

**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 *Solanum nigrescens* M.
Martens & Galeotti, FUNDAMENTADO EN EL USO ETNOBOTÁNICO”**

**AUTORA:
NATALIA ISABEL TERÁN JARAMILLO**

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

Quito, noviembre del 2019

Cesión de derechos del autor

Yo, Natalia Isabel Terán Jaramillo con documento de identificación N° 1715597926, 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 *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti, 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.



Natalia Isabel Terán Jaramillo

CI: 1715597926

Quito, noviembre del 2019

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 *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti,
fundamentado en el uso etnobotánico”, realizado por Natalia Isabel Terán Jaramillo,
obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la
Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de
titulación.

Quito, noviembre del 2019

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Tatiana Mosquera', written over a faint circular stamp.

Tatiana de los Ángeles Mosquera Tayupanta

CI. 1711668010

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado a mis abuelitos: Segundo Francisco, Esther, Manuel, Susana y Alfredo que con amor me han formado desde que tengo memoria, llenando mis recuerdos de increíbles historias y sonrisas que me enseñaron a ver el mundo de manera diferente.

Agradecimiento

Agradezco a Dios por haberme dado la vida y permitirme disfrutar de su perfecta creación, por haberme amado antes de la fundación del mundo, por haberme escogido, por ser la luz de mi camino y mi fiel amigo ayer, hoy y siempre.

Agradezco a mis padres por su amor, su sacrificio, su apoyo y porque siempre me impulsaron a ser mejor, en especial a mi madre Rocío; por ser mi ejemplo, mi fiel compañera de vida, quien ha luchado por mí desde siempre y por ser una muestra tangible del amor de Dios en mi vida.

Agradezco a mis hermanos Juan y Susy por ser mis cómplices y compañeros de juegos, por llenarme de alegría y momentos inolvidables. A María José por ser mi fuente de inspiración, por cuidarme y motivarme todo el tiempo. Agradezco a mi familia entera por creer en mí, en especial a mi abuelita Esther y a mi tía Margarita.

Agradezco a la Universidad Politécnica Salesiana y a todos quienes formaron parte de mi proceso de formación académica y personal; en especial a la Ingeniera Tatiana Mosquera, por ser una excelente profesional que sabe guiar y enseñar con verdadera vocación y paciencia, por su sabia instrucción durante este trabajo y por tener esa calidad humana que tanto la caracteriza.

Agradezco a mis amigos por las risas y el apoyo que supieron brindarme, en especial a Dianita y Sofy, gracias por ser mis grandes amigas y por haberme acompañado durante todo este camino al igual que Mishel, gracias por ser mi mejor amiga, gracias por ser mi persona.

Índice

Introducción.....	1
Capítulo 1.....	5
Marco teórico.....	5
1.1. La Medicina Tradicional en el Ecuador	5
1.2. Hierba Mora (<i>Solanum nigrescens</i> M. Martens & Galeotti)	6
1.2.1. Clasificación Taxonómica	6
1.2.2. Descripción Botánica.....	6
1.2.3. Composición Química	7
1.2.4. Uso Etnobotánico.....	7
1.3. Extractos vegetales	8
1.3.1. Métodos para la obtención de extractos vegetales.....	8
1.3.2. Infusión	8
1.3.3. Emplasto	9
1.3.4. Percolación.....	9
1.4. Actividad Biológica.....	10
Capítulo 2.....	12
Marco metodológico	12
2.1 Metodología para la aplicación de encuestas etnobotánicas de <i>Solanum nigrescens</i> en mercados del Distrito Metropolitano de Quito	12
2.2 Diseño experimental para obtención de extractos	13
2.3 Obtención de la muestra vegetal.....	14
2.3.1 Recolección de la especie vegetal <i>Solanum nigrescens</i>	14
2.3.2 Identificación taxonómica.....	14
2.3.3 Selección, desinfección y secado de la muestra vegetal	15
2.4 Métodos para la obtención de extractos vegetales.....	16
2.4.1 Método de Infusión para extracción.....	16
2.4.2 Método de Emplasto para extracción.....	17
2.4.3 Método de percolación para extracción	18
2.5 Actividad antibacteriana	19
2.5.1 Método microdilución en caldo	20
2.5.1.1 Preparación del inóculo	20
2.5.1.2 Elaboración del colorante cloruro de trifeniltetrazolio al 0.7 % (TTC)	
21	
2.5.1.3 Preparación de las microplacas de 96 pocillos	21
2.5.1.4 Aplicación del colorante TTC al 0.7 %	24
2.5.1.5 Análisis cualitativo de las microplacas.....	24
2.5.2 Método de Kirby-Bauer	25
2.6 Evaluación de la actividad de los extractos	26
2.7 Análisis estadístico	26
Capítulo 3.....	28
Resultados y discusión.....	28

3.1	Resultados de la aplicación de encuestas etnobotánicas de <i>Solanum nigrescens</i> en mercados del Distrito Metropolitano de Quito	28
3.2	Resultados de la actividad antibacteriana	32
3.2.1	Resultados Método microdilución en caldo	32
3.2.2	Resultados Método Kirby-Bauer.....	34
3.3	Resultados de la evaluación de la actividad de los extractos.....	37
3.4	Resultados del análisis estadístico	39
3.4.1	Análisis estadístico (ANOVA de una vía) de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™.....	39
3.4.2	Análisis estadístico (ANOVA de una vía) de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. aureus ATCC® 25923™.....	40
3.4.3	Análisis estadístico (ANOVA de una vía) de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC® 10231™.....	41
	Conclusiones.....	44
	Recomendaciones	46
	Referencias	47
	Anexos	54

Índice de tablas

Tabla 1 Descripción taxonómica de <i>Solanum nigrescens</i> M. Martens & Galeotti	6
Tabla 2. Diseño experimental	14
Tabla 3. Número de personas encuestadas en la ciudad de Quito	28
Tabla 4. Resultados de la encuesta etnobotánica.	29
Tabla 5. Resultados de la técnica de microdilución para infusión, emplasto y percolación.	32
Tabla 6. Resultados del método de Kirby-Bauer al evaluar extractos fresco y seco de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Escherichia coli</i>	35
Tabla 7. Resultados del método de Kirby-Bauer al evaluar extractos fresco y seco de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Tabla 8. Resultados del método de Kirby-Bauer al evaluar extractos fresco y seco de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Candida albicans</i>	36
Tabla 9. Resultados del porcentaje del efecto inhibitorio relativo de los extractos de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Escherichia coli</i>	37
Tabla 10. Resultados del porcentaje del efecto inhibitorio relativo de los extractos de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	38
Tabla 11. Resultados del porcentaje del efecto inhibitorio relativo de los extractos de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Candida albicans</i>	38
Tabla 12. Resultados del análisis de varianza de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	39
Tabla 13. Resultados de las comparaciones en parejas de Tukey al evaluar a <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	40
Tabla 14. Resultados del análisis de varianza de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. aureus ATCC® 25923™	40
Tabla 15. Resultados de las comparaciones en parejas de Tukey al evaluar a <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. aureus ATCC® 25923™	41
Tabla 16. Resultados del análisis de varianza de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC® 10231™	42
Tabla 17. Resultados de las comparaciones en parejas de Tukey al evaluar a <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC® 10231™	42

Índice de figuras

Figura 1. Proceso para la elaboración de una infusión.....	9
Figura 2. Microbiota de la piel humana: bacterias, hongos, virus, protozoos colonizan distintas zonas de la piel humana y con características como sebácea (azul), seca (rojo) y húmeda (verde).....	11
Figura 3. Mercados en donde se aplicó la encuesta etnobotánica dentro del Distrito Metropolitano de Quito.	12
Figura 4. Coordenadas geográficas del sitio de recolección de <i>Solanum nigrescens</i> . 14	
Figura 5. Proceso de selección, desinfección y secado de <i>Solanum nigrescens</i>	15
Figura 6. Proceso para la obtención del emplasto.....	18
Figura 7. Distribución de la microplaca para evaluar extractos obtenidos por infusión y emplasto.	22
Figura 8. Distribución de la microplaca para evaluar el extracto obtenido por percolación.	23

Índice de anexos

Anexo 1. Encuesta etnobotánica aplicada a mercados de Quito	54
Anexo 2. Certificado de identificación de <i>Solanum nigrescens</i> M. Martens & Galeotti	55
Anexo 3. Resultados de la técnica de microdilución en caldo	56
Anexo 4. Resultados de la técnica de microdilución en caldo evaluando los extractos hidroalcohólicos de <i>Solanum nigrescens</i> con planta fresca y seca frente a <i>Escherichia coli</i>	57
Anexo 5. Resultados de la técnica de microdilución en caldo evaluando el extracto hidroalcohólico de <i>Solanum nigrescens</i> con planta fresca y seca frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Anexo 6. Resultados de la técnica de microdilución en caldo evaluando el extracto hidroalcohólico de <i>Solanum nigrescens</i> con planta fresca y seca frente a <i>Candida albicans</i>	59
Anexo 7. Resultados de la técnica de Kirby-Bauer evaluando el extracto hidroalcohólico de <i>Solanum nigrescens</i> con planta seca frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	60

Resumen

Ecuador posee muchos recursos biológicos, utilizados de forma terapéutica por la medicina ancestral, sin embargo, algunos de estos conocimientos no han sido evaluados científicamente. Este trabajo buscó evaluar la actividad biológica de extractos de *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti fundamentado en el uso etnobotánico. Se evaluó la actividad biológica de 3 tipos de extractos obtenidos a partir de una encuesta etnobotánica, los datos etnobotánicos definieron los métodos de extracción a utilizar que fueron: infusión, emplasto y percolación. La evaluación *in vitro* se realizó por dos métodos: (1) Microdilución en caldo y (2) Kirby-Bauer, permitiendo encontrar el porcentaje del efecto inhibitorio de los extractos frente a 3 diferentes cepas microbianas: *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Candida albicans* ATCC® 10231™ y *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC® 25923™. Para la valoración de los resultados se aplicó un análisis estadístico ANOVA, los resultados mostraron que los extractos obtenidos por percolación tenían actividad antibacteriana. El extracto seco y fresco a una concentración del 5 % frente a *Candida albicans*, mostraron porcentajes de efecto inhibitorio del 95,51 y 88,46 % respectivamente. El extracto fresco a una concentración del 20 % frente a *Escherichia coli*, presentó un porcentaje de efecto inhibitorio del 66,67 %. El extracto seco a una concentración del 10 % frente a *Staphylococcus aureus*, mostró un porcentaje de efecto inhibitorio del 39,06 %. Las evaluaciones de laboratorio permitieron encontrar resultados que develan que *Solanum nigrescens* posee actividad biológica satisfactoria; validando el uso etnobotánico y confirmando la eficacia terapéutica de los extractos.

PALABRAS CLAVE: *Solanum nigrescens*, etnobotánica, actividad biológica, Microdilución en caldo, Kirby-Bauer.

Abstract

Ecuador has many biological resources used therapeutically by ancestral medicine, however some of this knowledge has not been scientifically evaluated. This work sought to evaluate the biological activity of extracts from *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti based on ethnobotanical use. The biological activity of 3 extracts obtained from data collection was investigated from ethnobotanical surveys, ethnobotanical data defined the extraction methods to be used that were: infusion, emplasto and percolation. The in vitro evaluation was performed by two methods: (1) Microdilution in broth and (2) Kirby-Bauer, allowing to find the percentage of the relative inhibitory effect of the extracts versus 3 different microbial strains: *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Candida albicans* ATCC® 10231™ and *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC® 25923™; considering they are pathogens typical of the skin microbiota. For the assessment of the results an ANOVA statistical analysis was applied, the results showed that the extracts obtained by percolation had antibacterial activity. The dry and fresh extract at a concentration of 5 % versus *Candida albicans*, showed inhibitory effect percentages of 95,51 and 88,46 % respectively. The fresh extract at a concentration of 20 % versus *Escherichia coli*, had an inhibitory effect percentage of 66,67 %. The dry extract at a concentration of 10 % versus *Staphylococcus aureus*, showed an inhibitory effect percentage of 39,06 %. Laboratory evaluations made it possible to find results that reveal that *Solanum nigrescens* has satisfactory biological activity; validating ethnobotanical use and confirming the therapeutic efficacy of extracts.

KEY WORDS: *Solanum nigrescens*, biological activity, Microdilution in broth, Kirby-Bauer.

Introducción

Ecuador es un país lleno de sabiduría ancestral la cual ha sido heredada de generación en generación durante siglos, de hecho los autores Naranjo & Escaleras (1995) en su libro “La medicina tradicional en el Ecuador: memorias de las Primeras Jornadas Ecuatorianas de Etnomedicina Andina”, mencionan que estos conocimientos son milenarios y quienes los realizan lo hacen para sanar sus dolencias. El uso de plantas medicinales es una práctica diaria entre los ecuatorianos, la confianza en la medicina tradicional permite que muchos ecuatorianos tengan acceso a tratamientos que son considerados efectivos y económicamente accesibles.

