

# **UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO**

**CARRERA:  
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:  
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:  
“Evaluación biológica del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn  
fundamentado en el uso etnobotánico.”**

**AUTORA:  
DIANA CAROLINA CRUCERIRA CUENCA**

**TUTORA:  
TATIANA DE LOS ANGELES MOSQUERA TAYUPANTA**

**Quito, Enero del 2020**

### **Cesión de derechos del autor**

Yo, Diana Carolina Cruceira Cuenca, con documento de identidad N° 1724347743 manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación intitulado: “Evaluación biológica del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn fundamentado en el uso etnobotánico”, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



Diana Carolina Cruceira Cuenca

CI: 1724347743

Quito, Enero del 2020

### **Declaratoria de coautoría del docente tutor**

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “Evaluación biológica del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn fundamentado en el uso etnobotánico”, realizado por Diana Carolina Cruceira Cuenca, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, Enero del 2020.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Tatiana de los Angeles Mosquera Tayupanta', with a long horizontal line extending to the right.

Tatiana de los Ángeles Mosquera Tayupanta

CI. 1711668010

### **Dedicatoria**

*Con todo mi amor a Dios por brindarme sabiduría, fuerza y valentía durante toda mi carrera universitaria para continuar hacia adelante y no desfallecer.*

*Y a mis maravillosos padres ya que son un apoyo incondicional, además por su amor sacrificio y esfuerzo de brindarme una carrera, confiando así totalmente en mí.*

## **Agradecimiento**

*A Dios Todopoderoso por brindarme salud y sobre todo unos padres maravillosos que han sido la base fundamental en mi vida, ya que con su apoyo, confianza y consejos he logrado una de mis metas propuestas, eternamente viviré agradecida con ustedes.*

*A mi Familia en especial a mi abuelito Julio por brindarme el apoyo y confianza.*

*A mi Tutora la Msc. Tatiana Mosquera por la apertura, confianza, sabiduría y apoyo en la realización de este trabajo experimental.*

*A un gran compañero de aventuras Diego Játiva, por ese apoyo incondicional, cariño, comprensión y sobre todo amor, demostrando así que las casualidades no existen.*

*A mi gran amiga Natalia por esa amistad sincera que ha ido creciendo durante el transcurso de toda la carrera*

## Índice

Introducción .....	1
Capítulo I.....	4
Marco Teórico.....	4
1.1. La Medicina Tradicional en el Ecuador.....	4
1.2. <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn. ....	5
1.2.1. Clasificación Taxonómica.....	5
1.2.2. Descripción Botánica .....	5
1.2.3. Distribución Geográfica.....	6
1.2.4. Composición Química.....	6
1.2.5. Uso Etnobotánico .....	7
1.3. Extractos vegetales.....	9
1.3.1. Tipos de extractos.....	10
1.3.2. Métodos de obtención de extractos vegetales. ....	11
1.3.3. Infusión.....	12
1.3.4. Decocción.....	13
1.3.5. Percolación.....	14
1.4. Actividad Biológica.....	15
1.4.1. Evaluación de la Actividad antibacteriana.....	15
1.4.1.1. Método de difusión en agar.....	15
1.4.1.2. Método de microdilución en caldo.....	16
Capítulo II .....	17
Metodología utilizada para la evaluación biológica del extracto de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn fundamentado en el uso etnobotánico.....	17
2.1. Identificación del uso Etnobotánico.....	17
2.2. Diseño experimental.....	18
2.3. Obtención de la muestra vegetal .....	19
2.3.1. Recolección de la especie vegetal <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn. ....	19
2.3.2. Identificación taxonómica .....	19
2.3.3. Selección, preparación y conservación de la muestra vegetal.....	20

2.4.	Obtención de los extractos vegetales acuosos.....	21
2.4.1.	Infusión.....	21
2.4.2.	Decocción.....	21
2.5.	Obtención de los extractos fluidos.....	22
2.5.1.	Percolación.....	22
2.6.	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos obtenidos por el método de microdilución en caldo.....	23
2.6.1.	Preparación del inóculo.....	24
2.6.2.	Microdilución en Caldo.....	25
2.7.	Determinación de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> de los extractos obtenidos, mediante difusión en agar.....	26
2.7.1.	Preparación del inóculo.....	27
2.7.2.	Comparación de la actividad antimicrobiana de los extractos mediante prueba de sensibilidad por discos.....	27
2.7.2.1.	Análisis estadístico.....	29
	Capítulo III.....	30
	Resultados y discusión.....	30
3.1.	Resultados entrevista etnobotánica.....	30
3.2.	Obtención de Extractos vegetales acuosos.....	37
3.2.1.	Infusión y Decocción de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn.....	37
3.3.	Obtención de extractos fluidos.....	37
3.3.1.	Extracto Hidroalcohólico <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn.....	37
3.4.	Determinación de la CMI de los extractos acuosos e hidroalcohólicos por el método de microdilución en caldo.....	38
3.5.	Validación de la actividad antimicrobiana de los extractos mediante prueba de sensibilidad por discos.....	40
3.6.	Análisis estadístico de la sensibilidad por discos.....	44
3.6.1.	ANOVA del porcentaje de inhibición de <i>Escherichia coli</i> frente a los extractos hidroalcohólicos frescos y secos.....	44
3.6.2.	ANOVA del Porcentaje de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> frente a los extractos hidroalcohólicos frescos y secos.....	45
3.6.3.	ANOVA del Porcentaje de inhibición de <i>Candida albicans</i> frente a los extractos hidroalcohólicos frescos y secos.....	46
	Capitulo IV.....	49
	Conclusiones.....	49

Recomendaciones.....	50
Bibliografía. ....	51
Anexos .....	60

## Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn.....	5
Tabla 2. Diseño experimental para elaboración de extractos de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn.....	19
Tabla 3. Distribución de encuestas aplicadas en el Distrito Metropolitano de Quito. .....	30
Tabla 4. Tabulación de encuesta sobre usos de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn.....	31
Tabla 5. Tabulación de encuesta sobre forma de usos de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn. ....	33
Tabla 6. Tabulación de encuesta sobre principales aplicaciones de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn.....	36
Tabla 7. Resumen de los resultados totales de las diferentes metodologías utilizadas. .....	38
Tabla 8. Medidas de halos de inhibición de los extractos de extractos de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	40
Tabla 9. Medidas de halos de inhibición de los extractos de extractos de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	41
Tabla 10. Medidas de halos de inhibición de los extractos de extractos de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	42
Tabla 11. Porcentaje de inhibición de los extractos hidroalcohólicos frente a los microorganismos de ensayo. ....	43
Tabla 12. ANOVA para los tratamientos de la inhibición de <i>Escherichia coli</i> . ....	44
Tabla 13. ANOVA para los tratamientos de la inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> . .....	45
Tabla 14. ANOVA para los tratamientos de la inhibición de <i>Candida albicans</i> .....	47

## Índice de figuras

Figura 1. Diseño de la microplaca de 96 pocillos para los diferentes tipos de extractos (infusión, decocción y percolación). .....	26
Figura 2. Pruebas de Tukey 5 % para los extractos hidroalcohólicos frescos y secos frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	45
Figura 3. Pruebas de Tukey 5 % para los extractos hidroalcohólicos frescos y secos frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. ....	46
Figura 4. Pruebas de Tukey 5 % para los extractos hidroalcohólicos frescos y secos frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	47

## Índice de Anexos.

Anexo 1. Diseño del cuestionario utilizado para la aplicación de encuestas en los mercados de Quito.....	60
Anexo 2. Certificado de identificación taxonómica <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn. ....	61
Anexo 3. Resultados de microplaca de extractos hidroalcohólicos de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn frescos. ....	62
Anexo 4. Resultados de microplaca de extractos hidroalcohólicos de <i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn secos. ....	63

## Resumen

En la actualidad el conocimiento ancestral ha sido la base, para conocer ciertos parámetros de especies de plantas, que presenten características que definen la actividad biológica, que podría ser de utilidad en la medicina moderna. El angoyuyo (*Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn), se destaca por ser utilizada en diferentes comunidades andinas del Ecuador, para diferentes dolencias como: inflamaciones, afectaciones en la piel y como desinfectante, entre otras. El objetivo planteado fue “Evaluar la acción biológica del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn fundamentado en el uso etnobotánico”. El extracto se fundamenta en el uso etnobotánico, información obtenida mediante una encuesta aplicada en diez mercados del Distrito Metropolitano de Quito. La evaluación biológica del extracto se realizó mediante el método de Microdilución en caldo frente a la cepas de *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ y *Candida albicans* ATCC® 10231™, confirmándose a través de la prueba de Kirby-Bauer. Reportando mejores resultados el extracto hidroalcohólico seco de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, debido a que se identificó un número mayor de concentraciones que presentaban actividad biológica, determinándose así que el microorganismo más sensible es *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, su porcentaje de inhibición mayor es del 40 %. Concluyendo así que la especie angoyuyo utilizada en el extracto hidroalcohólico obtenido por percolación presenta actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

**Palabras Clave:** *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, actividad biológica, actividad antimicrobiana, antimicótica, extractos naturales.

## Abstract

Nowadays, ancestral knowledge has been the basis, to know certain parameters of plant species, which have characteristics that define biological activity, which could be of useful in modern medicine. The angoyuyo (*Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn), stands out for being used in different Andean communities in Ecuador, for different ailments such as: inflammations, skin involvements and as disinfectant, among others. The objective posed was "Assess the biological action of *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn extract based on ethnobotanical use". The extract is based on the use of ethnobotanical, information obtained through a survey applied in ten markets of the Metropolitan District of Quito. The biological evaluation of the extract was performed using the method of Microdilution in broth against the strains of *Escherichia coli* ATCC® 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 and *Candida albicans* ATCC 10231 strains, confirmed through the Kirby-Bauer test. Better reporting of the dry hydroalcoholic extract of *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, due to the identified a higher number of concentrations that exhibited biological activity, determining that the most sensitive microorganism is *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, its highest inhibition rate is 40 %. Concluding that the angoyuyo species used in the hydroalcoholic extract obtained by percolation presents antimicrobial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and antifungal activity against *Candida albicans* ATCC 10231.

**Keywords:** *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, biological activity, antimicrobial activity, antimicrobial, natural extracts.

## **Introducción**

El continente americano posee la mayor cantidad de países ricos en biodiversidad como: Brasil, Colombia, Ecuador, México, Perú, Venezuela, Estados Unidos, entre otros, albergan una rica diversidad biológica, en ella se encuentra alrededor del sesenta por ciento de la vida terrestre del planeta, junto a una diversa flora, fauna marina y de agua dulce (UNEP, 2016).

El Ecuador es un país megadiverso en cuanto a flora y fauna, según el Ministerio del Ambiente del Ecuador (2015), se reportan 18.198 especies de plantas vasculares, estas han ido incrementado de acuerdo a los actuales descubrimientos científicos además de los aportes realizados por comunidades indígenas. Las comunidades indígenas han aportado en gran parte al conocimiento ancestral, que ha sido tan valioso y necesario para la actualidad en diferentes puntos como en la medicina, dando las pautas primarias para enriquecer el conocimiento presente. Dichos saberes no solo consideran parámetros amplios del ser humano, sino también de: la naturaleza, el tiempo, la vida y las cosas como una totalidad de relaciones que definen las características esenciales de un sistema vivo (APRODIN, 2011).

El saber ancestral en el Ecuador al pasar de los años se ha dejado a un lado perdiéndose conocimiento importante sobre plantas naturales, existe información acumulada que ha sido transmitida de generaciones en generaciones que de igual manera se ha ido desvaneciendo, el poder rescatar información valiosa que pueda apoyar a la comunidad científica es muy ventajoso, porque además de permitir la sustentación de diferentes campos como biológicos o medicinales, se apoya a diferentes comunidades andinas, además el empleo de algunas plantas con fines terapéuticos con un indicio de gran interés e importancia (Bruneton, 1993; Ríos, De la Cruz, & Mora, 2008).

Según la Dr. Zhang, (2010) de la OMS, los medicamentos herbarios abarcan: material botánico, preparaciones herbarias y productos naturales acabados, que contienen como principios activos partes de plantas u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos, y su uso está bien establecido y ampliamente reconocido como inocuo y eficaz.

La presente investigación resalta una especie de la familia Polygonaceae la cual se caracteriza por la producción de una gran diversidad de metabolitos secundarios, muchos de los cuales exhiben actividad farmacológica potencial, entre los cuales se puede mencionar; antraquinonas, naftalenos, estilbenoides, esteroides, flavonoides glicosilados, leucoantocianidinas y ácidos fenólicos, entre otros en donde evalúan las diferentes actividades biológicas (Vasas, Orbán-Gyapai, & Hohmann, 2015). Uno de los especímenes pertenecientes a esta Familia esta; *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, conocido tradicionalmente como Anku yuyu o yuyu Lutu, es utilizado por comunidades indígenas en Ecuador, para el tratamiento de enfermedades renales, en baños para aliviar el dolor óseo, como enjuague bucal para el dolor de muelas, y en combinación con otras plantas, para el tratamiento de golpes y la inflamación. También se aplica como desinfectante y para el tratamiento de heridas de la piel purulenta, además de reportar actividades antimicrobianas (De la Torre, Navarrete, Muriel, Macía, Balslev, 2008).

Recientes investigaciones demostraron la presencia de metabolitos de baja polaridad, como el fitol que es un terpeno producido por las plantas, formando parte de aceites esenciales, además de ser antimicrobiano, anticancerígeno, anti-inflamatorio, antidiurético, inmunoestimulante y antidiabético (Rodriguez, Torrenegra, Beltran, Matulevich, & Castrillon, 2014; Venkata Raman, Samuel, Pardha Saradhi, Narashimha Rao, Naga Vamsi Krishna, Sudhakar & Radhakrishnan, 2012).

