar la toxicidad de extractos nos brinda información inicial sobre la toxicidad y es un indicador de actividad biológica antes de probar compuestos en líneas celulares. Si el valor CL50 del extracto acuoso es ≤ 1 mg/ml, existe riesgo de toxicidad. Considerando la clasificación de toxicidad, todos coinciden en que las sustancias con CL50 por debajo de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se clasifican como las más tóxicas, mientras que las sustancias con valores de CL50 por encima de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ se clasifican como no tóxicas. El método es rápido, barato, simple y reproducible y ha sido aceptado en la comunidad científica para la evaluación de la citotoxicidad en especies vegetales. La verificación estadística se puede realizar fácilmente con una gran cantidad de organismos, no requiere equipo especial y utiliza una pequeña cantidad de muestras. Además, los activistas por los derechos de los animales no se oponen al uso de estos invertebrados en trabajos experimentales (44).

CAPÍTULO III.

3. METODOLOGÍA.

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

- Según el nivel: exploratoria, descriptiva.
- Según el diseño: Cuasi experimental.
- Según la secuencia temporal: transversal
- Según la cronología de los hechos: prospectivo

3.2. POBLACIÓN

Estuvo constituida por granos andinos inventariados que se expendían en los mercados populares del Cantón Riobamba, a saber: La Condamine, Santa Rosa, La Merced, San Alfonso, San Francisco y Mayorista.

3.3. MUESTRA

Entre las especies de granos andinos inventariados se seleccionaron dos granos andinos que la medicina ancestral y tradicional utiliza, *Amaranthus hybridus* L. (Sangorache o Ataco) y *Lupinus mutabilis* Sweet (Chocho).

3.4. VARIABLES DE ESTUDIO

- Variable dependiente: Actividad hemoaglutinante, anticoagulante, antimicrobiana y citotóxica.
- Variable independiente: Las especies de granos andinos seleccionados para el estudio.
- Variable interviniente: Lugar de producción de los granos andinos, la altitud, condiciones de cultivo o la época del año.

3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variables	Tipo	Escala	Definición operacional	Indicadores
Actividad Hemoaglutinante	Cualitativa	Controlada	Formación de un complejo fitoaglutinina (lectina)-azúcar mosocacárido de membrana que aglutina a los eritrocitos.	Aglutina No aglutina
Actividad Anticoagulante	Cuantitativa	Controlada	Inhibición de las proteínas de la coagulación	Medir TP Medir TTP

Actividad Antimicrobiana	Cuantitativa	Controlada	Inhibir el crecimiento bacteriano y micótico	Sensibilidad Resistencia
Actividad Citotóxica	Cualitativa Cuantitativa	Controlada	Acción de letalidad sobre nauplios de <i>Artemia salina</i>	Letal No letal

3.6. MÉTODOS DE ESTUDIO

El método de estudio fue empírico ya que sobre los eritrocitos se observó y midió la actividad de hemoaglutinación de los extractos, el efecto anticoagulante de los extractos sobre las proteínas de la coagulación sanguínea, la actividad antimicrobiana de los extractos sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas y levaduras y el efecto citotóxico de los extractos sobre nauplios de *Artemia salina* L.

3.7. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

Inventario de granos andinos:

- Se elaboró un inventario, seleccionó, adquirió e identificó taxonómicamente las plantas de las que provienen los granos andinos seleccionados.

Proceso de extracción:

- Se obtuvo los fitoquímicos a partir de los extractos acuosos en Solución Salina Fisiológica (SSF) de las especies vegetales seleccionadas, mediante disrupción mecánica empleando la técnica de infusión en frío a 4 °C (45), filtración a través de un tejido de nylon fino con la finalidad de eliminar partículas grandes y centrifugación a 6.000 r.p.m. durante 10 minutos, para precipitar las partículas pequeñas y microscópica, el sobrenadante de los extracto se colectó en tubos plásticos cónicos, debidamente identificados y congelados a -20 °C.

Actividad biológica de los extractos crudos:

Actividad hemoaglutinante:

- La actividad hemoaglutinante de los extractos acuosos de las especies vegetales seleccionadas fue demostrada utilizando glóbulos rojos sin tratamiento enzimático de los grupos sanguíneos A, B y O, en una suspensión de eritrocitos al 5% aproximadamente en SSF que sirvieron como reactivos biológicos para la detección de fitoaglutininas (Lectinas), 100 µL de cada extracto vegetal se mezclaron con 100 µL de cada suspensión de eritrocitos en tubos de ensayo de vidrio limpios y secos, se agitaron suavemente incubándolos a temperatura ambiente durante 30 minutos para permitir la reacción de unión, cumplido el tiempo fueron centrifugados a 4.000

r.p.m. durante 1 min., El grado de aglutinación fue registrado de acuerdo con el siguiente esquema: 4+ una masa compacta de eritrocitos muy fuerte aglutinación, 3+ pocas masas compactas de eritrocitos separados de tamaño medio fuerte aglutinación, 2+ varias masas pequeñas de eritrocitos moderada aglutinación, 1+ finamente aglutinados débil aglutinación, ½+ muy finamente aglutinados con aspecto granular muy débil aglutinación y 0+ sin aglutinación.

- El título de hemoaglutinación se obtuvo realizando una dilución doble seriada hasta una dilución 1/1024 de los extractos en SSF, agregando eritrocitos de los grupos A, B, O humanos sin tratamiento enzimático preparados al 5 % aproximadamente en SSF, siguiendo el procedimiento descrito en el ensayo de hemoaglutinación, siendo el título de hemoaglutinación el inverso de la última dilución en la cual se detectó aglutinación de los glóbulos rojos.

Actividad anticoagulante:

- La actividad anticoagulante de los extractos acuosos de las especies vegetales seleccionadas fue demostrada mediante la inhibición de la coagulación del plasma, el cual se utilizó como reactivo biológico, el pool de plasmas se preparó mezclando plasmas de cinco donantes aparentemente sanos obtenidos con citrato de sodio al 3,8%, alícuotas de 1 mL en tubos eppendorf fueron conservadas a -20 °C hasta su uso, el efecto anticoagulante de los fitoquímicos se evidenció midiendo el alargamiento del Tiempo de Protrombina y del Tiempo de Tromboplastina Parcial activado, siguiendo el protocolo establecido en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Técnica para evaluar la actividad anticoagulante de los fitoquímicos sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca (TP).