En Ecuador es considerado un país megadiverso en donde existe una extensa variedad de plantas medicinales (Zambrano, Buenaño, Mancera, & Jiménez, 2015). Vacas (2016), señala la importancia del uso de plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades, indicando que un 56 % de las plantas reportadas en Ecuador, son medicinales y un 70 % de la población ecuatoriana, las utiliza. En otra investigación las autoras Rosales, Álvarez, & Tito (2017), hablan sobre la influencia de la cosmovisión indígena en el tratamiento de sus enfermedades. Éstas determinaron que el 21 % de las 95 personas estudiadas recurren a fuentes naturales para sanarse, 72,63 % utilizan plantas medicinales en bebidas como parte de sus prácticas ancestrales de curación; otro punto de vista muy importante es que dentro de las comunidades indígenas la medicina tradicional es parte de sus raíces y tradición, y, por ende, su primera opción.

Entre las patologías más comunes en las que se utiliza la medicina ancestral, son las afecciones cutáneas, considerando que la piel es el órgano más grande del cuerpo

humano, característica que la expone muchísimo de contraer enfermedades causadas por patógenos externos (Kwiecien et al., 2019). Gallegos-Zurita & Gallegos-Z (2017), indican que en Ecuador las afecciones de la piel se encuentran dentro de las 10 enfermedades que provocan más inconvenientes dentro de la población ecuatoriana, también se aclara que las personas que las padecen aprenden a tratar y convivir con estas enfermedades por su cuenta, encontrando en la medicina ancestral una alternativa amigable y menos invasiva.

Vallejo (2010), habla de otro aspecto muy importante y es que los programas de salud no llegan a todos los rincones del país y de ser el caso se encuentran muy deteriorados, además el costo de los tratamientos supera lo que algunos ecuatorianos pueden llegar a pagar, recurriendo de esta manera a los recursos terapéuticos obtenidos de la biodiversidad ecuatoriana como alternativa segura y eficaz al tratamiento de sus dolencias.

Cerón (2006), en su artículo “Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos” habla que en los Andes ecuatorianos se elaboran colecciones botánicas y se aplican encuestas etnobotánicas desde hace más de veinte años hasta hoy, en este artículo se compila información de 432 especies medicinales utilizadas para dolencias comunes como: inflamación, nervios, resfrío, heridas, dolor estomacal, gripe, espinillas, artritis, entre otras. El autor indica para cada especie vegetal el nombre común y el uso etnobotánico que tienen las plantas medicinales, entre estas especies vegetales menciona a *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti más conocida como hierba mora, el autor señala que es una planta medicinal silvestre que es vendida en los mercados del Ecuador.

Olivo & Pazmiño (2016), en su trabajo llamado “Estudio comparativo de la utilización de plantas medicinales durante el parto tradicional por organizaciones de parteras de Otavalo y Loreto 2016”, mencionan que *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti, es una planta utilizada para lavados vaginales externos por las parteras de las dos localidades con el fin de evitar infecciones vaginales luego del parto. Moscoso (2013), recopila los testimonios de vida de hombres y mujeres que tienen conocimiento en la etnobotánica en donde se utilizan distintas plantas como *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti, para las infecciones superficiales de la piel. Por lo antes expuesto, es necesario plantear la siguiente pregunta: ¿Qué tan efectiva es la actividad biológica del extracto de *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti utilizado de la forma establecida por la etnobotánica?

Por tanto se definen los objetivos para este trabajo, siendo el objetivo general “Evaluar la actividad biológica del extracto vegetal de *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti fundamentada en el uso etnobotánico”, para lograr cumplir este objetivo es necesario: “Recabar información del uso etnobotánico de la especie *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti en 10 mercados del Distrito Metropolitano de Quito mediante la aplicación de encuestas etnobotánicas”; “Recolectar muestras de *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti en el Distrito Metropolitano de Quito para su adecuada identificación”; “Definir el proceso de extracción mediante el uso ancestral de *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti” y “Evaluar la actividad biológica del extracto de *Solanum nigrescens* frente a tres cepas de microorganismos patógenos de la piel determinando el porcentaje del efecto inhibitorio relativo por dos métodos: Microdilución en caldo y Kirby-Bauer”.

La estadística aplicada para este trabajo contemplará un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, aplicado a los resultados correspondientes al porcentaje del efecto inhibitorio relativo, de esta forma se determinará si los extractos utilizados tienen actividad inhibitoria frente a los microorganismos utilizados, permitiendo a la vez validar el uso etnobotánico y apoyar con datos el uso ancestral de la especie vegetal.

Capítulo 1

Marco teórico

1.1. La Medicina Tradicional en el Ecuador

La medicina tradicional es el conjunto de saberes ancestrales practicados por personas que recurren a fuentes naturales como plantas medicinales, animales y minerales para sanar sus dolencias, esto forma parte de la cultura de las comunidades indígenas de América del Sur y su sabiduría es transferida por generaciones prevaleciendo a lo largo de los años; este tipo de prácticas son una alternativa económicamente accesible ya que la medicina occidental es muy costosa (Armijos, Cota, & González, 2014; Busmann & Douglas, 2006). Una publicación acerca de la estructura de la medicina ancestral en Ecuador en la década de los 80 determinó que la estratificación social y los factores socioeconómicos influyen en la práctica de la medicina tradicional (Pedersen & Coloma, 1983), sin embargo Cerón en el año 2006 menciona que personas de toda clase social acuden a las herboristerías de los mercados para practicarse tratamientos que alivien sus padecimientos. Algunas de las razones que promueven el uso de plantas medicinales son: la accesibilidad, la disponibilidad y la viabilidad de los costos, así como la identidad de las creencias y costumbres (Peralta, Aarland, Lara C, Lara J, & Mendoza, 2013).

La Constitución de la República de Ecuador (Const., 2008, art. 57), reconoce que es un derecho colectivo de los pueblos indígenas el practicar la medicina tradicional utilizando la biodiversidad de su entorno para ejercer sus rituales de curación. En Ecuador hombres y mujeres que dominan la sabiduría ancestral pueden ser llamados: curanderos (*yachak*), parteras tradicionales, chamanes; los cuales han adquirido sus

conocimientos etnobotánicos de su familia: padres, abuelos, familiares cercanos (Armijos et al., 2014).

Cerón (2006), estudia 432 plantas medicinales de las cuales 273 se venden en los mercados y son aprovechadas para el tratamiento de 77 enfermedades. Entre las especies vegetales encontradas se menciona a *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti la cual será descrita a continuación.

1.2. Hierba Mora (*Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti)

1.2.1. Clasificación Taxonómica

Solanum nigrescens fue descrita por M. Martens & Galeotti en 1845 (World Flora Online [WFO], 2019). Álvaro J. Pérez, Curador de Angiospermas del Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador clasifica a *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti de la siguiente manera (Tabla 1):

Tabla 1

Descripción taxonómica de *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti

Clase:	Equisetopsida C. Agardh
Subclase:	Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden:	Asteranae Takht.
Orden:	Solanales Juss. Ex Bercht. & J. Presl
Familia:	Solanaceae Juss.
Género:	<i>Solanum</i> L.
Especie:	<i>Solanum nigrescens</i> M. Martens & Galeotti
Nombre común:	Hierba mora.

Fuente: (Álvaro J. Pérez, 2019).

Nota: Ver certificado de identificación en Anexo 2.

1.2.2. Descripción Botánica

Solanum nigrescens es una planta herbácea, crece como maleza en áreas silvestres, pudiendo ser aprovechada en menos de un año (González & Caballero, 2007; González, Casas, Méndez, Martorell, & Caballero, 2011). Su altura puede llegar hasta los 3 m, posee tallos ramificados con hojas lanceoladas y ápice puntiagudo,

tiene flores muy pequeñas de hasta 15 mm con corola blanca, sus frutos son redondos y de color verde pero al madurar se tornan de color negro (Peralta et al., 2013; Tropicos- Jardín Botánico de Missouri, 2013; WFO, 2019).

1.2.3. Composición Química

Los componentes encontrados en los extractos de *Solanum nigrescens* pueden ser: cumarinas, antraquinonas, flavonoides, taninos y saponinas (Cáceres et al., 2012; Peralta et al., 2013). En un estudio realizado por He et al. (1994), se encontró un compuesto presente en el extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrescens* llamado cantalasaponina-3 con actividad antifúngica efectiva probada frente a *Candida albicans*, este componente no es citotóxico para humanos y se concluyó que tiene mucho potencial para ser utilizado contra infecciones provocadas por hongos.

1.2.4. Uso Etnobotánico

Los usos atribuidos a *Solanum nigrescens* son variados, entre ellos tenemos que su uso se da principalmente para tratar afecciones externas de la piel como: acné, pústulas, irritación, heridas superficiales, llagas, abscesos, inflamación por golpes; para estos casos la información etnobotánica indica que se deben realizar infusiones o decocciones de la planta para ser aplicadas directamente en la zona a tratar, en otros casos se machacan las hojas y son colocadas directamente sobre las zonas inflamadas (Cerón, 2006; Girón, Aguilar, Cáceres, & Arroyo, 1988; Girón, Freire, Alonzo, & Cáceres, 1991). También se utilizan las infusiones de partes aéreas y hojas de la planta para el tratamiento de infecciones vaginales; de acuerdo con la etnobotánica las “agüitas” sirven para realizar lavados vaginales, también es utilizada para

prevenir este tipo de infecciones en mujeres antes y después del parto (Girón et al., 1988, 1991; Olivo M & Pazmiño H, 2016).

1.3. Extractos vegetales

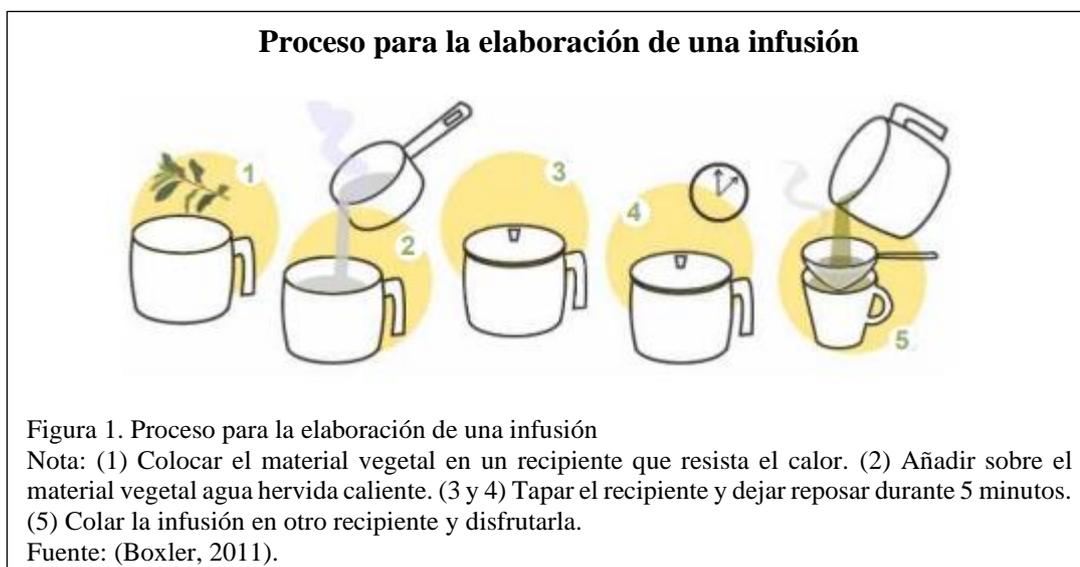
Los extractos de vegetales poseen una gran cantidad de componentes bioactivos con aplicaciones terapéuticas, están elaborados a base de plantas medicinales que en la mayoría de los casos debe estar seca pero también se realizan con planta fresca; la planta debe encontrarse cortada en pequeños pedazos para facilitar el proceso de molienda del material vegetal y por ende el proceso de extracción. Existen parámetros que deben ser considerados durante el proceso de extracción y son: tiempo de extracción, tipo del solvente, pH del solvente, temperatura de extracción, tamaño del material vegetal, etc. El proceso de extracción utiliza distintos tipos de solventes que dependerán del tipo de extracto a realizar, entre los métodos basados en el tipo de solvente utilizado se tiene: infusión, decocción, maceración, percolación y extracción por soxhlet (Rodino & Butu, 2019).

1.3.1. Métodos para la obtención de extractos vegetales

1.3.2. Infusión

Las infusiones son bebidas tradicionales del mundo entero (Guevara et al., 2019; Herrera et al., 2018), sin embargo sus orígenes tienen lugar en el Sur de China, con el tiempo se dio a conocer en otros países de Europa y América como Estados Unidos y Canadá (Li et al., 2014). Las infusiones sirven para extraer principios activos de cualquier parte de las plantas medicinales, no obstante Sargin, Selvi, & López (2015), observan que las infusiones son utilizadas con mayor preferencia para la extracción de activos de partes blandas de la planta como: hojas, flores, frutos; ya que para partes

duras como la corteza o las ramas se prefiere utilizar métodos como la decocción. El proceso de extracción por infusión se describe en la Figura 1.



1.3.3. Emplasto

El emplasto es considerado un medicamento de uso tópico, tiene una consistencia sólida y untuosa consiste en la mezcla de plantas medicinales secas y en polvo con grasas como: aceites, ceras, resinas, gomas, sebos. El emplasto es utilizado directamente sobre la parte afectada con la ayuda de masajes (Pérez, 2007). Existe una discrepancia entre la definición del emplasto galénico y el emplasto según la etnobotánica puesto que en la medicina tradicional el emplasto no siempre lleva grasas, sino que consiste en partes de la planta frescas machacadas y aplicadas directamente sobre la parte afectada (Cáceres & Singer, 2001).