Existe muy pocos estudios realizados en *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, los cuales han sido enfocados a la parte fitoquímica de la especie, en esto han utilizado extractos vegetales con diferentes tipos de solventes o extractos vegetales orientados solo en una parte de la planta evaluando las propiedades terapéuticas. La presente investigación pretende realizar una evaluación científica de la planta utilizada en la medicina ancestral, razón por la cual el extracto se fundamentó en el uso etnobotánico, además es muy importante comenzar a retomar las especies que son menos estudiadas y que presentan grandes características biológicas.

Considerando todo lo mencionado anteriormente el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo general: Evaluar la acción biológica del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn fundamentado en el uso etnobotánico y como objetivos específicos: estandarizar un método para la obtención del extracto vegetal de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, evaluar la actividad biológica del extracto vegetal de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn frente a microorganismos patógenos de la piel como: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231 y comprobar que extracto vegetal de *Muehlenbeckia tamnifolia* presenta mejores resultados.

Las hipótesis planteadas son: La hipótesis de investigación (Hi) sostiene que existe diferencia significativa en cuanto al porcentaje de inhibición antimicrobiana de al menos un tratamiento del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, mientras que la hipótesis nula (Ho) sostiene que no existe diferencia significativa en cuanto al porcentaje de inhibición antimicrobiana en los tratamientos del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

## **Capítulo I**

### **Marco Teórico**

#### **1.1. La Medicina Tradicional en el Ecuador.**

Según la Organización Mundial de la Salud (2013), la medicina tradicional es una parte importante y fundamental, subestimada al pasar de las décadas en los servicios de la salud, definida como medicina no convencional o complementaria. La medicina tradicional se ha utilizado desde siempre para tratamientos de diferentes afecciones o enfermedades de la salud o a su vez para prevención de enfermedades.

Una de las estrategias de la Organización Mundial de la Salud es el aprovechamiento de contribuciones potenciales de medicina tradicional y complementaria (MTC) enfocada en la salud, bienestar y la atención de personas además promover una utilización segura y eficaz de la MTC a través de investigaciones y reglamentos, dándose una incorporación de productos, profesionales y prácticas en los sistemas de salud (Organización Mundial de la Salud, 2013).

En el Ecuador se conoce y se utiliza centenares de especies medicinales nativas e introducidas en todas las regiones del país, se han registrado hasta el momento 3118 especies pertenecientes a 206 familias de plantas usadas con fines medicinales, de este total de especies medicinales el 75 % son plantas nativas y el 5 % de ellas son endémicas y el restante 11 % son introducidas en el Ecuador (De la Torre et al., 2008).

La medicina tradicional en el Ecuador está comprendida con diferentes saberes ancestrales distribuidas en las regiones definidas del país como son: Costa, Sierra y Amazonia. La sabiduría andina representa un rol importante en hombres y mujeres como un don humano y divino, basada en la estabilización del equilibrio espiritual

perdido con la Pacha Mama, adquiriendo conocimiento a través de este proceso (MSPE, 2008).

El etnobotánico Carlos Cerón es uno de los primeros pioneros en realizar diversas investigaciones sobre medicina natural en conjunto con diferentes grupos indígenas en las tres regiones continentales, también con participación de expedicionistas mestizos (Cerón Martínez, 2006; De la Torre et al., 2008).

## 1.2. *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

### 1.2.1. Clasificación Taxonómica.

**Tabla 1.**

Clasificación taxonómica de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

<b>Clase</b>	Equisetopsida C. Agardh
<b>Subclase</b>	Magnoliidae Novák ex Takht
<b>Superorden</b>	Caryophyllanae Takht
<b>Orden</b>	Caryophyllales Juss. Ex Bercht. & j. Presl
<b>Familia</b>	Polygonaceae Juss
<b>Género</b>	<i>Muehlenbeckia</i> Meisn
<b>Especie</b>	<i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (Kunth) Meisn
<b>Nombre común</b>	anguyuyo

**Nota:** Véase certificado de identificación Anexo 2.

**Identificación realizada por:** Álvaro J. Pérez, (2019). (Curador de Angiospermas Herbario QCA).

**Fuente:** (Missouri Botanical Garden, 2019).

### 1.2.2. Descripción Botánica

*Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn es un arbusto trepador de origen nativo, según Vargas esta especie “posee variedad de ramificaciones, con las partes terminales frecuentemente rojizas, hojas con la base cordada o sagitada, hasta ocho centímetros, ócreas membranosas muy notorias, inflorescencias en espigas axilares y frutos de color

oscuro al madurar; es frecuente en bordes de bosques, claros y en bordes de caminos, a veces creciendo sobre rocas o reptante ” (Vargas, 2002) .

### **1.2.3. Distribución Geográfica.**

El arbusto *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, se encuentra distribuida en regiones andinas frías como: México, Guatemala, El Salvador, Honduras, Costa Rica, Panamá, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Paraguay, Argentina. Enfocándonos en el Ecuador esta especie se encuentra distribuida en las provincias de Azuay, Bolívar, Cañar, Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Loja, Morona-Santiago, Napo, Pichincha, Tungurahua, Zamora-Chinchipe comprendiendo regiones frías cerca de los 2000 metros hasta el páramo (Missouri Botanical Garden, 2019; Vargas, 2002).

### **1.2.4. Composición Química.**

Investigaciones orientadas a evaluar la capacidad hipoglucemiante de extractos crudos y de extractos obtenidos a partir de solventes como; el hexano, acetato de etilo y metanol. Se identificaron en los extractos de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, nueve diferentes componentes químicos como: acetato de lupeol, ácido cumárico, lupeol,  $\beta$ -sitosterol, trans-p-ácido cumárico, ácido linoleico, (+)-catequina, afzelin, quercitrina (Torres-Naranjo, Suárez, Gilardoni, Cartuche, Flores & Morocho, 2016).

Otro tipo de extractos como el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, se evaluó la actividad antiinflamatoria con ratas Wistar, comparada con un antiinflamatorio comercial, reportó valores mayores que el blanco

negativo y menores que el medicamento comercial (Mojica B, Torrenegra G, Pombo O, Cadavid G, & Rodríguez A, 2017).

Otra de las evaluaciones realizadas con la especie *Muehlenbeckia tamnifolia* es la evaluación frente a protozoos y parásitos, en esta investigación se utilizaron extractos etéreos y alcohólicos, obteniendo una actividad moderada frente a los protozoarios, explicándose dicha actividad debido a la presencia de compuestos bioactivos como triterpeno (lupeol) y frente a los parásitos una baja actividad (Rodríguez, Torrenegra, & Pombo, 2019).

Las extracciones con el solvente éter de petróleo a partir de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* en época de floración y concentrándolo en Soxhlet, arrastraron diferentes tipos de compuestos como: nonacosano, heptacosano, metil-commate A, hexadeciloxirano, hentriacontano, tricosano, pentadecano, alfa-tocoferol , 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol , nor-olean-12-ene , ácido n-hexadecanoico, henicosano, ácido 9,12,15-octadecatrienoico, docosano, tetracosano, docosanoato de metilo, nonadecano, hexacosanoato de metilo, octadecano, 9,12-octadecadienato de etilo, heptadecano, friedelan-3-one. Además se destaca gran variedad de metabolitos secundarios como: el benzoato de bencilo encargado de aliviar y controlar infecciones producidas por las escabiosis, el alfa-tocoferol posee una actividad antioxidante además de prevención contra el cáncer, entre otros metabolitos de importancia medicinal y cosmética (Rodríguez et al., 2014).

#### **1.2.5. Uso Etnobotánico**

En el libro Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador, De la Torre et al., señala que la especie *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, es utilizada en el campo medicinal, en diferentes comunidades indígenas empleada de diferentes formas: “Las

hojas maceradas se usan para tratar afecciones de los riñones. La infusión de la planta se usa para tratar granos; en baño alivia el dolor de los huesos (artritis) y como lavado bucal calma el dolor de muelas (Etnia no especificada-Chimborazo). La planta, especialmente las hojas, en infusión y mezclada o no con linaza, se usa para tratar lisiados, golpes e inflamaciones (Kichwa de la Sierra-Pichincha, Cotopaxi; Mestiza-Pichincha; Etnia no especificada-Carchi, Imbabura, Tungurahua, Cotopaxi, Chimborazo, Bolívar, Azuay, Napo). Las hojas se usan para tratar el dolor de cabeza (Etnia no especificada-Azuay). Las hojas, en emplasto, se aplican para tratar heridas con pus (Mestiza-Pichincha; Etnia no especificada-Cañar). Se usa, en infusión y mezclada con hierba mora, como desinfectante de la piel (Etnia no especificada-Carchi). Se usa, en infusión, para curar heridas en animales y personas. Puede mezclarse con otras plantas (Etnia no especificada-Carchi, Pichincha)” (De la Torre et al., 2008).

En el artículo Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos, Cerón presenta información recopilada de acercamientos a comunidades indígenas topando diferentes parámetros importantes del saber ancestral de los Andes ecuatorianos, mencionando que *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn es utilizada en: Inflamación, baños calientes, dolor de muela, baño posparto, además de mencionar que son plantas medicinales que se expenden en mercados de Quito (Cerón Martínez, 2006).

En el artículo A survey of traditional medicinal plants from the Callejón de Huaylas, Department of Ancash, Perú, Hammond e investigadores mencionan que, la especie *Muehlenbeckia tamnifolia* para su preparación y usos se utiliza; “Las hojas jóvenes trituradas aplicándose como vendaje de heridas externas; también la decocción de las hojas, junto con las de *Chenopodium murale* ("hierba del gallinazo"), unas gotas de

jugo de lima y sal, se beben para tratar el cáncer uterino” (Hammond, Fernández, Villegas, & Vaisberg, 1998).

Investigaciones por De Feo citado por Hammond et al., mencionan; “El jugo de las hojas trituradas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn se usa principalmente como cicatrizante de heridas externas por los herbolarios del Callejón de Huaylas. Se usa como agente de cicatrización de heridas, también se ha observado en la parte norte del Perú, donde se usa internamente como cicatrizante para las úlceras gástricas” (De Feo, 1992; Hammond et al., 1998).

Las hojas maduras de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn pueden ser utilizadas también como un remedio para la influenza además es aplicable cuando se tiene cólicos o dolores menstruales (Tene, Malagón, Vita Finzi, Vidari, Armijos & Zaragoza, 2007).

Por otro lado, existen estudios en la familia Polygonaceae, en el género *Muehlenbeckia* donde utilizan el extracto de la planta y evalúan la concentración mínima inhibitoria (Tamariz-Angeles, Olivera-Gonzales, & Santillán-Torres, 2018).

### **1.3. Extractos vegetales**

Un extracto vegetal es un preparado producido por la obtención de principios activos que pueden estar presentes en cualquier parte de una planta, estos pueden ser obtenidos a través del fraccionamiento total o parcial utilizando diferentes tipos de solventes como: agua, alcohol, éter de petróleo, etc., considerando un proceso de extracción conveniente para el mismo (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2013; Santamaría, Martín González, & Astorga, 2015; USP30-NF25, 2007).

### 1.3.1. Tipos de extractos

De acuerdo a las Farmacopeas Argentina y Estadounidense, se puede reconocer tres tipos de extractos considerando la consistencia: Extractos líquidos, Extractos en polvo y Extractos semisólidos (ANMAT, 2003; USP30-NF25, 2007).

Considerando la concentración del principio activo y su consistencia según Kuklinski se clasifica también en:

- **Extracto fluido:** son preparaciones líquidas de drogas vegetales, que utilizan como solvente alcohol o algún tipo de solvente adecuado necesario, cada mililitro contiene los elementos constitutivos extraídos correspondiendo a 1 g de material crudo (ANMAT, 2003; USP30-NF25, 2007).
- **Extracto blando:** este tipo de extracto contiene una consistencia semisólida, la concentración del principio activo es mayor a la de la droga inicial, este tipo de extractos son muy inestables y difíciles de manejar (Kuklinski, 2003). Principalmente este tipo de extracto se lo obtiene por la evaporación de un extracto fluido (Ochoa, Marín, Delgado, Silva, & Salgueiro, 2008).
- **Extracto seco:** este tipo de extracto poseen una textura seca polvorienta y son fáciles de triturar, se obtienen por la evaporación total del disolvente (Kuklinski, 2003; Voigt, 1982).
- **Crioextracto:** Según Castillo & Martínez, este tipo de extracto es obtenido partir de la trituración de; “droga vegetal correctamente desecada y previamente troceada sometida a condiciones de congelación ( $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) mediante inyección de nitrógeno líquido, de forma que los principios activos no se ven alterados por la acción del calor desprendido en un proceso de molturación normal y que, dependiendo de la droga vegetal, podría llegar a ser hasta de  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ” (Castillo García & Martínez Solís, 2007).

### 1.3.2. Métodos de obtención de extractos vegetales.

La obtención de extractos se puede lograr a partir de diferentes métodos extractivos como la extracción con disolventes, este es la disociación o separación de los componentes activos presentes en la planta con la utilización de un tipo de disolvente o mezcla del mismo (Aguado Bernal, 2013). Cuando se realiza una extracción con solventes según Osorio Durango (2009), se debe considerar varios factores importantes para que se lleve a cabo una extracción correcta como son: Características de la droga, naturaleza del solvente, temperatura, tiempo de contacto entre la droga y el disolvente y el control de la difusión celular.