Tiempo de Protrombina (TP)	Tiempo en segundos (s)
100 µL de Plasma + 200 µL de Tromboplastina D (Pacific Hemostasis®) (37°C)	Sin dilución para evaluar el reactivo
100 µL de Plasma + 100 µL SSF (37°C) 100 µL de la mezcla anterior + 200 µL de Tromboplastina D (37°C)	Valor de referencia control
100 µL de Plasma + 100 µL del extracto de la especie vegetal (37°C) 100 µL de la mezcla anterior + 200 µL de Tromboplastina D (37°C)	Valor del efecto anticoagulante

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

Tabla 2. Técnica para evaluar la actividad anticoagulante de los fitoquímicos sobre las proteínas de la coagulación de la vía intrínseca (TTPa)

Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa)	Tiempo en segundos (s)
100 µL de Plasma + 100 µL de ATTP-XL (Fosfolípidos) + ác. elágico (Pacific Hemostasis®) (37°C) + 100 µL de CaCl ₂ (0,02 M) (37°C)	Sin dilución para evaluar el reactivo

100 µL de Plasma + 100 µL SSF (37°C) 100 µL de la mezcla anterior + 200 µL de Tromboplastina D (37°C)	Valor de referencia control
100 µL de Plasma + 100 µL del extracto de la especie vegetal (37°C) 100 µL de la mezcla anterior + 200 µL de Tromboplastina D (37°C)	Valor del efecto anticoagulante

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

Actividad antimicrobiana:

- La actividad antimicrobiana de los extractos acuosos en SSF de las especies vegetales seleccionadas fue demostrada mediante la evaluación de la capacidad de estos en inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas y negativas y de las levaduras del género *Candida*, siguiendo la técnica de difusión en agar de Kirby Bauer (46). Las cepas bacterianas y micóticas utilizadas fueron obtenidas de la colección ATCC (American Type Culture Collection). Bacterias gram negativas (-) *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063, *Proteus mirabilis* ATCC 25933, bacterias gram positivas (+) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; Levaduras *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 66029.

Se preparó un inóculo bacteriano y micótico en S.S.F. estéril, ajustando la turbidez al patrón de McFarland (47) 0,5 (1,5 x 10⁸ UFC/mL) a partir de cada cepa.

Con el hisopo humedecido del inóculo, se sembró en cuatro direcciones toda la superficie de una placa con agar de Mueller Hinton para las bacterias y agar Sabouraud Dextrosa sin antibiótico para la levadura. Se dejó secar el inóculo por 30 min. a 4 °C. Conservando la esterilidad, se colocaron con una pinza en forma equidistante discos estériles impregnados con los extractos crudos, como controles positivos se utilizaron discos de Amikacina (30 µg) Thermo Scientific™, Tetraciclina (30 µg) Oxoid™ para las cepas gram negativas; Oxacilina (5 µg) Oxoid™, Tetraciclina (30 µg) Oxoid™ y Vancomicina (30 µg) Oxoid™, para las gram positivas, Fluconazol (75 µg) Oxoid™ para la levadura y como control negativo S.F.F. estéril. Luego se incubaron las placas a 37 °C en atmósfera aeróbica, a las 24 horas de incubación se procedió a realizar la lectura, con la aparición de halos de inhibición del crecimiento bacteriano y micótico alrededor de los discos impregnados con los extractos, medidos en milímetros (mm), se pudo determinar la actividad antibacteriana y antimicótica.

Actividad citotóxica:

- La actividad citotóxica se midió mediante el efecto letal que los extractos acuosos puedan causar sobre los nauplios de *Artemia salina* L. utilizando las técnicas descritas por Meyer et al. (1982) (47) y McLaughlin et al. (1998) (48). Para la obtención de las larvas se agregaron 100

mg de quistes de *A. salina* (MacKay Marine *Artemia* Cysts) a un litro de agua de mar artificial al 3 %, preparada agregando 30 g de cloruro de sodio (NaCl) a 970 mL de agua destilada con aireación permanente, a la que se le adicionó 2 g de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) para proporcionar un pH de 8.0-8.5 aproximadamente, a temperatura ambiente, con aireación y fuente de luz permanente por 24 horas.

Los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos sometidos a estudio en SSF fueron preparados a concentraciones de 1, 10, 100, 1000, 1500 µg/mL, utilizando como control positivo una solución de Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) preparada en concentraciones similares y como control negativo el agua de mar artificial (49).

La actividad citotóxica se evaluó exponiendo a 10 nauplios de *A. salina* colocados en frascos de plástico de boca ancha con 10 mL de los extractos preparados a las concentraciones de (1000, 100, 10 y 1 µg/mL) durante 24 h a temperatura ambiente y bajo régimen continuo de luz. Transcurridas las 24 h de exposición, se calculó el porcentaje de mortalidad contando el número de nauplios muertos, considerándose muertos al no presentar movimiento alguno al ser observados bajo microscopio estereoscópico, el ensayo se realizó por triplicado, considerándose válido si el porcentaje de mortalidad del control negativo no excede el 10%.

La Concentración Letal 50 (CL50) en 24 horas se calculó interpolando linealmente los valores del porcentaje de mortalidad y la concentración de los extractos. El grado de toxicidad se categorizó según la recomendación del CYTED (50) (ver tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de la toxicidad (CL50) para extractos vegetales expresada en µg/mL

No.	Grado de toxicidad	Valore de CL50 en µg/mL
I	Extremadamente tóxico	1-10
II	Altamente tóxico	10-100
III	Moderadamente tóxico	100-500
IV	Ligeramente tóxico	500-1000
V	Prácticamente no tóxico	1000-1500
VI	Relativamente inocuo	>1500

Fuente: CYTED

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

Tabla 4. Porcentaje de nauplios de *Artemia salina* muertos con SDS

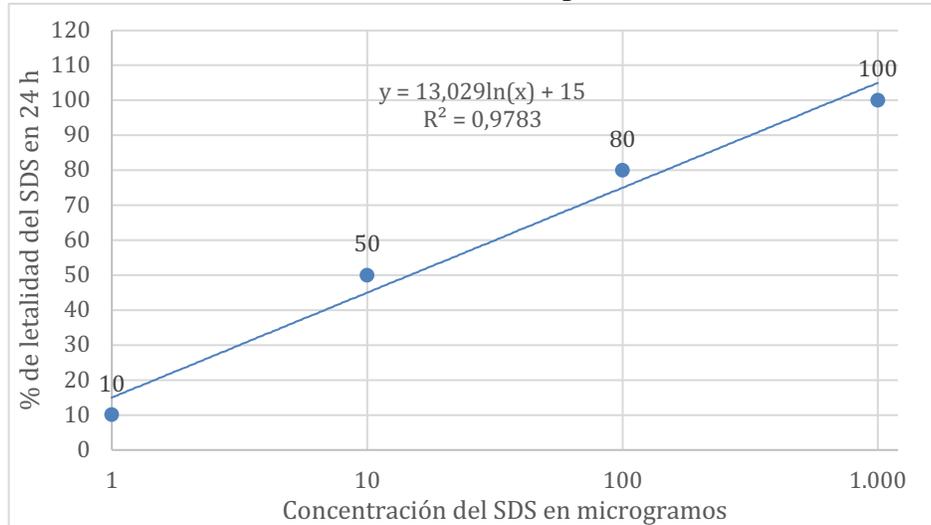
Tiempo (h)	Concentración del SDS en microgramos (µg/mL) (Control Pos +)				Control Neg -
	1	10	100	1000	
0	0	0	0	0	0 %
2	0	0	20 %	100 %	0 %
4	0	20 %	40 %	100 %	0 %

6	0	30 %	60 %	100 %	0 %
24	10 %	50 %	80 %	100 %	0 %

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

Gráfico 2. Dosis de letalidad de nauplios de *Artemia salina*



La Dosis Letal 50 (DL50) del SDS calculada con la ecuación de la recta es de: 23,5 µg/ml

Fuente: Tabla 4

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

Consideraciones éticas

En el presente proyecto de investigación se evaluó la actividad biológica “*in vitro*” de los extractos acuosos de los granos andinos autóctonos seleccionados, por lo cual no involucró la experimentación en seres humanos u otros seres vivos. Adicionalmente, se brindó información a los participantes sobre el proyecto de investigación para obtener el consentimiento informado de los mismos, debido a la necesidad de extracción de muestras sanguíneas, documentos que se adjuntarán en los documentos anexos.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

4.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEMOAGLUTINANTE

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de las especies de granos andinos estudiados mediante la aplicación de técnicas de hemaglutinación y titulación para evaluar su actividad hemoaglutinante a partir de un extracto acuoso utilizando una suspensión de eritrocitos humanos al 5% sin tratamiento enzimático.