1.3.4. Percolación

Este método permite la separación de los compuestos bioactivos del material vegetal utilizando como solvente al alcohol etílico en concentraciones habituales del 50 o 70 %, los extractos obtenidos por medio de este método pueden ser tinturas o extractos fluidos. El proceso de extracción generalmente utiliza columnas de

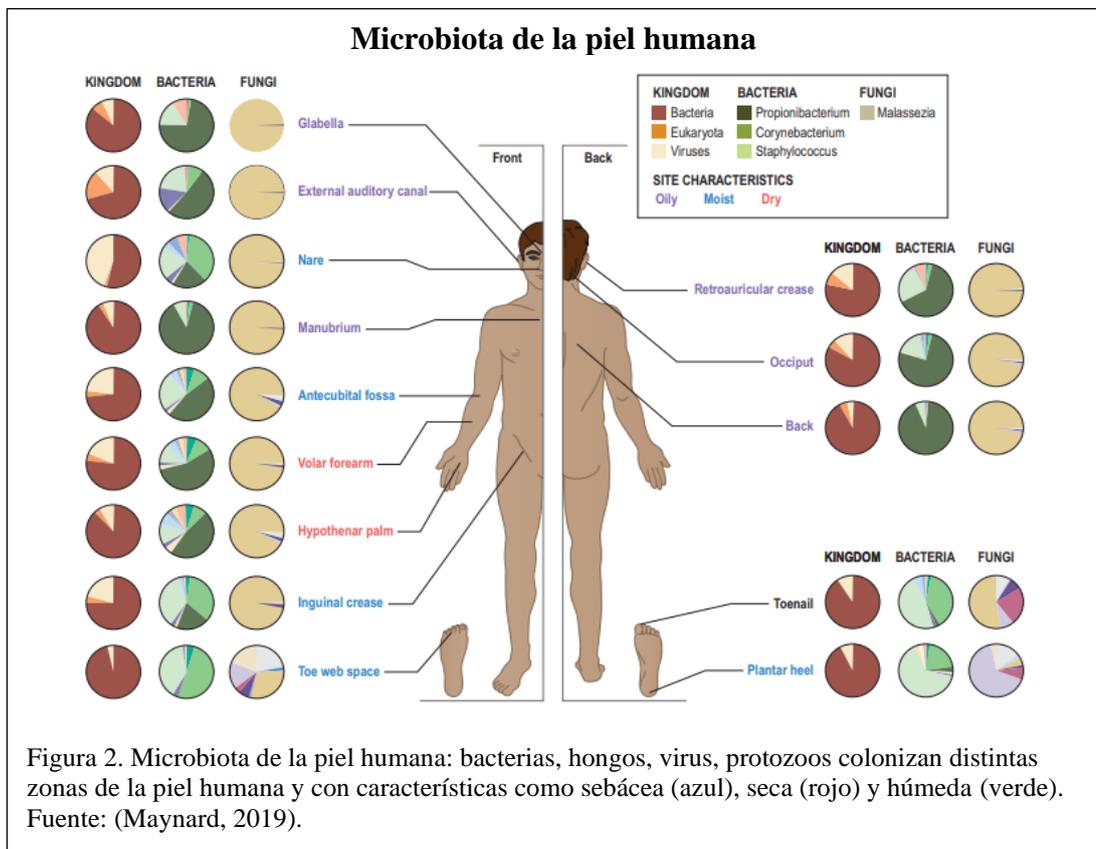
percolación en donde se coloca el material vegetal molido y humedecido con el solvente durante un tiempo aproximado de 2 horas, luego es colocada una cantidad adecuada de solvente y esta mezcla es dejada macerar durante un tiempo que puede ir de 4 a 12 horas, el percolado es concentrado a presión reducida y a una temperatura ≤ 50 °C, con el fin de evaporar el solvente y obtener una solución hidroalcohólica, esto se realiza en un rotavapor (Rodino & Butu, 2019).

1.4. Actividad Biológica

Existe evidencia de que los componentes bioactivos presentes en las plantas poseen actividad biológica frente a patógenos, esta característica ha sido atribuida al hecho de que las plantas generan estos compuestos para protegerse a sí mismas del entorno que las rodea y amenaza. Los metabolitos químicos de las plantas pueden ser: primarios o secundarios; los primarios son necesarios para la supervivencia de la planta mientras que los secundarios participan en la adaptación de la planta en el ecosistema donde se desarrollan y pueden ser utilizados en la fabricación de fármacos. Los metabolitos secundarios o compuestos bioactivos de las plantas poseen actividad terapéutica y entre ellos se tienen a tres grupos principales (que a su vez se subdividen): terpenoides, compuestos fenólicos, alcaloides. La obtención de estos componentes dependerá de varios parámetros como: el método de extracción escogido, el tipo de solvente utilizado, el tiempo y la temperatura de extracción, entre otros (Kharbach, Marmouzi, El Jemli, Bouklouze, & Vander Heyden, 2020; Rakhee, Mishra, Sharma, & Misra, 2018; Rodino & Butu, 2019).

Los extractos de plantas medicinales han sido utilizados durante décadas para el tratamiento de enfermedades de toda clase, debido a su actividad frente a patógenos

de todo tipo. Una de las enfermedades más comunes que aquejan a los seres humanos son las patologías de la piel, en la que coexisten un sin número de microorganismos que en conjunto se denominan microbiota. La microbiota de la piel humana sana es cerca de 1 millón por cm^2 frente a 1010 células totales que recubren a una persona. Entre los microorganismos que colonizan la piel humana existen: bacterias, virus, hongos y protozoos (Figura 2), que junto con el sistema inmunitario se encuentran en una constante evolución para coexistir sin problemas, la piel les provee de escasos nutrientes y a su vez ellos cooperan con la homeostasis inmune; sin embargo existen momentos en donde las defensas del cuerpo humano bajan, las condiciones como el pH cambian y se da una proliferación descontrolada de algunos patógenos, como: *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, entre otros, generándose las enfermedades (Maynard, 2019).



Capítulo 2

Marco metodológico

2.1 Metodología para la aplicación de encuestas etnobotánicas de *Solanum nigrescens* en mercados del Distrito Metropolitano de Quito

El Distrito Metropolitano de Quito posee 8 administraciones zonales, en donde existen 65 parroquias (Municipio del Distrito Metropolitano de Quito, 2011). La zona de estudio se delimitó dentro del Distrito Metropolitano de Quito con superficie de 4235,2 Km², en donde se escogieron diez mercados representativos del total de la superficie estudiada. Los mercados en donde se aplicaron las encuestas son detallados a continuación en la Figura 3.



La metodología para la aplicación de encuestas etnobotánicas se basó en lo propuesto por Rivera (2007), quien indica parámetros básicos para la recopilación de datos etnobotánicos como son: descripción del territorio, descripción de la población, entre otros. El autor también explica que materiales deben utilizarse como: cuaderno, grabadora, cámara fotográfica; también plantea un modelo de entrevista y encuesta. La entrevista puede ser abierta, en donde existe libertad en el desarrollo de la conversación, a diferencia de la entrevista cerrada que se ve delimitada por un cuestionario preestablecido.

En el caso de esta investigación, para la obtención de los datos etnobotánicos se estableció un sistema de entrevista abierta individual y encuesta, la cual fue llena por la investigadora, se preguntó directamente a cada entrevistado, previa autorización. La encuesta etnobotánica constó de 14 preguntas de distinto tipo: abiertas y cerradas. Las preguntas abiertas permitían que el entrevistado escoja una respuesta fuera del cuestionario y a su criterio, mientras que las cerradas ya se encontraban dentro del cuestionario (ver Anexo 1). Con los resultados obtenidos de la encuesta etnobotánica se decidió formular el diseño experimental para la obtención de extractos de estudio, el mismo que se detalla en el siguiente punto.

2.2 Diseño experimental para obtención de extractos

Los extractos vegetales se elaboraron considerando los datos etnobotánicos recopilados, los tipos de extracto a evaluar fueron: infusión, emplasto y percolación. Para la elaboración del diseño experimental se tomó la variable: estado del material vegetal (fresco o seco). La infusión y percolación utilizó planta fresca y seca; para emplasto se emplearon únicamente frutos frescos, de acuerdo con la información etnobotánica. Obteniéndose los siguientes tratamientos descritos en la Tabla 2.

Tabla 2.

Diseño experimental

Tipo de extracto	Material vegetal	Tratamientos	Unidades experimentales
Infusión	Fresco	A	A1, A2, A3
	Seco	B	B1, B2, B3
Emplasto	Fresco	C	C1, C2, C3
Percolación	Fresco	D	D1, D2, D3
	Seco	E	E1, E2, E3

Elaborado por: (La autora, 2019).

2.3 Obtención de la muestra vegetal

2.3.1 Recolección de la especie vegetal *Solanum nigrescens*

El material vegetal fue recolectado en la Parroquia de Sangolquí del Cantón Rumiñahui, a una altitud de 2569 msnm con coordenadas geográficas: S 0°22'26" y O 78°26'13" (Figura 4).



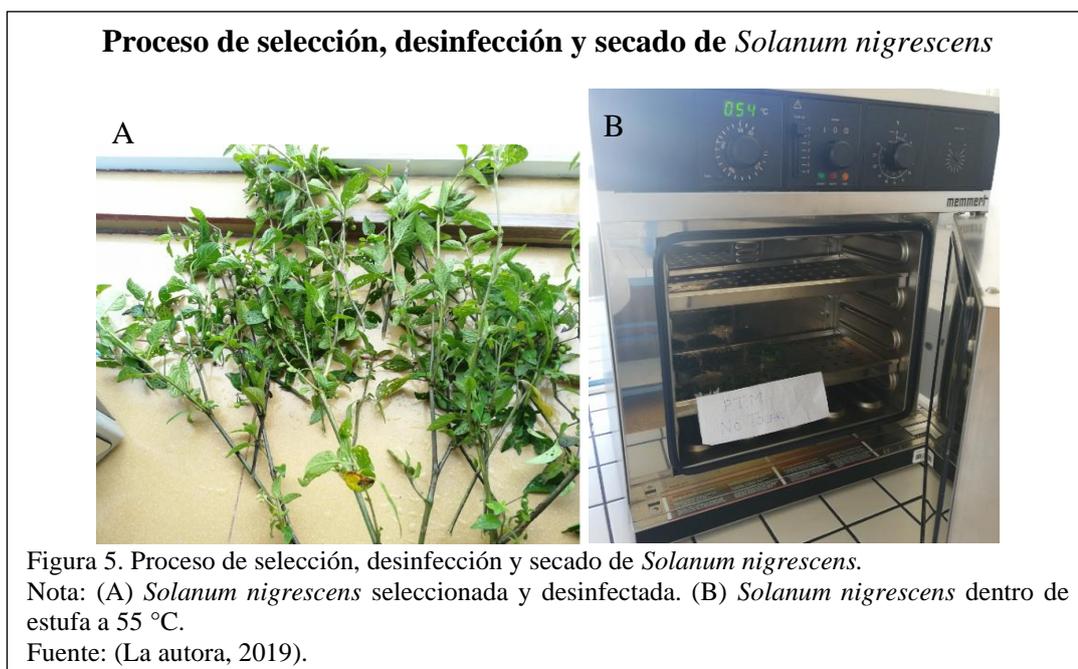
2.3.2 Identificación taxonómica

El material vegetal fue llevado al Herbario QCA de la Universidad Católica del Ecuador ubicada en la Av. 12 de octubre 1076, en la ciudad de Quito. La identificación taxonómica fue realizada por el curador de Angiospermas del herbario de la Universidad Católica del Ecuador, MSc. Álvaro Pérez, mismo que certificó que

el espécimen identificado correspondía a *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti.
Resultado ver en Anexo 2.

2.3.3 Selección, desinfección y secado de la muestra vegetal

Para el proceso de selección del material vegetal se escogieron todas las partes de la planta que se encontraban en buenas condiciones como: hojas verdes y sin picaduras de insectos, frutos verdes; para ello se utilizaron tijeras previamente desinfectadas con alcohol antiséptico. Posterior a la selección, el material vegetal fue lavado con abundante agua potable y se dejó al ambiente en condiciones de laboratorio de 24 °C y HR 40-50 por 24 horas, para luego secarse en una Estufa Memmert modelo SM200 a 55 °C y 0 % de humedad durante 48 horas (Figura 5). Una vez finalizada la etapa de secado el material vegetal fue molido hasta obtener una muestra en polvo. El material vegetal seco y molido fue conservado en fundas plásticas selladas y etiquetadas para usos posteriores.



2.4 Métodos para la obtención de extractos vegetales

Los extractos son preparaciones líquidas, sólidas o semisólidas, se obtienen por distintos métodos de extracción que buscan obtener principios activos de origen vegetal, para ello se usan solventes que pueden ser agua, alcohol, mezclas de ambos u otros (The United States Pharmacopeial Convention, 2007).

2.4.1 Método de Infusión para extracción

La infusión es el resultado de sumergir partes secas de hierbas medicinales en agua hirviendo (Pyrzynska & Sentkowska, 2019). La infusión se realizó basándose en la metodología descrita en la Farmacopea Argentina (ANMAT, 2003).

