



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE MEDICINA

Informe final de Investigación previo a la obtención del título de Médico General

TRABAJO DE TITULACIÓN:

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS ACUOSOS OBTENIDOS A PARTIR DE
SEMILLAS DE ACHOTILLO Y TAXO

Autores: Jonathan Edward Martínez Carrasco
Jhonny Bladimir Vela Jiménez

Tutor: PhD. Pablo Djabayan Djibeyan

Riobamba – Ecuador

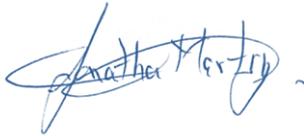
2023

AUTORIA

Nosotros, Jonathan Edward Martínez Carrasco con CI: 1805046040, Jhonny Bladimir Vela Jiménez con CI: 0503206294, autores del proyecto: ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS ACUOSOS OBTENIDOS A PARTIR DE SEMILLAS DE ACHOTILLO Y TAXO , declaramos que el contenido basado en las ideas, expresiones, pensamientos y concepciones tomados de varios autores se han previamente interpretado y analizado para enriquecer el estado del arte, resultados, conclusiones y recomendaciones que son absolutamente de nuestra autoría.

De la misma manera concedemos los derechos de autor a la Universidad Nacional de Chimborazo, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual.

Atentamente:



Jonathan Edward Martínez Carrasco.
CI: 1805046040



Jhonny Bladimir Vela Jiménez.
CI: 0503206294

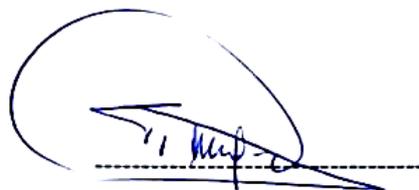
DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Mediante la presente los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación con título: **“ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS ACUOSOS OBTENIDOS A PARTIR DE SEMILLAS DE ACHOTILLO Y TAXO”**, realizado por los estudiantes Jonathan Edward Martínez Carrasco con cedula de identidad número 1805046040 y Jhonny Bladimir Vela Jiménez con cedula de identidad con número 0503206294, dirigido por el Dr. Pablo Djabayan Djibeyan; certificamos que recomendamos la **APROBACIÓN** de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el proyecto de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 18 días del mes de julio de 2023.

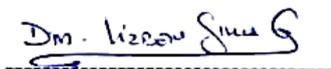
Dr. Enrique Ortega Salvador

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Dra. Lizbeth Silva Guayasamin

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



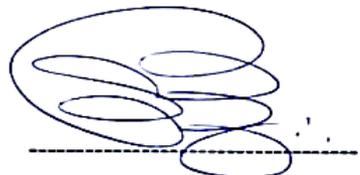
Dr. Lino Rojas Cruz

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Dr. Pablo Djabayan Djibeyan

TUTOR



CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Mediante la presente los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación con título: **“ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS ACUOSOS OBTENIDOS A PARTIR DE SEMILLAS DE ACHOTILLO Y TAXO”**, realizado por los estudiantes Jonathan Edward Martínez Carrasco con cedula de identidad número 1805046040 y Jhonny Bladimir Vela Jiménez con cedula de identidad con número 0503206294, dirigido por el Dr. Pablo Djabayan Djibeyan; certificamos que recomendamos la **APROBACIÓN** de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el proyecto de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 18 días del mes de julio de 2023.

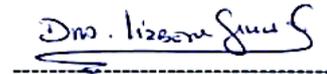
Dr. Enrique Ortega Salvador

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Dra. Lizbeth Silva Guayasamin

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



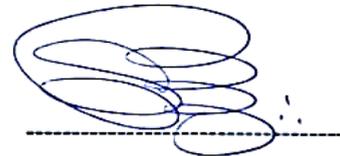
Dr. Lino Rojas Cruz

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Dr. Pablo Djabayan Djibeyan

TUTOR





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

Riobamba 14 de julio del 2023
Oficio N° 75-2023-1S-URKUND-CID-2023

Dr. Patricio Vásquez
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 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	0116-D-FCS-16-02-2023	ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS ACUOSOS OBTENIDOS A PARTIR DE SEMILLAS DE ACHOTILLO Y TAXO	JONATHAN EDWARD MARTÍNEZ CARRASCO JHONNY BLADIMIR VELA JIMÉNEZ	2	x	

Atentamente,

0603371907 GINA
ALEXANDRA PILCO
GUADALUPE
Firmado digitalmente por 0603371907 GINA ALEXANDRA PILCO GUADALUPE Fecha: 2023.07.14 09:37:58 -05'00'

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

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón al creador, que me ha dado la fortaleza para continuar en cada paso del camino. De igual manera a mis padres por ser unos ángeles que han permanecido día a día + a lo largo de estos años, lo cual me ha ayudado a seguir adelante. A mi familia en general, porque me han brindado su apoyo incondicional, compartiendo bueno y malos momentos.

Jonathan Martínez.

Quiero dedicar este proyecto de investigación a todas las personas que han sido parte fundamental de mi camino académico y personal. A mi familia, por su amor incondicional, paciencia y constante apoyo durante todos estos años. A mis profesores, por su sabiduría y dedicación en la transmisión del conocimiento. Agradezco también a mi tutor de proyecto de investigación por su guía y orientación durante todo este proceso. Y finalmente a mis amigos, por su compañerismo y por estar siempre ahí para celebrar los logros y superar los desafíos que hemos enfrentado tanto en la carrera como en la vida.

Jhonny Vela.

AGRADECIMIENTO

El amor recibido, la dedicación y la perseverancia de mis padres es lo que agradeceré cada día que me han acompañado. Ya para finalizar agradezco al tutor de este proyecto por estar en cada paso guiándonos, sin su apoyo incondicional nada de esto sería factible; de igual manera a esta Universidad que me ve nacer como un gran profesional.

Jonathan Martínez.

Primeramente, expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas que me han apoyado en el proceso de formación. Agradezco a mi tutor de proyecto por su invaluable orientación y conocimientos, así como a mis familiares y amigos por su constante motivación y comprensión. Por último, agradezco a todas las personas que participaron en mi investigación, su tiempo y contribuciones fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

Jhonny Vela.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	
ABSTRACT	
CAPITULO I.....	14
1.1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.2. OBJETIVOS.....	18
1.2.1. General	18
1.2.2. Específicos	18
CAPITULO II.....	19
2.1. MARCO TEORICO	19
CAPITULO III	29
3.1. METODOLOGÍA	29
3.1.1. Tipo de estudio	29
3.1.2. Población.....	29
3.1.3. Muestra.....	29
3.1.4. Variables de estudio.....	29
3.1.5. Operacionalización de las variables:	29
3.1.6. Método de estudio	29
3.1.7. Técnicas y procedimientos.....	30
2.7. Procesamiento estadístico.....	35
2.8. Consideraciones éticas.....	35
2.9. Consentimiento informado	35
CAPITULO IV	36
4.1. RESULTADOS.....	36
4.1.1. La actividad Hemoaglutinante.....	36
4.1.2. La actividad Anticoagulante.....	37
4.1.3. La actividad antibacteriana	38
4.1.4. La actividad citotóxica.....	39
4.2. DISCUSIÓN	40
CAPITULO V	43
5.1. CONCLUSIONES	43
5.2. RECOMENDACIONES	43
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	44
ANEXOS	50

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del achotillo.	24
Tabla 2. Clasificación taxonómica del Taxo.	25
Tabla 3. Técnica para evaluar la actividad anticoagulante de los fitoquímicos sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca (TP) y la vía intrínseca (TTPa).	32
Tabla 4. Porcentaje de nauplios de Artemia salina muertos con SDS.	34
Tabla 5. Clasificación de la toxicidad (CL50) para extractos vegetales expresada en $\mu\text{g/mL}$	34
Tabla 6. Hemoaglutinación de los extractos obtenidos a partir de las semillas de Achotillo (Nephelium lappaceum) y Taxo (Passiflora tripartita) con glóbulos rojos del grupo sanguíneo A, B y O humanos no tratados enzimáticamente.	36
Tabla 7. Titulación de los extractos acuosos obtenidos a partir de las semillas de Achotillo (Nephelium lappaceum) y Taxo (Passiflora tripartita). con glóbulos rojos del grupo sanguíneo A, B y O humanos no tratados enzimáticamente.	37
Tabla 8. Actividad anticoagulante de los extractos acuosos de las semillas del Achotillo (Nephelium lappaceum) y Taxo (Passiflora tripartita) sobre un pool de plasma citratado.	38
Tabla 9. Actividad antibacteriana de los extractos acuosos obtenidos de los granos andinos estudiados contra especies ATCC bacterianas, medida como halos de inhibición en milímetros (mm).	39
Tabla 10. Medición de la citotoxicidad de los extractos acuosos obtenidos a partir de las semillas de Achotillo (Nephelium lappaceum) y Taxo (Passiflora tripartita) como % de mortalidad de nauplios de Artemia salina.	40

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Achotillo.....	24
Ilustración 2. Taxo.....	25
Ilustración 3. Curva de calibración de la dosis de letalidad del SDS sobre nauplios de Artemia salina.....	34

RESUMEN

Siendo la resistencia bacteriana a los antibióticos un problema de salud pública en aumento a nivel mundial, el objetivo de este proyecto fue determinar la actividad biológica de los extractos acuosos obtenidos a partir de las semillas del Taxo (*Passiflora tripartita*) y Achotillo (*Nephelium lappaceum*). Los extractos acuosos se obtuvieron a través de disrupción mecánica utilizando 15mL de solución salina fisiológica estéril, La actividad biológica de los extractos acuosos se realizó determinando su capacidad de aglutinar de eritrocitos en suspensión de los grupos sanguíneos humanos A, B, y O, la actividad anticoagulante se determinó evaluando la actividad de los extractos sobre las proteínas plasmáticas de la coagulación en un plasma pobre en plaquetas medida mediante el TP y TTPa, la actividad antibacteriana de los extractos se determinó mediante la inhibición del crecimiento de cepas bacterianas ATCC. La actividad citotóxica se evaluó determinando la dosis letal 50 de los extractos sobre nauplios de *Artemia salina*. Los resultados revelaron que el extracto de Taxo posee la capacidad para aglutinar los eritrocitos humanos no selectivamente. Los extractos del Achotillo y el Taxo mostraron tener acción anticoagulante alargando el TP y el TTPa. También poseen actividad antibacteriana sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*, mientras que solo el extracto de Taxo presentó actividad contra la cepa de *Proteus mirabilis*. En cuanto a la actividad citotóxica ambos extractos resultaron ser no tóxicos. Se puede concluir indicando que las semillas de Taxo y Achotillo poseen: actividad hemoaglutinante, anticoagulante, antibacteriana y no presentan citotoxicidad.

Palabras clave: lectinas, “actividad biológica”, “hemoaglutinina”, antibacterianos, anticoagulantes.