Existen dos principales tipos de extracciones con disolventes que son:

- **Extracción discontinua o simultánea:** en este tipo de extracción el material vegetal utilizado se sumerge en el solvente apropiado directamente, así se va arrastrando todos los componentes activos hasta que se encuentren en un total equilibrio. De acuerdo al tipo de solvente, temperatura y tiempos utilizados existen procedimientos de extracción como: maceración, digestión, infusión y decocción (Kuklinski, 2003; Osorio Durango, 2009).
- **Extracción continua o progresiva:** en este tipo de extracción el material vegetal utilizado se pone en contacto con el disolvente adecuado manteniendo un desequilibrio entre la concentración de los activos presentes en la planta y el disolvente. El disolvente utilizado se debe ir renovando progresivamente, el cual actuara en una sola dirección. Se considera en esta extracción dos procedimientos: percolación y Soxhlet (Kuklinski, 2003; Osorio Durango, 2009).

### **1.3.3. Infusión.**

Este tipo de extracto vegetal viene desde épocas precolombinas de nuestros ancestros, de acuerdo a Villamagua-Vergara mencionado por Guevara e investigadores indican que, “La infusión es particularmente tradicional entre los pueblos indígenas de la región que tomaron las costumbres traídas por los colonizadores y las adaptaron a su cultura, conocimiento ancestral y características de la región. Entonces, los pueblos indígenas combinaron plantas localmente conocidas como "calientes" (cálidas) y "frías" (frías) para mejorar el efecto terapéutico de la bebida” (Guevara et al., 2019; Villamagua Vergara, 2014).

Según Boxler, la infusión “Es un preparado natural de las partes blandas y secas de hojas, flores o frutos de diversas hierbas aromáticas, a las cuales se les vierte agua caliente y se las deja reposar, en un recipiente tapado, durante 5 a 10 minutos” (Boxler, 2011). Este tipo de preparados fitoterapéuticos son los más utilizados habitualmente, debido a su procedimiento sencillo, además para la preparación de un remedio base es indispensable la mezcla de diferentes plantas para obtener un resultado mejor en sabor y color (Castillo García & Martínez Solís, 2007).

Este tipo de preparaciones presenta una principal ventaja es muy fácil y sencilla de usar sin tener un uso prolongado, sin embargo presenta dificultades como que presenta baja estabilidad del preparado, por lo cual es imprescindible que la administración sea inmediata (Castillo García & Martínez Solís, 2007; Macheiner, Schmidt, Schreiner, & Mayer, 2019).

El extracto acuoso de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn se obtendrá a través de infusión siguiendo con las especificaciones mencionadas en USP30-NF25 (2007), utilizando como solvente agua, además para la obtención de los dos extractos a partir

de este procedimiento se considerara toda la planta exceptuando raíz y considerando el tipo de material vegetal (fresco y seco).

#### **1.3.4. Decocción.**

La cultura tradicional china posee un sistema de diagnóstico que no solo considera el tratamiento de la persona y la farmacología de una planta sino que también incluye “al cuerpo humano en relación con su propio entorno natural, físico y social” (Chan, 2005).

En la revisión *Chinese medicinal materials and their interface with Western medical concepts*, Chan menciona que, la extracción de principios activos a través de preparados naturales para la mayoría de hierbas medicinales su modo de utilización es a través de decocciones acuosas o como extractos acuosos-etanólicos (Chan, 2005).

La decocción es una preparación farmacéutica, la cual es obtenida por el arrastre de los componentes activos. También como señalan Castillo y Martínez “se extraen los compuestos al poner en contacto prolongado el material vegetal con agua hirviendo o muy caliente, manteniendo la fuente de calor después de haber añadido la planta” (Castillo García & Martínez Solís, 2007).

La decocción es más empleado cuando se utiliza material vegetal es más rígido, como cortezas, tallos o raíces, es importante considerar que existen plantas con componentes volátiles, de tal forma que se debe tener precaución evitando la pérdida de éstos. Para la realización de este preparado el material junto el solvente que es el agua se hierve por un tiempo determinado entre 10 y 15 minutos (Baulies Romero & Torres Castella, 2012; Castillo García & Martínez Solís, 2007).

El extracto acuoso de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn se obtendrá por decocción de acuerdo a las especificaciones mencionadas en USP30-NF25 (2007), utilizando como solvente agua, además para la obtención de los dos extractos a partir de este procedimiento se considerará toda la planta exceptuando raíz y considerando el tipo de material vegetal (fresco y seco).

### **1.3.5. Percolación.**

En el libro Farmacognosia- Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, Kuklinski define que la percolación es; “un procedimiento que se realiza a temperatura ambiente. El material crudo se coloca en una columna (percolador) y está en contacto permanente con el disolvente establecido que gotea por la parte superior de la columna, atraviesa toda la zona donde se encuentra el material crudo con los componentes activos, arrastrándolos, por la parte inferior, se recogen los líquidos extractivos que contienen los principios activos” (Kuklinski, 2003).

Previamente a la extracción es necesario humectar la droga con el disolvente, permitiendo su esponjamiento con el fin de facilitar la entrada del menstuo en las membranas celulares durante la percolación (Carrión Jara & García Gómez, 2010; Sellés Flores, 1995).

El extracto fluido de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn se obtendrá a través de percolación acorde a las especificaciones dadas en USP30-NF25 (2007), se empleará como solvente etanol : agua, además para la obtención de los dos extractos a partir de este procedimiento se considerará toda la planta exceptuando raíz y considerando el tipo de material vegetal (fresco y seco).

## **1.4. Actividad Biológica.**

### **1.4.1. Evaluación de la Actividad antibacteriana.**

Existen diferentes métodos que permiten evaluar la sensibilidad o actividad antimicrobiana de diversos extractos o aceites esenciales de una especie vegetal, como menciona Reyes-Jurado e investigadores, “la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), la eficacia antimicrobiana y la evaluación de espectro antimicrobiano, entre otros” (Reyes Jurado, Palou, & López Malo, 2014).

#### **1.4.1.1. Método de difusión en agar.**

Este método también conocido como método Kirby-Bauer, es un procedimiento recomendado actualmente por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS o CLSI, de Estados Unidos. Los investigadores Ramírez y Marín, citando al CLSI afirman que el fundamento es “establecer en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos o cepas puras” (CLSI, 2015; Ramirez & Marin Castaño, 2009).

Según Ramírez y Marín este método se basa en “la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia” (CLSI, 2015; Ramirez & Marin Castaño, 2009).

#### **1.4.1.2. Método de microdilución en caldo.**

Este tipo de metodología es llevada a cabo en pocillos con medios de cultivo líquidos (caldos) de acuerdo al microorganismo de interés, Reyes-Jurado e investigadores mencionan que; “el medio de cultivo contienen concentraciones crecientes de extractos o aceites esenciales diluidos en el medio, el cual se inocula un número de células bacterianas” (Reyes Jurado et al., 2014).

El Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio por sus siglas en inglés (CLSI), menciona que se denomina microdilución en caldo debido a que se da la implementación de pequeños volúmenes dispensados en microplacas estériles, este método de microdilución se rige bajo normas ISO 20776-1 (CLSI, 2012).

Ramírez y Marín afirman que este tipo de procedimiento se lleva a cabo para las pruebas de actividad antimicrobiana “en una microplaca de 96 pocillos, se preparan diferentes concentraciones de los aceites y/o extractos a ensayar, los cuales se mezclan con el medio de cultivo, el cual ha sido inoculado previamente con el microorganismo de prueba, se deja incubar y posteriormente se determina por turbidez o por cambio de color con un agente que defina si existe crecimiento o no del microorganismo, el pozo que contenga la menor concentración del agente que inhibe completamente el crecimiento define la MIC (Concentración mínima inhibitoria). Como prueba confirmatoria se siembra por superficie en caja de Petri con agar nutritivo, 20 µL del contenido del pozo, dejando incubar por 24 horas a 37 °C; para posteriormente realizar la lectura” (Ramirez & Marin Castaño, 2009).

## Capítulo II

### **Metodología utilizada para la evaluación biológica del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn fundamentado en el uso etnobotánico.**

#### **2.1. Identificación del uso Etnobotánico.**

La identificación del uso Etnobotánico, se realizó mediante la aplicación de encuestas abiertas basándose en aplicaciones masivas, que mediante técnicas de muestreo adecuadas pueden hacer extensivos los resultados a comunidades enteras (Casas Anguita, Repullo Labrador, & Donado Campos, 2003).

La aplicación de las encuestas se realizó en 10 mercados del Distrito Metropolitano de Quito, considerando un muestreo de un 50 % en relación a una población de 20 mercados definidos por entidades municipales como principales, los mercados encuestados fueron los siguientes:

- Mercado Central de Quito.
- Mercado de “El calzado”.
- Mercado Ñaquito.
- Mercado Municipal de Conocoto.
- Mercado Municipal “La Rumiñahui”.
- Mercado Municipal de La Kennedy.
- Mercado Municipal Mayorista.
- Mercado Municipal San Francisco.
- Mercado de San Roque.
- Mercado de Santa clara.

El diseño del cuestionario fue orientado a obtener información sobre: manejo, utilización, localización y usos principales de la especie vegetal *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn. Esta información fue recopilada a través de preguntas abiertas, las cuales son empleadas en estudios de carácter exploratorio, cuando se desconoce el nivel de información que tienen los encuestados (Casas Anguita et al., 2003).

La metodología para la aplicación de encuestas se desarrolló de la siguiente manera:

- Se procedió al acercamiento directo a cada uno de los mercados seleccionados del Distrito.
- Se realizó un consentimiento verbal en el cual la persona entrevistada accedía a participar voluntariamente a la encuesta.
- Se procedió a preguntar todo el cuestionario previamente definido.

## **2.2. Diseño experimental.**

El diseño experimental de la investigación fue orientado con la información recopilada de las encuestas en cuanto al uso del material vegetal (infusión, decocción y percolación), teniendo como principal variable la condición del mismo (seco y fresco). El diseño al combinar las variables y realizarse por triplicado generó 18 unidades experimentales, presentadas en la Tabla 2.

**Tabla 2.**

Diseño experimental para elaboración de extractos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

<b>Tipo de extracto</b>	<b>Material vegetal</b>	<b>Tratamientos</b>	<b>Unidades experimentales</b>
<b>Infusión</b>	Fresco	A	A1, A2, A3
	Seco	B	B1, B2, B3
<b>Decocción</b>	Fresco	C	C1, C2, C3
	Seco	D	D1, D2, D3
<b>Percolación</b>	Fresco	E	E1, E2, E3
	Seco	F	F1, F2, F3

Elaborado por: La autora, 2019.

### **2.3. Obtención de la muestra vegetal**

#### **2.3.1. Recolección de la especie vegetal *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.**

La especie fue recolectada en la ciudad de Quito en el Barrio San Roque ubicado en el centro de la ciudad, con unas coordenadas de Latitud -0.218664 y Longitud -78.521567, se recolecto en los meses de abril y agosto del 2019.

#### **2.3.2. Identificación taxonómica**

La identificación de la especie vegetal *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn se realizó en Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, se siguió un método taxonómico tradicional, con la utilización de claves de identificación y con ejemplares de herbario, basándose en que la identificación taxonómica comprueba propiedades bajo un microscopio, determinando el nombre científico de la planta y la

relación filogenética que exista con otras especies, además se utiliza una base de datos electrónica donde se encuentra recopilado nomenclatura, bibliografía, etc., confirmándose así, que es la especie deseada, asimismo de conocer la jerarquía taxonómica (Missouri Botanical Garden, 2019; Tapia, Arias, Yáñez-Espinosa, & Terrazas, 2016; Torres Molinares, 2006).

### **2.3.3. Selección, preparación y conservación de la muestra vegetal**

Basado en la información etnobotánica, recolectada en las encuestas realizadas, se determina la utilización de toda la planta excepto raíz, la recolección y selección consideró los siguientes aspectos: hojas tallos y flores en buen estado es decir se tomaron las plantas sanas, sin presencia de gusanos, ni con alguna alteración visible y evitando plantas con signos de enfermedad o con coloración café.

Una vez seleccionado el material vegetal, se procedió a prepararlo de acuerdo al tipo de extracto a realizarse, considerando que cada extracto se realizará tanto con material como también con material seco.

El material fresco requiere una hidratación previa con agua destilada cuando se realiza infusión, decocción y con solvente (etanol: agua) cuando se realiza percolación.

Para obtener el material seco se utilizó un horno a una temperatura de 55 °C por 48 horas.

La conservación del material vegetal seco de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, se realizó en bolsas plásticas oscuras a temperatura ambiente de 20 – 24 °C.

## **2.4. Obtención de los extractos vegetales acuosos.**

### **2.4.1. Infusión.**

La técnica de infusión es la extracción de principios activos utilizando como solvente el agua, obtenida al sumergir el espécimen vegetal en agua destilada hirviendo ( $\pm 90$  °C) (Boxler, 2011; USP30-NF25, 2007).

Para la realización de la técnica de infusión se sigue el procedimiento de USP30-NF25, (2007):

- Se colocó 100 mL de agua destilada en un vaso de precipitación sobre una plancha de calentamiento Fisher Scientific, se llevó el agua destilada hasta su punto de ebullición.
- Luego se procedió a colocar 50 g de material vegetal seco o fresco previamente troceado.
- Se tapó herméticamente el recipiente por 20 minutos al término de los cuales se procedió a filtrar.
- Se almaceno en un frasco ámbar de 100 mL.

### **2.4.2. Decocción.**

La técnica de decocción es la elaboración de una solución extractiva que por acción del agua mantenida a ebullición ( $\pm 90$  °C) junto con el material vegetal durante un tiempo determinado, alcanza un líquido concentrado recientemente preparado de la especie vegetal (Boxler, 2011; USP30-NF25, 2007).