- Se colocó 100 mL de agua destilada en un vaso de precipitación de 200 mL y fue puesto a hervir en una placa de calentamiento con agitador (Fisher Scientific).
- Se pesaron 50 g de material vegetal fresco o seco, se colocó en un vaso de precipitación estéril de 250 mL.
- Se agregó el agua destilada hervida sobre el material vegetal dentro del vaso de precipitación de 250 mL, se cubrió el vaso con papel aluminio y se dejó reposar durante 15 minutos.
- El material vegetal fue colado, obteniéndose una infusión al 50 % de concentración.
- La infusión fue trasvasada a un frasco ámbar estéril bien sellado y etiquetado, los extractos fueron llevados a refrigeración a 4 °C para su análisis el mismo día de preparación.

2.4.2 Método de Emplasto para extracción

Según la información etnobotánica, el emplasto de *Solanum nigrescens* resulta de machacar los frutos frescos para ser aplicado directamente sobre el rostro con acné (Rosa Cruz, comunicación personal, 24 de abril, 2019), esta técnica difiere de lo planteado por Rumbo, Cortizas-Montero, & Cortizas-Rey (2017), quienes mencionan que las partes frescas de la planta son mezcladas con excipientes como: grasas, manteca o sebo para conseguir una pasta firme y fácil de untar. La metodología a seguir únicamente contemplará la información etnobotánica recopilada.

- Se pesaron 50 g de frutos de *Solanum nigrescens*, previamente seleccionados y lavados con agua destilada (Figura 6).
- Los frutos pesados fueron machacados con la ayuda de un mortero hasta obtener el emplasto.
- El emplasto fue filtrado utilizando papel filtro estéril hasta obtener únicamente el concentrado líquido.
- El concentrado líquido fue colocado en un frasco ámbar de 10 mL sellado y etiquetado y conservado en refrigeración a 4 °C.

Proceso para elaboración del emplasto según la etnobotánica

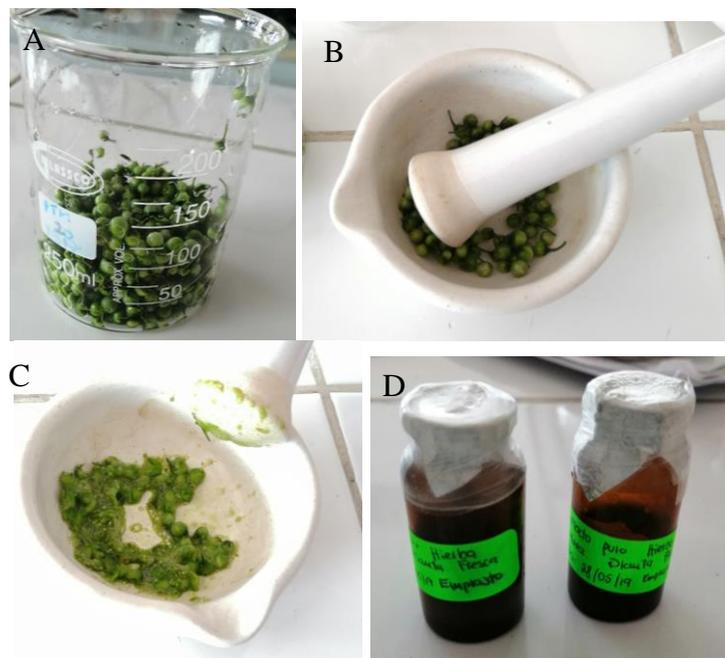


Figura 6. Proceso para la obtención del emplasto.

Nota: (A) Frutos de *Solanum nigrescens* lavados con agua destilada. (B) Frutos de *Solanum nigrescens* siendo machacados con un mortero y pistilo. (C) Obtención del emplasto de *Solanum nigrescens*. (D) Extracto puro obtenido luego de filtrar el emplasto, sellado y etiquetado en frasco ámbar de 10 mL.

Fuente: (La autora, 2019).

2.4.3 Método de percolación para extracción

La percolación es un método de extracción en el que se utiliza como solvente al alcohol, el cual es añadido sobre la droga vegetal triturada para tratamiento y obtención de los principios activos, la combinación de material vegetal y solvente reposa por lapsos de 24 hasta 48 horas, luego se obtienen extractos hidroalcohólicos los cuales son concentrados en un rotavapor (Gennaro, Remington, & Belluci, 2003). Se siguió la técnica descrita en la Farmacopea de Estados Unidos (UPS30- NF25, 2007). El siguiente procedimiento se realizó dos veces, tanto para la elaboración del extracto con planta fresca como con planta seca.

- Se pesaron 100 g del material vegetal y se humectaron con 200 mL del solvente etanol/agua (90:10) durante 2 horas.
- El material vegetal hidratado, fue colocado en un embudo de adición graduado con llave, con 400 mL del mismo solvente.
- El embudo fue cubierto con papel aluminio para proteger de luz, se dejó reposar durante 24 horas, al cabo del tiempo transcurrido se recolectó la primera parte de 85 mL, se añadieron 150 mL de solvente hasta cubrir todo el material vegetal, se dejó reposar durante otras 24 horas.
- Luego de las 24 horas se recolectó todo el líquido dentro del embudo en un matraz balón para rotavapor, fue llevado a concentrar hasta obtener la segunda fracción con un volumen de 15 mL, este proceso se realizó en el rotavapor (IKA RV10) a una temperatura de 50 °C y 100 rpm.
- Se unieron las dos fracciones obtenidas: 85 mL + 15 mL. El volumen final de 100 mL fue almacenado en frascos ámbar. Los extractos se refrigeraron a 4 °C durante 5 días para finalmente ser filtrados con papel filtro estéril y ser colocados en nuevos frascos ámbar sellados y etiquetados, se conservaron en refrigeración hasta su posterior evaluación.

2.5 Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se evalúa mediante dos métodos: Microdilución en caldo y Kirby-Bauer. Se utilizaron 3 microorganismos con certificación ATCC: *Escherichia coli* ATCC® 25922™, *Candida albicans* ATCC® 10231™, *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC® 25923™; considerando que son patógenos propios de la microbiota de la piel.

Estudios en infecciones cutáneas identifican entre 90 aislamientos bacterianos que el 67,8 % pertenecían a bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), la piel humana es la primera barrera para resguardarse de enfermedades de la piel y tejidos blandos causadas por microorganismos externos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Penduka et al., 2018; Wu et al., 2019; Yang et al., 2017). Entre otros microorganismos, *Candida albicans* coloniza la piel humana sana, mucosas y tracto reproductivo, es el principal causante de candidiasis vaginal, entre otras patologías (Kashem & Kaplan, 2016).

2.5.1 Método microdilución en caldo

Este método sirve para “*determinar la actividad in vitro de un agente antimicrobiano contra un aislado bacteriano dado*” (NCCLS, 2012, p. 17). El método consiste en colocar el agente antimicrobiano en una microplaca para realizar microdiluciones del mismo, luego se coloca una suspensión conocida del microorganismo, la microplaca se incuba a 35 ± 2 °C durante 24 horas, se aplica el colorante cloruro de trifeniltetrazolio y se vuelve a incubar durante 40 minutos, finalmente las placas son analizadas cuantitativamente (midiendo los valores de absorbancia) o cualitativamente (visualizando los cambios de color) (NCCLS, 2012).

La microdilución en caldo se realizó por el método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución: MIC testing, desarrollado por la NCCLS (2012).

2.5.1.1 Preparación del inóculo

- Se preparó medio de cultivo tripticasa soya agar (TSA) que fue dispensado en cajas Petri de plástico, posterior a ello se sembraron en forma estriada los microorganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida*

albicans, utilizando asas de plástico; se llevó a incubación durante 24 horas a una temperatura de 37 °C.

- Se preparó caldo de soya tripticasa (CST), mismo que fue dispensado en tubos de ensayo y se esterilizó. Se tomó una colonia de las cajas Petri con TSA sembradas posteriormente y se inoculó en el medio CST; se llevó a incubación nuevamente durante 24 horas (este proceso se siguió para cada microorganismo).
- Al cabo de las 24 horas de incubación en CST, se diluyó la suspensión de microorganismos utilizando CST como diluyente hasta llegar a una turbidez equivalente a $1-2 \times 10^8$ UFC/mL. Para esta etapa se manejó un espectrofotómetro UV (Shimadzu 2V UV mini-1240) a una longitud de onda de 625 nm, los cultivos fueron diluidos hasta alcanzar una absorbancia entre 0,08 hasta 0,1 (este proceso se siguió para cada microorganismo).

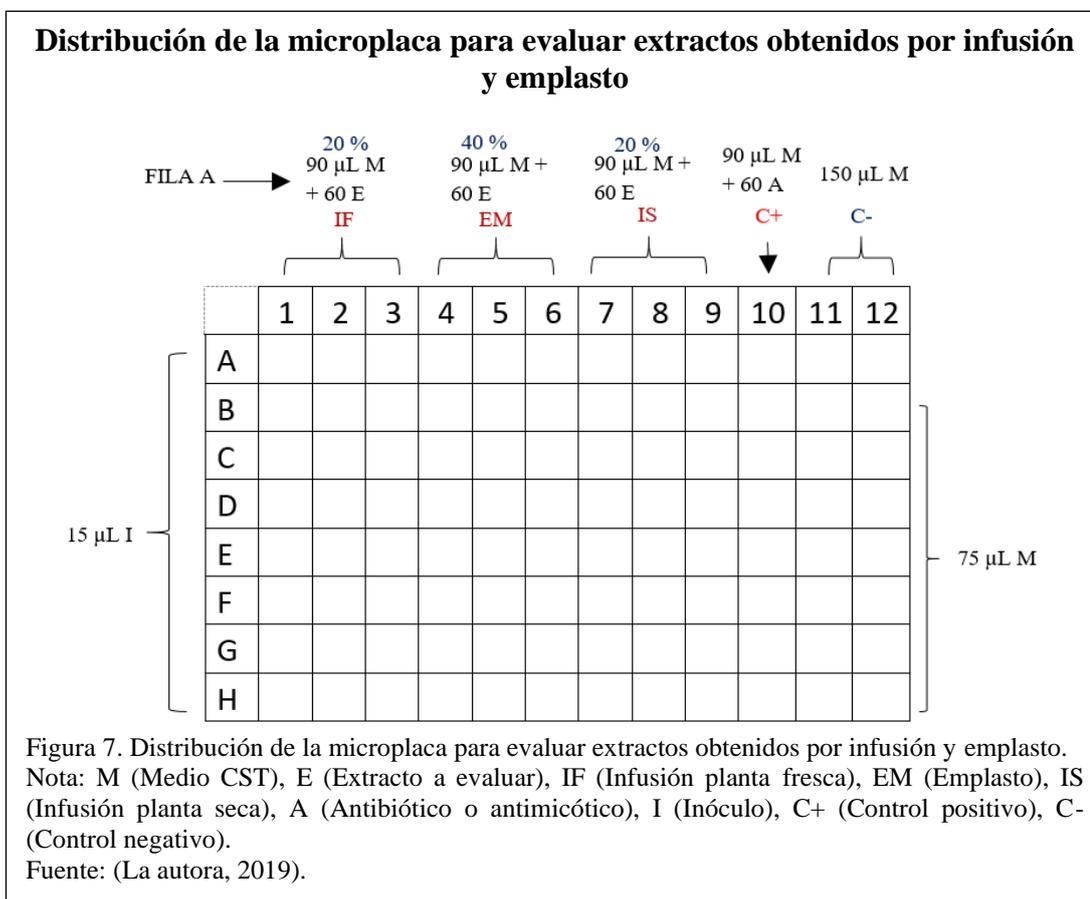
2.5.1.2 Elaboración del colorante cloruro de trifeniltetrazolio al 0.7 % (TTC)

Se pesaron 70 mg del colorante y se diluyeron en 10 mL de agua destilada estéril (fría), se colocó en un frasco Boeco de 100 mL y se mezcló bien. Se llevó a refrigeración para su posterior uso.

2.5.1.3 Preparación de las microplacas de 96 pocillos

- Se emplearon microplacas de poliestireno transparente de 96 pocillos, en las que se colocó un volumen final de 90 μ L (en cada pocillo), utilizando una micropipeta multicanal (Transferpette® S-12).