ABSTRACT

Bacterial resistance to antibiotics being an increasing public health problem worldwide, the aim of this project was to determine the biological activity of aqueous extracts obtained from the seeds of Taxo (*Passiflora tripartita*) and Achotillo (*Nephelium lappaceum*). The aqueous extracts were obtained by mechanical disruption using 15mL of sterile physiological saline. The biological activity of the aqueous extracts was determined by determining their ability to agglutinate suspended erythrocytes of human blood groups A, B, and O, the anticoagulant activity was determined by assessing the activity of the extracts on plasma coagulation proteins in platelet-poor plasma measured by TP and TTPa, the antibacterial activity of the extracts was determined by inhibiting the growth of ATCC bacterial strains. Cytotoxic activity was assessed by determining the lethal dose fifty of the extracts on *Artemia salina nauplii*. The results revealed that the Taxo extract possesses the ability to agglutinate human erythrocytes non-selectively. Achotillo and Taxo extracts were shown to have anticoagulant action by lengthening TP and TTPa. They also possess antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* strain, while only Taxo extract showed activity against *Proteus mirabilis* strain. In terms of cytotoxic activity, both extracts were found to be non-toxic. It can be concluded that the seeds of Taxo and Achotillo possess: haemagglutinating, anticoagulant, antibacterial activity, and no cytotoxicity.

Keywords: lectins, "biological activity", "haemagglutinin", antibacterial, anticoagulant.



Reviewed by:
Doris Chuquimarca, Mgs.
ESL PROFESSOR
C.I. 060449038-3

CAPITULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

Medicina es la ciencia encargada del estudio del cuerpo humano; de las enfermedades y de cómo estas afectan a nuestro organismo. Esta ciencia tiene múltiples ramas entre las cuales encontramos la farmacología, especialidad encargada de la producción de medicamentos para el tratamiento de múltiples patologías; y con la fitoquímica, disciplina encargada de la búsqueda de sustancias vegetales con actividad biológica contra agentes patógenos bacterianos, parasitarios, fúngicos y virales (1).

Actualmente se ha evidenciado un incremento a la exposición de agentes patógenos debido a la mayor densidad poblacional, la falta de saneamiento y el desconocimiento de la población, esto sumado al mal uso de antibióticos y al control inadecuado de infecciones, han dado como resultado la resistencia de los microbios a estos medicamentos. La Organización mundial de la salud (OMS) ha señalado que la resistencia a los antibióticos como una de las 10 principales amenazas de salud pública a nivel mundial (1).

Las infecciones causadas por microorganismos presentan una morbimortalidad extremadamente alta, la dificultad de su tratamiento es producto de la resistencia produciendo estancias hospitalarias más largas y la necesidad de medicamentos más caros, además de posibles secuelas permanentes en la salud de los pacientes y el riesgo inminente a reinfecciones con peores pronósticos (2). Esta situación ha obligado a la medicina convencional a renovar y buscar formas alternativas de tratamiento en contra de múltiples agentes patógenos (2).

En mayo del año 2015, la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estableció adoptar el Plan de Acción Global contra la Resistencia a los Antimicrobianos (RAM) por parte de los Estados Miembros de la OMS, en donde los mismos se comprometieron a elaborar e implementar el Plan de acción para la RAM. Al momento, 7 países de Latinoamérica ya han oficializado este documento. El Ecuador cuenta con el Plan Nacional para la prevención y control de la RAM 2019-2023 (3).

En Ecuador el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) en el año 2017

reportan porcentajes alarmantes de resistencia para *Escherichia coli* en infecciones de las vías urinarias, resistencia a ampicilina entre 70.4 y 87.2 %, ampicilina-sulbactam entre 37.8 y 53.6 %, trimetoprim-sulfametoxazol entre 52.7 y 70.8 %, ciprofloxacina entre 45.5 y 79.1 % (4).

Otro estudio realizado por Gauds en 2018, obtuvo resultados donde se evidencia que, de 235 aislamientos de heridas infectadas en áreas rurales del Ecuador, 92% de los casos correspondieron *Staphylococcus aureus* de los cuales el 44.7 % eran oxacilino-resistentes (MRSA) (5).

Para el año 2019 se comenzó con el Plan Nacional para la prevención y control de la resistencia antimicrobiana como medida para tratar una futura crisis sanitaria. Con el objetivo de mejorar la concienciación y la comprensión respecto a la resistencia a los antimicrobianos; Reforzar los conocimientos a través de la vigilancia y la investigación enfocado en acciones para combatir la resistencia a los antimicrobianos (6).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según la OMS la resistencia a los antimicrobianos (antibióticos, antimicóticos, antiparasitarios y antivirales) es un fenómeno que aparece de forma natural con el tiempo, generalmente por modificaciones genéticas. Los organismos resistentes a los antimicrobianos están presentes en las personas, los animales, los alimentos, las plantas y el medio ambiente (agua, suelo y aire). Pueden propagarse de una persona a otra o entre las personas y los animales, en particular a partir de alimentos de origen animal (1)

Este problema en la actualidad es de repercusiones globales, que puede poner en riesgo al sistema de salud como hoy lo conocemos, es cada vez es más frecuente y se da por el mal uso de los antimicrobianos, la automedicación y la falta de seguimiento a los esquemas de tratamiento. Se ha observado que los antibióticos, que en su momento eran efectivos contra determinadas infecciones, en la actualidad ya no tienen el mismo efecto. Ahora hay que incrementar la dosis de los antibióticos para que ejerzan la misma acción que antes requerían de dosis más pequeñas años atrás. Tal es el caso que, en pandemia, la tasa de uso de antibióticos en la atención hospitalaria incremento en un 94% y 100% e inclusive, optando por el uso de antibióticos de amplio espectro. Esta problemática ha dado como resultado a

una limitada gama de medicamentos con los que se puede realizar un tratamiento efectivo para erradicar la infección aguda. Existe evidencia en la literatura en la que nos manifiesta que la RAM es la causa de 700.000 muertes cada año (7).

En zonas endémicas como en el trópico y subtrópico, la aparición de parásitos farmacorresistentes son una amenaza para el control de la malaria, provocando un aumento de la morbilidad y mortalidad por paludismo, siendo esta una de las enfermedades más frecuentes en la costa ecuatoriana (8). Por otra parte, la resistencia a los antivirales es motivo creciente de preocupación en los pacientes con inmunodepresión, en los que la reproducción vírica continua y la exposición en un largo periodo de tiempo a fármacos conducen a la creación de cepas resistentes, por lo que hoy día se ha detectado resistencia a la mayoría de los medicamentos antivirales incluidos los antirretrovíricos (9).

En un exhorto de la Organización Mundial de la Salud ha solicitado realizar proyectos de investigación en el área de los productos naturales en la búsqueda de metabolitos secundarios que permitan resolver este creciente problema de salud pública a nivel mundial (9), por lo tanto, cabe preguntar ¿Tendrán actividad biológica hemoaglutinante, anticoagulante, antimicrobiana y citotóxica las semillas de Achotillo y Taxo?

JUSTIFICACIÓN

La resistencia antimicrobiana es una realidad que se va observando en todo el mundo moderno, muchos países han expresado una creciente preocupación por el problema de la resistencia a los antimicrobianos, y algunos han elaborado planes nacionales de acción para hacerle frente, puesto que esta problemática tiene su costo en dinero, medios de subsistencia y vidas humanas, y pone en peligro la eficacia de los programas de atención de la salud (10). En cuanto a Ecuador hasta el año 2019 no contaba con datos de consumo de antibióticos usados en enfermedades infecciosas en el ámbito de la salud humana y animal; sin embargo se evidenciaba un incremento significativo en la resistencia a medicamentos en ámbito hospitalario, por tal motivo se implementó el plan nacional de prevención de control de resistencia antimicrobiana con un enfoque netamente preventivo (6). No obstante, existen esfuerzos internacionales para el desarrollo de nuevos tratamientos, como alternativas farmacológicas.

Un estudio etnobotánico se demostró que la medicina ancestral arraigada en las comunidades de la Provincia de Chimborazo utiliza especies de género *Passiflora* como ansiolítico y sedante para conciliar el sueño, los autores recomendaron realizar otros estudios que permitan establecer otros usos medicinales para las especies de este género (11). Así mismo, en otro estudio se reportó el uso del Achotillo o Rambután como hipoglucemiante para el tratamiento alternativo de la diabetes tipo II, de uso frecuente en pacientes diabéticos en el distrito San Martín de Porres en Perú (12).

La actividad antibacteriana y antifúngica son las más evaluadas, sin embargo, la actividad hemoaglutinante también se evalúa ya que permite la detección de las lectinas en los extractos, realizada la revisión de la literatura científica en este campo, existe escasa información, en cuanto a la actividad anticoagulante de estos compuestos fitoquímicos, su estudio es de gran importancia por su potencial uso como agentes terapéuticos.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. General

Determinar la actividad biológica de los extractos acuosos obtenidos a partir de las semillas del Taxo (*Passiflora tripartita*) y Achotillo (*Nephelium lappaceum*).

1.2.2. Específicos

- Obtener los metabolitos secundarios mediante extractos acuosos de las semillas Taxo (*Passiflora tripartita*) y Achotillo (*Nephelium lappaceum*).
- Determinar la actividad hemoaglutinante del Taxo y Achotillo.
- Determinar la actividad anticoagulante del Taxo y Achotillo.
- Determinar la actividad antimicrobiana del Taxo y Achotillo de sus fitoquímicos frente a bacterias Gram positivas y negativas.
- Demostrar la actividad citotóxica de los extractos acuosos determinando la dosis letal 50 sobre nauplios de *Artemia salina*.

CAPITULO II

2.1. MARCO TEORICO

Antecedentes Investigativos

La actividad biológica o también conocida como actividad farmacológica, es el efecto que tiene un determinado compuesto sobre las células. La identificación de las propiedades biológicas y el estudio de la toxicidad de múltiples compuestos son fundamentales para el descubrimiento de nuevos fármacos (13).

En este contexto se ha identificado que múltiples frutas, verduras, plantas y hongos que se consumen ampliamente en la dieta humana presentan cierto grado de actividad biológica. En la industria farmacéutica las plantas son la materia prima más importante para la obtención de drogas, existen fármacos aplicables para el tratamiento de infecciones bacterianas, fúngicas y enfermedades crónico-degenerativas (14)

La naturaleza nos proporciona una gran cantidad de especies vegetales frutales con interesantes propiedades biológicas, las cuales son una fuente importante de nuevas moléculas bioactivas, que pueden reemplazar a los químicos sintéticos, ya que son amigables con el medio ambiente y son menos tóxicos (15).

En la actualidad la obtención de fitoquímicos representa para la industria farmacéutica una fuente de nuevas moléculas con efectos farmacológicos deseados, y un mínimo de efectos secundarios, se basa en la extracción de componentes biológicamente activos presentes en los tejidos de plantas; estos aspectos permiten satisfacer las necesidades crecientes del uso de antimicrobianos a base de productos naturales como es el caso de los fitoquímicos (16), la diversidad botánica en Ecuador ha permitido realizar estudios en cuanto a actividad biológica antimicrobiana o citotóxica de metabolitos secundarios que podrían actuar como fitofármacos ante factores patógenos como hongos, bacterias y parásitos, tal es el caso de la *Lippia citriodora* K que ha sido reportada por poseer fitoquímicos que podrían ser muy útiles en el tratamiento de las infecciones microbianas que en la actualidad están apareciendo con resistencia al tratamiento (16).