Para la realización de la técnica de decocción se sigue el procedimiento de USP30-NF25, (2007) :

- Se colocó 100 mL de agua destilada en un vaso de precipitación sobre una plancha de calentamiento Fisher Scientific.
- Inmediatamente que se colocó 50 g de material vegetal seco o fresco según sea el caso, previamente cortado en pedazos pequeños.
- Se llevó a punto de ebullición ambos componentes durante 20 minutos, luego se procedió a filtrar.
- Se almaceno en un frasco ámbar de 100 mL.

## **2.5. Obtención de los extractos fluidos.**

### **2.5.1. Percolación.**

La técnica de Percolación se basa en la extracción exhaustiva de ingredientes activos de la planta, conseguido al hacer pasar lentamente el disolvente por el material vegetal, extrayendo completamente los componentes activos de la especie vegetal. La percolación comprende una etapa preliminar de humedecimiento del material vegetal con el disolvente, de tal forma que facilite el hinchamiento de las paredes celulares y proporcionando la extracción de la moléculas activas de la especie vegetal (Sharapin et al., 2000).

Para la realización de la técnica de percolación se sigue el procedimiento de USP30-NF25, (2007):

- a) Se colocó 300 g de material vegetal en un horno MEMMERT SM 200 a 55 °C, por 48 horas.
- b) Se pesó 100 g de material vegetal fresco o seco, en una balanza semianalítica OHAUS Scout Pro-SP2001; para la elaboración de los dos tipos de extractos

diferentes, previamente se humectó con 200 mL de disolvente etanol:agua (90:10) por 2 horas.

- c) Se colocó el material vegetal humectado en el percolador añadiendo 400 mL del disolvente etanol/agua (90:10), por un tiempo de 48 horas.
- d) La recolección de las fracciones del percolador se realizó a las 24 horas una primera fracción de 85 mL y a las 48 h una segunda fracción de 300 mL. Esta última fracción fue concentrada en un rotavapor BUCHI R-100 a 50 °C y 200 revoluciones por minuto hasta obtener un volumen de 15 mL.
- e) El total del extracto correspondiente a 85 mL de la primera fracción y 15 ml de la segunda fracción, formaron una concentración 1:1 que representa un extracto fluido.
- f) Se realizó una clarificación mediante papel filtro y se almacenó en las condiciones antes mencionadas.

## **2.6. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos obtenidos por el método de microdilución en caldo.**

La determinación de la actividad antimicrobiana se basó en la técnica de microdilución en caldo, es un método que determina el crecimiento de microorganismos en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano, que se encuentra diluido en el medio de cultivo (caldo o agar), este utiliza pequeños volúmenes de caldo dispensados en bandejas de microdilución estériles (Balouiri, Sadiki, & Ibsouda, 2016; CLSI, 2012; Picazo, 2000).

Los microorganismos escogidos para el estudio se encuentran relacionados a la flora microbiana presente en la superficie de la piel, se encuentra formando parte bacterias como la microbiota bacteriana residente en la piel como *Escherichia coli*, la microbiota

transitoria *Staphylococcus aureus* y la microbiota fúngica *Candida albicans* que se pueden encontrar en una piel sana, también pueden ser responsables de principales dermatosis (Patiño & Morales, 2013).

Considerando el uso etnobotánico de la planta, se utiliza en gran porcentaje de forma tópica, la investigación se orienta a determinar la actividad antimicrobiana y antifúngica de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn sobre diferentes microorganismos: utilizando cepas puras de: *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ y *Candida albicans* ATCC® 10231™, al respecto es importante mencionar que esta especie ha sido ya mencionada por estudios de tipo cualitativo definiendo una actividad desinfectante y en el tratamiento de heridas de la piel purulenta (De la Torre et al., 2008; Torres-Naranjo et al., 2016).

### **2.6.1. Preparación del inóculo.**

La preparación del inóculo se fundamentó en la metodología detallada por CLSI, (2015), se realizó una suspensión directa de colonias, luego se procede a escoger 3 a 5 colonias de *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ y *Candida albicans* ATCC® 10231™ independientemente, con una asa bacteriológica impregnada del microorganismo se transfiere a un tubo de ensayo de vidrio con medio de cultivo TSB (Tryptic Soy Broth), se procede a incubar en una incubadora MEMMERT, UV-VIS de 18 a 24 horas a 36 °C, todo el procedimiento se lo realizó en la cámara de flujo laminar evitando cualquier tipo de contaminación.

Una vez transcurrido el tiempo establecido con un crecimiento moderado se diluyó el cultivo incubado, con medio de cultivo TSB estéril hasta obtener una turbidez equivalente a 0.5 McFarland, es confirmada mediante un espectrofotómetro UV-VIS

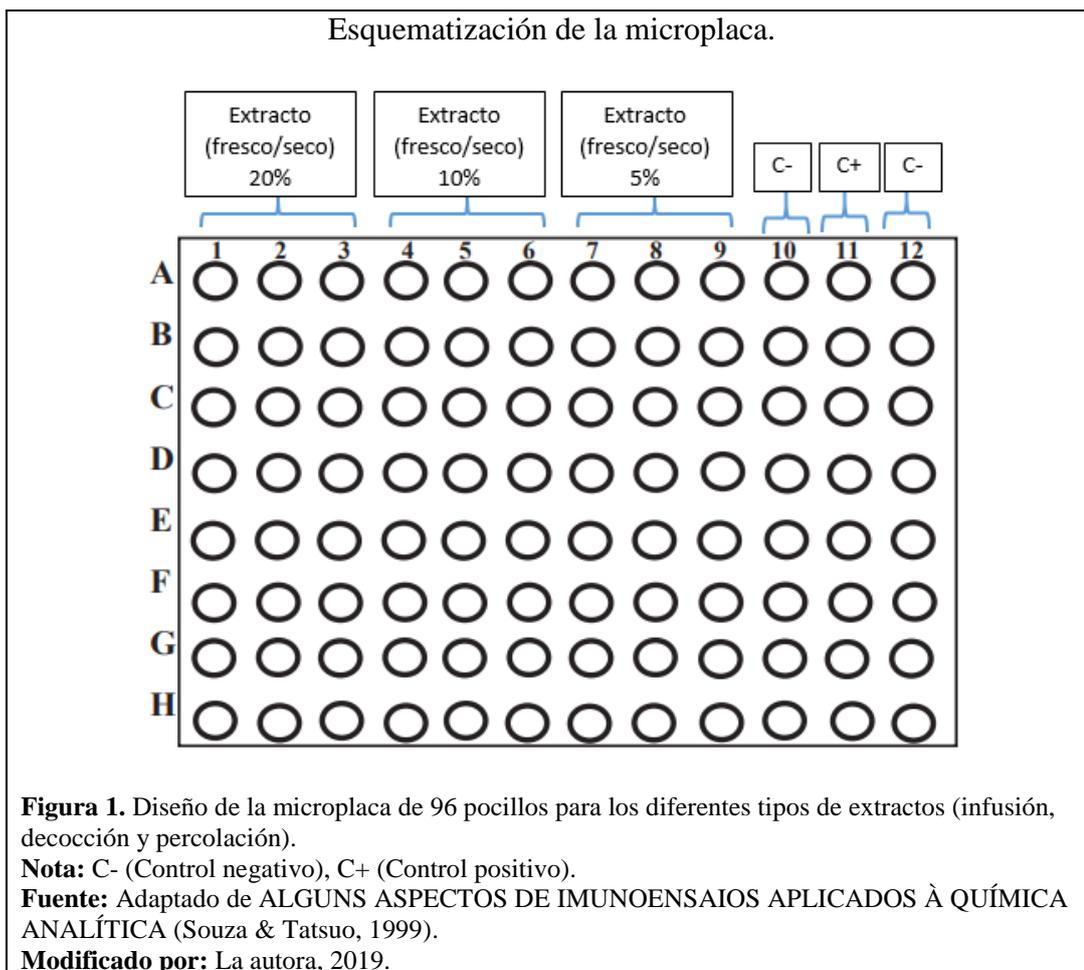
a una longitud de onda de 625 nm obteniendo una absorbancia entre 0,08 y 0,10 (Becton-Dickinson and Company, 2005; Bernal & Guzman, 1984).

### **2.6.2. Microdilución en Caldo.**

La técnica de microdilución en caldo se llevó a cabo de acuerdo al protocolo establecido en CLSI ( 2015), se procedió a trabajar en microplacas de 96 pocillos estériles, en la parte superior horizontal de la fila A se colocaron 60, 30 y 15  $\mu\text{L}$  de las diferentes soluciones de extractos preparadas, que corresponden a una concentración del 20 %, 10 % y 5 % p/v respectivamente, se consideró que el pocillo debe contener medio de cultivo TSB, inóculo y los extractos ensayo de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, se realizan diluciones secuenciales en cada concentración hasta llegar a 0,156 %, 0,078 %, 0,039 % p/v respectivamente.

Como controles positivos siendo distintos para cada microorganismo empleado se utilizó para el caso de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; Gentamicina de 160 mg marca Life y para el caso de *Candida albicans* ATCC 10231 se utilizó Tinidan® en suspensión de 10 mL marca ECU, y como control negativo utilizándose medio de cultivo estéril respectivamente para cada microorganismo (Bernal & Guzman, 1984).

La microplaca se selló con parafilm y se cubrió con papel aluminio toda la placa y se incubó a 35 °C en una incubadora con agitación por 24 horas, luego de transcurrido el tiempo establecido se procedió a colocar en los pocillos la cantidad de 10  $\mu\text{L}$  del colorante para la revelación de resultados con trifeniltetrazolio (TTC) al 0,06 %. Nuevamente se introdujo en la incubadora con agitación durante 40 minutos a una temperatura de 35 °C hasta obtener cambios de coloración (*Véase Figura 1*).



## 2.7. Determinación de la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos obtenidos, mediante difusión en agar.

Para la determinación de la actividad antimicrobiana se utilizó la técnica de difusión de discos utilizada por (Azüero, Jaramillo-Jaramillo, San Martín & Armas, 2016) y detallada en la metodología descrita por Bauer et al. (1966), empleando cepas certificadas de *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ y *Candida albicans* ATCC® 10231™ frente a los extractos obtenidos.

### **2.7.1. Preparación del inóculo.**

El procedimiento llevado a cabo para la preparación del inóculo fue de la misma forma descrita en el apartado 2.6.1 [Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos obtenidos por el método de microdilución en caldo].

### **2.7.2. Comparación de la actividad antimicrobiana de los extractos mediante prueba de sensibilidad por discos.**

La prueba de sensibilidad por discos o la técnica Kirby Bauer, permite la determinación rápida de sensibilidad de diferentes cepas de microorganismos frente a diferentes tipos de antimicrobianos, como es el caso de los extractos naturales, mediante el empleo de discos de papel filtro estandarizados, los cuales están embebidos en el antimicrobiano y definidos mediante un halo de inhibición que indica si existe o no crecimiento del microorganismo (Bernal & Guzman, 1984; Malbrán, 2012; Picazo, 2000).

La prueba de sensibilidad por discos se trabajó con los extractos que dieron positivos en la evaluación de microdilución en caldo, determinándose así la actividad antimicrobiana de 2 productos: extracto hidroalcohólico fresco de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn y extracto hidroalcohólico seco de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, probando a diferentes concentraciones de [20 %, 10 %, 5 %, 2,5 %].

Para la inoculación de las placas se procedió a sumergir un hisopo estéril dentro de la suspensión del microorganismo correspondiente, se tomó una placa Petri con medio de cultivo Muller-Hinton para *Escherichia coli* ATCC® 25922™ y *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ y medio de cultivo de SDA para *Candida albicans* ATCC® 10231™ y se sembró uniformemente en tres o más direcciones sobre la superficie del

medio de cultivo con el hisopo impregnado del microorganismo, se dejó secar la superficie del medio sembrado durante 5-20 minutos manteniendo la tapa cerrada, luego se colocó los discos en blancos Thermo Scientific™ sobre la superficie del agar con pinzas metálicas estériles, con la micropipeta se toma de 30 a 40 µL de extracto hidroalcohólico, colocándose progresivamente sobre el disco en blanco hasta observar que el disco este empapado del extracto, se realizó una leve presión contra el agar, en cada placa se colocaron 2 discos embebidos con extracto vegetal y 2 discos para los controles positivo y negativo respectivamente, se usó como control positivo en el caso de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, un disco de tetraciclina marca Thermo Scientific™, para el caso de *Candida albicans* ATCC 10231 se utilizó un antimicótico para levaduras fluconazol; para el control negativo se usó medio de cultivo estéril para cada microorganismo respectivamente (Bernal & Guzman, 1984).

Posteriormente se procedió a llevar las placas Petri incubadas a 36 °C en la incubadora, se verifico resultados desde las 24 a 72 horas, considerando resultado positivo al halo de inhibición definido como la zona clara que este alrededor del disco.

En los estudios de Cruz-carrillo, Rodríguez N, & Rodríguez, (2010); Díaz Solares, Lugo Morales, Fonte Carballo, Castro Cabrera, López Vigoa & Montejo Sierra, (2017), descrita por Martínez, Betancourt & Alonso (1996), para el conocimiento del porcentaje de inhibición se empleó la siguiente formula:

$$\% \text{ efecto inhibitorio} = \frac{\text{diámetro del halo de inhibición del tratamiento}}{\text{diámetro del halo del control positivo}} \times 100 \%$$

### **2.7.2.1. Análisis estadístico.**

El análisis estadístico se enfocará en la aplicación de un ANOVA, con un diseño experimental completamente al azar (DCA), que permitió observar el porcentaje de inhibición producido por el extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones frente a los diferentes microorganismos, de tal forma comparar los resultados obtenidos. El programa estadístico utilizado fue el programa Infostat "versión libre 2016" y se desarrolló pruebas Post Hoc de Tukey 5 %.