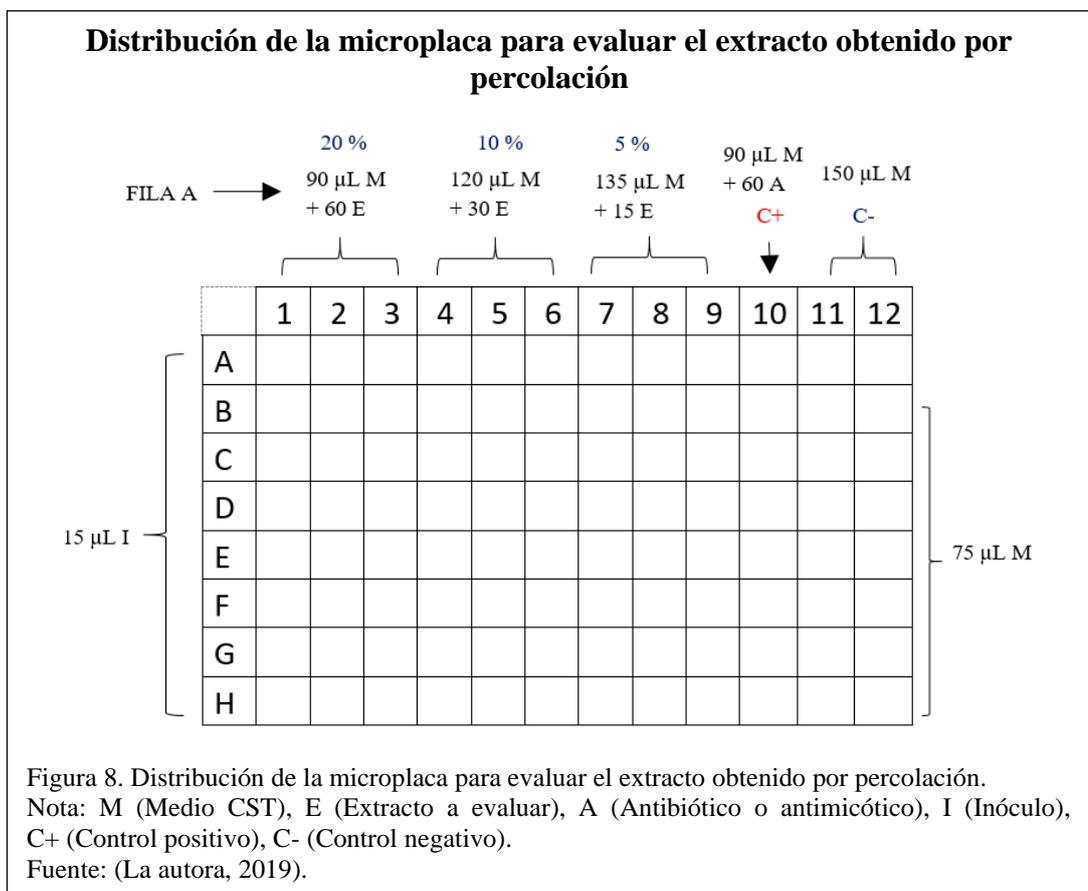
- Para la ejecución del ensayo con los extractos obtenidos por infusión y emplasto, las microplacas fueron llenadas tal y como indica la figura 7. Cada análisis se realizó por triplicado, un control positivo y dos negativos.



- Se llenó la fila A de la microplaca con los distintos tratamientos teniendo un volumen de 150 µL en cada pocillo, de igual forma fueron llenas las filas de la B a la H únicamente con medio CST. Una vez llena toda la microplaca se procedió a realizar las microdiluciones, con la ayuda de la micropipeta multicanal se tomó un volumen de 75 µL de la fila A el cual fue descargado en la fila B (que ya contenía los 75 µL con medio CST), se mezcló bien y se volvió a tomar un volumen de 75 µL para ser llevado a la fila C, este proceso se repitió hasta llegar a la fila H, finalmente se desecharon los 75 µL sobrantes. Una vez estuvo llena toda la microplaca y realizadas las respectivas microdiluciones se procedió a colocar 15 µL del inóculo correspondiente en

cada uno de los pocillos. Finalmente las microplacas fueron selladas con papel parafilm y envueltas en papel aluminio, se llevaron a incubación (marca) a una temperatura de 37 °C y agitación de 40 rpm durante 24 horas.

- Para la realización del ensayo de microdilución con el extracto obtenido por percolación, se realizó el mismo proceso anteriormente explicado. Las microplacas se llenan como se puede ver en la figura 8. Se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento, un control positivo y dos negativos.



- Para la aplicación de los tres tratamientos a concentraciones del 20, 10 y 5 %, se utilizó el mismo extracto a una concentración del 50 %, únicamente se tomó más o menos volumen para lograr las diferentes concentraciones. Lo mismo se realizó tanto como para el extracto con planta fresca como seca.

2.5.1.4 Aplicación del colorante TTC al 0.7 %

Al cabo de las 24 horas de incubación de las microplacas se procedió a colocar 20 μ L del colorante en cada uno de los pocillos, utilizando una micropipeta multicanal. Se volvieron a sellar las microplacas y se llevaron nuevamente a incubación a 37 °C, 40 rpm, durante 1 hora.

2.5.1.5 Análisis cualitativo de las microplacas

El análisis cualitativo contempla los cambios de color que ocurren en la microplaca luego de aplicar el colorante TTC, si existen células vivas, sus enzimas reducen el tetrazolium y el pocillo se tiñe de rojo, si existen células muertas o no existen células el pocillo no cambia de color, el color rojo puede ser tenue o intenso (Instituto Nacional de Edafología, 1952). El siguiente ensayo se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Llivicura (2018). Resultados ver en el Anexo del 3 al 6.

- Una vez transcurrido el tiempo de incubación con el colorante TTC, se analizaron los cambios de color existentes. De los pocillos donde no hubo cambio de color (no hubo crecimiento microbiano o muy poco), se tomaron 30 μ L con la ayuda de una micropipeta y se sembró en placas Petri con agar Mac Conkey para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, así como también Sabouraud dextrosa agar (SDA) para *Candida albicans*.
- Se puso a incubar a una temperatura de 37 °C y se revisaron las placas a las 24, 48 y 72 horas, una vez transcurridas las 72 horas se determinaron las concentraciones que presentaban inhibición a los distintos microorganismos.

2.5.2 Método de Kirby-Bauer

Este método consiste en inocular una placa de agar con una suspensión microbiana conocida (bacterias o levaduras) para la evaluación de la sensibilidad microbiana utilizando discos de 6mm de diámetro que contienen una cantidad conocida del agente antimicrobiano, la placa es llevada a incubación a 35 ± 2 °C durante 24 horas, finalmente se mide el diámetro de los halos de inhibición, este método también conocido como antibiograma permite catalogar la sensibilidad de los microorganismos de manera cualitativa: susceptibles, intermedios o resistentes (Balouiri, Sadiki, & Ibnsouda, 2016).

La metodología empleada para determinar la sensibilidad de los microorganismos estudiados frente a los extractos evaluados se basó en distintos autores (Al-Daody, Y.Al-Numan, & Al-Hadidi, 2013; Becton Dickinson, 2017; Hudzicki, 2009).

- El inóculo fue preparado como se indicó en el apartado anterior: *Preparación del inóculo (2.6.1.1)*. Una vez ajustada la turbidez de las suspensiones bacterianas a escala 0.5 McFarland, se utilizó un hisopo de algodón estéril el cual fue frotado tres veces en placas estériles de Mueller-Hinton (MHA) para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, así como también SDA para *Candida albicans*.
- Se aplicaron los discos con ayuda de pinzas estériles en la superficie de la placa de agar cuidando que guardaran distancia no menor a 24 mm entre ellos y presionándolos sobre el agar; utilizando una micropipeta se depositaron 20 μ L de los extractos en los discos, las concentraciones utilizadas fueron las que presentaban inhibición a los microorganismos estudiados encontradas en el apartado anterior: *Análisis cualitativo de las microplacas (2.6.1.5)*.

- Se utilizó como control positivo el antibiótico Tetraciclina para el caso de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, para *Candida albicans* se utilizó el antifúngico para levaduras fluconazol.
- Luego de la aplicación de todos los discos y el respectivo control positivo, las placas fueron invertidas y llevadas a incubación a una temperatura de 37 °C durante 24, 48 y 72 horas en donde se realizaron las respectivas mediciones de los halos de inhibición.
- Para la medición de los halos de inhibición siguió lo establecido por Bernal & Guzmán (1984), se tomaron las placas y se colocaron sobre una superficie oscura, el diámetro medido incluyó la zona del disco (6 mm), para ello se utilizó una regla la cual fue colocada sobre la base de la caja Petri.

2.6 Evaluación de la actividad de los extractos

Para evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos se realizó el cálculo del porcentaje del efecto inhibitorio relativo, se utilizó como criterio de evaluación la medida del halo de inhibición respecto al control positivo para determinar la respuesta del microorganismo a los extractos evaluados. Se siguió lo planteado por Cruz, Rodríguez, & Rodríguez (2010), en donde se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Efecto inhibitorio} = \frac{\text{Diámetro halo de inhibición muestra}}{\text{Diámetro halo de inhibición control positivo}} \times 100$$

2.7 Análisis estadístico

Los factores de estudio fueron las concentraciones que presentaban inhibición (encontradas en el apartado: *Análisis cualitativo de las microplacas 2.6.1.5*) a los microorganismos estudiados. Las unidades experimentales fueron las placas de

Kirby-Bauer en donde se probaron los diferentes tratamientos. Las variables independientes fueron los extractos y las variables dependientes fueron los valores expresados en porcentaje: % del efecto inhibitorio.

El análisis estadístico se realizó en el programa Minitab® 19, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, se aplicaron pruebas posteriores (post-hoc) como el método de Tukey a una confianza del 95 % y a un nivel de significancia del 0,05.

Las hipótesis fueron las siguientes:

- Hipótesis nula: Todas las medias son iguales
- Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales

Capítulo 3

Resultados y discusión

3.1 Resultados de la aplicación de encuestas etnobotánicas de *Solanum nigrescens* en mercados del Distrito Metropolitano de Quito

En función de la distribución geográfica del Distrito Metropolitano de Quito explicado en la sección 2.1 (Metodología), el número de encuestas realizadas es el siguiente (Tabla 3).

Tabla 3.

Número de personas encuestadas en la ciudad de Quito

Mercados de Quito	Número de personas encuestadas	Género de las personas encuestadas
Mercado Municipal de la Kennedy	3	Femenino
Mercado Municipal La Rumiñahui	1	Femenino
Mercado Iñaquito (La Carolina)	3	Femenino
Mercado de Santa Clara	4	Femenino
Mercado de San Roque	6	Femenino
Mercado Municipal San Francisco	2	Femenino
Mercado Municipal de Conocoto	2	Femenino
Mercado Central	2	Femenino
Mercado Mayorista	5	Femenino
Mercado de El Calzado	2	Femenino

Elaborado por: (La autora, 2019).

La encuesta etnobotánica fue aplicada a un total de 30 personas, todas de género femenino, lo que lleva a suponer que la medicina ancestral está manejada por mujeres, resultados que concuerdan con lo planteado por Tobar, (2011). Como se observa en los resultados, el número de personas encuestadas en algunos mercados es distinto, esto se debe a que la cantidad de puestos de venta de plantas medicinales difiere entre los mercados, lo que podría indicar que hay mercados dentro de la ciudad de Quito que tienen más potencializada la medicina ancestral, este es el caso del

Mercado de San Roque en donde existían más de seis puntos de venta de plantas medicinales pero únicamente se entrevistó a seis personas.

Los resultados de las 14 preguntas de la encuesta etnobotánicas aplicada en los 10 mercados de Quito se muestra en la siguiente Tabla 4.

Tabla 4.

Resultados de la encuesta etnobotánica.

Preguntas de la Encuesta etnobotánica	Respuestas/Porcentaje (Tomando en cuenta las respuestas de los 10 mercados de Quito)			
¿Con qué otro nombre/s le conoce a la planta?	No conoce otro nombre	Carioquito morado	Mortiño de Rama	
	47 %	40 %	13 %	
¿Qué parte de la planta utiliza?	Toda la planta	Frutos	Hojas	
	60 %	30 %	10 %	
¿Se utiliza la especie seca o fresca para hacer el preparado?	Fresca	Seca	Ambas	
	50 %	20 %	30 %	
¿Cómo obtiene el extracto de la planta?	Infusión	Maceración	Emplasto	
	43 %	10 %	47 %	
¿Durante la infusión, la planta coloca luego de que hierve el agua?	Si	No	No conoce	
	100 %	0 %	0 %	
¿Cuánto tiempo deja la planta dentro del agua durante la infusión?	5 minutos	10 minutos	15 minutos	
	43 %	10 %	47 %	
¿Adiciona alcohol al preparado?	Si	No	No conoce	
	10 %	27 %	0 %	
De ser el caso que adicione alcohol, ¿Cuánta cantidad añade?	No añade alcohol	Añade 1 vaso pequeño	No conoce	
	90 %	10 %	0%	
¿Para qué tipo de dolencias recomienda usted el uso de <i>Solanum nigrescens</i> ?	Baños externos (vaginales), inflamaciones y golpes	Heridas	Acné	
	43 %	10 %	47 %	
¿Con qué frecuencia adquieren la planta las personas?	Siempre (Todos los días)	Casi siempre (3 o más veces por semana)	Frecuentemente (1 o 2 veces por semana)	
	47 %	30 %	10 %	
¿Usted recoge la planta?	No, la adquiere de intermediarios	Si	A veces	
	100 %	0 %	0 %	
¿A quién solicitó orientación sobre el uso de plantas medicinales?	Familia (conocimiento ancestral)	Revista/ periódico	Amigos/Vecinos	
	90 %	3 %	7 %	
¿Por qué utiliza plantas medicinales	Por consejo familiar o amigo	Por confianza en la medicina natural	Por consejo de mi médico	
	13 %	87 %	0 %	
¿Hace cuánto tiempo utiliza plantas medicinales?	De 10 a 20 años	De 20 a 30 años	Hace más de 30 años	
	3 %	33 %	27 %	

Elaborado por: (La autora, 2019).