La medicina ancestral aprendida, heredada y practicada mediante la conexión humana con nuestra Madre Naturaleza, con nuestras divinidades y nuestros ancestros, se trasmite de

manera práctica y oral con aportes, cambios e innovaciones a través de los tiempos. Por ello la medicina de los pueblos indígenas ecuatorianos es ancestral por sus orígenes y tradicional por la forma como la hemos mantenido y transmitido. Nuestra medicina es ancestral porque es revelada y enseñada por la Madre Naturaleza a quienes logramos atravesar la iniciación, consiguiendo nuestra conexión espiritual con nuestra sagrada naturaleza (17).

Desde 1492, los hermanos europeos que llegaron a nuestras tierras, nos han llamado con diferentes nombres y denominaciones peyorativas: brujos y brujas, shamanes y shamanas, curanderos y curanderas, sanadores y sanadoras, empíricos y empíricas. En Ecuador la Constitución protege las prácticas de medicina tradicional y la Ley de Orgánica de Salud, en los artículos 189 y 190, estipula el respeto y divulgación de la medicina tradicional ancestral (18).

Actividades biológicas

Fitoquímicos con acción antibacteriana

Un estudio en Colombia en el año 2017 evidencio que la planta de *Solanum dolichosepalum* Bitter (Frutillo) evidencio su efecto antibacteriano, frente a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. En donde mediante un extracto etanólico obtenido de los frutos secos de esta planta, revelaron la presencia de alcaloides, esteroides y/o triterpenoides libres, taninos, saponinas, flavonoides y glucósidos cardiotónicos (19).

En un estudio realizado en plantas medicinales de la amazonia ecuatoriana (21), estas son: *Desmodium molliculum*, *Lomatia ligularis*, *Malva silvestris*, *Passiflora ligularis*, *Sambucus peruvianus* y *Urtica dioica*, se encontraron metabolitos antibacterianos contra *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, siendo estas responsables de infecciones urinarias y puerperales; el tamizaje reveló presencia fitoquímicos, entre ellos: antocianinas, esteroides, flavonoides y taninos, en la mayoría de las plantas; los extractos alcohólicos de *Lomatia ligularis* y *Sambucus peruvianus* mostraron cierto efecto antibacterial sobre *Pseudomona aeruginosa*, pero la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* fue mayor con los extractos alcohólicos de *Desmodium molliculum* y *Passiflora ligularis* (20).

En Ecuador en el año 2017 Chávez realizó un estudio de la actividad antibacteriana de las hojas frescas del extracto metanólico al 60% del chiriyuyo (*Kalanchoe pinnata*); en muestras

de agua cruda de los ríos Misahualli y Napo. El estudio de la actividad antibacteriana del extracto se realizó empleando siete bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Serratia marcescens* ATCC 13880 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076; obteniendo resultados positivos con el extracto liofilizado contra las bacterias: *S. aureus*, *B. cereus* y *B. subtilis*. Con el extracto no liofilizado solo se obtuvo inhibición bacteriana en *E. coli*. Concluyendo que el extracto metanólico tiene actividad antibacteriana por cuanto permitió una importante disminución de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de 20 y 12 UFC, en el agua de los ríos analizados (21).

En las plantas de la sierra ecuatoriana se han realizado estudios de fitoquímicos con actividad biológica, entre ellos se cita un estudio fitoquímico de extractos etanólicos de hojas y ramas de *Hedyosmum* sp, recogidas en el bosque natural de Jacarón, Provincia de Chimborazo, reportando los autores el aislamiento de metabolitos secundarios (fitoquímicos) con actividad antibacteriana contra cepas ATCC Gramnegativas (22).

Fitoquímicos con acción antimicótica

En un estudio del extracto de hojas de *Syzygium cumini* se identificaron catorce compuestos diferentes que mostraron actividad antifúngica (CMI entre 31.25-125 µg/mL) con efecto fungistático sobre especies del género *Candida*, lo que demostró un potencial antifúngico prometedor, con baja toxicidad lo que indica que este extracto puede ser un agente antifúngico alternativo seguro y eficaz (23).

Fitoquímicos con acción antiparasitaria

Se ha demostrado que la planta *Mammea americana* se utiliza ampliamente en la curación de diversas enfermedades debido a su efecto antiparasitario e insecticida. Por otra parte, se ha confirmado el efecto de la fruta para tratar la anemia, mientras que la resina y la decocción de la corteza se emplean contra los parásitos, infecciones micóticas y eczemas. Su acción antibacteriana no ha sido validada experimentalmente, ni se disponen reportes hasta el momento (24).

El *Chenopodium ambrosioides*, planta que pertenece a la familia Chenopodiaceae y que comprende 120 especies; conocida por su nombre común como paico, hierba de los jesuitas, hierva buena entre otros, crece de manera cultivada y silvestre en las chacras. Es utilizado tradicionalmente por comunidades aborígenes de América Latina y del Caribe como planta

medicinal; principalmente como antiespasmódico carminativo y antihelmíntica frente a la especie *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Trichuris trichiura* y *Ascaris lumbricoides* (25).

Fitoquímicos con acción anticoagulante

La semilla calabaza (*Cucurbita moschata* Duchesne) se usa como material vegetal natural o inclusive en tabletas o cápsulas como medicamento herbario, se considera que actúa por su efecto inhibitor de la 5-lipoxigenasa o la ciclooxigenasa en la hipertrofia benigna de próstata y como antiagregante plaquetario (26).

En 1999 se dio comienzo a un nuevo proyecto con la intención de cambiar el esquema tradicional en cascada de la coagulación. Los doctores Hoffman, Monroe, Walsh y Mann hasta 2003, son los responsables de la propuesta del enfoque de la hemostasia desde el punto de vista celular. Este modelo realza la importancia de los receptores específicos activados por proteasas, el factor tisular y la trombina, y la interacción de los mismos. La secuencia de procesos renueva la información y transforma el proceso en fases o estados que inician, amplifican, propagan y terminan, para así poder mantener la fluidez sanguínea (28).

El factor tisular (FT) comienza el proceso cuando es liberado de una célula proveedora y se une al factor VII activado (FVIIa) circulante, dando como resultado la activación del factor IX (FIX) y el factor X (FX), lo cual genera poca cantidad de trombina. Ésta a su vez sirve para que, en el proceso de activación de plaquetas, se expresen los receptores glicoproteicos transmembrana que permiten la activación de los cofactores V (FV) y VIII (FVIII) para generar más trombina amplificando así la información. Las proteínas coagulantes FV y FVIII circulan en la sangre como pro-cofactores inactivos de alto peso molecular. Ellos se convierten a sus formas activas en presencia de trombina (FIIa) o FX. Tanto el FVa como el FIBa, se unen a fosfatidil serinas de membranas celulares y forman complejos con el FIXa y FXa. Cuando se produce mayor cantidad de trombina y hay gran saturación en el torrente circulatorio, se activa el proceso de retroalimentación que permite que el factor XI (FXI) ocasione una formación masiva y adicional de trombina que propaga la información, llegando a la formación de mallas de fibrina que atrapan células en su interior y forman un trombo permanente, logrando el tapón hemostático (27).

Actividad Citotóxica

La citotoxicidad celular se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a un daño que puede ser detectado. En la actualidad, la toxicología tiene una enorme trascendencia social debido a sustancias químicas comercializadas y su posible impacto en la salud pública, esto ha conducido al desarrollo de estrategias de evaluación con fines normativos (28).

La Artemia es uno de los organismos más estudiados, poseen cuerpo segmentado, recubierto de una cutícula fina de quitina la que se renueva periódicamente permitiendo el crecimiento. Presentan apéndices torácicos en forma de hoja denominados felpudos o toracópodos con funciones locomotora, respiratoria y filtradora es utilizada, desde naupliar hasta adulto, siendo el micro crustáceo vivo más empleado para la alimentación de especies en cultivo además de fines investigativos debido a su facilidad de reproducción y a su costo. Su uso como especie de estudio en alimentación, reproducción y toxicidad en medios marinos e hipersalinos, se debe a que presenta características muy peculiares que le permiten adaptarse a las condiciones de laboratorio, ciclo de vida muy corto, tamaño pequeño, siendo de fácil manejo para obtener nauplios a partir de la eclosión de quistes (29). En el estudio de Avalos y colaboradores, (2014), se demostró que los extractos etanólicos de *Azadirachta indica* (Neem) mostraron actividad tóxica y citotóxica, siendo el extracto etanólico de semilla de Neem el que presentó mayor actividad toxica con una DL50 de 476 µg/mL sobre los nauplios de *A. salina* (30).

El Achatillo

El Achatillo, rambután o *Nephelium lappaceum* es un fruto perteneciente a la familia de las Sapindaceae originario de Malase Indonesia, fue introducido al Ecuador con propósitos alimenticios (31). Se ha demostrado que tienen importantes actividades biológicas que benefician a la salud humana, tales como antioxidante, antibacterial, antidiabética, anti-inflamatoria, antiproliferativa y antiviral (32) .

Ilustración 1. Achotillo.



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del achotillo.

DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliophyta
SUBCLASE	Magnoliopsida
ORDEN	Sapindales
FAMILIA	Sapindaceae
GÉNERO	<i>Nephelium</i>
ESPECIE	<i>Lappaceum</i>
NOMBRE VULGAR	Achotillo

Fuente: Arias y Calvo, 2014 (33).

Actividad Biológica del Achotillo

Naspud en 2020 determinó que el extracto acuoso obtenido de las semillas *Nephelium lappaceum* presentó efecto hemoaglutinante frente a los tres grupos sanguíneos humanos. En cuanto a la acción anticoagulante el extracto de *Nephelium lappaceum* mostró una prolongación significativa del TTPa (34).

El Taxo

El Taxo, *Passiflora tarminiana* y *Passiflora tripartita* var. *mollissima* es una fruta conocida y apreciada en Ecuador, sin embargo, el desconocimiento de sus usos es ignorado. Es nativa de América, desde México hasta Perú. Tiene propiedades comprobadas científicamente, los extractos del género *Passiflora* tienen efectos depresores sobre el sistema nervioso central y actúan como sedantes, tranquilizantes, calmantes y contra el insomnio. En Ecuador, el Taxo se cultiva en la serranía, especialmente en Tungurahua, Chimborazo, Azuay, Cañar, Imbabura, Pichincha y Loja. En Pichincha su cultivo está asociado con los árboles de capulí,

y en Tungurahua, con los de tomate árbol. Para producirlo se seleccionan los mejores frutos, de los mismos, se extraen las semillas y se las deja secar bajo sombra. Se planta en semilleros y luego se trasplanta al sitio definitivo. El cultivo se confecciona sobre espalderas (sistema de soporte para la planta) dado que es un arbusto trepador (35).