## Capítulo III

### Resultados y discusión

#### 3.1. Resultados entrevista etnobotánica.

Una vez realizada la encuesta se trabajó utilizando un cuestionario previamente estructurado (*véase Anexo 1*), aplicado en los diferentes mercados dedicados a la medicina natural, los resultados se presentan en cuadros estadísticos, agrupando las preguntas de acuerdo a los objetivos de cada una, presentándose en las siguientes tablas.

A continuación, en la tabla 3 se detalla los nombres de los mercados y la cantidad de personas que fueron encuestadas en el Distrito Metropolitano de Quito.

**Tabla 3.**

Distribución de encuestas aplicadas en el Distrito Metropolitano de Quito.

Nombre del mercado	Total de personas encuestadas
Mercado Central de Quito	2
Mercado de “El calzado”	2
Mercado Iñaquito	3
Mercado Municipal de Conocoto	2
Mercado Municipal “La Rumiñahui”	1
Mercado Municipal de La Kennedy	3
Mercado Municipal Mayorista	5
Mercado Municipal San Francisco	2
Mercado de San Roque	6
Mercado de Santa clara	4
Total	30

**Elaborado por:** La autora, 2019.

En la Tabla 3 se observa que el mayor número de personas encuestadas, está en el mercado de San Roque, en relación a los demás mercados, de acuerdo a Guerrero, (2015), donde menciona que dicho mercado es el segundo punto clave para la

distribución de insumos hacia los diferentes puntos de comercio en el Distrito Metropolitano de Quito, por tal motivo se puede suponer que está más especializado en el expendio de plantas medicinales.

Para la interpretación de los datos obtenidos se tabuló las diferentes respuestas. Las preguntas del cuestionario definido se enfocaron en identificar el uso, la forma de utilización y las principales aplicaciones que tiene la especie vegetal obteniendo las tablas 4, 5 y 6:

Uso de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

**Tabla 4.**

Tabulación de encuesta sobre usos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

N°	PREGUNTAS	RESPUESTAS (%)	
1	<b>¿Con que otro nombre/s se le conoce a la planta?</b>	Angoyuyo	6,67
		Molentin	40,00
		Muelan, Molentin	6,67
		Muelango, Muelan, Molentin	13,33
		Chin-Chin	6,67
		No conoce	26,67
2	<b>¿A quien solicito orientación sobre el uso de plantas medicinales?</b>	Médico	0,00
		Revista/periódico	0,00
		Radio/Televisión	0,00
		Amigos/Vecinos	0,00
		Familia (conocimiento ancestral)	63,33
		No Conoce	36,67
3	<b>¿Hace cuánto tiempo utiliza plantas medicinales?</b>	Hace 2 años	0,00
		Hace 4 años	0,00
		Hace 5 años	6,67
		Hace 7 años	3,33
		Más de 10 años	56,67
		No Conoce	33,33

4	<b>¿Por qué utiliza plantas medicinales?</b>	Por consejo familiar o amigo	0,00
		Por consejo de mi médico	0,00
		Por consejo farmacéutico	0,00
		Por publicidad/ lectura de revista	0,00
		Por información en Internet	0,00
		Por confianza en la medicina natural	66,67
5	<b>¿Con qué frecuencia adquieren la planta las personas, en su puesto de trabajo?</b>	No Conoce	33,33
		1 vez al mes	6,67
		1 vez por semana	20,00
		2 veces por semana	3,33
		3 veces por semana	6,67
		no conoce	36,67
6	<b>¿Usted siembra la planta?</b>	Todos los días	26,67
		Si	0,00
		No	66,67
		No Conoce	33,33

**Nota:** Las respuestas fueron obtenidas a partir de las encuestas realizadas a los Mercados del Distrito Metropolitano de Quito.

**Elaborado por:** La autora, 2019.

Los resultados obtenidos, que se detallan en la tabla 4, en la pregunta N° 1, reflejan que existen varios nombres comunes para la especie vegetal *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, según Cerón Martínez (2006), el nombre vulgar más conocido es Angoyuyo, de acuerdo con los resultados existentes, además del nombre principal común de la planta también se la conoce también como Molentin y Muelan. Del total de personas encuestadas el 26,67 % no conocen la planta o sus beneficios.

Por otro lado los resultados obtenidos detallados en la tabla 4, en las preguntas N° 2, 3, 4, 5 y 6, especifican que el 65 % aproximado de la población encuestada se dedican al expendio de plantas medicinales con más de 5 años de experiencia, se puede suponer que estas personas han adquirido conocimientos de sus ancestros, de tal forma que la

sabiduría ha sido transmitida de generación en generación, teniendo una confianza total en la medicina natural.

El 27 % de los consumidores adquieren la planta todos los días. Igualmente se denota un 67 % de los encuestados que indican que no siembran la planta, se puede atribuir que ellos no son proveedores directos, existiendo una cadena de producción o recolección invisibilizada, que tiene como responsabilidad área de recolección, tiempos de recolección, que podrían generar variabilidad terapéutica.

Forma de uso de la especie *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

**Tabla 5.**

Tabulación de encuesta sobre forma de usos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

<b>N°</b>	<b>PREGUNTAS</b>	<b>RESPUESTAS (%)</b>	
7	<b>¿Qué parte de la planta utiliza?</b>	Solo hojas	0,00
		Raíces	0,00
		Solo Tallo	0,00
		Solo flores	0,00
		Tallo y hojas	0,00
		Toda la planta (tallo, hojas, flores)	66,67
		No Conoce	33,33
8	<b>¿Utiliza la especie seca o fresca para hacer el preparado?</b>	Fresca	16,67
		Seca	0,00
		Ambas	50,00
		No Conoce	33,33
9	<b>¿Cómo obtiene el extracto de la planta?</b>	Solo infusión	43,33
		Solo Decocción	10,00
		Infusión y Decocción	10,00
		No Conoce	36,67
10	<b>¿Coloca la planta luego que hierve el agua?</b>	Si	63,33
		No	0,00
		No Conoce	36,67
11		5	43,33

	<b>¿Cuánto tiempo deja la planta dentro del agua durante la infusión? - en minutos</b>	6	13,33
		7	6,67
		No Conoce	36,67
12	<b>¿Adiciona de alcohol al preparado?</b>	Si	10,00
		No	53,33
		No Conoce	36,67
13	<b>De ser el caso que adicione alcohol, ¿Cuánta cantidad añade? - en mililitros</b>	15	0,00
		30	0,00
		75	10,00
		No Conoce	90,00

**Nota:** Las respuestas fueron obtenidas a partir de las encuestas realizadas a los Mercados del Distrito Metropolitano de Quito.

**Elaborado por:** La autora, 2019.

Los resultados obtenidos detallados en la tabla 5, en las preguntas 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13, permiten definir que el 67 % de la población encuestada dedicada a la medicina natural, recomiendan la utilización de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn en preparados naturales de toda la planta, como hojas, tallos y flores, corroborando con la información De la Torre et al. (2008), además existen estudios donde también toman en consideración las raíces de esta especie (Torres-Naranjo et al., 2016).

El 50 % de la población encuestada que tienen conocimiento sobre *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, no denotan preferencia en utilizar la especie fresca o seca, esto concuerda con información mencionada por De la Torre et al., (2008), donde se utiliza la especie vegetal seca y fresca, sin presentar preferencia por ninguna de las condiciones de la especie .

El 43 % de la población encuestada define que la principal forma en que se recomienda utilizar la planta es mediante la preparación de un té, relacionándolo como modo de extracción a la infusión, mientras que un 10 % recomienda dejarlo hervir por un tiempo, lo que podemos relacionarlo con un proceso de decocción. La forma recomendada de uso se corroborará con la información reportada por De la Torre et al. (2008), en la que se indica que utiliza la especie vegetal en infusión (té) conjuntamente

con otras especies (linaza, hierba mora), para el tratamiento de diferentes afecciones. De la misma manera la información recopilada con un 43 % de la población encuestada, para el caso de té, especificando que el tiempo estimado recomendado que la planta esté en contacto con el agua sea de 5 minutos, información coincidente con el tiempo dado por Boxler, (2011) que es de 5 minutos para infusión.

La información recopilada permitió revelar también que para la realización de un preparado natural de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, el 53 % de las personas encuestadas utilizaban únicamente agua para la preparación, lo que deja imposibilitado en la parte técnica que se pueda replicar la receta con otro tipo de solvente, como alcohol. En contraste, existen estudios por Rodríguez. et al (2014), donde utilizan diferentes tipos de solventes para la obtención de extractos naturales de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, como: éter de petróleo, diclorometano, metanol, etanol, etc. De igual manera es importante mencionar que existen estudios de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, donde se obtiene extractos naturales utilizando como disolvente el etanol (Vásquez, 2018).

Principales aplicaciones de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

**Tabla 6.**

Tabulación de encuesta sobre principales aplicaciones de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

<b>Pregunta</b>	<b>Respuestas</b>
<b>¿Para qué tipo de dolencias recomienda usted el uso del angoyuyo?</b>	
<b>Desinflamatoria, utilizada en contusiones, dolores musculares</b>	36,67 %
<b>Baños, lavado de heridas (antibacterial, cicatrizante), purulencia (abscesos), limpieza facial</b>	30,00 %
<b>No Conoce</b>	33,33 %
<b>Total general</b>	100 %

**Nota:** Las respuestas fueron obtenidas a partir de las encuestas realizadas a los Mercados del Distrito Metropolitano de Quito.

**Elaborado por:** La autora, 2019.

La información recolectada en la tabla 6, define que el 36,67 % de la población encuestada menciona que las principales aplicaciones de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, son: desinflamatoria, utilizada en contusiones y dolores musculares, mientras que el 30 % señala utilizarla para: Baños, lavado de heridas (antibacterial, cicatrizante), purulencia (abscesos) y limpieza facial. De la Torre et al. y Torres-Naranjo et al. mencionan que *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, se utiliza en baños externos para algún tipo de inflamación y como desinfectante (De la Torre et al., 2008; Torres-Naranjo et al., 2016).

La población encuestada detallo que *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn para su respectiva aplicación en diversas preparaciones naturales, utiliza toda la planta (hojas, tallos, flores) exceptuando raíz. La manera en que se utiliza la planta podría ser de forma seca o fresca indistintamente, principalmente la utilizan como desinflamante, exfoliante, desinfectante y en algunas ocasiones como antimicrobiana sobre el tratamiento externo de la piel.

## **3.2. Obtención de Extractos vegetales acuosos.**

### **3.2.1. Infusión y Decocción de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.**

Se obtuvo cuatro extractos principales con una concentración del 50 % p/v cada uno, tomando en consideración la principal variable que es la condición de la planta (fresca y seca).

La identificación de los diferentes extractos se realizó mediante la codificación:

- IF (Infusión fresca) 50 %.
- IS (Infusión seca) 50 %.
- DF (Decocción fresca) 50 %.
- DS (Decocción seca) 50 %.

Para la obtención del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, se optó por utilizar un extracto hidroalcohólico, porque los extractos acuosos que fueron obtenidos en primer lugar eran susceptibles a contaminarse y no permitieron realizar las pruebas biológicas, obteniéndose resultados adversos, mientras que el etanol empleado en el extracto será utilizado únicamente como conservante.

## **3.3. Obtención de extractos fluidos.**

### **3.3.1. Extracto Hidroalcohólico *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.**

Se obtuvo dos extractos a través de la metodología de percolación, tomándose en consideración la principal variable que es la condición de la planta (fresca y seca). La relación entre el material vegetal utilizado y el extracto es de 1:1 (Baulies Romero & Torres Castella, 2012).

### 3.4. Determinación de la CMI de los extractos acuosos e hidroalcohólicos por el método de microdilución en caldo.

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de los extractos acuosos (infusión, decocción) e hidroalcohólicos frente a tres diferentes cepas de microorganismos tales como; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231, se realizó un estudio mediante una microplaca de 96 pocillos, en donde se distribuyó por triplicado, resumiéndose en la tabla 7.

**Tabla 7.**

Resumen de los resultados totales de las diferentes metodologías utilizadas.

Concentración (%)	Metodología del extracto con el tipo de material vegetal																	
	Infusión fresca			Infusión Seca			Decocción fresca			Decocción seca			Percolación fresca		Percolación seca			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida Albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida Albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida Albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida Albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida Albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida Albicans</i>
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
1,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,625	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,3125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,1563	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Nota:** El signo “-” representa que no existe actividad biológica y el signo “+” significa presencia de actividad biológica.

**Elaborado por:** La autora, 2019.

Como se observa en la tabla 7, los resultados para el método de extracción por infusión y decocción de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, no presentaron una respuesta inhibitoria positiva frente a ninguno de los microorganismos de estudio: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231, en ninguna concentración. Se evidencia por el cambio en la coloración desde la primera fila, de un tono amarillento a un rojizo fuerte. Estudios realizados por Berridge e investigadores, citado por Burdisso e investigadores, mencionan que, debido a la utilización del reactivo cloruro de trifeniltetrazolio (TTC), el cual es reducido por deshidrogenasas bacterianas, que lo transforman en 1, 3, 5-trifenilformazán de color rojo, la cantidad de biomasa bacteriana existente es proporcional al total de formazán obtenido como el resultado del transporte de electrones (Berridge, Herst, & Tan, 2005; Burdisso, Salvatierra, & Pérez, 2015).

Si existe coloración rojiza representará que no existe inhibición del microorganismo frente al extracto ensayo. Estos resultados permiten suponer que no existió inhibición, debido que al haber utilizado como solvente únicamente agua, esta no fue suficiente para extraer todos los bioactivos necesarios, que podrían generar actividad antimicrobiana y antifúngica, razón por la cual se debió optar para la obtención de un extracto natural de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, que permita potenciar la extracción de bioactivos de la planta con la utilización de una mezcla de agua: etanol.