En base a las encuestas etnobotánicas realizadas, se resalta las respuestas con mayor coincidencia, que corresponde a las que tienen mayor porcentaje, determinándose que *Solanum nigrescens* es conocida con algunos nombres comunes como: carioquito morado y mortiño de rama, sin embargo el nombre más conocido y dicho de forma coloquial es hierba mora. *Solanum nigrescens* es empleada el 90 % de las veces en preparados mediante infusión y emplasto, a diferencia de la maceración que se elabora el 10 %, las personas que mencionaron este método, concuerdan en que se debe utilizar alcohol para conservar su extracto, sin embargo las cantidades y el proceso a seguir no es claro entre ellas. Es importante señalar que para la infusión se emplea toda la planta (hojas, frutos y ramas) mientras que para la elaboración de los emplastos se toman solo los frutos.

Solanum nigrescens es utilizada para uso externo; el 43 % de los datos indican que es utilizada en infusión para realizar baños externos en el tratamiento de inflamaciones y golpes, así como también para lavados vaginales cuando existen infecciones, los conocimientos ancestrales recopilados concuerdan con lo descrito en algunas investigaciones, donde se determina que la actividad antimicrobiana de *Solanum nigrescens* es prometedora. Martin & Ernst (2004), señalan que el tratamiento con supositorios preparados con extracto seco (10 % v/v) para el tratamiento de candidiasis vaginal fueron más efectivos que los supositorios convencionales y que al cabo de 15 a 30 días los cultivos de *Candida albicans* fueron negativos. Este ensayo fue realizado *in vivo* en 100 pacientes. En otro trabajo de Olivo & Pazmiño (2016), “Estudio comparativo de la utilización de plantas medicinales durante el parto tradicional por organizaciones de parteras de Otavalo y Loreto 2016”, se menciona que una variedad de *Solanum nigrescens*, es utilizada por las parteras de las dos localidades con el fin de evitar infecciones vaginales pre y post

parto. Moscoso (2013), recopila testimonios de personas que practican la medicina ancestral, determinando que *Solanum nigrescens* es usada en “agüitas” para el aseo vaginal luego del parto.

Los datos etnobotánicos muestran que el 47 % de las personas utilizan los frutos de *Solanum nigrescens* para la elaboración de emplastos, el cual es aplicado sobre la piel en el tratamiento de heridas externas y para combatir el acné, esta información coincide con lo descrito por Peralta et al, (2013), quienes aluden que entre los usos populares de esta planta se encuentra el tratamiento del acné. Alonso et al. (2017), exponen que los frutos y las hojas de *Solanum nigrescens* son utilizados para el tratamiento de enfermedades que provocan inflamación (reumatismo) y también para la fiebre.

De la investigación realizada para conocer el origen de la siembra, comercialización, razones de preferencia de las plantas medicinales y antigüedad de su empleo, se determinó que quienes venden esta planta en los mercados, son intermediarios puesto que ellos no siembran ni tampoco recolectan las plantas que venden. Además se estableció que el 90 % de las personas encuestadas han adquirido sus conocimientos sobre el uso de plantas medicinales por medio de su familia como herencia familiar; de la misma forma, el 87 % de las encuestadas indicaron que las utilizan porque confían en la medicina natural, en tanto que el 27 % utilizan plantas medicinales y las comercializan, desde hace más de treinta años, lo que lleva a considerar que los conocimientos etnobotánicos son heredados y en la mayoría de los casos las generaciones futuras continúan con esta labor.

En base de los datos etnobotánicos recopilados se pudieron determinar varios parámetros para esta investigación. *Solanum nigrescens* es una especie vegetal usada mediante infusión, emplasto y maceración, esta última no es muy utilizada y los

detalles de su elaboración no concuerdan entre las personas encuestadas por lo que se decidió utilizar a la percolación como forma alternativa para la obtención de extractos, empleando alcohol como conservante en el preparado. Otro parámetro considerado es el estado del material vegetal; fresco y seco. Por tanto para la evaluación de la actividad antibacteriana los métodos basados en la etnobotánica para la obtención de extractos serán: infusión, emplasto y percolación; utilizando como variable el estado del material vegetal (fresco y seco).

3.2 Resultados de la actividad antibacteriana

3.2.1 Resultados Método microdilución en caldo

Los resultados de la técnica de microdilución en caldo para la evaluación de los extractos obtenidos por infusión, emplasto y percolación se muestran a continuación en la Tabla 5.

Tabla 5.

Resultados de la técnica de microdilución para infusión, emplasto y percolación.

Tipo de extracto	Infusión			Emplasto			Percolación								
	Estado del material vegetal			Estado del material vegetal			Estado del material vegetal								
	Fresco	Seco		Fresco	Seco		Fresco	Seco		Fresco	Seco		Fresco	Seco	
Concentración (%)	<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	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
0,62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0,31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Elaborado por: (La autora, 2019).

Nota: Resultado negativo donde no hubo inhibición (-), resultado positivo donde hubo inhibición (+).

La técnica de microdilución mostró que los extractos obtenidos por: infusión y emplasto no presentaron actividad antibacteriana a diferencia de los extractos obtenidos por percolación, estos resultados podrían ser corroborados con investigaciones de la actividad antibacteriana en donde se utilizó agentes antimicrobianos naturales como extractos de agua y éter de petróleo frente a microorganismos, se reveló que este tipo de extractos no tuvieron actividad antibacteriana (Al Laham & Al Fadel, 2014).

Peralta et al, (2013), realizaron un análisis toxicológico y fitoquímico de dos variedades de hierba mora, determinando que los grupos químicos presentes en extractos con etanol de *Solanum nigrescens* son antraquinonas, cumarinas, taninos y saponinas, Pyrzynska & Sentkowska (2019), hablan de que los solventes utilizados en la extracción de los compuestos activos influyen en el rendimiento de los extractos, en algunos casos ciertos componentes químicos se ven favorecidos por un tipo de solvente, esto lleva a suponer que si bien es cierto las infusiones son ricas en compuestos fenólicos posiblemente no posean por ejemplo tanta cantidad de saponinas a las que se les atribuye la actividad antibacteriana, a diferencia de los extractos con etanol que sí tuvieron actividad antibacteriana (Saboora, Sajjadi, Mohammadi, & Fallahi, 2019; Yu et al., 2019).

De acuerdo con los conocimientos etnobotánicos las infusiones de *Solanum nigrescens* son utilizadas en baños para el tratamiento de golpes e inflamaciones, esta información se ve respaldada puesto que se conoce que los compuestos fenólicos son los principales componentes de las infusiones, la principal actividad de estos bioactivos está relacionada con la capacidad antioxidante y antiinflamatoria, es

importante tener en cuenta que la cantidad de polifenoles varía entre plantas así como también existen parámetros que influyen directamente en el contenido de estos componentes como son: tiempo de secado del material vegetal, tiempo de extracción, calidad y dureza del agua utilizada (Guevara et al., 2019; Pyrzynska & Sentkowska, 2019; Riehle, Vollmer, & Rohn, 2013).

Los resultados del ensayo de microdilución, al evaluar los extractos obtenidos por percolación mostraron mejor actividad antimicrobiana en unos casos más que en otros, los extractos fresco y seco de *Solanum nigrescens* presentaron los mejores resultados cuando fueron evaluados frente a *Candida albicans*, el extracto seco presentó inhibición hasta en una concentración del 0,15 % correspondiente a la concentración más baja dentro de la microplaca, Los extractos tuvieron actividad baja frente a la bacteria *Escherichia coli* y actividad moderada frente a *Staphylococcus aureus*, por tanto las concentraciones inhibitorias encontradas en el análisis cualitativo de las microplacas de microdilución en caldo fueron evaluadas por el método de Kirby-Bauer, los resultados encontrados se muestran en el siguiente punto.

3.2.2 Resultados Método Kirby-Bauer

Los resultados del método de Kirby-Bauer que evaluó los resultados positivos del ensayo de microdilución en caldo frente a *Escherichia coli* (Tabla 6), *Staphylococcus aureus* (Tabla 7) y *Candida albicans* (Tabla 8) se muestran a continuación.

Tabla 6.

Resultados del método de Kirby-Bauer al evaluar extractos fresco y seco de *Solanum nigrescens* frente a *Escherichia coli*.

Medida del halo de inhibición en milímetros (mm) del extracto de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Escherichia coli</i>			
Estado del material vegetal del extracto	Concentración del extracto		Medida del halo de inhibición (mm) del Control positivo Tetraciclina
	20 %		
Fresco		14	22
		15	
		15	
Seco		10	22
		10,5	
		11	

Elaborado por: (La autora, 2019).

Tabla 7.

Resultados del método de Kirby-Bauer al evaluar extractos fresco y seco de *Solanum nigrescens* frente a *Staphylococcus aureus*.

Medida del halo de inhibición en milímetros (mm) del extracto de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>				
Estado del material vegetal del extracto	Concentración del extracto			Medida del halo de inhibición (mm) del Control positivo Tetraciclina
	20 %	10 %	5 %	
Fresco		10	11	*
		10,5	12	*
		11	12,5	*
Seco		11,5	12	12
		12	12,5	12
		12,5	13	13

Elaborado por: (La autora, 2019).

Nota: (*) No se realizó Kirby-Bauer.

Tabla 8.

Resultados del método de Kirby-Bauer al evaluar extractos fresco y seco de *Solanum nigrescens* frente a *Candida albicans*.

Medida del halo de inhibición en milímetros (mm) del extracto de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Candida albicans</i>								
Estado del material vegetal del extracto	Concentración del extracto (%)							Medida del halo de inhibición (mm) del Control positivo
	20	10	5	2,5	1,25	0,31	0,15	Fluconazol
Fresco	14	12	22	12	14	*	*	26
	16	13	23	13	15	*	*	
	16,5	13,5	24	13,5	15	*	*	
Seco	17	14	24	*	15	6	10	26
	18	15	25	*	15,5	6	11	
	18,5	15	25,5	*	16	6	11,5	

Elaborado por: (La autora, 2019).

Nota: (*) No se realizó Kirby-Bauer.

El ensayo de Kirby-Bauer únicamente evaluó las concentraciones que presentaron capacidad inhibitoria, mismas que fueron obtenidas en el ensayo de microdilución en caldo, por tanto los resultados corroboran la actividad inhibitoria de dichas concentraciones; tanto los extractos fresco y seco de *Solanum nigrescens* poseen mayor capacidad inhibitoria frente a *Candida albicans*, con valores mayores en el halo de inhibición de hasta 25,5 mm correspondientes al extracto seco y a una concentración del 5 %. El extracto fresco posee mejor actividad antimicrobiana ya que presenta en promedio una medida de 14,66 mm respecto del seco que en promedio presenta 10,5 mm al ser evaluado frente a *Escherichia coli*.

Los resultados del control positivo tetraciclina de esta investigación, se encuentran dentro de los rangos previstos para antibióticos frente a las cepas ATCC utilizadas;

siendo el diámetro del halo de inhibición para *Escherichia coli* de 22 mm, el cual se encuentra dentro del rango previsto de 18-25 mm. El diámetro del halo de inhibición para *Staphylococcus aureus* fue de 32 mm encontrándose dentro del rango previsto de 25-34 mm (ver Anexo 7) (Becton Dickinson, 2017; Picazo et al., 2000).

3.3 Resultados de la evaluación de la actividad de los extractos

Los resultados que muestran el porcentaje del efecto inhibitorio relativo de los extractos de *Solanum nigrescens* frente a los distintos microorganismos se muestran a continuación: *Escherichia coli* (Tabla 9), *Staphylococcus aureus* (Tabla 10) y *Candida albicans* (Tabla 11).

Tabla 9.

Resultados del porcentaje del efecto inhibitorio relativo de los extractos de *Solanum nigrescens* frente a *Escherichia coli*

Medida del halo de inhibición en milímetros (mm) del extracto de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Escherichia coli</i>	
Estado del material vegetal del extracto	Concentración del extracto
Fresco	63,64
	68,18
	68,18
Seco	45,45
	47,73
	42,31

Elaborado por: (La autora, 2019).

Tabla 10.

Resultados del porcentaje del efecto inhibitorio relativo de los extractos de *Solanum nigrescens* frente a *Staphylococcus aureus*

Medida del halo de inhibición en milímetros (mm) del extracto de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>			
Estado del material vegetal del extracto	Concentración del extracto		
	20 %	10 %	5 %
Fresco	31,25	34,37	*
	32,81	37,5	*
	34,37	39,06	*
Seco	35,94	37,5	37,5
	37,5	39,06	37,5
	39,06	40,62	40,62

Elaborado por: (La autora, 2019).

Nota: (*) No se calculó el porcentaje del efecto inhibitorio.

Tabla 11.

Resultados del porcentaje del efecto inhibitorio relativo de los extractos de *Solanum nigrescens* frente a *Candida albicans*

Medida del halo de inhibición en milímetros (mm) del extracto de <i>Solanum nigrescens</i> frente a <i>Candida albicans</i>							
Estado del material vegetal del extracto	Concentración del extracto (%)						
	20	10	5	2,5	1,25	0,31	0,15
Fresco	53,84	46,15	84,61	46,15	53,85	*	*
	61,54	50	88,46	50	57,69	*	*
	63,46	51,92	92,31	51,92	57,69	*	*
Seco	65,38	53,85	92,31	*	57,69	23,08	38,46
	69,23	57,69	96,15	*	59,61	23,08	42,31
	71,15	57,69	98,08	*	61,54	23,08	44,23

Elaborado por: (La autora, 2019).

Nota: (*) No se calculó el porcentaje del efecto inhibitorio.