Sobre sus acciones farmacológicas la literatura etnobotánica también nos manifiesta que la planta *Passiflora* contiene una diversidad de compuestos, incluyendo alcaloides, fenoles, flavonoides, glicósidos cianogénicos y derivados. En el extracto de la hoja de especies de *Passiflora* se ha verificado que tiene actividad sedante y ansiolítico, así también se puede utilizar para patologías como diabetes, hipertensión, como anti-inflamatorio, antioxidante, antibacteriano y antifúngicos (35). Para aseverar sus distintos usos, un estudio realizado por Nicolls et al. ha informado el aislamiento de un compuesto antibacteriano y antimicótico llamado Passicol de *Passiflora edulis* (36).

Ilustración 2.Taxo.



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2.Clasificación taxonómica del Taxo.

REINO	Plantae
DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliopsida
ORDEN	Malpighiales
FAMILIA	Passifloraceae
GÉNERO	<i>Passiflora</i>
ESPECIE	<i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. 1811
SUBESPECIES	<i>Passiflora tripartita</i> var. <i>azuayensis</i> <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>mollissima</i> <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>tripartita</i>
NOMBRE VULGAR	Taxo o Curuba

Fuente: Elaboración propia.

Actividad Biológica del Taxo

En 2016 Lema Fernández cuantificó de flavonoides y fenoles en extractos de hojas y flores de *Passiflora tripartita* (Taxo) presentando buena capacidad antioxidante (37)

En 2022 en un estudio realizado con frutas andinas se determinó que el efecto anticoagulante fue evidenciado en el extracto acuoso de las semillas de *Passiflora tripartita var. mollissima*, que inhibió en su totalidad de las proteínas de la coagulación de las vías intrínseca y extrínseca (38).

Las Lectinas

A finales del siglo XIX mediante la evaluación de semillas de plantas en la búsqueda de toxinas cuando Dixon logró aislar una a partir de *Ricinus communis* en 1887 (39), que en 1888 Stillmark denominó Ricina y demostró que poseía la propiedad de aglutinar eritrocitos animales en diferentes grados (40). Para identificar a este metabolito secundario Boyd y Shapleigh (41) en 1954 introdujeron el término Lectina para identificar un grupo de proteínas muy particular, que están ampliamente distribuidas en todos los organismos vivos y que no son el resultado de ningún estímulo antigénico. Sin embargo, estas proteínas ejercen su actividad biológica uniéndose específicamente a azúcares terminales presentes en las membranas de las células, en un proceso que podría ser análogo a las propiedades que poseen los anticuerpos.

Otras toxinas aisladas como la Crotina, obtenida de las semillas de la planta *Croton tiglium* (40), la Abrina, obtenida de las semillas de la planta *Abrus precatorious* y la Robina, obtenida de la corteza de la planta *Robina pseudoacacia*, mostraron también tener actividad aglutinante sobre eritrocitos animales, y fue demostrado que la Ricina además era capaz de aglutinar células epiteliales, hepáticas y leucocitos (42), el interés y el conocimiento acerca de las lectinas fue creciendo rápidamente hasta la actualidad y cada vez más investigadores desarrollaron y desarrollan sus proyectos en este campo.

La presencia de las lectinas ha sido reportada en plantas, animales vertebrados e invertebrados, bacterias y virus. Han sido caracterizadas como proteínas oligoméricas compuestas por subunidades que poseen una amplia variación en cuanto a: peso molecular, composición de aminoácidos, requerimiento de cationes y estructura tridimensional, además,

usualmente son glicoproteínas con un contenido variable de carbohidratos (43).

Casi inmediatamente después de su descubrimiento se encontró que las lectinas tenían propiedades que las hacen herramientas bioquímicas y biomédicas potencialmente poderosas, las lectinas han sido utilizadas:

- Como reactivos para la tipificación sanguínea.
- Para aislar y para llevar a cabo estudios estructurales de las glicoproteínas.
- Para estudiar membranas celulares y subcelulares.
- Para separar células.
- Para identificar microorganismos.
- Para el envío de drogas a los sitios donde son requeridas.
- Como agentes para el diagnóstico.

A principios del siglo XX, Karl Landsteiner, uno de los grandes científicos del período clásico de la inmunología, realizó el descubrimiento del grupo sanguíneo humano ABO (44) y luego trabajando con Raubitschek (45) en 1907 reportaron la existencia de aglutininas no tóxicas presentes en las semillas comestibles de las plantas de la familia Fabaceae, específicamente en las especies: *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Lens culinaris* y *Vicia sativa*, identificándolas como proteínas solubles en agua, no dialisables, insolubles en alcohol, termolábiles y precipitables utilizando electrolitos. También demostraron que la reacción de unión entre las lectinas vegetales y los eritrocitos podía revertirse incubando a los eritrocitos aglutinados a 50 °C. Las lectinas se han convertido en una herramienta ampliamente utilizada para distinguir y clasificar a los eritrocitos de diferentes grupos sanguíneos y existen varias lectinas específicas bien conocidas que discriminan entre grupos sanguíneos tipo A, B, O (H), N, y T, que han sido utilizadas en los bancos de sangre como ayuda para la tipificación sanguínea (38).

También han sido usadas para identificar microorganismos que pueden ser aglutinados por una lectina específica unido a un ensayo enzima-lectinosorbente (ELLA) diseñado y reportado por Yajko et al. (46) en 1984 que permitió la correcta identificación de las especies: *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *N. lactamica* y *Branhamella catarrhalis*, dando inicio así a proyectos de investigación en este campo.

Entre las aplicaciones de las lectinas se menciona que las obtenidas a partir de las plantas: *Canavalia ensiformis* (Concanavalina A y succinil concanavalina A), *Lens culinaris* (lectina de la lenteja), *Triticum vulgare* (aglutinina del germen del trigo) y las Fitohemagultininas-P (presentes en las legumbres) fueron capaces de inhibir *in vitro* al Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo I (HIV-1) uniéndose a la glicoproteína 120 (gp 120) de la envoltura del virus, que es el sitio del virus para unirse a los linfocitos T4 CD4+, esto impide la exposición de otra glicoproteína de membrana, gp 41, que participa en la fusión de las membranas viral y celular evitando la entrada del virus al linfocito y con ello su multiplicación (47).

Por otra parte, se ha logrado demostrar que pueden ser utilizadas como vehículos transportadores de fármacos a tejidos en donde la permanencia del medicamento se ve limitada por los fluidos que se producen en ellos, así Nicholls et al. en 1996 (48), estudiaron “*in vitro*” la unión de 36 lectinas a la córnea y al epitelio conjuntival de ratas, demostrando que las lectinas obtenidas de la papa, *Solanum tuberosum* y del caracol comestible, *Helix pomatia* se unieron a los tejidos oculares en segundos después de la aplicación. Las pruebas “*in vivo*” mostraron que la lectina de *Solanum tuberosum* se unió a los tejidos y se mantuvo unida por 180 minutos después de su inoculación y no fue observada ninguna evidencia de inflamación o degeneración. En otro estudio realizado por Banchonglikitkul et al. en el año 2000, igualmente demostró que las lectinas obtenidas de las habichuelas brasileñas de especies de los géneros *Canavalia*, *Dioclea* y *Cratylia* se unieron a los tejidos de boca, mucosa sublingual, cornea y conjuntiva de ratas, los resultados mostraron que todas la lectinas estudiadas se unen a las superficies de las mucosas de los tejidos utilizados sin evidencia de daño lo que sugiere que estas lectinas tiene un alto potencial para el transporte, envío y permanencia de drogas en los tejidos aumentando así su eficacia en el sitio en donde son requeridas (49).

CAPITULO III

3.1. METODOLOGÍA

3.1.1. Tipo de estudio

Este proyecto de investigación fue de tipo exploratorio, descriptivo, cuasiexperimental, transversal y prospectivo.

3.1.2. Población

Estuvo integrada por las frutas inventariadas y comercializadas en los mercados del cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo, Ecuador.

3.1.3. Muestra

Se escogieron dos frutas con semillas, una de ellas andina y autóctona (Taxo), la otra introducida (Achotillo) que poseen propiedades medicinales y que han sido usadas por la medicina ancestral para tratar y prevenir enfermedades.

3.1.4. Variables de estudio

En este estudio se utilizó el siguiente sistema de variables: Dependiente, actividad hemoaglutinante, anticoagulante, antibacteriana y citotóxica; Independiente, lectinas presentes en las semillas de las frutas.

3.1.5. Operacionalización de las variables:

Variables	Tipo	Escala	Definición operacional	Indicadores
Actividad Hemoaglutinante	Cualitativa nominal	Controlada	Formación de un complejo de unión entre lectina y monosacáridos de membrana que aglutina a los eritrocitos	Aglutina No aglutina
Actividad Anticoagulante	Cuantitativa continua	Controlada	Inhibición de la actividad de las proteínas de la coagulación medida por el alargamiento del TP y TTPa	Medir TP Medir TTPa
Actividad Antibacteriana	Cuantitativa continua	Controlada	Inhibición del crecimiento bacteriano en medios de cultivo microbiológico	Sensibilidad Resistencia
Actividad Citotóxica	Cualitativa nominal Cuantitativa Continua	Controlada	Acción de letalidad sobre nauplios de <i>Artemia salina</i> por acción de un principio activo citotóxico	Letal No letal

3.1.6. Método de estudio

El método de estudio fue empírico, definido por Babbie (2016) como “el enfoque de

investigación que se basa en la observación y recopilación de datos concretos y verificables para obtener conclusiones o conocimientos” (50). Mediante esto se observó y midió la actividad de hemoaglutinación sobre los eritrocitos, la actividad anticoagulante sobre las proteínas de la coagulación sanguínea; se determinó la actividad antibacteriana sobre bacterias ATCC gram positivas y negativas y finalmente se determinó la letalidad por citotoxicidad sobre nauplios de *Artemia salina*.

3.1.7. Técnicas y procedimientos

- Se adquirieron, identificaron taxonómicamente y procesaron las frutas seleccionadas para la obtención de las semillas de Taxo (*Passiflora tripartita*) y Achotillo, (*Nephelium lappaceum*).

- Se obtuvieron las lectinas a partir de extractos acuosos de las semillas de las frutas seleccionadas por disrupción mecánica en licuadora convencional con 15 mL de Solución Salina Fisiológica estéril, el licuado se colocó en envases de plástico con tapa a temperatura ambiente para producir la infusión en frío por 24 horas, posteriormente se filtró a través de un tejido de nylon fino y obtener el extracto acuoso, con la utilización de la centrifuga convencional se centrifugó el extracto acuoso a 5.000 r.p.m. durante 10 minutos, con el objetivo de eliminar partículas microscópicas, el sobrenadante se recolectó en tubos plásticos cónicos y se congeló a -20°C hasta la evaluación de la actividad biológica (51).