Para *Escherichia coli* ATCC 25922, las concentraciones de extracto fresco que reportaron inhibición frente al microorganismo son de 20 y 10 % p/v (véase anexo 3A) y en seco 20, 10 y 5 % p/v (véase anexo 4A), para el caso de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, las concentraciones de extracto fresco y extracto seco, para ambas son de 20, 10, 5 y 2,5 % (véase anexo 3B y 4B) p/v, y para el caso de *Candida albicans*

ATCC 10231, las concentraciones de extracto en fresco y en seco, para ambas son del 20 % únicamente (véase anexo 3C y 4C).

Es importante mencionar que los resultados de la actividad antimicrobiana y antifúngica del extracto no pueden ser contrastados con estudios anteriores, debido a la ausencia de los mismos.

### 3.5. Validación de la actividad antimicrobiana de los extractos mediante prueba de sensibilidad por discos.

Las mediciones de los halos de inhibición se realizaron durante tres días, en la tabla 8, 9 y 10, se detalla los halos de inhibición generados por los diferentes extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones frente a los microorganismos, teniendo en cuenta también los halos de inhibición formados por el control positivo y negativo. Para el control positivo en el caso de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se utilizó un disco de tetraciclina, mientras que para el caso de *Candida albicans* ATCC 10231 se usó un antimicótico denominado fluconazol.

**Tabla 8.**

Medidas de halos de inhibición de los extractos de extractos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Microorganismo	Tipo de Extracto	Concentración del extracto (%)	Promedio de halos de inhibición [mm]
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Fresco hidroalcohólico	20	10
		10	11
	C+	20	
	Seco hidroalcohólico	20	10
		10	12
	5	11	
	C+	20	

**Nota:** “C+” (Control positivo).

**Elaborado por:** La autora, 2019.

En la tabla 8, contrastando el halo de inhibición para *Escherichia coli* ATCC 25922 del control positivo con la del extracto resultante, se denota que el extracto fresco que posee mejor actividad antimicrobiana es el extracto de 10 % p/v con un halo inhibición de 11 mm, para el caso del extracto seco se denota que, el que posee mejor actividad antimicrobiana es el extracto del 10 % p/v teniendo un halo de inhibición de 12 mm. Es importante mencionar que la concentración mínima inhibitoria del extracto seco es a partir del 5 % p/v, en diferencia al extracto fresco que es a partir del 10 % p/v.

**Tabla 9.**

Medidas de halos de inhibición de los extractos de extractos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Microorganismo	Tipo de Extracto	Concentración del extracto (%)	Promedio de halos de inhibición [mm]
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Extracto Fresco hidroalcohólico	20	10
		10	10
		5	11
		2,5	11
		C+	30
		Extracto Seco Hidroalcohólico	20
	10	11	
	5	11	
	2,5	11	
	C+	30	

**Nota:** "C+" (Control positivo).

**Elaborado por:** La autora, 2019.

En la tabla 9, comparando el halo de inhibición para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del control positivo con la del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, se observa que el extracto fresco que posee mejor actividad antimicrobiana es el extracto de 5 y 2,5 % p/v, con un halo de 11 mm, para el caso del extracto seco muestra que, el que posee mejor actividad antimicrobiana es el extracto del 20 % p/v

teniendo un halo de 12 mm. También se puede mencionar que la concentración mínima inhibitoria del extracto fresco y seco es a partir del 2,5 %.

**Tabla 10.**

Medidas de halos de inhibición de los extractos de extractos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Microorganismo	Tipo de Extracto	Concentración del extracto (%)	Promedio de halos de inhibición [mm]
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Extracto Fresco hidroalcohólico	20	11
		C+	15
	Extracto Seco hidroalcohólico	20	11
		C+	13

**Nota:** “C+” (Control positivo).

**Elaborado por:** La autora, 2019.

En la tabla 10, cotejando el halo de inhibición para *Candida albicans* ATCC 10231 del control positivo con la del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, se manifiesta que el extracto fresco y seco poseen mejor actividad antimicótica para el extracto de 20 % p/v para ambos casos con un halo de 11 mm.

Se puede observar al contrastar los resultados obtenidos en las tablas 8, 9 y 10 que el extracto seco de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn posee una mejor actividad biológica, se puede suponer que el extracto seco poseerá una concentración superior de principios activos que la planta original, porque existirá mayor contenido vegetal, dado que en el proceso de deshidratación se pierde el pesaje correspondiente al agua, mismo que se compensará con más contenido vegetal, obteniendo el mismo peso del material fresco.

Los resultados de los diferentes porcentajes de inhibición se detallan en la tabla 11.

**Tabla 11.**

Porcentaje de inhibición de los extractos hidroalcohólicos frente a los microorganismos de ensayo.

Extracto	Microorganismo	Concentración del extracto (%)	Halos de inhibición [mm]	Porcentaje de inhibición (%)
<b>Extracto Fresco hidroalcohólico</b>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20	10	50
		10	11	55
		C+	20	
<b>Extracto Fresco hidroalcohólico</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20	10	33,33
		10	10	33,33
		5	11	36,67
		2,5	11	36,67
		C+	30	
<b>Extracto Fresco hidroalcohólico</b>	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	20	11	73,33
		C+	15	
<b>Extracto Seco hidroalcohólico</b>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20	10	50
		10	12	60
		5	11	55
		C+	20	
<b>Extracto Seco Hidroalcohólico</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20	12	40
		10	11	36,67
		5	11	36,67
		2,5	11	36,67
		C+	30	
<b>Extracto Seco hidroalcohólico</b>	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	20	11	84,62
		C+	13	

Elaborado por: La autora, 2019.

La tabla 11 refleja el porcentaje mayor de inhibición respectivo para cada microorganismo frente al extracto fresco o seco, para el caso *Escherichia Coli* ATCC 25922 presenta un mejor porcentaje de efecto inhibitorio frente al extracto hidroalcohólico seco (10 %), con un 40 % de inhibición, para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 presenta un mejor porcentaje de efecto inhibitorio frente al extracto hidroalcohólico seco (20 %), con un 85 % de inhibición y para *Candida albicans* ATCC 10231 presenta un mejor porcentaje de efecto inhibitorio frente al extracto

hidroalcohólico seco (20 %), con un 85 % de inhibición, no existen estudios anteriores que puedan confirmar estos resultados.

### 3.6. Análisis estadístico de la sensibilidad por discos.

#### 3.6.1. ANOVA del porcentaje de inhibición de *Escherichia coli* frente a los extractos hidroalcohólicos frescos y secos.

La tabla 12 representa el ANOVA de los diferentes tratamientos de extractos hidroalcohólicos para la inhibición de *Escherichia coli* ATCC 25922, obteniéndose un resultado de p-valor 0,0018 con un estadístico de Fisher de 9,76, afirmándose de tal forma que existe al menos un tratamiento presenta diferencia significativa.

**Tabla 12.**

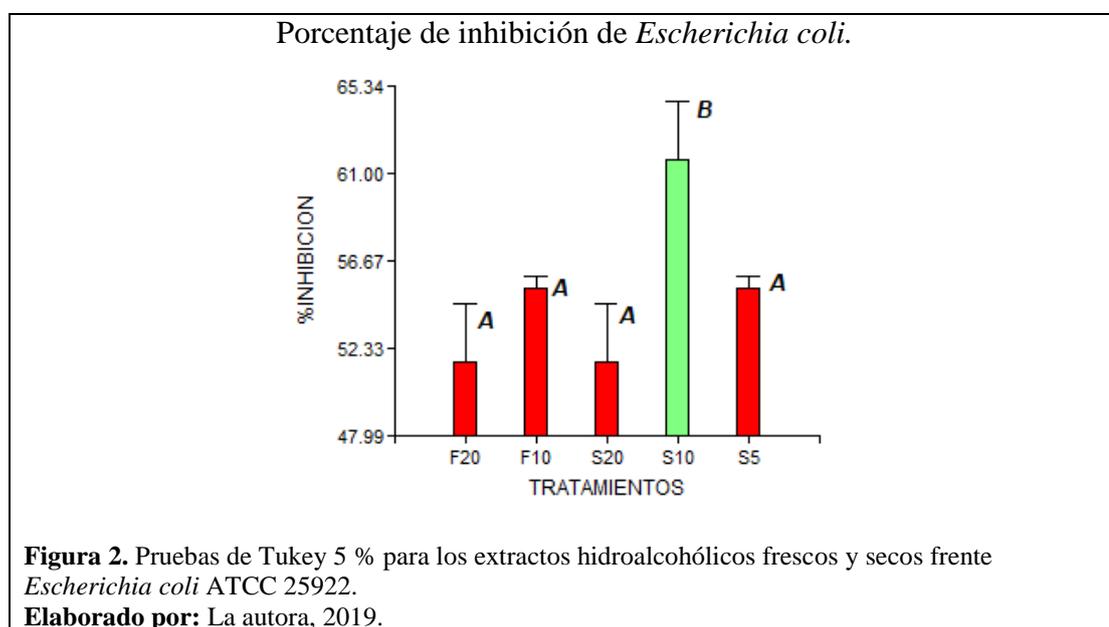
ANOVA para los tratamientos de la inhibición de *Escherichia coli*.

Análisis de varianza (SC tipo III)		
Fuentes de variación	Fisher	p-valor
Tratamientos (Extractos diferentes concentraciones)	9,76	0,0018

**Elaborado por:** La autora, 2019.

Aplicando pruebas Post Hoc de Tukey 5 %, se pudo identificar 2 rangos de significancia de los 5 tratamientos aplicados de extractos, obteniéndose los siguientes resultados: (A) y (B). En la Figura 2 la letra “A” representa los extractos de F20 (Extracto fresco 20 %), F10 (Extracto fresco 10 %), S20 (Extracto seco 20 %) y S5 (Extracto seco 5 %) sin diferencia significativa obteniendo un porcentaje de inhibición de 50 %, 55 %, 50 % y 55 % respectivamente, el mejor tratamiento correspondiente al rango “B” representa el extracto S10 (Extracto seco 10 %), con una inhibición del 60

%, es importante mencionar que existe inhibición del microorganismo desde la concentración del extracto del 5 %.



### 3.6.2. ANOVA del Porcentaje de inhibición de *Staphylococcus aureus* frente a los extractos hidroalcohólicos frescos y secos.

Se presenta en la tabla 13 el ANOVA de los diferentes tratamientos de extractos hidroalcohólicos encargados de inhibir a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, alcanzándose un p-valor <0,0001 con un estadístico de Fisher de 189,13, confirmándose que existe al menos un tratamiento que presenta diferencia significativa.

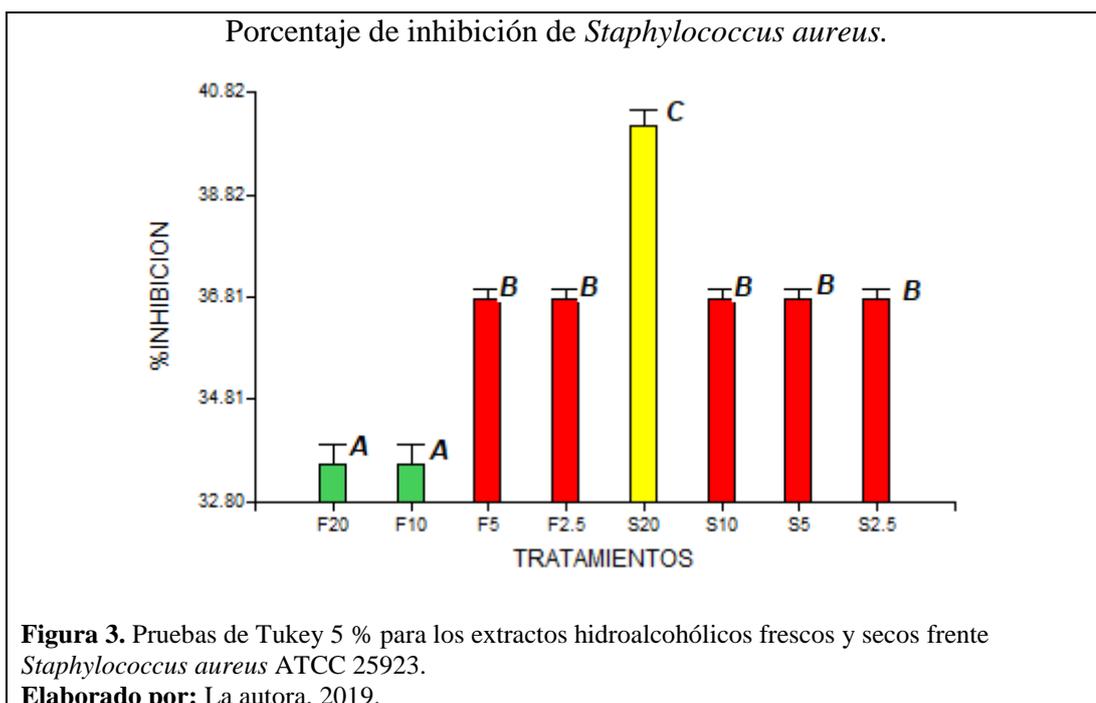
**Tabla 13.**

ANOVA para los tratamientos de la inhibición de *Staphylococcus aureus*.