El extracto que posee el efecto inhibitorio más alto corresponde al extracto seco a una concentración del 5 % el cual tiene un porcentaje de efecto inhibitorio promedio de 95,51 % frente a *Candida albicans*, Tanto el extracto fresco como seco de *Solanum nigrescens* poseen actividad antimicrobiana, sin embargo es necesario

conocer la diferencia que existe entre las concentraciones evaluadas de cada extracto, para ello es necesario el análisis estadístico explicado a continuación.

3.4 Resultados del análisis estadístico

Se comprobó el efecto de las diferentes concentraciones de los extractos obtenidos por percolación sobre el crecimiento microbiano tomando como la variable respuesta al % del efecto inhibitorio. Las hipótesis fueron las siguientes:

- Ho: Todas las medias de las concentraciones del extracto hidroalcohólico son iguales.
- Ha: No todas las medias de las concentraciones del extracto hidroalcohólico son iguales.

3.4.1 Análisis estadístico (ANOVA de una vía) de *Solanum nigrescens* frente a

Escherichia coli ATCC® 25922™

Para el análisis del ANOVA de una vía se supone la igualdad de las varianzas, dando como resultados lo mostrado en la Tabla 12.

Tabla 12.

Resultados del análisis de varianza de *Solanum nigrescens* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922™

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p
Tratamiento	1	693,63	693,633	97,04	0,001
Error	4	28,59	7,148		
Total	5	722,23			

Elaborado por: (La autora, 2019)

El análisis de varianza indica que el valor p calculado es menor al nivel de significancia de 0,05 ($p < 0,001 \leq \alpha < 0,05$) por tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, no todas las medias de los tratamientos evaluados son

iguales por ende existen diferencias significativas entre tratamientos, la prueba de Tukey realizada muestra los siguientes resultados Tabla 13.

Tabla 13.

Resultados de las comparaciones en parejas de Tukey al evaluar a *Solanum nigrescens* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922™

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Fresco 20 %	3	66,67	A
Seco 20 %	3	45,16	B

Elaborado por: (La autora, 2019)

La prueba de Tukey precisa que los resultados generan dos grupos, las medias de cada tratamiento que no comparten una letra son significativamente diferentes, lo que corrobora diferencia estadística, analizando los resultados matemáticamente el extracto fresco a una concentración del 20 % exhibe mejor inhibición frente a *Escherichia coli* en comparación con el extracto seco a la misma concentración.

3.4.2 Análisis estadístico (ANOVA de una vía) de *Solanum nigrescens* frente a *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC® 25923™

Los resultados del análisis del ANOVA de una vía se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14.

Resultados del análisis de varianza de *Solanum nigrescens* frente a *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC® 25923™

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p
Tratamiento	4	73,24	18,311	5,63	0,012
Error	10	32,55	3,255		
Total	14	105,79			

Elaborado por: (La autora, 2019)

El análisis de varianza muestra que el valor p calculado es menor al nivel de significancia de 0,05 ($p 0,012 \leq \alpha 0,05$) por tanto se rechaza la hipótesis nula y se

acepta la hipótesis alternativa, no todas las medias de los tratamientos evaluados son iguales, la prueba de Tukey indica los resultados de la Tabla 15.

Tabla 15.

Resultados de las comparaciones en parejas de Tukey al evaluar a *Solanum nigrescens* frente a *Staphylococcus aureus* subsp. aureus ATCC® 25923™

Tratamiento	N	Media	Agrupación	
Seco 10 %	3	39,062	A	
Seco 5 %	3	38,54	A	
Seco 20 %	3	37,500	A	B
Fresco 10 %	3	36,98	A	B
Fresco 20 %	3	32,812	B	

Elaborado por: (La autora, 2019)

La prueba de Tukey revela que los tratamientos: seco 5 %, seco 10 %, seco 20 % y fresco 20 % pertenecen al grupo A; el grupo B contiene al tratamiento seco 20 %, fresco 10 % y fresco 20 %. Los extractos seco 20 % y fresco 10 % pertenecen a ambos grupos. Las medias de los tratamientos que comparten una misma letra no son estadísticamente diferentes, por el contrario los tratamientos que no comparten letras indican que sus medias tienen diferencias, los tratamientos seco al 5 y 10 % poseen una media estadísticamente mayor que el tratamiento de fresco al 20 %, por tanto los tratamientos seco al 5 y 10 % mostraron mejor inhibición frente a *Staphylococcus aureus*.

3.4.3 Análisis estadístico (ANOVA de una vía) de *Solanum nigrescens* frente a *Candida albicans* ATCC® 10231™

Los resultados del ANOVA de una vía se visualizan en la Tabla 16.

Tabla 16.**Resultados del análisis de varianza de *Solanum nigrescens* frente a *Candida albicans* ATCC® 10231™**

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p
Tratamiento	10	12251,3	1225,13	138,36	0,000
Error	22	194,8	8,85		
Total	32	12446,1			

Elaborado por: (La autora, 2019)

El análisis de varianza indica que el valor p calculado es menor al nivel de significancia de 0,05 ($p < 0,05$) por tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, no todas las medias de los tratamientos evaluados son iguales por ende existen diferencias significativas entre tratamientos, la prueba de Tukey realizada muestra los siguientes resultados Tabla 17.

Tabla 17.**Resultados de las comparaciones en parejas de Tukey al evaluar a *Solanum nigrescens* frente a *Candida albicans* ATCC® 10231™**

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Seco 5 %	3	95,51	A
Fresco 5 %	3	88,46	A
Seco 20 %	3	68,59	B
Seco 1,25 %	3	59,62	C
Fresco 20 %	3	59,61	C
Seco 10 %	3	56,41	C D
Fresco 1,25 %	3	56,41	C D
Fresco 2,5 %	3	49,36	D E
Fresco 10 %	3	49,36	D E
Seco 0,15625 %	3	41,67	E
Seco 0,3125 %	3	23,08	F

Elaborado por: (La autora, 2019)

Los tratamientos seco y fresco al 5 % comparten la letra A y son los que mejor capacidad inhibitoria mostraron frente a *Candida albicans* mostrando hasta un porcentaje inhibitorio del 95,51 % para el extracto seco 5 %. Los tratamientos que

comparten las letras C, D y E no son estadísticamente diferentes entre sí, el extracto al 0,31 % de concentración es el peor tratamiento puesto que mostró el porcentaje de efecto inhibitorio más bajo.

Conclusiones

Los datos recopilados luego de la aplicación de las encuestas etnobotánicas permitieron determinar que a *Solanum nigrescens* se le atribuyen muchos usos y dentro de los mercados de Quito es una planta adquirida con mucha frecuencia por los quiteños, tanto que las ventas de esta planta medicinal son diarias, esto podría responder a que en la práctica *Solanum nigrescens* responde a las necesidades de curación de quienes la utilizan.

Las muestras recolectadas de *Solanum nigrescens* en el Distrito Metropolitano de Quito permitieron determinar que es una planta medicinal silvestre recolectada para ser expendida en los mercados de Quito, razón por la cual los quiteños la pueden adquirir fácilmente todos los días de la semana.

La etnobotánica permitió definir tres diferentes procesos de extracción como fueron la infusión, emplasto y percolación; si bien es cierto que la forma en la que se emplea difiere entre los consumidores, las propiedades medicinales atribuidas coinciden entre la información etnobotánica recopilada así como también con la bibliografía encontrada.

Las evaluaciones de laboratorio permitieron encontrar resultados que contrastados con otras investigaciones develan que *Solanum nigrescens* posee actividad biológica satisfactoria; la evaluación biológica valida el uso etnobotánico, se confirma tanto matemática como estadísticamente la eficacia terapéutica de los extractos. Los resultados muestran que la actividad biológica del extracto obtenido por percolación

tanto con planta seca como fresca de *Solanum nigrescens* frente a *Candida albicans* poseen un porcentaje del efecto inhibitorio entre el 96 y 98 %.

Recomendaciones

Realizar un análisis fitoquímico de extractos obtenidos a partir de toda la planta para entender de mejor manera el comportamiento de los componentes bioactivos frente a diferentes microorganismos, haciendo hincapié en el análisis fitoquímico de extractos obtenidos de los frutos de *Solanum nigrescens* puesto que la mayoría de estudios se enfocan en aceites esenciales.

Evaluar la capacidad antioxidante y antiinflamatoria de los extractos obtenidos por infusión y emplasto de *Solanum nigrescens*, debido a que los datos etnobotánicos coinciden en que la infusión de *Solanum nigrescens* podría tener componentes bioactivos relacionados con la acción antioxidante y antiinflamatoria.

Aplicar algún método de clarificación de los extractos puesto que el análisis cuantitativo de la técnica de microdilución en caldo no permite obtener datos de absorbancia correctos cuando son utilizados extractos de plantas, debido a que el color oscuro de los extractos influye en las medidas obtenidas.

Referencias

- Al-Daody, A. C., Y.Al-Numan, A., & Al-Hadidi, K. A. (2013). Interaction Between some Phenolic Compounds in Ammi majus Herb (Khillah) Extracts and Antibiotics Against some Selected Bacterial Isolates In vitro. *Rafidain journal of science*, 24(2E), 17-30. Recuperado de <https://www.iasj.net/iasj?func=article&aId=71036>
- Al Laham, S. A., & Al Fadel, F. M. (2014). Antibacterial Activity of Various Plants Extracts Against Antibiotic-resistant Aeromonas hydrophila. *Jundishapur journal of microbiology*, 7(7), e11370. <https://doi.org/10.5812/jjm.11370>
- Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Ruiz-Padilla, A. J., Campos-Xolalpa, N., Zapata-Morales, J. R., Carranza-Alvarez, C., & Maldonado-Miranda, J. J. (2017). Medicinal Plants from North and Central America and the Caribbean Considered Toxic for Humans: The Other Side of the Coin. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2017, 9439868. <https://doi.org/10.1155/2017/9439868>
- ANMAT. (2003). *Farmacopea Argentina* (Séptima). Argentina: República Argentina. Recuperado de http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Libro_Cuarto.pdf
- Armijos, C., Cota, I., & González, S. (2014). Traditional medicine applied by the Saraguro yachakkuna: a preliminary approach to the use of sacred and psychoactive plant species in the southern region of Ecuador. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10(1), 26. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-10-26>
- 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>
- Becton Dickinson. (2017). *INSTRUCCIONES DE USO – MEDIOS EN PLACA LISTOS PARA USAR BDTM Iso-Res Agar*. (Dickinson and Company, Ed.) (PA-254021.07). Germany: Dickinson and Company. Recuperado de <http://legacy.bd.com/resource.aspx?IDX=8768>
- Bernal, M., & Guzmán, M. (1984). EL ANTIBIOGRAMA DE DISCOS. NORMALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER. *Biomédica*, 4(3 y 4), 112-121. Recuperado de <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/download/1891/1917/>
- Boxler, A. (2011). Infusiones de plantas aromáticas y medicinales | Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*, 77. Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_infusiones_de_plantas_aromticas_y_medicinales.pdf
- Bussmann, R., & Douglas, S. (2006). Traditional medicinal plant use in Loja province, Southern Ecuador. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2(1), 44.

<https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-44>

- Cáceres, A., Lange, K., Cruz, S. M., Velásquez, R., Lima, S., Menéndez, M. C., ... González, J. (2012). ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF 24 NATIVE PLANTS USED IN GUATEMALA FOR THEIR POTENTIAL APPLICATION IN NATURAL PRODUCT INDUSTRY. *Acta Horticulturae*, (964), 85-92. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.964.10>
- Cáceres, M. S., & Singer, M. (2001). *Manual de Uso de Hierbas Medicinales del Paraguay*. Paraguay: Fundación Celestina Pérez de Almada. Recuperado de http://portal.unesco.org/en/file_download.php/c9010dd7f603adeb359ff68830c3c978hierbasmedicinales.pdf
- Cerón, C. (2006). Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 285-293. Recuperado de http://www.beisa.dk/Publications/BEISA_Book_pdf/Capitulo_18.pdf
- Constitución de la República de Ecuador [Const.]. (2008). Artículo 57 [numeral 12]
- Coordenadas GPS. (2019). Obtenido de <https://www.coordenadas-gps.com/>
- Cruz, A., Rodríguez, N., & Rodríguez, C. (2010). EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS DE *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* Y *Silybum marianum*. *Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 117-124. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf>
- Gallegos-Zurita, M., & Gallegos-Z, D. (2017). Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos – Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 78(3), 315. <https://doi.org/10.15381/anales.v78i3.13767>
- Gennaro, A. R., Remington, J. P., & Belluci, S. (2003). Remington farmacia (p. 1388). Editorial Médica Panamericana. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=Av4IIsyH-qcC&dq=extracto+fluido&hl=es&source=gb_s_navlinks_s
- Girón, L. M., Aguilar, G. A., Cáceres, A., & Arroyo, G. L. (1988). Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparation. *Journal of Ethnopharmacology*, 22(3), 307-313. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90241-3](https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90241-3)
- Girón, L. M., Freire, V., Alonzo, A., & Cáceres, A. (1991). Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 34(2-3), 173-187. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90035-C](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90035-C)
- González, M., & Caballero, J. (2007). Managing Plant Resources: How Intensive Can it be? *Hum Ecol*, 35, 303-314. <https://doi.org/10.1007/s10745-006-9063-8>
- González, M., Casas, A., Méndez, I., Martorell, C., & Caballero, J. (2011). Intra-

cultural Differences in the Importance of Plant Resources and Their Impact on Management Intensification in the Tehuacán Valley, Mexico. *Human Ecology*, 39, 191-202. <https://doi.org/10.1007/s10745-010-9369-4>