Aplicando la técnica descrita, se evaluó la presencia de fitoaglutininas a través de su capacidad para aglutinar reversiblemente eritrocitos mediante su unión a azúcares monosacáridos y disacáridos terminales presentes en las glicoproteínas integrales de membrana. Los resultados obtenidos de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos estudiados se presentan en la Tabla 5, con diferentes grados de aglutinación de los eritrocitos humanos utilizados como indicador biológico de aglutinación

Tabla 5. Actividad hemoaglutinante de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos en estudio

Nombre científico/común	Tipo de eritrocitos + extracto acuoso			Control Tipo de eritrocito + SSF		
	A	B	O	A	B	O
<i>Amaranthus hybridus</i> L. Sangorache o Ataco	4+	4+	4+	0+	0+	0+
<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet Chocho	½ +	1+	2+	0+	0+	0+

Leyenda: (4+) = muy fuerte aglutinación, (3+) = fuerte aglutinación, (2+) = moderada aglutinación, (1+) = débil aglutinación y (½+) = muy débil aglutinación. GR= Glóbulo Rojo

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

El ensayo de hemoaglutinación reveló la presencia de fitoaglutininas (lectinas) que aglutinaron a los glóbulos rojos humanos de manera inespecífica, siendo el extracto acuoso obtenido del sangorache el que mostró el mayor grado de aglutinación, mientras el extracto acuoso obtenido del chocho mostró tener una actividad de aglutinación débil.

Con la finalidad de establecer la concentración de las fitoaglutininas (lectinas) en los extractos acuosos de los granos andinos estudiados, se procedió a realizar la titulación de los extractos acuosos, los resultados se encuentran resumidos en la tabla 6.

Tabla 6. Titulación de los extractos acuosos obtenidos de *Amaranthus hybridus* L. (Sangorache o Ataco) y *Lupinus mutabilis* Sweet (Chocho) con glóbulos rojos del grupo sanguíneo A, B y O humanos no tratados enzimáticamente.

Chocho (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet)												
Dilución	1/2	1/4	1/8	1/10	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
GR Tipo	Grado de aglutinación											
A	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+
B	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+
O	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+
Sangorache (<i>Amaranthus hybridus</i> L.)												
Dilución	1/2	1/4	1/8	1/10	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
GR Tipo	Grado de aglutinación											
A	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	0+
B	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	0+
O	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	1+	0+

Leyenda: (4+) = muy fuerte aglutinación, (3+) = fuerte aglutinación, (2+) = moderada aglutinación, (1+) = débil aglutinación y (½+) = muy débil aglutinación. GR= Glóbulo Rojo.

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

La dilución seriada de los extractos acuosos permitió establecer la concentración de las fitoaglutininas (lectinas), el extracto obtenido de los granos de sangorache mostró poseer una alta concentración con un título de 2048 contra los tres tipos de glóbulos rojos humanos utilizados como indicador biológico de aglutinación, en cambio, el extracto obtenido de los granos del chocho exhibió una muy baja concentración pues no hubo aglutinación en la primera dilución del extracto acuoso para los tres tipos de glóbulos rojos humanos utilizados.

4.1.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE

En este apartado se presentan los resultados obtenidos en los ensayos de evaluación de la actividad anticoagulante mediante la aplicación de técnicas que evalúan la hemostasia en el sistema de coagulación (TP y TTP), mediante la inhibición de la coagulación del plasma por parte de los extractos acuosos obtenidos de los granos del Chocho y el Sangorache, los cuales se presentan en la tabla 7.

La evaluación de los extractos obtenidos de los granos reveló que tanto el Chocho como el Sangorache poseen actividad anticoagulante. *Lupinus mutabilis* (Chocho) inhibió la formación del coágulo tanto en el TP como en el TTPa mostrando actividad inhibitoria completa sobre las proteínas de la coagulación de las vías extrínseca e intrínseca respectivamente, mientras que, *Amaranthus hybridus* mostró un alargamiento del TP, evidenciando actividad inhibitoria parcial sobre las proteínas plasmáticas de la coagulación de la vía extrínseca y una actividad inhibitoria completa sobre las proteínas de la coagulación de la vía intrínseca.

Tabla 7. Actividad anticoagulante de los extractos de los granos andinos Chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) y Sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) sobre el pool de plasma citratado.

Evaluación de la actividad anticoagulante mediante (TP y TTPa)			Promedio (TP) s.	Promedio (TTPa) s.
Control = 100 µL + Plasma + 100 µL S.S.F.			16 +/- 1	61 +/- 2
No.	Nombre común	Nombre científico		
1	Chocho	<i>Lupinus mutabilis</i> L.	>300	>300
2	Sangorache o Ataco	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	21	>300

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

4.1.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Siguiendo el procedimiento y la técnica descrita se reportan a continuación los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos acuosos de los granos andinos estudiados evaluados contra bacterias y levaduras ATCC y teniendo como control positivo discos de antibióticos y antimicótico y como control negativo discos impregnados con SSF estéril, estos se presentan en las tablas 8 y 9 respectivamente.

Tabla 8. Actividad antibacteriana de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos estudiados contra especies ATCC bacterianas, medida como halos de inhibición en milímetros (mm).

Actividad Antibacteriana			Bacterias ATCC. Inhibición en mm.				
			<i>E. coli</i> 25922	<i>K. pneumoniae</i> 70063	<i>P. mirabilis</i> 25933	<i>S. aureus</i> 25923	<i>E. faecalis</i> 29212
Control positivo Amikacina (30 µg)			28	25	-	-	-
Control positivo Oxacilina (5 µg)			-	-	-	20	-
Control positivo Tetraciclina (30 µg)			-	-	13	-	-
Control positivo Vancomicina (30 µg)			-	-	-	-	19
Control negativo utilizando S.S:F: estéril			0	0	0	0	0
No.	Nombre común	Nombre científico					
1	Chocho	<i>Lupinus mutabilis</i> L.	0	0	12	9	0
2	Sangorache o Ataco	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	0	0	8	9	0

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

Los resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana revelaron que tanto los extractos acuosos obtenidos de los granos de Chocho como de Sangorache poseen actividad contra las bacterias: gram (-) *Proteus mirabilis* y gram (+) *Staphylococcus aureus*. Ninguna actividad fue evidenciada contra el resto de las bacterias utilizadas como indicadores biológicos.

Tabla 9. Actividad antimicótica de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos estudiados contra especies ATCC de levaduras, medida como halos de inhibición en milímetros (mm).

Actividad Antimicótica			Levaduras ATCC. Inhibición en mm.	
			<i>C. albicans</i> 10231	<i>C. tropicalis</i> 66029
Control positivo Fluconazol (75 µg)			40	36
Control negativo utilizando S.S:F: estéril			0	0
No.	Nombre común	Nombre científico		
1	Chocho	<i>Lupinus mutabilis</i> L.	0	0
2	Sangorache o Ataco	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	0	0

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

El resultado de la evaluación de la actividad antimicótica reveló que tanto los extractos acuosos obtenidos de los granos de Chocho como de Sangorache no poseen actividad contra las levaduras utilizadas como indicadores biológicos.