- Previo consentimiento informado se obtuvo 5 mL de sangre de cada uno de los voluntarios pertenecientes a los grupos sanguíneos A, B, y O; las muestras de sangre se diluyeron con 10 mL de suero fisiológico estéril en tubos cónicos plásticos con tapa y se centrifugaron por 5 minutos en una centrifuga convencional a 5000 rpm, descartando el sobrenadante de cada suspensión, repitiendo este procedimiento tres veces. Una suspensión al 5% de cada grupo sanguíneo se preparó diluyendo 1 mL de cada paquete de eritrocitos lavados con 19 mL de suero fisiológico estéril.

- Para la determinación de la actividad citotóxica se preparó agua de mar artificial diluyendo en un 1 litro de agua destilada 30 g de cloruro de sodio (3%) agregando 2 g de bicarbonato de sodio (0.2%) para ajustar el pH a 8, lo cual fue medido mediante tiras reactivas de pH.

- Para la obtención de los nauplios de *Artemia salina* se añadió a 500 mL de agua de mar artificial 100 mg de quistes (MacKay Marine Artemia Cysts) en un vaso de precipitado, la mezcla se incubó a 37°C en una estufa de cultivo microbiológico en oscuridad y con suministro permanente de aire a través de una bomba convencional para acuarios por 48 h.

Estudio de la actividad biológica de las lectinas

- **La actividad hemoaglutinante:** Para evaluar la actividad hemoaglutinante se mezclaron 0.1mL de cada suspensión eritrocitaria preparada al 5% más 0.1mL de cada extracto los extractos acuosos de las semillas de frutas en tubos de ensayo de vidrio limpios y secos, luego de una agitación suave, se dejaron reposar a temperatura ambiente por 30 minutos; luego de ese período, fueron centrifugados a 5.000 r.p.m y el grado de aglutinación fue registrado de acuerdo con el siguiente esquema propuesto por Boorman en 1977 (52): 4+ muy fuerte aglutinación, 3+ fuerte aglutinación, 2+ moderada aglutinación, 1+ débil aglutinación, ½+ muy débil aglutinación y 0+ no aglutinación.

- **La actividad anticoagulante:** Esta actividad se evidenció utilizando un pool de plasmas pobre en plaquetas, el cual se preparó mezclando plasmas de donantes que se obtuvieron en tubos venoject® con citrato de sodio al 3,8%, de estos donantes se obtuvo el consentimiento informado, los tubos fueron centrifugados a 2.500 r.p.m., la actividad de los fitoquímicos presentes en los extractos se demostró mediante la prolongación del Tiempo de Protrombina y/o del Tiempo de Tromboplastina Parcial activado.

Estimación del Tiempo de Protrombina (TP) del Pool de Plasma Citratado: Siguiendo las instrucciones del fabricante del reactivo (Pacific Hemostasis®) se precalentó en un tubo de ensayo a 37°C en baño de maría seco 1 mL del reactivo tromboplastina D por 3 minutos, de igual manera se precalentó 0,1 mL del pool de plasma citratado por 1 minuto, transcurrido el tiempo se le agregó 0,2 mL de tromboplastina D precalentada y se activó el cronómetro comenzando a realizar la lectura a partir de los 6 segundos, al aparecer las primeras mallas de fibrina se detuvo el cronómetro y se registró el tiempo, la evaluación del pool de plasmas citratados se realizó por triplicado.

Estimación del TP del Plasma Citratado + el extracto acuoso de las semillas de frutas seleccionadas: Siguiendo el procedimiento ya mencionado en el párrafo anterior, se evaluó la actividad anticoagulante de los extractos acuosos obtenidos de la semillas del Achatillo y del Taxo, para ello se inició el proceso mezclando 0,1 mL del pool de plasmas con 0,1 mL de suero fisiológico estéril con la finalidad de corregir el efecto dilución, luego a 0,1 mL de

esta mezcla se le estimó el TP, este valor de tiempo se utilizó como control de referencia, esto se hizo para corregir el efecto dilución. Realizado el proceso de inicio, se estimó el TP de la mezcla de 0,1 mL de pool de plasmas con 0,1 mL de extractos acuosos de semillas, la evaluación de los extractos se realizó por triplicado (Tabla 3).

Estimación del Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) del Pool de Plasma Citratado: Siguiendo las instrucciones del fabricante del reactivo (Pacific Hemostasis®) se precalentó en un tubo de ensayo a 37°C en baño de maría seco la mezcla de 0,1 mL del reactivo ATTP-XL (Fosfolípidos)-ácido elálgico más 0,1 mL del pool de plasmas por 3 minutos, de igual manera se precalentó 1 mL de Cloruro de Calcio (CaCl₂) en solución (CaCl₂ 0.02 M Pacific Hemostasis®), transcurrido el tiempo de precalentamiento, se añadió a la mezcla 0,1 mL de CaCl₂, y se activó el cronómetro comenzando a realizar la lectura a partir de los 19 segundos, al aparecer las primeras mallas de fibrina se detuvo el cronómetro y se registró el tiempo, la evaluación del pool de plasmas citratados se realizó por triplicado.

Estimación del TTPa del Plasma Citratado más el extracto acuoso de las semillas de frutas seleccionadas: Siguiendo el procedimiento ya mencionado en el párrafo anterior, se evaluó la actividad anticoagulante de los extractos acuosos obtenidos de la semillas del Achotillo y del Taxo, para ello se inició el proceso mezclando 0,1 mL del pool de plasmas con 0,1 mL de suero fisiológico estéril con la finalidad de corregir el efecto dilución, luego a 0,1 mL de esta mezcla se le estimó el TTPa, este valor de tiempo se utilizó como control de referencia, esto se hizo para corregir el efecto dilución. Realizado el proceso de inicio, se estimó el TTPa de la mezcla de 0,1 mL de pool de plasmas con 0,1 mL de extractos acuosos de semillas, la evaluación de los extractos se realizó por triplicado (Tabla 3).

Tabla 3. Técnica para evaluar la actividad anticoagulante de los fitoquímicos sobre las proteínas de la coagulación de la vía extrínseca (TP) y la vía intrínseca (TTPa).

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
Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa)	Tiempo en segundos (s)
100 µL de Plasma + 100 µL de ATTP-XL (Fosfolípidos) + ác. elálgico (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)	Valor de referencia control
100 µL de la mezcla anterior + 200 µL de Tromboplastina D (37°C)	
100 µL de Plasma + 100 µL del extracto de la especie vegetal (37°C)	Valor del efecto anticoagulante
100 µL de la mezcla anterior + 200 µL de Tromboplastina D (37°C)	

Fuente: Elaboración propia.

- **La actividad antimicrobiana:** Esta actividad se demostró evaluando el efecto de los extractos acuosos de las semillas de frutas, utilizando el método de difusión en agar mediante la implementación de la técnica de Kirby-Bauer (53), sobre las cepas bacterianas ATCC *Escherichia coli* 25922, *Staphylococcus aureus* 25923, *Enterococcus faecalis* 29212, *Proteus mirabilis* 25933 y *Klesiella pneumoniae* 70063. Un inóculo de cada cepa pura cultivada en agar nutriente se preparó diluyendo una colonia en solución salina fisiológica estéril ajustándolo al patrón 0,5 de McFarland, de inóculo ajustado y con un hisopo de algodón estéril impregnado se sembró cada bacteria en placas de Petri con agar Mueller Hinton, dejando secar a 4°C por 30 minutos, una vez secas las placas, se colocaron discos de papel absorbente estéril a los que se les agregó 5 µL de cada extracto acuoso, las placas se incubaron en una estufa microbiológica a 37°C por 24 horas, pasado este tiempo se efectuó la evaluación de la actividad antibacteriana de las lectinas, para esta prueba se utilizaron discos de antibióticos como control positivo y solución salina fisiológica estéril como control negativo. (53).

- **La actividad citotóxica:** Para determinar la citotoxicidad de los extractos acuosos de las semillas de Taxo y Achotillo se hizo mediante la utilización de nauplios de *Artemia salina* en estadio II o III, para ello fue necesario preparar 1000 mL de agua de mar artificial al 3% mezclando 30 gramos de cloruro de sodio (NaCl) pH 8 mediante la adición de 2 g (0,2%) de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) de sodio para obtener una solución pH 8 al 3 y 0.2 % respectivamente. 100 mg de quistes de *Artemia salina* (MacKay Marine *Artemia* Cysts) se adicionaron a 500 mL de agua de mar artificial en un vaso de precipitado con aireación permanente y en oscuridad a una temperatura de 37°C por 48 horas. Para la evaluación de esta actividad se realizó una dilución de los extractos acuosos con agua de mar artificial para obtener concentraciones de 1.000, 100, 10 y 1 µg/mL, estas mismas concentraciones se prepararon con una solución de Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) que fueron utilizadas como control positivos y la solución de agua de mar artificial como control negativo. A 1 mL de cada dilución preparada, tanto de los extractos como del control positivo y negativo, se les incorporó 10 nauplios de *Artemia salina* en estadio II o III, incubándolos a 37°C y evaluando

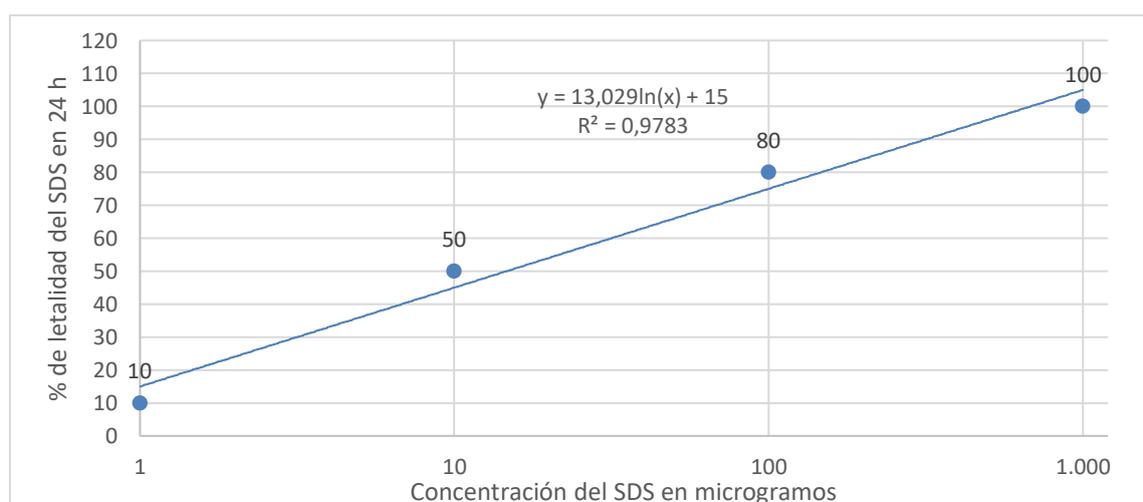
la mortalidad a las 0, 6, 12 y 24 horas, el ensayo se practicó por triplicado, el ensayo se consideró válido si el porcentaje de mortalidad en la solución de control negativo no excedió el 10%. Se calculó de la Concentración Letal 50 (CL50) en 24 horas una curva de calibración del porcentaje de mortalidad versus la concentración de los extractos (Tabla 4 y Figura 4) y el grado de toxicidad se determinó utilizando la categoría propuesta por el CYTED (54) (Tabla 5). Teniendo que encontrarse a una temperatura constante de 30 grados centígrados. Los cuales se consiguieron mediante el uso de incubadora. A su vez para que eclosione necesita una fuente constante de oxígeno que se la administró mediante el difusor de oxígeno. Estas iban a estar en la incubadora durante 24 horas (55-57).