Análisis de varianza (SC tipo III)		
Fuentes de variación	Fisher	p-valor
Tratamientos (Extractos diferentes concentraciones)	189,13	<0,0001

**Elaborado por:** La autora, 2019.

Aplicando pruebas Post Hoc de Tukey 5 %, se pudo identificar 3 rangos de significancia de los 5 tratamientos aplicados de extractos, obteniéndose los siguientes resultados: (A), (B) y (C). En la Figura 3 la letra “A” representa los extractos de F20 (Extracto fresco 20 %), F10 (Extracto fresco 10 %) obteniendo ambos un porcentaje de inhibición de 33,33 %, el rango “B” representa los extractos de F5 (Extracto fresco 5 %), F2,5 (Extracto fresco 2,5 %), S10 (Extracto seco 10 %), S5 (Extracto seco 5 %) Y S2,5 (Extracto seco 2,5 %) obteniendo todos un porcentaje de inhibición de 36,67 % y el mejor tratamiento correspondiente al rango “C” representa el extracto S20 (Extracto seco 20 %) con una inhibición del 40 %, es importante mencionar que existe inhibición del microorganismo desde la concentración del extracto del 2,5 %.



### 3.6.3. ANOVA del Porcentaje de inhibición de *Candida albicans* frente a los extractos hidroalcohólicos frescos y secos.

En ANOVA de los diferentes tratamientos de extractos hidroalcohólicos se presenta en la Tabla 14, para la inhibición de *Candida albicans* ATCC 10231, se alcanza como

resultado de p-valor  $<0,0001$ , con un estadístico de Fisher de 1900,58, aseverando de tal manera que existe al menos un tratamiento que presenta diferencia significativa.

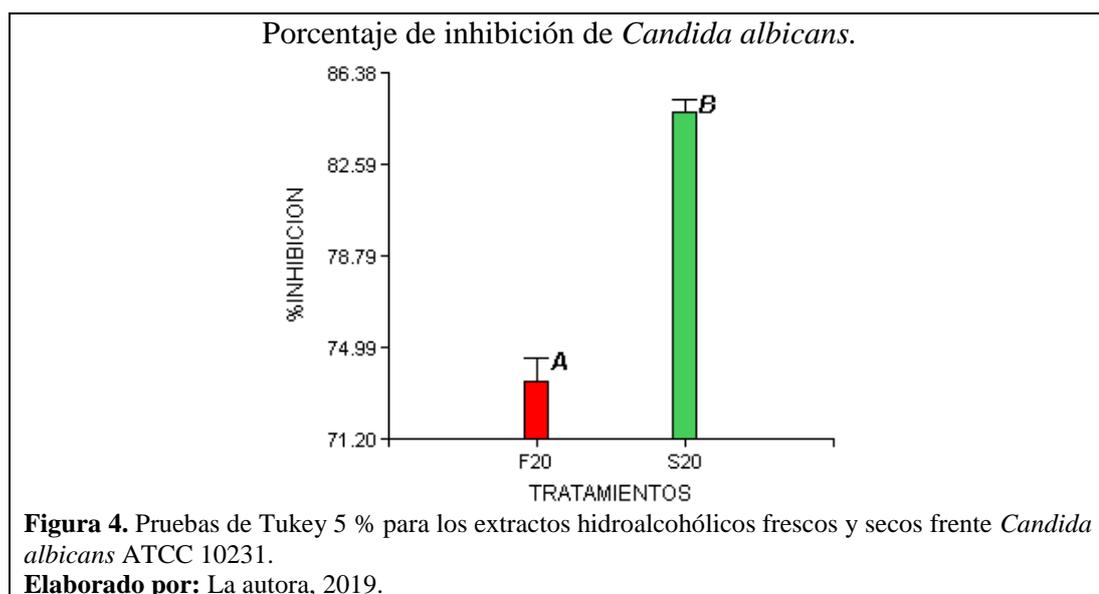
**Tabla 14.**

ANOVA para los tratamientos de la inhibición de *Candida albicans*.

Análisis de varianza (SC tipo III)		
Fuentes de variación	Fisher	p-valor
Tratamientos (Extractos diferentes concentraciones)	1900,58	$<0,0001$

**Elaborado por:** La autora, 2019.

Aplicando pruebas Post Hoc de Tukey 5 %, se pudo identificar 2 rangos de significancia de los 2 tratamientos aplicados de extractos, obteniéndose los siguientes resultados: (A) y (B). En la Figura 4 la letra “A” representa los extractos de F20 (Extracto fresco 20 %) con un porcentaje de inhibición de 73,33 % y el mejor tratamiento correspondiente al rango “B” representa el extracto S20 (Extracto seco 20 %), con una inhibición del 84,75 %, este valor es obtenido respectivamente proporcional a la concentración alta del extracto.



Los resultados permitieron identificar que la concentración del extracto que presenta una mejor actividad antimicrobiana y antimicótica, demostrándose en todos los ensayos un mejor resultado es el extracto seco de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn. También es importante mencionar que el extracto seco presento mejores resultados contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 porque se obtuvo más número de concentraciones de la planta que presentaban actividad biológica, lo que determinaría como conclusión que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es sensible al extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn. Por otro lado es destacable que para conocer los grupos bioactivos que generan actividad biológica, se debería realizar una evaluación química de los extractos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn que presentaron más eficiencia frente a los microorganismos de estudio.

## Capítulo IV

### Conclusiones

Los extractos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn poseen actividad antimicrobiana y antimicótica frente a microorganismos de la flora cutánea, considerados como patógenos epidérmicos, lo cual valida la práctica ancestral en tratamientos para afecciones de la piel. Por otro lado, se identifica que el método de extracción que presenta actividad antimicrobiana y antifúngica es a través de percolación, teniendo una inhibición positiva para el extracto fresco y seco.

Los extractos hidroalcohólicos secos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, demostraron en la mayoría de sus concentraciones, presentar mejor actividad biológica especialmente frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, determinando que este microorganismo es sensible a este tipo de extracto.

El mejor extracto vegetal de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, que reporto excelente actividad biológica, es el extracto hidroalcohólico seco, ya que a las concentraciones de 10 % p/v presenta un 60 % de efecto inhibitorio contra *Escherichia coli* ATCC 25922 y para la concentración de 20 % p/v demuestra un 40 % y un 84,75 % de efecto inhibitorio contras las cepas de *Staphylococcus aereus* subsp. *aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231 respectivamente, siendo estos los mejores porcentajes de inhibición correspondiente a cada microorganismo de estudio.

## Recomendaciones

Desarrollar estudios acerca de la actividad biológica de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn que permita contrastar con más resultados obtenidos por otros investigadores, ya que la indagación bibliográfica realizada sobre la especie evidencia, que no existe suficiente información sobre este espécimen.

Investigar a los extractos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, profundizando más en su estudio y caracterización, como, por ejemplo, el realizar un análisis químico, que permita la continuidad de la investigación, identificando los bioactivos responsables de la actividad biológica.

Probar la capacidad inhibitoria de los extractos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn, frente a diferentes microorganismos que sean responsables de diferentes patologías cutáneas, de tal forma que se pueda llegar a formular un producto comercial, con características específicas para diferentes tipos de patologías.

## Bibliografía.

- Aguado Bernal, R. (2013). Extracción líquido-líquido: Extracción – Decantación. In *Operaciones Básicas de Laboratorio-Química Inorgánica* (pp. 1–5).
- ANMAT. (2003). *FARMACOPEA ARGENTINA SÉPTIMA EDICIÓN*. Retrieved from [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip\\_pages/Farmacopea\\_Vol\\_I/files/assets/downloads/publication.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_I/files/assets/downloads/publication.pdf)
- APRODIN. (2011). *Saberes ancestrales: para preservar el bienestar y la armonía en las comunidades indígenas : diagnóstico de la medicina tradicional, base de identidad de los pueblos indígenas del Pacífico, Centro y Norte de Nicaragua*.
- Azuero, A., Jaramillo Jaramillo, C., San Martin, D., & D'Armas, H. (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador / Analysis of antimicrobial effect of twelve medicinal plants of ancient use in Ecuador. *Ciencia Unemi*, 9(20), 11. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp11-18p>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Baulies Romero, G., & Torres Castella, R. M. (2012). Actualización en fitoterapia y plantas medicinales. *FMC Formacion Medica Continuada En Atencion Primaria*, 19(3), 149–160. [https://doi.org/10.1016/S1134-2072\(12\)70324-9](https://doi.org/10.1016/S1134-2072(12)70324-9)
- Becton-Dickinson and Company. (2005). Patrón de turbidez BBL preparado McFarland Turbidity Standard No. 0.5. *Bd*, 3. Retrieved from [http://bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/8808421\(0205\)\\_es.pdf](http://bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/8808421(0205)_es.pdf)

- Bernal, M., & Guzman, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. *Biomedica*, 4.
- Berridge, M. V., Herst, P. M., & Tan, A. S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*, 11(SUPPL.), 127–152. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(05\)11004-7](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(05)11004-7)
- Boxler, M. (2011). Infusiones de plantas aromáticas y medicinales. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*, 6(3260).
- Bruneton, J. (1993). *Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales* (Segunda). Editorial Acribia.
- Burdisso, M., Salvatierra, L., & Pérez, L. (2015). Desarrollo de una nueva técnica de base colorimétrica para una rápida evaluación de la biodegradabilidad de materiales poliméricos. *Energeia*, 13(13).
- Carrión Jara, A. V., & García Gómez, C. R. (2010). *Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica*.
- Casas Anguita, J., Repullo Labrador, J. R., & Donado Campos, J. (2003). La encuesta como técnica de investigación. Elaboración de cuestionarios y tratamiento estadístico de los datos. *Atención Primaria*, 31(8). [https://doi.org/10.1016/S0212-6567\(03\)70728-8](https://doi.org/10.1016/S0212-6567(03)70728-8)
- Castillo García, E., & Martínez Solís, I. (2007). *Manual de fitoterapia*. Retrieved from [https://books.google.com.mx/books?id=SgZjLFGBAAC&pg=PA39&dq=alcaloides&hl=es&sa=X&ved=0CCEQ6AEwAWoVChMI\\_\\_jZ6suXxwIV1I6SCh3iRA8t#v=onepage&q=alcaloides&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=SgZjLFGBAAC&pg=PA39&dq=alcaloides&hl=es&sa=X&ved=0CCEQ6AEwAWoVChMI__jZ6suXxwIV1I6SCh3iRA8t#v=onepage&q=alcaloides&f=false)

- Cerón Martínez, C. (2006). Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos. *Botánica Económica de Los Andes Centrales*, 285–293. Retrieved from [http://www.beisa.dk/Publications/BEISA\\_Book\\_pdf/Capitulo\\_18.pdf%0Ac:%5CUsers%5CUusuario%5CDocuments%5CBibliografia\\_Etnobotanica%5CCerón\\_Martínez.2006.Plantas\\_medicinales\\_de\\_los\\_Andes\\_ecuatorianos.pdf](http://www.beisa.dk/Publications/BEISA_Book_pdf/Capitulo_18.pdf%0Ac:%5CUsers%5CUusuario%5CDocuments%5CBibliografia_Etnobotanica%5CCerón_Martínez.2006.Plantas_medicinales_de_los_Andes_ecuatorianos.pdf)
- Chan, K. (2005). Chinese medicinal materials and their interface with Western medical concepts. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1–2), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.019>
- CLSI, C. and L. S. I. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard — Tenth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute.* <https://doi.org/10.4103/0976-237X.91790>
- CLSI, C. and L. S. I. (2015). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests.*
- Cruz-Carrillo, A., Rodríguez N, N., & Rodríguez, C. E. (2010). EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS DE *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* Y *Silybum marianum* IN VITRO EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL EFFECT OF *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* AND *Silybum marianum*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 117–124.
- De Feo, V. (1992). Medicinal and magical plants in the northern Peruvian Andes. *Fitoterapia*, LXIII.

- De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, P., Macía, M., & Balslev, H. (2008). *Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador*. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Retrieved from [https://www.academia.edu/30089423/Enciclopedia\\_de\\_Plantas\\_Utiles\\_del\\_Ecuador](https://www.academia.edu/30089423/Enciclopedia_de_Plantas_Utiles_del_Ecuador)
- Díaz Solares, M., Lugo Morales, Y., Fonte Carballo, L., Castro Cabrera, I., López Vigoa, O., & Montejo Sierra, I. (2017). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos frescos de hojas de *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*, 40(1), 43–48.
- Guerrero, K. (2015). *Mercados Emblemáticos Del D. M. De Quito Y Su Patrimonio Alimentario: El Caso Del Mercado Santa Clara E Itinerario Turístico Cultural De La Comuna Santa Clara De San Millán*. Retrieved from [http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6124/1/T-UCE-0009-515.pdf?fbclid=IwAR0EAiHATuqIvhtsHWZSc5YGnG7BDYbW-mpN5wjnI\\_Jrnf63JQO3CNrkuq0](http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6124/1/T-UCE-0009-515.pdf?fbclid=IwAR0EAiHATuqIvhtsHWZSc5YGnG7BDYbW-mpN5wjnI_Jrnf63JQO3CNrkuq0)
- Guevara, M., Tejera, E., Iturralde, G. A., Jaramillo-Vivanco, T., Granda-Albuja, M. G., Granja-Albuja, S., ... Álvarez-Suarez, J. M. (2019). Anti-inflammatory effect of the medicinal herbal mixture infusion, Horchata, from southern Ecuador against LPS-induced cytotoxic damage in RAW 264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, 131(May), 110594. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110594>
- Hammond, G. B., Fernández, I. D., Villegas, L. F., & Vaisberg, A. j. (1998). A survey of traditional medicinal plants from the Callejón de Huaylas , Department of Ancash , Perú. *Journal of Ethnopharmacology*, 61, 17–30.