4.1.3. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA

Siguiendo el procedimiento y la técnica descrita se reportan a continuación los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad citotóxica de los extractos acuosos del chocho y del sangorache sobre los nauplios de *Artemia salina* a una concentración de 1-10-100 y 1000 µg/ml evaluados en un tiempo de 0-2-4-6-y 24h, teniendo como ente de control el SDS.

Tabla 10. Porcentaje de nauplios de *Artemia salina* muertos con Extracto acuoso de Chocho

Tiempo (h)	Concentración del Extracto acuoso en (µg/mL)				Control Neg -
	1	10	100	1000	
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
2	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
4	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
6	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
24	0 %	0 %	0 %	50 %	0 %

Ligeramente tóxico Valor entre 500 – 1000 (µg/mL)

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

El resultado de la evaluación de la actividad citotóxica del extracto acuoso del chocho reveló que existe un ligero grado de toxicidad ya que el 50% de los nauplios de *Artemia salina* murieron a una concentración de 1000 ug/mL, en un tiempo de 24 horas.

Tabla 11. Porcentaje de nauplios de *Artemia salina* muertos con Extracto acuoso de Sangorache

Tiempo (h)	Concentración del Extracto acuoso en (µg/mL)				Control Neg
	1	10	100	1000	
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
2	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
4	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
6	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
24	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

No tóxico Valor > 1000 (µg/mL)

Fuente: Prácticas de laboratorio

Elaborado por: Andrea Larrea - Nelly Sánchez.

El resultado de la evaluación de la actividad citotóxica del extracto acuoso del Sangorache reveló que no existe ningún grado de toxicidad.

4.2. DISCUSIÓN

Desde tiempos inmemorables el ser humano ha recurrido al uso de insumos naturales para el tratamiento de múltiples enfermedades, así como también para la obtención de extractos usados en la fabricación de medicamentos. Un claro ejemplo de ello, son los granos andinos, mismos que son cultivados, producidos y comercializados por los agricultores de nuestra sierra ecuatoriana hacia todo el país; siendo parte muy importante de nuestra dieta en el día a día.

Las frutas, granos y tubérculos contienen lectinas con efectos antioxidantes, citotóxicos, antivirales, antibacterianos, antifúngicos e inmunomoduladores. Las lectinas se encuentran en casi todos los seres vivos, en plantas, animales y microorganismos. En las plantas, se han detectado principalmente en los cotiledones y endospermos de semillas y constituyen del 2 a 10% de sus proteínas totales. La gran importancia de las lectinas proviene principalmente de sus propiedades biológicas, como la aglutinación de eritrocitos y otras células como linfocitos, espermatozoides, plaquetas y bacterias, inducción de mitosis en linfocitos, efecto citotóxico en linfocitos, aglutinación de virus, etc. (51).

Evaluación de la actividad hemoaglutinante:

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten demostrar la presencia de fitoaglutininas (lectinas) en los dos granos andinos estudiados, a través de la capacidad de sus extractos acuosos para aglutinar eritrocitos humanos de forma no selectiva, este hallazgo coincide parcialmente con lo reportado por Maldonado en 2016 (31) en la misma especie de

grano andino *Lupinus mirabilis* Sweet, con la diferencia de que su resultado evidenció una aglutinación selectiva y específica por el azúcar monosacáridos residual D-Galactosa presente en la estructura de las glicoproteínas de la membrana de los glóbulos rojos de los grupos B y AB humanos. Sin embargo, no coincide con los resultados publicados por Djabayan-Djibeyan et al. que demostraron que el extracto acuoso del Chocho aglutinó fuertemente a los glóbulos rojos de los grupos sanguíneos humanos, una explicación para esta discrepancia podría deberse a disminución del contenido de las lectinas en los granos influenciado por condiciones ambientales y de cultivo.

Entretanto, existe también coincidencia total con los resultados publicados por Dandeu et al. (29) quienes reportaron fuerte hemoaglutinación de los glóbulos rojos humanos de todos los grupos sanguíneos, de manera no selectiva en varias especies del género *Amaranthus* y por Djabayan-Djibeyan (37) quienes reportaron fuerte actividad hemoaglutinante también, contra todos los glóbulos rojos humanos utilizados como indicadores biológicos resultado verificado en el presente estudio con valores de titulación de 2048 en el extracto acuoso del Sangorache (*Amaranthus hybridus* L.), en ambos estudios esto es debido a la interacción de las lectinas con el ácido N-acetilneuramínico, monosacárido presente en la estructura de membrana de todos los glóbulos rojos humanos.

Evaluación de la actividad anticoagulante:

Luego de una exhaustiva revisión de la literatura científica reportada en las bases de datos y efectuada con los motores de búsqueda, se constató que existen pocos estudios que reporten actividad biológica anticoagulante en granos andinos, los resultados obtenidos en el presente estudio dan cuenta de una importante actividad anticoagulante de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos Chocho y Sangorache; los resultados obtenidos en el presente estudio con el extracto acuoso de *Lupinus mutabilis* que inhibió por completo la coagulación del pool de plasma humano actuando sobre las proteínas plasmáticas de la coagulación tanto de la vía intrínseca como de la vía extrínseca, coinciden parcialmente con los hallazgos hechos por Djabayan-Djibeyan et al. (37) ya que estos investigadores reportaron una inhibición parcial de las proteínas de la vía extrínseca en un extracto acuoso similar.

Evaluación de la actividad antimicrobiana:

Ante la creciente resistencia que los microorganismos patógenos han venido desarrollando contra los antibióticos, varios grupos de investigación han buscado obtener compuestos con actividad antimicrobiana a partir de productos naturales, tal es el caso de especies vegetales entre los cuales se encuentran los granos andinos, mismos que fueron evaluados para esta actividad en el presente estudio, en tal sentido, los resultados obtenidos revelaron que ambos extractos acuosos obtenidos del chocho y sangorache inhibieron el crecimiento bacteriano de la cepa ATCC gram (+) de *Staphylococcus aureus* y de la cepa gram (-) de *Proteus mirabilis*. Sin

embargo, los extractos no tuvieron ningún efecto antibacteriano contra *E. fecalis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*.

Este resultado se puede contrastar con los obtenidos por otros investigadores y que han sido reportados en la literatura científica especializada, en este orden de ideas, coincide parcialmente con lo reportado por Erdemoglu et al. (2007) en Turquía (23), ellos reportaron, al igual que nosotros, actividad antibacteriana contra *S. aureus* y contra otras bacterias gram positivas y negativas en extractos de las partes aéreas de la planta de *Lupinus angustifolius* atribuyendo esta actividad a 15 diferentes alcaloides, sin embargo, no se correlacionan con nuestros resultados en cuanto a la actividad contra *E. coli* que está ausente en el extracto acuoso obtenido del Chocho.