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: Elaboración propia.

Ilustración 3. Curva de calibración de la dosis de letalidad del SDS sobre nauplios de Artemia salina.



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5. Clasificación de la toxicidad (CL50) para extractos vegetales expresada en µg/mL.

No.	Grado de toxicidad	Valore de CL50 en $\mu\text{g/mL}$
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 (54)

2.7. Procesamiento estadístico

Los resultados se presentaron mediante tablas y gráficos utilizando el paquete de Microsoft; este trabajo de investigación no requirió de procesamiento estadístico.

2.8. Consideraciones éticas

El presente estudio no involucró experimentación en seres humanos y animales, dado que se evaluó la actividad biológica “*in vitro*” de los extractos acuosos obtenidos de semillas de frutas autóctonas e introducidas y que fueron seleccionadas para su estudio.

2.9. Consentimiento informado

Se proporcionó a los miembros del equipo de investigadores donantes voluntarios información detallada sobre el proyecto de investigación con el fin de obtener su consentimiento informado. Este consentimiento fue necesario debido a la extracción de muestras sanguíneas requeridas para el estudio. Los documentos relacionados con el consentimiento informado se adjuntaron como anexos.

CAPITULO IV

4.1. RESULTADOS

4.1.1. La actividad Hemoaglutinante

Los resultados obtenidos mediante la aplicación de técnicas de hemaglutinación y titulación se presentan en las Tablas 6 y 7.

Tabla 6. Hemoaglutinación de los extractos obtenidos a partir de las semillas de Achotillo (*Nephelium lappaceum*) y Taxo (*Passiflora tripartita*) con glóbulos rojos del grupo sanguíneo A, B y O humanos no tratados enzimáticamente.

Nombre científico/común	Tipo de eritrocitos + extracto acuoso			Control Tipo de eritrocito + SSF		
	A	B	O	A	B	O
<i>Nephelium lappaceum</i> (Achotillo)	1+	1+	1+	0+	0+	0+
<i>Passiflora tripartita</i> (Taxo)	4+	4+	4+	0+	0+	0+

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

Los resultados demostraron que los extractos acuosos de las semillas de frutas estudiadas poseen lectinas que fueron capaces de aglutinar eritrocitos humanos de los grupos A, B y O de manera inespecífica, solo el extracto acuoso obtenido de las semillas del Taxo, mostró una fuerte aglutinación = 4+, mientras que el extracto acuoso obtenido del Achotillo mostró tener una actividad hemoaglutinante débil = 1+.

Con la finalidad de establecer el título, expresión de concentración de las fitoaglutininas (lectinas) en los extractos acuosos, se realizó una dilución doble seriada hasta 1/4096 y los resultados se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Titulación de los extractos acuosos obtenidos a partir de las semillas de Achotillo (*Nephelium lappaceum*) y Taxo (*Passiflora tripartita*). con glóbulos rojos del grupo sanguíneo A, B y O humanos no tratados enzimáticamente.

Achotillo (<i>Nephelium lappaceum</i>)												
Dilución	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
GR	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+
Taxo (<i>Passiflora tripartita</i>).												
Dilución	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
GR	Grado de aglutinación											
A	3+	3+	3+	2+	1+	1+	0+	0+	0+	0+	0+	0+
B	3+	2+	1+	1+	1+	1+	1+	0+	0+	0+	0+	0+
O	3+	3+	3+	2+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+	0+

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

Los resultados de la titulación demuestran que la dilución seriada de los extractos acuosos de las semillas de frutas permitió evidenciar la concentración de las fitohemoaglutininas (lectinas) la cual resultó ser variable, el extracto obtenido de las semillas del Taxo posee una concentración de 128 contra glóbulos rojos humanos del grupo B, 64 contra el grupo A y 16 contra el grupo O. El extracto de las semillas de Achotillo diluido no aglutinó a los eritrocitos de los tres grupos evidenciando una baja concentración de las lectinas en el extracto.

4.1.2. La actividad Anticoagulante

Los resultados de la actividad anticoagulantes de los extractos acuosos de las semillas de frutas evaluadas en este estudio, se presentan a continuación, obtenidos mediante la aplicación de técnicas que evalúan a la hemostasia en el sistema de coagulación a través de la medición del TP y TTPa, los cuales se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Actividad anticoagulante de los extractos acuosos de las semillas del Achotillo (*Nephelium lappaceum*) y Taxo (*Passiflora tripartita*) sobre un pool de plasma citratado.

Evaluación de la actividad anticoagulante mediante la medición del 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	Achotillo	<i>Nephelium lappaceum.</i>	30	>300
2	Taxo	<i>Passiflora tripartita</i>	>300	>300

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados de este ensayo revelaron que ambos extractos acuosos poseen actividad anticoagulante al inhibir a los factores de la coagulación sanguínea de la vía extrínseca e intrínseca de la cascada. En detalle el extracto obtenido de las semillas de Taxo inhibió completamente la formación de fibrina tanto en el ensayo del TP y TTPa con un tiempo que superó los 300 segundos con un valor control de 16 +/- 1 segundos y 61 +/- 2 segundos respectivamente, el plasma citratado pobre en plaquetas fue incoagulable. Así mismo, el extracto acuoso obtenido de las semillas de Achotillo, inhibió parcialmente la coagulación del plasma citratado con un TP de 30 segundos con un valor control de 16 +/- 1 segundos evidenciando así poseer parcialmente actividad sobre las proteínas plasmáticas de la coagulación de la vía intrínseca y común, también mostró poseer actividad anticoagulante de inhibición completa de los factores de la cascada de la coagulación de las vías intrínseca y común con un tiempo de TTPa superior a los 300 segundos con un valor de 61 +/- 2 segundos, igualmente el plasma citratado resultó ser incoagulable.

4.1.3. La actividad antibacteriana

A continuación, en la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos en el ensayo de la actividad antibacteriana de los extractos acuosos obtenidos de las semillas de frutas estudiadas, esta evaluación se realizó mediante la técnica de difusión en agar descrita en la metodología utilizando bacterias ATCC gram positiva y negativas, discos de antibióticos como control positivo y SSF estéril como control negativo.

Tabla 9. 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	Achotillo	<i>Nephelium lappaceum</i> .	0	0	7	12	0
2	Taxo	<i>Passiflora tripartita</i>	0	0	11	10	0

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados revelaron que ambos extractos acuosos obtenidos de las semillas de las frutas Achotillo y Taxo exhibieron actividad antibacteriana, inhibiendo ambos extractos el crecimiento de la bacteria gram (+) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y de la bacteria gram (-) *Proteus mirabilis* ATCC 25933, sin evidencia de actividad contra el resto de las bacterias utilizadas en el ensayo.

4.1.4. La actividad citotóxica

En la Tabla 10 se reportan los resultados obtenidos de la evaluación citotóxica sobre los nauplios de *Artemia salina*, aplicando el procedimiento y utilizando una concentración de los extractos de: 1, 10, 100 y 1000 µg/mL y realizando la evaluación de la actividad a las 0, 2, 4, 6, y 24 horas, teniendo como control de actividad positiva, diluciones de SDS preparadas a las mismas concentraciones.

El resultado obtenido en la evaluación de la actividad citotóxica de ambos extractos acuosos reveló que las semillas de las frutas no exhibieron actividad tóxica clasificándolas como Prácticamente No Tóxicas según la clasificación establecida por el CYTED (54).

Tabla 10. Medición de la citotoxicidad de los extractos acuosos obtenidos a partir de las semillas de Achotillo (*Nephelium lappaceum*) y Taxo (*Passiflora tripartita*) como % de mortalidad de nauplios de *Artemia salina*.

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 %

Fuente: Elaboración propia. Prácticamente No tóxico Valor > 1000 (µg/mL).

4.2. DISCUSIÓN

Atendiendo el exhorto realizado por la OMS se ha desarrollado esta investigación enfocada en la búsqueda de metabolitos secundarios (lectinas) en semillas de frutas que la medicina ancestral ha utilizado para el tratamiento y prevención de enfermedades, sobre todo con la finalidad de encontrar fitoquímicos con actividad antimicrobiana que permita aportar conocimientos para intentar resolver el creciente problema de salud pública que representa el aumento de la resistencia de los microorganismos a la acción de los medicamentos antimicrobianos, adicionalmente se ha realizado la evaluación de la actividad hemoaglutinante, anticoagulante y citotóxica de las semillas de dos especies de estas frutas en extractos acuosos.

La actividad hemoaglutinante:

Los resultados obtenidos revelan que las semillas de la frutas evaluadas poseen lectinas que han podido ser evidenciadas mediante su actividad hemoaglutinante de eritrocitos humanos no tratados enzimáticamente, la actividad hemoaglutinante del extracto acuoso obtenido de las semillas del Achotillo concuerdan con lo reportado por Djabayan-Djibeyan et al. (38) en 2022 y Naspud y Castro (34) en 2020 que publicaron una actividad hemoaglutinante de eritrocitos humanos de los grupos A, B, y O, de manera no selectiva, una ligera discrepancia fue evidenciada en cuanto al grado de aglutinación que en este estudio fue débil en comparación con lo reportado por ellos, donde el grado de hemoaglutinación fue de fuerte a moderada, este grado débil de hemoaglutinación fue corroborado mediante la titulación en la que la dilución del extracto acuoso ocasionó la pérdida de la actividad, la discrepancia se

podría deber a cambios en las condiciones ambientales, de cultivo y estacionales que podrían influir en la producción de las lectinas en las semilla. En cuanto a los resultados obtenidos en los extractos acuosos de las semillas de Taxo, los resultados obtenidos en este estudio se correlacionan positivamente con lo reportado por Djabayan-Djibeyan et al. (38), sin embargo, difieren en el grado de hemoaglutinación que en este estudio reveló ser muy fuerte, mientras que ellos reportaron una actividad de grado débil a fuerte según el grupo sanguíneo, ahora bien, el grado de hemoaglutinación detectado en la titulación estaría indicando la posible existencia de tres lectinas distintas en el extracto.