- Kuklinski, C. (2003). *Farmacognosia, Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural* (Omega, S.A). Barcelona.
- Macheiner, L., Schmidt, A., Schreiner, M., & Mayer, H. K. (2019). Green coffee infusion as a source of caffeine and chlorogenic acid. *Journal of Food Composition and Analysis*, 84(August), 8.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103307>
- Malbrán, C. G. (2012). Novedades 2007 CLSI. *Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas*. Retrieved from <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/09-Novedades-CLSI-2007.pdf>
- Martínez, M. J., Betancourt Badell, J., & Alonso González, N. (1996). Ausencia de actividad antimicrobiana de un extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* (sabila). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1(3), 18–20.
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2013). *Fabricación de productos farmacéuticos, sustancias químicas medicinales y productos botánicos. “Estudio para conocer los potenciales impactos ambientales y vulnerabilidad relacionada con las sustancias químicas y tratamiento de desechos peligrosos en el sector productivo del Ecuador*. Retrieved from <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/03/PART3.pdf>
- Ministerio del Ambiente del Ecuador. (2015). *Quinto Informe Nacional para el Convenio sobre la Diversidad Biológica*.
- Missouri Botanical Garden. (2019). Tropicos | *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn. Retrieved October 12, 2019, from <https://www.tropicos.org/Name/26000308?langid=66>

- Mojica B, J., Torrenegra G, R. D., Pombo O, L. M., Cadavid G, V., & Rodríguez A, O. E. (2017). Anti-inflammatory effect of the hydroalcoholic extract of *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn leaves in a rat paw model. *Pharmacologyonline*, 3(February 2018), 13–22.
- MSPE. (2008). *Plantas Medicinales de la Sierra*. Retrieved from <https://bibliotecapromocion.msp.gov.ec/greenstone/collect/promocin/index/assoc/HASH0190.dir/doc.pdf>
- Ochoa, A., Marín, J., Delgado, N., Silva, R., & Salgueiro, Z. (2008). ESTUDIO DE ESTABILIDAD FÍSICA Y QUÍMICA CUALITATIVA DEL EXTRACTO BLANDO OPTIMIZADO DE LAS HOJAS DE LA *Petiveria alliacea* L. *Revista Cubana de Química*, XX(1), 3–8.
- Organización Mundial de la Salud. (2013). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023*.
- Osorio Durango, E. J. (2009). *ASPECTOS BÁSICOS DE FARMACOGNOSIA*. Antioquia.
- Patiño, L. A., & Morales, C. A. (2013). Microbiota de la piel: el ecosistema cutáneo. *Revista Asociación Colombiana Dermatologica*, 2, 147–158. Retrieved from [www.revistasocolderma.com](http://www.revistasocolderma.com)
- Picazo, J. (2000). Procedimientos en Microbiología Clínica. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)*. Retrieved from <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Ramirez, L. S., & Marin Castaño, D. (2009). *METODOLOGIAS PARA EVALUAR*

IN VITRO LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS DE ORIGEN VEGETAL Methodologies for evaluating the In vitro antibacterial activity of natural compounds of plant origin. *Scientia et Technica*, (42), 263–268.

Reyes Jurado, F., Palou, E., & López Malo, A. (2014). Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 68–78.

Ríos, M., De la Cruz, R., & Mora, A. (2008). *Conocimiento tradicional y plantas utiles del Ecuador : saberes y practicas*. Ediciones Abya-Yala.

Rodriguez, O. E., Torrenegra, R. D., Beltran, S., Matulevich, J. A., & Castrillon, W. F. (2014). Metabolitos de baja polaridad en hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* ( Kunth ) Meisn. *Journal of Technology*, 13.

Rodríguez, O. E., Torrenegra, R. D., & Pombo, L. M. (2019). TRYPANOCIDAL , ANTI-LEISHMANIAL , AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF *Muehlenbeckia tamnifolia* ( Kunth ) Meisn ( POLYGONACEAE ). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(7).

Santamaría, C., Martín González, A., & Astorga, F. (2015). Extractos vegetales reducción del estrés. *NutriNews*, 75–80. Retrieved from <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-WEB.pdf>

Sellés Flores, E. (1995). *Farmacía Galénica General*. Madrid - España: Selsa.

Sharapin, N., Rocha, L. M., Pinzón S., R., CYTED (Organization). Subprograma de Química Fina Farmacéutica., & Convenio Andrés Bello (Organization). (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Programa

Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo.

Souza, E., & Tatsuo, L. (1999). Alguns aspectos de imunoensaios aplicos a química analítica. *Quimica Nova*, 22(6), 874–881.

Tamariz-Angeles, C., Olivera-Gonzales, P., & Santillán-Torres, M. (2018). Antimicrobial, antioxidant and phytochemical assessment of wild medicinal plants from Cordillera Blanca (Ancash, Peru). *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 17(3), 270–285.

Tapia, H. J., Arias, S., Yáñez-Espinosa, L., & Terrazas, T. (2016). El uso de espinas del tallo en la identificación de las especies de *Neobuxbaumia* (Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(2), 288–300.  
<https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.04.006>

Tene, V., Malagón, O., Vita Finzi, P., Vidari, G., Armijos, C., & Zaragoza, T. (2007). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchipe, Ecuador. *Journal Ethnopharmacology*, 111, 63–81.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.032>

Torres-Naranjo, M., Suárez, A., Gilardoni, G., Cartuche, L., Flores, P., & Morocho, V. (2016). Chemical Constituents of *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn (Polygonaceae) and Its In Vitro  $\alpha$ -Amilase and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities. *Moleculares*. <https://doi.org/10.3390/molecules21111461>

Torres Molinares, C. (2006). Procedimiento para la Identificación Taxonómica de Especies Vegetales. *Universidad Tecnológica de Panamá Centro de Investigaciones Hidráulicas e Hidrotécnicas*, 5.

UNEP. (2016). *El Estado De La Biodiversidad En América Latina y el Caribe: Una*

- Evaluación Del Avance Hacia Las Metas De Aichi Para La Diversidad Biológica*. Retrieved from <https://www.cbd.int/gbo/gbo4/outlook-grulac-es.pdf>
- USP30-NF25. (2007). *FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA*.
- Vargas, W. (2002). *Guia ilustradas plantas de Quindio y los Andes*.
- Vasas, A., Orbán-Gyapai, O., & Hohmann, J. (2015). The Genus Rumex: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.001>
- Vásquez, J. (2018). *Desarrollo de formulaciones farmacéuticas microencapsuladas con propiedades antiinflamatorias y antioxidantes a partir de extractos de la planta Muehlenbeckia tamnifolia (Kunth) Meisn. Universidad Técnica de Ambato*.
- Venkata Raman, B., Samuel, L., Pardha Saradhi, M., Narashimha Rao, B., Naga Vamsi Krishna, A., Sudhakar, M., & Radhakrishnan, T. (2012). Academic Sciences Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(October 2015), 5–7.
- Villamagua Vergara, R. (2014). La horchata: la bebida de color “escancel.” *Patrimonio Cultural Inmaterial*, 13, 28–31.
- Voigt, R. (1982). *Tratado de tecnología Farmacéutica* (Acriba).
- Zhang, X. (2010). OMS | Medicina tradicional. Retrieved October 1, 2019, from [https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/)

## Anexos

**Anexo 1.** Diseño del cuestionario utilizado para la aplicación de encuestas en los mercados de Quito.

### **Cuestionario para la aplicación de encuestas en mercados de Quito.**

1. ¿Con que otro nombre/s se le conoce a la planta?
2. ¿Qué parte de la planta utiliza?
3. ¿Utiliza la especie seca o fresca para hacer el preparado?
4. ¿Para qué tipo de dolencias recomienda usted el uso del angoyuyo?
5. ¿Cómo obtiene el extracto de la planta?
6. ¿Coloca la planta luego que hierve el agua?
7. ¿Cuánto tiempo deja la planta dentro del agua durante la infusión? - en minutos
8. ¿Añade alcohol al preparado?
9. De ser el caso que añada alcohol, ¿Cuánta cantidad añade? – (se optó por determinar en mililitros)
10. ¿A quien solicitó orientación sobre el uso de plantas medicinales?
11. ¿Hace cuánto tiempo utiliza plantas medicinales?
12. ¿Por qué utiliza plantas medicinales?
13. ¿Con qué frecuencia adquieren la planta las personas, en su puesto de trabajo?
14. ¿Usted siembra la planta?

**Anexo 2.** Certificado de identificación taxonómica *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.

Quito, 25 de Junio del 2019

## CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponde a:

***Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.**

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Caryophyllanae Takht.
- Orden: Caryophyllales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- Familia: Polygonaceae Juss.
- Género: *Muehlenbeckia* Meisn.
- Especie: *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn.
- Nombre común: anguyuyo

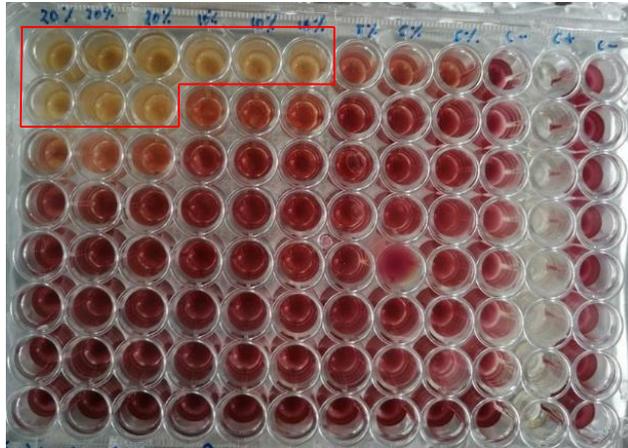
  
Álvaro J. Pérez



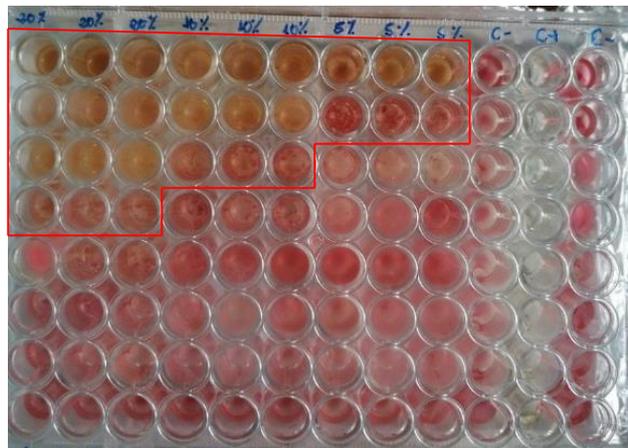
Curador de Angiospermas Herbario QCA

**Anexo 3.** Resultados de microplaca de extractos hidroalcohólicos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn frescos.

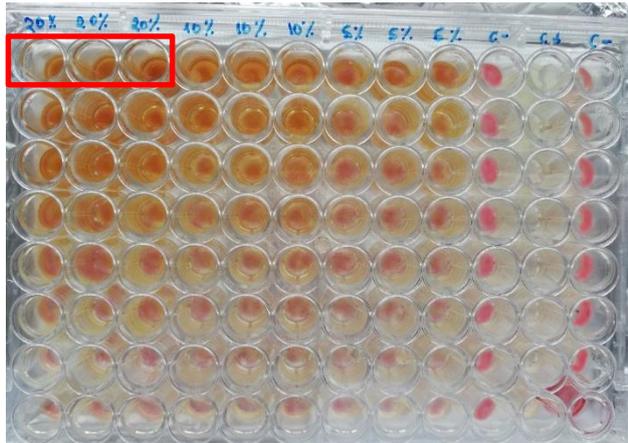
A)



B)



C)

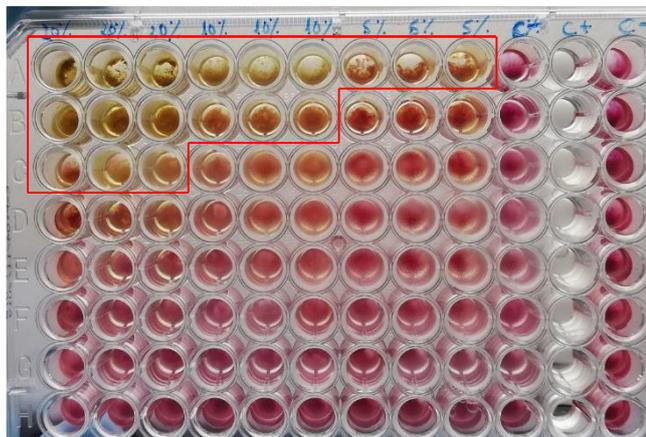


**Nota:** Microplaca de 96 pocillos resultados del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn fresco frente: A) *Escherichia coli*, B) *Staphylococcus aureus* y C) *Candida albicans*.

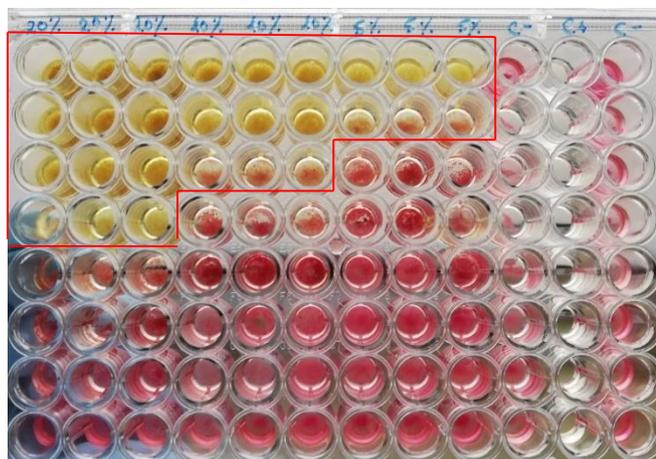
**Elaborado por:** La autora, 2019.

**Anexo 4.** Resultados de microplaca de extractos hidroalcohólicos de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn secos.

A)



B)



C)



**Nota:** Microplaca de 96 pocillos resultados del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn seco frente: A) *Escherichia coli*, B) *Staphylococcus aureus* y C) *Candida albicans*.

**Elaborado por:** La autora, 2019.