En otro estudio realizado en Ecuador por Cuadrado et al. en 2015 (24), reveló que en extractos etanólicos obtenidos de los granos de *Lupinus mutabilis* no hubo efecto antibacteriano contra las cepas utilizadas, sin embargo, esta actividad estuvo presente en los extractos etanólicos de sus hojas y flores inhibiendo discretamente el crecimiento de *S. aureus*, *E. coli* y *M. flavus*, sus resultados no coinciden con los obtenidos en este estudio, ya que la cepa ATCC *Staphylococcus aureus* fue inhibida por extracto acuoso obtenido del Chocho. Ahora bien, en el extracto etanólico obtenido de los granos del Sangorache si hubo inhibición discreta de la cepa *S. aureus*, resultado que coincide con el obtenido en el presente estudio. Con relación a la actividad antimicótica ellos reportaron actividad en extractos etanólicos de hojas flores y panoja respectivamente contra *C. albicans* resultados que no concuerda con el obtenido por nosotros, ya que en los extractos acuosos evaluados no hubo actividad antimicótica.

En este orden de ideas, la actividad antimicótica fue evaluada en extractos acuosos liofilizados obtenidos del proceso de desamargado de los granos de Chocho (25) reportando falta de inhibición del crecimiento de las especies *Candida albicans*, *Mycrosporium canis* y *Trichophyton rubrum*, los autores concluyeron recomendando aplicar técnicas de purificación de alcaloides para reevaluar esta actividad, este resultado coincide con los hallazgos aquí reportados en cuanto a la falta de actividad antimicótica contra las levaduras utilizadas en el extracto acuoso de los granos de *Lupinus mutabilis*. Adicionalmente, Rodríguez Basantes en 2010 (23) evaluó la actividad antibacteriana en el extracto acuoso liofilizados obtenido en el proceso de desamargado del chocho a dosis altas y reportó la inhibición del crecimiento de: *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Salmonella gallinarum*; *Klebsiella pneumoniae*; *Mycobacterium smegmatis*; *Pseudomona aeruginosa*, resultado que coincide parcialmente con lo reportado en este estudio ya que se demostró inhibición del crecimiento de la cepa ATCC de *S. aureus*, pero así en la cepa ATCC de *E. coli*.

Con relación a la actividad antimicrobiana de extractos metanólicos y etanólicos obtenidos de flores, hojas, tallos y raíces de varias especies del género *Amaranthus*, Terzieva et al. en 2019 (25) reportaron la inhibición de todas las cepas micóticas evaluadas, si bien no evaluaron los granos de estas especies, los extractos revelaron actividad antimicótica, que en este estudio

realizado con extractos acuosos del *Amaranthus hybridus* no pudo ser demostrada sobre la cepa ATCC de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*. En otro estudio que evaluó la actividad antibacteriana en extractos proteicos desengrasados semipurificados y purificados de *A. hybridus* se reportó la inhibición de las bacterias patógenas *Serratia marcescens*, *Streptococcus* β -hemolíticos del grupo G y C y *Escherichia coli*, esta actividad correlaciona con los resultados acuosos obtenidos de los granos de esta especie vegetal en nuestro estudio, en el sentido de indicar actividad antibacteriana, aunque fue inhibiendo el crecimiento de las cepas ATCC de *S. aureus* y *P. mirabilis*.

Las hojas de esta misma especie vegetal *A. hybridus* fue evaluada para su actividad antimicrobiana por Ndukwe (29) estos investigadores reportaron la inhibición del crecimiento de todas las especies de microorganismos utilizados, a saber: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Aspergillus niger*, coincidiendo parcialmente con los resultados aquí reportados que indican, aunque en partes vegetales diferentes, la inhibición del crecimiento de *S. aureus* y la falta de actividad contra *E. coli*.

Al-mamum et al. en 2016 (30) evaluaron extractos de obtenidos de tallos y semillas o granos de *Amaranthus hybridus* reportando que no hubo actividad antibacteriana al no haber inhibición del crecimiento de las bacterias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi* y *Staphylococcus aureus*, resultado que coincide parcialmente con los resultados aquí reportados, ya que el extracto acuoso de *A. hybridus* inhibió el crecimiento de *S. aureus* y no tuvo actividad contra *E. coli*

Evaluación de la actividad citotóxica:

El lupino blanco, también conocido como chocho, es una fruta leguminosa perteneciente a la familia de las leguminosas (Fabaceae) que proviene de los Andes, siendo altamente consumido por sus pobladores debido a sus propiedades hipoglucemiantes y alto valor nutritivo. Este grano (chocho) contiene alcaloides, especialmente esparteína y lupino, cuya ingesta en altas cantidades puede ocasionar un síndrome anticolinérgico, que se produce como resultado de la inhibición competitiva de la acetilcolina en las sinapsis parasimpáticas, lo que impide la acción de este neurotransmisor, por lo que este producto debe hervirse o remojar durante al menos una hora antes de su consumo y desecharse el agua (52).

Lorente Esparza et al. reportaron un caso clínico en 2021 en el que trataron a una paciente que presentó intoxicación por consumo de agua de cocción del chocho (*Lupinus mutabilis*), intoxicación poco frecuente cuyo efecto adverso más frecuente es la presentación de un síndrome anticolinérgico, el cual fue tratado satisfactoriamente mediante la administración de sueroterapia, antieméticos y tratamiento con carbón activado 60 gr (53).

Durante el presente estudio se pudo constatar esta propiedad del extracto de *Lupinus mutabilis* Sweet (agua de chocho) frente a los nauplios de *Artemia salina*, con un 50% de mortalidad a una concentración de 1000 ug/mL en 24h lo que indicó una ligera toxicidad , esto confirma los resultados del estudio de Villacres et al., quienes emplearon como indicadores biológicos a *Artemia salina* y alevines de trucha *Salmo gairdnerii*, determinando una dosis letal media de 473,88 ppm y 589,54 ppm respectivamente. Mientras que para los seres humanos y animales son tóxicos a dosis elevadas: 11 a 25 mg/kg de peso corporal en niños y 25 a 46 mg/kg en adultos (51). Por otra parte, el Sangorache no presentó ningún grado de toxicidad frente a los nauplios de *Artemia salina*, lo que corrobora el hallazgo hecho por Arboleda y Saigua en su estudio en donde se afirmó que el extracto acuoso de Sangorache es prácticamente no tóxico, siendo demostrado en su bioensayo con *Artemia salina*, con una letalidad a penas del 25% en las concentraciones de 100 y 1000 µg/mL. (54).