La actividad anticoagulante:

Realizada una revisión de la literatura científica especializada en las bases de datos a través de los motores de búsqueda, se pudo evidenciar que casi no hay reportes de actividad anticoagulante en semillas de frutas, los resultados obtenidos en este estudio evidenciaron la actividad anticoagulante de los extractos acuosos obtenidos de las semillas de Achotillo y de Taxo, estos resultados corroboran los hallazgos hechos por Djabayan-Djibeyan et al. (38) y Naspud y Castro (34), coincidiendo en reportar una importante actividad de inhibición completa de las proteínas plasmáticas de la cascada de la coagulación sanguínea en las vías extrínseca, intrínseca y común, con pequeñas discrepancias en el extracto del Achotillo en cuanto a TP que en este estudio inhibió la actividad de las proteínas plasmáticas de la coagulación de manera parcial, mientras que ellos no reportan esta actividad.

La actividad antibacteriana:

En lo que respecta a la actividad antibacteriana esta se evidenció en ambos extractos inhibiendo el crecimiento de la cepa de *Staphylococcus aureus* con un halo de 12 mm y 10 mm de diámetro respectivamente, así mismo, se comprobó actividad contra la cepa de *Proteus mirabilis*, con un halo de 7 mm para el Achotillo y 11 mm para el Taxo. Estos resultados también fueron reportados por Djabayan-Djibeyan et al. (38) que reportaron actividad contra *S. aureus* y *E. faecalis*, mientras que Naspud y Castro (34) publicaron que el extracto de Achotillo no exhibió actividad antibacteriana.

La actividad citotóxica:

Para finalizar tenemos que la evaluación de la actividad citotóxica de estos extractos acuosos evidenció que no hubo actividad tóxica sobre los nauplios de *Artemia salina* a ninguna de las diluciones a diferentes concentraciones en el lapso de 0 a 24 horas. Hoy en día, existen multitud de fármacos obtenidos de fuentes naturales, desafortunadamente, la mayoría de estos compuestos a menudo muestran toxicidad sistémica y efectos adversos. Para evaluar mejor la tolerabilidad de muestras de compuestos bioactivos seleccionados, el camarón de salmuera (*Artemia salina*) se usa generalmente como modelo en los estudios de letalidad, en su estadio larvario, como se ha evidenciado en diversos estudios (58).

CAPITULO V

5.1. CONCLUSIONES

- Mediante la disrupción mecánica y con la técnica de infusión en frío se pudo extraer en solución acuosa las lectinas a partir de las semillas de Taxo (*Passiflora tripartita*) y Achotillo (*Nephelium lappaceum*), para luego realizar la evaluación de su actividad biológica.
- Las hemoaglutininas de las semillas de Taxo (*Passiflora tripartita*) presentaron actividad hemoaglutinante significativa para los tres grupos sanguíneos A, B y O, mientras que lo contrario sucedió con las lectinas obtenidas del Achotillo (*Nephelium lappaceum*) que presentaron tener actividad hemoaglutinante débil.
- Los extractos acuosos obtenidos a partir del Achotillo y el Taxo mostraron tener una prolongación significativa del TP y se evidenció una gran actividad en la prolongación de TTPa.
- Se comprobó que los extractos de las semillas de Achotillo y Taxo presentaron actividad antimicrobiana sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, y *Proteus mirabilis*.
- Se determinó mediante el empleo de *Artemia salinas* que los extractos de taxo y achotillo no son citotóxicos

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios que permitan el aislamiento, purificación y caracterización de las lectinas presentes en las semillas del Achotillo y Taxo.
- Resulta importante realizar estudios que permitan la extracción de otros metabolitos secundarios que puedan estar presentes en estas semillas, mediante extracción con solventes y realizar su caracterización fitoquímica y actividad biológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. [cited 2022 Dec 1]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
2. Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Rayo Morfín-Otero, M. D., Torres-López, F. J., y Alcántar-Curiel, M. D. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. Gaceta médica de México, 2020;156(2):172-180. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132020000200172
3. Alós, J. I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 2015;33(10):692-699.
4. Ross J, Larco D, Colon O, Coalson J, Gaus D, Taylor K, y Lee, S. Evolución de la Resistencia a los antibióticos en una zona rural de Ecuador. Práctica Familiar Rural. 2020;5(1):29–39.
5. Gaus D, Ramírez DH, Larco D. Heridas infectadas por MRSA en un hospital comunitario en el Ecuador tropical. Práctica Familiar Rural. 2018;3(1).
6. Ministerio de Salud Pública (MSP) Ecuador. Plan Nacional para la Prevención y Control de la Resistencia Antimicrobiana 2019-2023. Disponible en: https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/10/Plan-Nacional-para-la-prevenci%C3%B3n-y-control-de-la-resistencia-antimicrobiana_2019_compressed.pdf
7. Serra Valdés, M. Á. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Revista Habanera de Ciencias Médicas, 2017;16(3):402-419. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2017000300011&script=sci_arttext
8. Jadan-Solis, K. P., Alban-Meneses, C. D. J., Salazar-Carranza, A., Cruz-Fonseca, L. D. L. Á., Torres-Céspedes, I., y Scrich-Vázquez, A. J. Caracterización del paludismo como enfermedad endémica en Ecuador. Revista Archivo Médico de Camagüey, 2019;23(4):540-558. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1025-02552019000400540&script=sci_arttext
9. OMS. Resistencia a los antimicrobianos. 2021. [Internet]. [cited 2023 Jul 4] Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
10. Morales Solís, M.S. Plan de negocios para la creación de una empresa comercializadora de achotillo en Quito. (Bachelor's thesis, Quito: PUCE) 2021. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/18822>
11. Sánchez Escalante, L. J. Estudio Etnobotánico, macro y micro-morfológico de plantas del

género *Passiflora* utilizadas como sedantes en la provincia de Chimborazo (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.) 2016. Disponible en:

<http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/4868>

12. Astuhuamán Chávez, K. E., y Fernández Huerta de Martínez, M. Y. C. (2022). Nivel de conocimiento de la acción hipoglucemiante del Rambutan (*Nephelium lappaceun* L.) y uso como terapia complementaria de los pacientes de la Botica Capricornio, distrito de San Martín de Porres-Lima, (Bachelor's thesis, Universidad Privada Norbert Wiener, Lima, Perú) 2022. Disponible en:
<https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/7278?show=full>
13. Estudios de actividad biológica de fármacos y compuestos de nueva síntesis | FUEIB [Internet]. [cited 2022 Dec 3]. Disponible en:
<https://fueib.org/es/investigadors/65/otri/catalogo/2/822/servicio/estudios-de-actividad-biologica-de-farmacos-y-compuestos-de-nueva-sintesis>
14. Drago-Serrano, M. E., López-López, M., & Saíenz-Espuñes, T. D. R. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 2006;37(4):58-68. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57937408>
15. León-Méndez, G., Crisóstomo-Pérez, T., González-Fegali, M. C., Herrera-Barros, A., Pájaro-Castro, N., y León-Méndez, D. Frutas como fuentes de moléculas bioactivas. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 2020;39(2):153-163.
16. Vélez, E., D'armas-Regnault, H., Jaramillo, C. J., Veléz, A. P. E., y Isitua, C. C. Fitoquímica De *Lippia Citriodora* K cultivada en Ecuador y su actividad biológica. *Revista Ciencia UNEMI*, 2019;12(29):9-19.
17. Ministerio de Salud Pública (MSP) Ecuador. Código de Ética de la Medicina Ancestral-Tradicional de las Nacionalidades y Pueblos del Ecuador. 2020. Disponible en:
https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2020/12/codigo_de_etica_revision_final_23_12_2020-pdf.pdf
18. Congreso Nacional. Ley Orgánica de Salud. Registro Oficial Suplemento # 423 2006. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2017/03/LEY-ORG%C3%81NICA-DE-SALUD4.pdf>
19. Ramírez Cárdenas, A., Isaza Mejía, G., Pérez Cárdenas, J. E., y Martínez Garzón, M. M. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación de la actividad antibacteriana del *Solanum Dolichosepalum* Bitter (Frutillo), 2017;22(1):1-11.
20. Rodríguez-Quezada, M. D. P., Gamarra-Torres, O. A., y Pérez-Azahuanche, F. R.

Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas. *Medicina Naturista*, 2021;15(1):32–37.

21. Chávez Caiza, J. C. Análisis de la actividad antibacteriana del extracto metanólico de las hojas de chiruyuyo (*Kalanchoe pinnata*) en muestras de agua cruda de diferentes fuentes (Bachelor's thesis, Quito: UCE) 2017.
22. Paredes Parco, B.P. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de *Hedyosmum* sp. frente a cepas de interés clínico. (Bachelor's thesis, Universidad Nacional de Chimborazo). 2019. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6112>
23. Figuêredo-Júnior, E.C., Cavalcanti, Y.W., Brito-Lira, A., Freire-Pessôa, H. de L., Silva-Lopes, W., da Silva, D.R., Almeida-Freire, I., Rosalen, P.L., Melo de Brito-Costa, E.M. y Vieira-Pereira, J. Composición fitoquímica, actividad antifúngica, toxicidad in vitro e in vivo del extracto de hojas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat.* 2021;20(5):536–57.
24. Remón Rodríguez, H., Alarcón Zayas, A., Almeida Saavedra, M., Viera Tamayo, Y., Ramos Escalona, M., y Bazan Osorio, Y. Phytochemical screening and antibacterial activity of dry extracts of 20 % tinctures from *Mammea americana* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* 2012;17(4):300–7.
25. Estrada Novoa, M., & Huaman Jimenez, K. *Chenopodium ambrosioides* L.: revisión de un Amaranthaceae de interés científico. Universidad María Auxiliadora, Lima, Perú, 2021. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/320?show=full>
26. Morón Rodríguez, F.J., Guerrero Jácome, R.O., Victoria Amador M.d.C. Plantas medicinales caribeñas con potencialidad para inhibir la agregación de las plaquetas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales.* 2007;12(2):0–0.
27. Puche López N., Alonso Roca R., Gordillo López F.J., Díaz Sánchez S. Anticoagulación. *Atención Primaria.* 2002;30:521-526. Disponible en <https://www.elsevier.es/en-revista-atencion-primaria-27-articulo-anticoagulacion-13039539>
28. Arencibia Arrebola, D.F., Rosario Fernández, L.A., y Curveco Sánchez, D.L. Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. *Revista toxicológica en línea*, 2003; 40-53.
29. Gaspar Reyes, W., Niño Velásquez, A., Alejos Cabrera, R., & Ynga Huamán, G. (2021). Manual para la producción de *Artemia franciscana* como alimento para larvas y juveniles de peces. Publicaciones IMARPE. 2021;48(1):35-49. Disponible en: <https://bibliomarpe.imarpe.gob.pe/bitstream/20.500.12958/3531/1/Informe%2048-1%20Articulo8.pdf>