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Las pruebas de hemoaglutinación demostraron la presencia de lectinas en los extractos acuosos obtenidos de los granos de *Lupinus mutabilis* Sweet y de *Amaranthus hybridus* L., aunque de manera inespecífica contra los glóbulos rojos humanos no tratados enzimáticamente de los grupos sanguíneos A, B y O, teniendo más predominio en el Sangorache que en el Chocho, así mismo, la prueba de titulación de la hemoaglutinación reveló una alta concentración de lectina en el extracto acuoso de los granos del Sangorache, no así en el extracto acuoso del Chocho.
- Los extractos acuosos de estos dos granos andinos *Lupinus mutabilis* Sweet y de *Amaranthus hybridus* L. demostraron poseer actividad anticoagulante, con una inhibición total de las proteínas plasmáticas de la coagulación de las vías extrínseca e intrínseca *in vitro* del extracto del Chocho, en el caso del extracto del Sangorache el efecto fue parcial sobre las proteínas plasmáticas de la vía extrínseca y total sobre aquellas de la vía intrínseca, actividad medida estimando el TP y TTPa.
- El efecto antimicrobiano de los extractos de chocho y sangorache presentó un resultado variable, dado que, de las cinco bacterias, dos Gram (+) y tres Gram (-) y de las levaduras utilizadas en el estudio solo el *Staphylococcus aureus* y la *Proteus mirabilis* fueron inhibidos en su crecimiento mostrando sensibilidad ante las fitoquímicos presentes en los extractos acuosos.
- La actividad citotóxica de ambos extractos acuosos fue opuesta, mientras que el Sangorache no manifestó ningún grado de toxicidad; el Chocho presentó un 50% de mortalidad a una concentración de 1000 ug/mL en 24 horas demostrando poseer una ligera toxicidad.
- El realizar estudios en busca de fitoquímicos presentes en productos naturales, consumidos por la población local, permite no solo conocer las propiedades de los alimentos presentes en la dieta de muchas personas como son los granos andinos (chocho y sangorache), sino también son una buena oportunidad para identificar posibles principios activos que puedan ser empleadas en la fabricación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades o prevención de las mismas al ser incluidas en el plan nutricional de los pacientes. El realizar un estudio sobre el *Lupinus mutabilis* Sweet y de *Amaranthus hybridus* L, permitió identificar sus beneficios antimicrobianos, anticoagulantes, hemaglutinantes y citotóxicos, características indispensables para el manejo de infecciones, enfermedades cardiovasculares o tromboembólicas.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar en otro estudio, además de extracción acuosa con la finalidad de corroborar los resultados obtenidos, la realización de extractos con solventes orgánicos que permitan establecer por caracterización fitoquímica los metabolitos secundarios que posean actividad biológica.
- Aislar, purificar y caracterizar las lectinas presentes en los extractos acuosos
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Bactericida Mínima (CBM) de los extractos con actividad antimicrobiana

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Shaikh, J. R., & Patil, M. K. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *Int J Chem Stud*, 2020;8(2):603-608.
<https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- (2) Njoku O. V., & Obi C. Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 2009;3(11):228-233. Disponible online en <http://www.academicjournals.org/ajpac>.
- (3) Kouznetsov, V. V. Biología química: conexión perfecta entre medicina, fitoquímica y síntesis verde. *Vitae*, 2014;21(1):S23.
- (4) Villacrés, E., Cuadrado, L., & Falconí, F. Los granos andinos: Chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) y sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) fuente de metabolitos secundarios y fibra dietética. 2013. Disponible en <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/460/4/iniapscbt165.pdf>
- (5) Anaya-González, R. B., De la Cruz-Fernández, E. D., & Muñoz-Centeno, L. M. Usos medicinales y alimenticios de los granos andinos ancestrales en los distritos de Quinua y Acos y Vinchos-Ayacucho 2019. *Investigación*, 2020;28(1):188-199.
<https://doi.org/10.51440/unsch.revistainvestigacion.28.1.2020.372>
- (6) Curti, C. A., Rivas, M., Villalva, F., De Oliveira, E. G., Paz, N. F., Romero, F., & Ramón, A. N. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y su rol en la prevención de ECNT. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud*, 2019;2(8):30-34.
- (7) Campos-Rodriguez, J., Acosta-Coral, K., & Paucar-Menacho, L. M. Quinua (*Chenopodium quinoa*): Composición nutricional y componentes bioactivos del grano y la hoja, e impacto del tratamiento térmico y de la germinación. *Scientia Agropecuaria*, 2022;13(3):209-220.
- (8) OMS. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2013 [cited 2023 Junio 22. Available from:https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj4q4eEztf_AhW4t4QIHXWeBnUQFnoECA4QAQ&url=https%3A%2F%2Fapps.who.int%2Firis%2Fbitstream%2Fhandle%2F10665%2F95008%2F9789243506098_spa.pdf&usg=AOvVaw3qGyh60p0TvpRCd0F7gh.
- (9) Lima-López, Y. L., Guzmán-Guzmán, V., López-Linares, Y. L., & Satchwell-Robinson, R. La medicina tradicional herbolaria en los sistemas de salud convencionales. *Humanidades Médicas*, 2019;19(1):201-2017.
- (10) Delgado-Súmar, H. E. La Medicina Tradicional. Runamanta, Revista del Departamento Académico de Historia, Arqueología y Antropología, de la Universidad Nacional

Federico Villarreal., 1999;1:6. Disponible en
https://www.academia.edu/45118785/La_Medicina_Tradicional

- (11) Cachiguano, L. E. Código de Ética de la Medicina Ancestral-Tradicional de las Nacionalidades y Pueblos del Ecuador. Dirección Nacional de Salud Intercultural, MSP, Quito, Ecuador. 2020. Disponible en https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2020/12/codigo_de_etica_revision_final_23_12_2020-pdf.pdf
- (12) IWGIA. El Mundo Indígena. Ecuador. 2022 Disponible en <https://iwgia.org/es/ecuador/4786-mi-2022-ecuador.html>
- (13) Anónimo. RP@Naturtable. [Online].; 2021 [cited 2023. Available from: <https://naturtable.es/alimentacion/fitoquimicos/>.
- (14) Vilaplana M. Elsevier. [Online].; 2003 [cited 2023. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-beneficios-cardiovasculares-antioxidantes-gastrointestinales-frutos-13051496>.
- (15) Hussein, R. A., & El-Ansary, A. A. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. *Herb. Med*, 2019;1(3). <https://doi.org/10.5772/intechopen.76139>
- (16) Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 2018;23(4):762. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>
- (17) Siyuan, S., Tong, L., & Liu, R. Corn phytochemicals and their health benefits. *Food Science and Human Wellness*, 2018;7(3):185-195. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.09.003>
- (18) Pons-Fuster López, E. Fitoquímicos como agentes adyuvantes terapéuticos frente al cáncer oral. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia, España. 2018. Disponible en <https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/57561/1/Eduardo%20Pons-Fuster%20L%C3%B3pez%20Tesis%20Doctoral.pdf>
- (19) Vera-Andrade, K. Consumo de fitoquímicos y alimentos fuente en mujeres lactantes de Córdoba de diferentes estratos socioeconómicos (años 2013-2017) Tesis. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 2018. Disponible en <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/14970/VERA%20ANDRADE%20CC.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- (20) Navas-Flores, V., Chiriboga-Pazmiño, X., Miño-Cisneros, P., & Luzuriaga-Quichimbo, C. Estudio fitoquímico y toxicológico de plantas nativas del oriente ecuatoriano. *Ciencia Unemi*, 2021;14(35):26-36. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol14iss35.2021pp26-36p>

- (21) Paredes-Parco, B. P. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de *Hedyosmum* sp. frente a cepas de interés clínico. Abril–Agosto 2019 (Bachelor's thesis, Universidad Nacional de Chimborazo).
- (22) Moreno-Maldonado, K., Jaramillo-Jaramillo, C., Moreira, M., Gastón-García, S., & Rojas de Astudillo, L. Investigaciones etnobotánicas, fitoquímicas, antioxidantes y preclínicas en cinco plantas medicinales que se consumen como antidiabéticas en Machala, Provincia de El Oro, Ecuador. SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, 2016;28(3):546-557.
- (23) Erdemoglu, N., Ozkan, S. & Tosun, F. Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinus angustifolius* L. alkaloid extract. Phytochem Rev 2007;6:197–201.
<https://doi.org/10.1007/s11101-006-9055-8>
- (24) Cuadrado, L., Villacrés, E., Ríos, A., Quelal, M., y Álvarez, J. Actividad antimicrobiana de extractos de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) Amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) y sangorache (*Amaranthus hybridus* L.). 2015, Boletín técnico Nro. 428. Facultad de Ciencias de la Salud e Ingeniería. Universidad Nacional de Chimborazo. Departamento de Nutrición y Calidad de Alimentos. Estación Experimental Santa Catalina. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIAP. Quito. Ec. 46 p.
- (25) Coloma Ramírez, J. M. Evaluación in vitro de la Actividad Antifúngica de los Alcaloides del Agua de Cocción del Proceso de Desamargado del Chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo) 2010. Disponible en:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/212>
- (26) Rodríguez Basantes, A. I. Evaluación in vitro de la Actividad Antimicrobiana de los Alcaloides del Agua de Cocción del Proceso de Desamargado del Chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo) 2010. Disponible en:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/219>
- (27) Jácome Benavides, G. O., & Paucar Hidalgo, D. E. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos proteicos inhibidores de tripsina provenientes de semillas de sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) (Bachelor's thesis) 2019. Disponible en:
<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17398>
- (28) Terzieva, S., Velichkova, K., Grozeva, N., Valcheva, N., & Dinev, T. Antimicrobial activity of *Amaranthus* spp. extracts against some mycotoxigenic fungi. Bulg. J. Agric. Sci, 2019;25:120-123.

- (29) Ndukwe, G. I., Clark, P. D., & Jack, I. R. (). In vitro antioxidant and antimicrobial potentials of three extracts of *Amaranthus hybridus* L. leaf and their phytochemicals. *European Chemical Bulletin*, 2020, 9(7), 164-173.
<http://dx.doi.org/10.17628/ecb.2020.9.164-173>
- (30) Al-Mamun, M.A., Husna, J., Khatun, M. et al. Assessment of antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of two vegetable species of *Amaranthus* in Bangladesh. *BMC Complement Altern Med*. 2016;16:157. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1130-0>
- (31) Maldonado Nina, K. T. Efecto del extracto de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi) en la hemaglutinación de los eritrocitos humanos del servicio de banco de sangre del Hospital Nacional Carlos Alberto Seguin Escobedo, Arequipa. (Bachelor's thesis) 2016. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12990/1896>
- (32) Dandeu, Leonardo Néstor Rubén; Repollo, Rodolfo; Oyhenart, Jorge; Ramirez, Maria Rosana; Preliminary analysis of the hemagglutinating activity of seed extracts of the *Amaranth* genus. *International Journal of Advanced Research*; 2018;6(6):515-519.
<http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/7240>
- (33) Sabbione, A. C. Actividad antitrombótica de proteínas de amaranto (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata) 2015.
<https://doi.org/10.35537/10915/44944>
- (34) Deb, A. K., Bhuiya, M. A. M., & Amin, M. T. In vitro thrombolytic activity of ethanolic extract of leaves of *Amaranthus spinosus* (Katamarish). *J Pharmacogn Phytochem* 2018;7(5):1612-1615. Disponible en:
<https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue5/PartAB/7-5-230-473.pdf>
- (35) Chinko, B. C. and Amah-Tariah, F. S. Haemostatic Effects of Ethanolic Extracts of *Amaranthus hybridus* on Wistar Rats. *International Blood Research & Reviews*, 2020;11 (1):14-21. ISSN 2321-7219
<https://doi.org/10.9734/ibrr/2020/v11i130121>
- (36) Castañeda CB, Manrique MR, Ibáñez VL, Gamarra CF, Galan LD, Quispe HP. Evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto acuoso de las semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (tarwi, chocho), en animales de experimentación. *Horiz Med*. 2002;2(1/2):12-30. Disponible en:
<https://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/2007>
- (37) Djabayan-Djibeyan, P., González-Ramírez, L. C., Ustariz, M. E., & Valarezo-García, C. Aislamiento y actividad biológica de lectinas obtenidas de semillas de frutas, granos y tubérculos de plantas andinas. *Información tecnológica*, 2022;33(2):21-36.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642022000200021>

- (38) Novais Oliveira, T. M., & Vaz, C. (). Marine toxicology: Assays and perspectives for developing countries. In *Bioassays Advanced Methods and Applications*, 2018. pp.387-401 Elsevier Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/artemia>.
- (39) Biopharma A. ABYNTTEK. [Online].; 2022 [cited 2023. Available from: <https://www.abyntek.com/para-que-se-utiliza-la-hemaglutinacion/>.
- (40) Oscar VC. Scielo. [Online].; 2022 [cited 2023. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1652-67762022000100009.
- (41) Guerrero B, López M. Scielo. [Online].; 2015 [cited 2023. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332015000400010.
- (42) Calvo J, Martínez L. Elsevier. [Online].; 2009 [cited 2023. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-mecanismos-accion-antimicrobianos-S0213005X08000177>.
- (43) Casado I, Mora N, Ferrer G, Fernández S, Pino. Scielo. [Online].; 2016 [cited 2023. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892016000100004
- (44) Figueroa R, Llica R, Gutiérrez G, Jugo G, Ortega R, Calixto C, et al. *Revista de toxicología*. [Online].; 2020 [cited 2023. Available from: <https://rev.aetox.es/wp/index.php/estudio-farmacognostico-antioxidante-y-citotoxico-de-sinningia-warmingii-papa-madre/>.
- (45) Djabayan-Djibeyan, P., Carpenter, B., Medina-Ramírez, G., Andueza-Leal, F., León-Leal, A., Djabayan-Russo, A., Jaramillo-Abril, D., Valarezo-García, C., y Araujo-Baptista, L. Cold steeping infusion, a novel lectin extraction technique for the isolation, purification, and partial characterization of lectins from the green Venezuelan marine alga *Caulerpa serrulata*, <https://doi.org/10.1177/1934578X1801301233>, *Nat. Prod. Commun.*, 2018; 13(12):1715-1719
- (46) Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *AJCP*. 1966;45(4):493-496.
- (47) Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. J., & McLaughlin, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 1982;45(05):31-34. doi:10.1055/s-2007-971236
- (48) McLaughlin, J. L., Rogers, L. L., & Anderson, J. E. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug information journal*, 1998;32(2):513-524. <https://doi.org/10.1177/009286159803200223>

- (49) Vanhaecke, P., Persoone, G., Claus, C., & Sorgeloos, P. Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 198;15(3):382-387. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(81\)90012-9](https://doi.org/10.1016/0147-6513(81)90012-9)
- (50) CYTED. (Ciencia y Tecnología para el Desarrollo). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. España: Editor Pinzón; 1995; p 45-49.
- (51) Hernández Díaz, P., Martín González, O., Rodríguez de Pablos Vélez, Y., & Ganem Báez, F. A. Aplicaciones de las lectinas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 1999;15(2):91-95. [Online].; 1999. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02891999000200002
- (52) Villacrés E, Peralta E, Cuadrado L, Revelo J, Aldaz. Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) Quito : Quito, EC: Grafistas, 2009.
- (53) Lorente Esparza, C., Pérez Laencina, L., Ballarin Naya, L., Real Torrijos, M., Oliveira Brito, M., & Vera Colás, M. Intoxicación por agua de cocción de “chochos” o altramuces. *Revista Sanitaria de Investigación*, 2021;2(5):83. Available from: <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/4716-2/>.
- (54) Arboleda L, Saigua Bautista, H. R. Efectos del extracto lipídico del sangorache (*Amaranthus hybridus* L.) sobre el perfil lipídico y Glucémico en ratones de experimentación propuesto como alimento funcional en forma de chips de frutas deshidratadas (Bachelor's thesis, Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo, 2015). Available from: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/439>

ANEXOS

ANEXO 1. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DEL CHOCHO Y SANGORACHE



ANEXO 2. PRUEBA DE HEMOAGLUTINACIÓN



ANEXO 3. PRUEBA DE EFECTO ANTIMICROBIANO



ANEXO 4. PRUEBA DE ANTICOGULACIÓN



ANEXO 5. PRUEBA DE CITOTOXICIDAD



ANEXO 6 CONSENTIMIENTOS INFORMADOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO: TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

INFORMACIÓN

¿QUÉ ES Y CÓMO SE REALIZA? La toma de muestras consiste en recoger una muestra biológica de su organismo. Las muestras biológicas más solicitadas en la práctica clínica son: sangre, orina, heces y esputo, aunque pueden recogerse otras.