30. Ávalos-Soto, J., Treviño-Neávez, J.F., Verde-Star, M.J., Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, A., Moran-Martínez, J., ... y Morales-Rubio, M.E. (). Cytotoxic evaluation of *Azadirachta indica* (A. Juss) ethanolic extracts against different cells lines. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 2014;45(3):39-44.
31. Farías Delgado, G. Y., y Olaya Larrosa, Y. L. (). Estudio farmacognóstico y fitoquímico de las semillas de los frutos dulces y amargos de *Nephelium lappaceum* L (Bachelor's thesis, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas). 2018 Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/33637>
32. Hernández Hernández, C., Aguilar, C., Rodríguez Herrera, R., Flores Gallegos, A., Morlett Chavez, J., Govea Salas, M., y Ascacio Valdés, J. (2019). Rambután (*Nephelium lappaceum* L.): Una Revisión General. *Journal of BioProcess and Chemical Technology (JBCT)*, 2019;11(21):7-13.
33. Arias, T. M., y Calvo, V. I. El cultivo de rambután o mamón chino. San José, Costa Rica: Mag-Inta-Fittacori, 2014. 1-88 pp.
34. Naspud Villafuerte, M.A., y Castro Cabrera, J.Á. Actividad biológica de las lectinas obtenidas de semillas del achotillo (*Nephelium lappaceum*) y uvilla (*Physalis peruviana*), Riobamba, 2019-2020 (Bachelor's thesis, Universidad Nacional de Chimborazo) 2020. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6800>
35. Bonilla-Morales, M.M., Aguirre-Morales, A.C., y Agudelo-Varela, O. M. Morfología de *Passiflora*: una guía para la descripción de sus especies. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 2015;6(1):91-109.
36. Nicolls, J.M., Birner, J., y Forsell, P. Passicol, an antibacterial and antifungal agent produced by *Passiflora* plant species: qualitative and quantitative range of activity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1973;3(1):110-117.
37. Lema Fernández, M.A. Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante In Vitro de hojas y flores de *Passiflora tripartita* (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo) 2016. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789>
38. Djabayan-Djibeyan, P., González-Ramírez, L.C., Ustariz, M.E., y 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. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642022000200021&script=sci_arttext
39. Dixon, T. *Ricinus communis*. *Australas Med. Gaz.* 1887;6:137-137.
40. Stillmark, H. Über ricin ein giffliges ferment aus dem samen von *Ricinus communis* L. Und

- einegan anderen euporbiaceen. Inaugural Dissertation. Dorpat 1888.
41. Boyd, W. C., y Shapleigh, E. Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins). *Science*, 1954;119(3091):419-420.
 42. Stilmark, H. In: Kobert, R. *Arbeiten des pharmakologischen Institutes zu Dorpat*. DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1892;18(33):752-752.
 43. Sharon, N., & Lis, H. (). Lectins as cell recognition molecules. *Science*, 1989;246(4927):227-234.
 44. Landsteiner, K. Agglutination phenomena in normal human blood. *Wien Klin Wochenschr*, 1901;14:1132-1134.
 45. Landsteiner, K., y Raubitschek, H. Beobachtungen über hämolyse und hämagglutination. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. Abt.*, 1907;1: 660-667.
 46. Yajko, D.M., Chu, A. y Haddly, W.K. Rapid Confirmatory Identification of *Neisseria gonorrhoeae* with Lectins and Chromogenic Substrates. *J. Clin. Microbiol.* 1984;19(3):380-382.
 47. Robinson, W. E. Jr., Montefiori, D.C. y Mitchell, W.M. Evidence that mannosyl residues are involved in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) pathogenesis. *AIDS research and human retroviruses*, 1987;3(3):265-282.
 48. Nicholls, T.J., Cook, D.J., Rogers, D.J., Green, K.L., y Smart, J.D. Lectins in Ocular Drug Delivery. An In-vivo Study of Lectin Retention on Ocular Surfaces. *Pharmacy and Pharmacology Communications*, 1997;3(2):77-81.
 49. Banchonglikitkul, C., Smart, J. D., Gibbs, R. V., & Cook, D. J. (2000). Binding of some Diocleinae lectins to the mucosal surfaces of the eye and mouth. *British Journal of Biomedical Science*, 2000;57(1):7-12.
 50. Babbie E. *La Práctica de la Investigación Social* [Internet]. 2016 [cited 2023 Jul 5]. p. 24. Disponible en: <http://metodos-comunicacion.sociales.uba.ar/wp-content/uploads/sites/219/2014/04/Babbie-Cap-4.pdf>
 51. 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*. *Nat. Prod. Commun.*, 2018; 13(12):1715-1719.
 52. Boorman, J., Mellor, P.S., Boreham, P.F.L., y Hewett, R. S. A latex agglutination test for the identification of blood-meals of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Bulletin of Entomological Research*, 1977;67(2):305-311.

53. Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C., Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *AJCP*. 1966;45(4):493-496.
54. CYTED. (Ciencia y Tecnología para el Desarrollo). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. España: Editor Pinzón;; p 45-49 1995.
55. 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.
56. 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.
57. Dhont, J., Sorgeloos, P. (2002). Applications of Artemia . In: Abatzopoulos, T.J., Beardmore, J.A., Clegg, J.S., Sorgeloos, P. (eds) *Artemia: Basic and Applied Biology. Biology of Aquatic Organisms*, vol 1. Springer, Dordrecht. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-017-0791-6_6#citea
58. Lopes, V.R., Fernández, N., Martins, R.F., Y Vasconcelos, V. Primary screening of the bioactivity of brackishwater cyanobacteria: Toxicity of crude extracts to *Artemia salina* larvae and *Paracentrotus lividus* embryos. *Marine drugs*, 2010;8(3):471-482.

ANEXOS

Anexo 1: Consentimiento Informado



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto de investigación: “Actividad biológica de los extractos acuosos obtenidos a partir de semillas de Achotillo y Taxo ”

Fecha:de.....20.....

Nombre: **Edad:** **Grupo sanguíneo:**
.....

Tutor responsable: Dr. Pablo Djabayan Djibeyan

Yo: con C.C: 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.

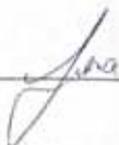
CERTIFICADO DE CONSENTIMIENTO

Fecha: ...17...de...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: 1805246040..... 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 Novra.2022..

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

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

Yo: Nelly Prieta Sánchez Tixe con C.C: 0605018542..... 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: ...13...de...Marzo...2022..

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

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

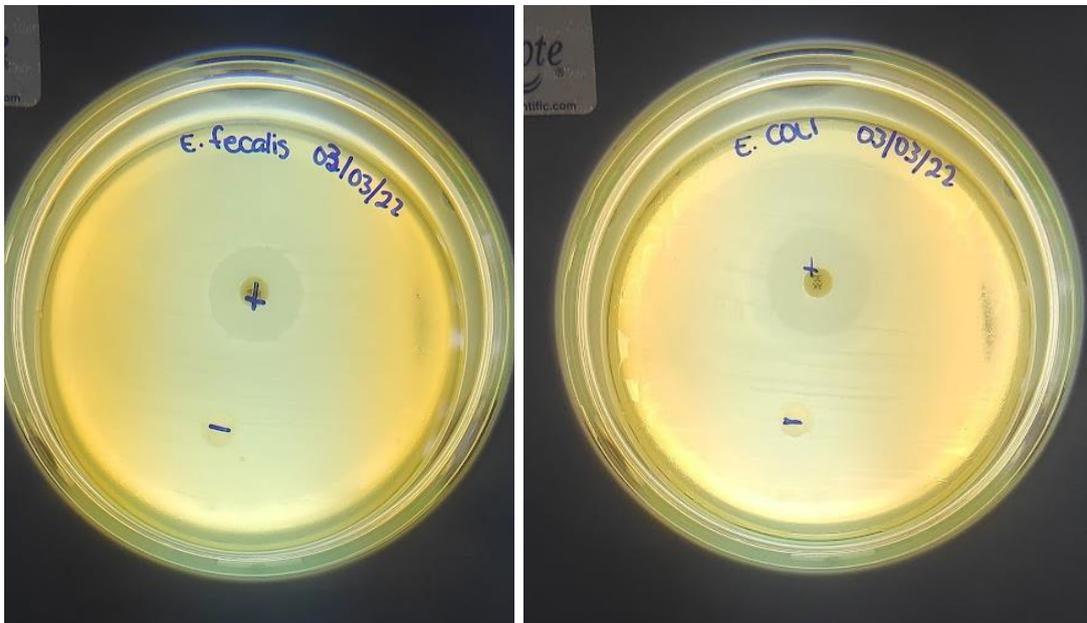
Anexo 2: Elección y preparación de los frutos Andinos Taxo y Achotillo

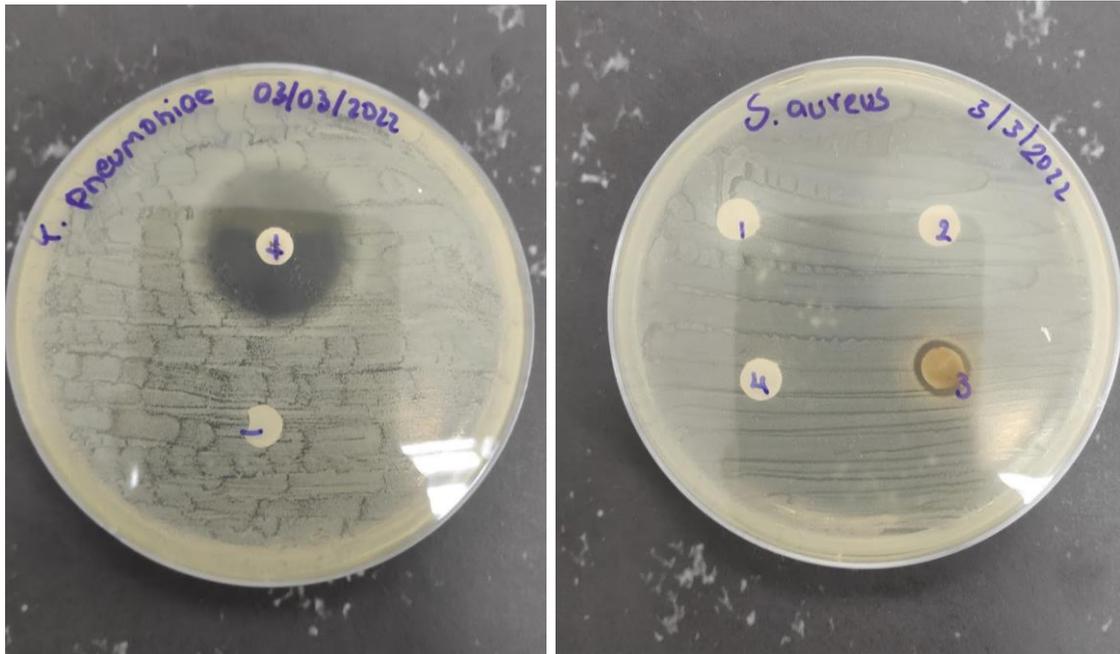


Anexo 3: Prueba de actividad hemoaglutinante y coagulación



Anexo 4: Preparación de medios de cultivo y pruebas de actividad antibacteriana





Anexo 5: Prueba de actividad citotóxica con *Artemia salina*