¿PARA QUÉ SIRVE? El estudio (bioquímico, citológico, microbiológico, etc.) de las muestras biológicas puede aportar información muy útil sobre el diagnóstico o la evolución de su enfermedad lo que permitirá un tratamiento más adecuado. Tan importante como su obtención es el manejo de la muestra, por lo que existen normas estrictas para la correcta recogida, manipulación, transporte y conservación de la muestra, así como para su adecuado procesamiento en laboratorio.

¿QUÉ RIESGOS PUEDE HABER? La toma de la muestra apenas presenta riesgos. Para garantizar la seguridad del paciente, se efectuará por personal sanitario capacitado y bajo condiciones de seguridad y de asepsia rigurosa. Riesgos frecuentes: En el caso de la toma de muestra sanguínea, puede producirse un mínimo hematoma en la zona del pinchazo, por lo que será conveniente que después se realice presión sobre la zona puncionada. Riesgos infrecuentes: En algunos pacientes, por sus características individuales, resulta difícil extraer la muestra de sangre, por lo que tal vez sea preciso puncionarles repetidas veces hasta obtener la muestra de sangre.



¿QUÉ CONSECUENCIAS SON PREVISIBLES DE LA NO REALIZACIÓN? La consecuencia será que la información que precisan los médicos para su adecuada atención será menor, lo que puede mermar sus cuidados sanitarios. Si después de leer detenidamente este documento desea más información, por favor, no dude en preguntar. Se le atenderá con mucho gusto.

CERTIFICADO DE CONSENTIMIENTO

Fecha: ...17...de...Marzo2022...

Nombre: Jonathan Edward Martínez Canessa Edad: ...24... Grupo sanguíneo:
O Rh -

Tutor responsable: Dr. Pablo Djabayan Djibeyan

Yo: Jonathan Edward Martínez Canessa con C.C: 1005246040..... Se me ha solicitado dar mi consentimiento para que me realicen la extracción de sangre. Reconozco que me han INFORMADO de manera amplia, precisa, clara y sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre y su utilización en el presente estudio. Por lo anterior declaro que he comprendido las explicaciones, me han sido aclaradas todas mis dudas y estoy satisfecho con la información recibida. Conozco el alcance de los riesgos. Firmo este consentimiento, por mi libre voluntad, sin haber estado sujeto a ningún tipo de presión. AUTORIZO a la persona encargada la toma de la muestra.


Firma



¿QUÉ CONSECUENCIAS SON PREVISIBLES DE LA NO REALIZACIÓN? La consecuencia será que la información que precisan los médicos para su adecuada atención será menor, lo que puede mermar sus cuidados sanitarios. Si después de leer detenidamente este documento desea más información, por favor, no dude en preguntar. Se le atenderá con mucho gusto.

CERTIFICADO DE CONSENTIMIENTO

Fecha: 17.....de Mayo 2022..

Nombre: Nelly Priscila Sánchez Tixe Edad: 27..... Grupo sanguíneo: ORH+

Tutor responsable: **Dr. Pablo Djabayan Djibeyan**

Yo: Nelly Priscila Sánchez Tixe con C.C: 0605012342..... Se me ha solicitado dar mi consentimiento para que me realicen la extracción de sangre. Reconozco que me han INFORMADO de manera amplia, precisa, clara y sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre y su utilización en el presente estudio. Por lo anterior declaro que he comprendido las explicaciones, me han sido aclaradas todas mis dudas y estoy satisfecho con la información recibida. Conozco el alcance de los riesgos. Firmo este consentimiento, por mi libre voluntad, sin haber estado sujeto a ningún tipo de presión. AUTORIZO a la persona encargada la toma de la muestra.

Firma



¿QUÉ CONSECUENCIAS SON PREVISIBLES DE LA NO REALIZACIÓN? La consecuencia será que la información que precisan los médicos para su adecuada atención será menor, lo que puede mermar sus cuidados sanitarios. Si después de leer detenidamente este documento desea más información, por favor, no dude en preguntar. Se le atenderá con mucho gusto.

CERTIFICADO DE CONSENTIMIENTO

Fecha: ...17...de...Marzo...2022...

Nombre: Jhonny Bladimir Vela Jimenez Edad: ...24... Grupo sanguíneo: O RA +

Tutor responsable: **Dr. Pablo Djabayan Djibeyan**

Yo: Jhonny Bladimir Vela Jimenez con C.C: 0503206294..... Se me ha solicitado dar mi consentimiento para que me realicen la extracción de sangre. Reconozco que me han INFORMADO de manera amplia, precisa, clara y sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre y su utilización en el presente estudio. Por lo anterior declaro que he comprendido las explicaciones, me han sido aclaradas todas mis dudas y estoy satisfecho con la información recibida. Conozco el alcance de los riesgos. Firmo este consentimiento, por mi libre voluntad, sin haber estado sujeto a ningún tipo de presión. AUTORIZO a la persona encargada la toma de la muestra.

Firma



UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
CHIMBORAZO

Unach
MEDICINA
en movimiento

¿QUÉ CONSECUENCIAS SON PREVISIBLES DE LA NO REALIZACIÓN? La consecuencia será que la información que precisan los médicos para su adecuada atención será menor, lo que puede mermar sus cuidados sanitarios. Si después de leer detenidamente este documento desea más información, por favor, no dude en preguntar. Se le atenderá con mucho gusto.

CERTIFICADO DE CONSENTIMIENTO

Fecha: ...A....de...MARZO...2022...

Nombre: ANDREA FLISHEL LARREA MARTINEZ.. Edad: ...27..... Grupo sanguíneo: ...A+

Tutor responsable: Dr. Pablo Djabayan Djibeyan

Yo: ANDREA FLISHEL LARREA MARTINEZ.. con C.C: ...0603739301..... Se me ha solicitado dar mi consentimiento para que me realicen la extracción de sangre. Reconozco que me han INFORMADO de manera amplia, precisa, clara y sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre y su utilización en el presente estudio. Por lo anterior declaro que he comprendido las explicaciones, me han sido aclaradas todas mis dudas y estoy satisfecho con la información recibida. Conozco el alcance de los riesgos. Firmo este consentimiento, por mi libre voluntad, sin haber estado sujeto a ningún tipo de presión. AUTORIZO a la persona encargada la toma de la muestra.

Firma