- Google maps. (2019). Obtenido de <https://www.google.com.ec/maps/search/MERCADOS+DE+QUITO/@-0.1086569,-78.501227,13z/data=!3m1!4b1?hl=es>
- 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, 110594. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110594>
- He, X., Mocek, U., Floss, H. G., Cáceres, A., Girón, L., Buckley, H., ... Wilson, B. W. (1994). An antifungal compound from *Solanum nigrescens*. *Journal of Ethnopharmacology*, 43(3), 173-177. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)90039-6](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)90039-6)
- Herrera, T., Aguilera, Y., Rebollo-Hernanz, M., Bravo, E., Benítez, V., Martínez-Sáez, N., ... Martín-Cabrejas, M. A. (2018). Teas and herbal infusions as sources of melatonin and other bioactive non-nutrient components. *LWT*, 89, 65-73. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.10.031>
- Hudzicki, J. (2009). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. Kansas: American Society for Microbiology. Recuperado de <https://www.asmscience.org/docserver/fulltext/education/protocol/protocol.3189.pdf?expires=1568926036&id=id&accname=guest&checksum=33A6F7136384130F4323F95C99F95DBB>
- Instituto Nacional de Edafología. (1952). *Anales de edafología y fisiología vegetal*. España: Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Recuperado de <https://digital.csic.es/handle/10261/61542>
- Kashem, S. W., & Kaplan, D. H. (2016). Skin Immunity to *Candida albicans*. *Trends in Immunology*, 37(7), 440-450. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.04.007>
- Kharbach, M., Marmouzi, I., El Jemli, M., Bouklouze, A., & Vander Heyden, Y. (2020). Recent advances in untargeted and targeted approaches applied in herbal-extracts and essential-oils fingerprinting - A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 177, 112849. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.112849>
- Kwiecien, K., Zegar, A., Jung, J., Brzoza, P., Kwitniewski, M., Godlewska, U., ... Cichy, J. (2019). Architecture of antimicrobial skin defense. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. <https://doi.org/10.1016/J.CYTOGFR.2019.08.001>
- Li, S., Li, S.-K., Li, H.-B., Xu, X.-R., Deng, G.-F., & Xu, D.-P. (2014). Antioxidant Capacities of Herbal Infusions. En *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages* (pp. 41-50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404738->

9.00005-2

- Llivicura, M. (2018). *Comparación in vitro de la actividad antifúngica de extractos etanólicos de romero (Rosmarinus officinalis) y cola de caballo (Equisetum arvense); frente al hongo Colletotrichum gloeosporioides Penz.* Universidad Politécnica Salesiana. Recuperado de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16513/1/UPS-CT008003.pdf>
- Martin, K. W., & Ernst, E. (2004). Herbal medicines for treatment of fungal infections: a systematic review of controlled clinical trials. *Phytomedizin zur Behandlung von Pilzinfektionen: Übersicht und Bewertung kontrollierter klinischer Studien. Mycoses*, 47(3-4), 87-92. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2003.00951.x>
- Maynard, C. L. (2019). The Microbiota in Immunity and Inflammation. *Clinical Immunology*, 207-219.e1. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6896-6.00014-4>
- Moscoso C, L. (2013). *Medicina Ancestral Saberes para curar el cuerpo y el alma.* Ecuador: Municipio Metropolitano de Quito. Recuperado de http://www.patrimonio.quito.gob.ec/images/libros/2014/Medicina_Ancestral.pdf
- Municipio del Distrito Metropolitano de Quito. (2011). *PLAN DE DESARROLLO 2012 – 2022.* Quito. Recuperado de http://www.emaseo.gob.ec/documentos/lotaip_2012/s/plan_de_desarrollo_2012_2014.pdf
- Naranjo, P., & Escaleras, R. (1995). *La medicina tradicional en el Ecuador: memorias de las Primeras Jornadas Ecuatorianas de Etnomedicina Andina.* (Universidad Andina Simón Bolívar / Corporación Editora Nacional, Ed.). Recuperado de <https://www.uasb.edu.ec/web/area-de-salud/publicacion?la-medicina-tradicional-en-el-ecuador-memorias-de-las-primeras-jornadas-ecuatorianas-de-etnomedicina-andina-239>
- NCCLS. (2012). *Método de determinación de la sensibilidad antimicrobiana por dilución MIC testing* (No. 2). M07-A9 (Vol. 32). Recuperado de <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
- Olivo M, S. J., & Pazmiño H, J. L. (2016). *Estudio comparativo de la utilización de plantas medicinales durante el parto tradicional por organizaciones de parteras de Otavalo y Loreto 2016.* Universidad Técnica del Norte. Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/5337>
- Pedersen, D., & Coloma, C. (1983). Traditional medicine in Ecuador: The structure of the non-formal health systems. *Social Science & Medicine*, 17(17), 1249-1255. [https://doi.org/10.1016/0277-9536\(83\)90017-5](https://doi.org/10.1016/0277-9536(83)90017-5)
- Penduka, D., Mthembu, W., Cele, K. H., Mosa, R. A., Zobolo, A. M., & Opoku, A. R. (2018). Extracts of *Ansellia africana* and *Platycarpha glomerata* exhibit

antibacterial activities against some respiratory tract, skin and soft tissue infections implicated bacteria. *South African Journal of Botany*, 116, 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.02.403>

Peralta, S., Aarland, R., Lara C, M., Lara J, M. E., & Mendoza, A. (2013). Toxicity Analysis, Phytochemical and Pharmacological Study of the Plant Known as Mora Herb, Collected at the Environmental Education Center of Yautlica (CEA-Yautlica). *Asian Journal of Plant Sciences*, 12(4), 159-164. <https://doi.org/10.3923/ajps.2013.159.164>

Pérez, M. (2007). *Análisis Histórico-Bibliográfico de medicamentos de uso tópico*. (Editorial de la Universidad de Granada, Ed.). Granada. Recuperado de <https://hera.ugr.es/tesisugr/1671295x.pdf>

Picazo, J., García R, J., Cantón, R., García, E., Gómez, M. L., Martínez, L., ... Vila, J. (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. (Juan J. Picazo, Ed.). España: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Recuperado de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

Pyrzyska, K., & Sentkowska, A. (2019). Herbal Beverages as a Source of Antioxidant Phenolics. En *Natural Beverages* (pp. 125-142). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00005-5>

Rakhee, Mishra, J., Sharma, R. K., & Misra, K. (2018). Characterization Techniques for Herbal Products. En *Management of High Altitude Pathophysiology* (pp. 171-202). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813999-8.00009-4>

Riehle, P., Vollmer, M., & Rohn, S. (2013). Phenolic compounds in *Cistus incanus* herbal infusions — Antioxidant capacity and thermal stability during the brewing process. *Food Research International*, 53(2), 891-899. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2012.09.020>

Rivera, D. (2007). *ETNOBOTÁNICA Instrucciones Trabajo Práctico*. Recuperado de https://webs.um.es/drivera/miwiki/lib/exe/fetch.php?id=docencia&cache=cache&media=instrucciones_trabajo_practico.pdf

Rodino, S., & Butu, M. (2019). Herbal Extracts—New Trends in Functional and Medicinal Beverages. En *Functional and Medicinal Beverages* (pp. 73-108). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00003-0>

Rosales, S., Álvarez, M., & Tito, P. (2017). Indigenous Cosmivision About Health and Illness in Otavalo - Ecuador. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 237, 975-979. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2017.02.138>

Rumbo, J., Cortizas-Montero, A., & Cortizas-Rey, J. (2017). Revisión histórica sobre el uso en heridas del emplastro confortativo de vigo. *Enferm Dermatol*, 11(3), 36-42.

- Saboora, A., Sajjadi, S.-T., Mohammadi, P., & Fallahi, Z. (2019). Antibacterial activity of different composition of aglycone and glycosidic saponins from tuber of *Cyclamen coum* Miller. *Industrial Crops and Products*, *140*, 111662. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2019.111662>
- Sargin, S. A., Selvi, S., & López, V. (2015). Ethnomedicinal plants of Sarigöl district (Manisa), Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, *171*, 64-84. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.05.031>
- The United States Pharmacopeial Convention. (2007). *United States Pharmacopeia (USP 30) and National Formulary (NF 25)*.
- Tobar, X. (2011). *TEJIENDO IDENTIDADES A TRAVÉS DE LOS SABERES Y PRÁCTICAS MEDICINALES EN LOS MERCADOS URBANOS DE QUITO*. Universidad Politécnica Salesiana. Recuperado de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/2216/6/UPS-QT00508.pdf>
- Tropicos- Jardín Botánico de Missouri. (2013). Tropicos | Nombre - *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti. Recuperado 4 de octubre de 2019, de <http://www.tropicos.org/Name/29601707?projectid=56>
- Vacas, O. (2016). Algunas especies y usos de las plantas útiles en la medicina tradicional de los Kichwa del Napo. *Nuestra Ciencia*, *18*, 49-53. Recuperado de https://issuu.com/hojas/docs/revista_nuestra_ciencia_no18
- Vallejo, L. P. (2010). *Determinación de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos de Solanum nigrescens (hierba mora) Nicandra physalodes (ambo) y Sida poeppigiana (escobillo) plantas registradas en el Chota Imbabura sobre streptococcus pyogenes streptococcus pnemoniae y Candida albicans causantes de enfermedades bucofaríngeas*. Escuela Politécnica del Ejército. Recuperado de <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/1731>
- WFO. (2019). *Solanum nigrescens* M.Martens & Galeotti. Recuperado 4 de octubre de 2019, de <http://worldfloraonline.org/taxon/wfo-0001029804;jsessionid=B59E2B94D951B3D27C66B2757101592D>
- Wu, Z., Wu, Y., Fischer, J., Bartels, J., Schröder, J.-M., & Meyer-Hoffert, U. (2019). Skin-Derived SPINK9 Kills *Escherichia coli*. *Journal of Investigative Dermatology*, *139*(5), 1135-1142. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.11.004>
- Yang, H., Wang, W.-S., Tan, Y., Zhang, D.-J., Wu, J.-J., & Lei, X. (2017). Investigation and analysis of the characteristics and drug sensitivity of bacteria in skin ulcer infections. *Chinese Journal of Traumatology*, *20*(4), 194-197. <https://doi.org/10.1016/j.cjtee.2016.09.005>
- Yu, J.-H., Yu, Z.-P., Wang, Y.-Y., Bao, J., Zhu, K.-K., Yuan, T., & Zhang, H. (2019). Triterpenoids and triterpenoid saponins from *Dipsacus asper* and their cytotoxic and antibacterial activities. *Phytochemistry*, *162*, 241-249. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2019.03.028>

Zambrano, L., Buenaño, M., Mancera, N., & Jiménez, E. (2015). Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Universidad y Salud* , 17, 97-111. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v17n1/v17n1a09.pdf>

Anexos

Anexo 1. Encuesta etnobotánica aplicada a mercados de Quito

ESTUDIOS DE PLANTAS MEDICINALES EN DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO	
Encuesta Etnobotánica de <i>Solanum nigrescens</i>	
Mercado:	Fecha:
1. ¿Con qué otro nombre/s le conoce a la planta? _____ _____ _____	8. De ser el caso que adicione alcohol, ¿Cuánta cantidad añade? a) Un vaso pequeño (12 ounce → 355 mL) b) Un vaso mediano (16 ounce) c) Un vaso grande (21 ounce)
2. ¿Qué parte de la planta utiliza? a) Hojas b) Raíces c) Tallo d) Flores e) Tallo y hojas f) Toda la planta	9. ¿Para qué tipo de dolencias recomienda usted el uso de <i>Solanum nigrescens</i> ? _____ _____ _____
3. ¿Se utiliza la especie seca o fresca para hacer el preparado? a) Fresca b) Seca c) Ambas	10. ¿Con qué frecuencia adquieren la planta las personas? a) Siempre (Todos los días) b) Casi siempre (3 o más veces por semana) c) Frecuentemente (1 o 2 veces por semana) d) Otra opción: _____
4. ¿Cómo obtiene el extracto de la planta? a) Infusión b) Maceración c) Emplasto d) Otra opción: _____	11. ¿Usted siembra la planta? a) Sí b) No c) A veces
5. ¿Durante la infusión, la planta coloca luego de que hierve el agua? a) Sí b) No c) No conoce	12. ¿A quién solicitó orientación sobre el uso de plantas medicinales? a) Médico b) Revista/periódico c) Radio/Televisión d) Amigos/Vecinos e) Familia (conocimiento ancestral)
6. ¿Cuánto tiempo deja la planta dentro del agua durante la infusión? a) 5 min b) 10 min c) 15 min d) 20 min	13. ¿Por qué utiliza plantas medicinales? a) Por consejo familiar o amigo b) Por consejo de mi médico c) Por consejo farmacéutico d) Por publicidad/ lectura de revista e) Por información en Internet f) Por confianza en la medicina natural
7. ¿Adiciona alcohol al preparado? a) Si b) No c) No conoce	14. ¿Hace cuánto tiempo utiliza plantas medicinales? a) Recientemente b) De 10 a 20 años c) De 20 a 30 años d) Hace más de 30 años

Fuente: La autora, 2019.

Anexo 2. Certificado de identificación de *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti

Quito, 25 de Junio del 2019

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponde a:

***Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti**

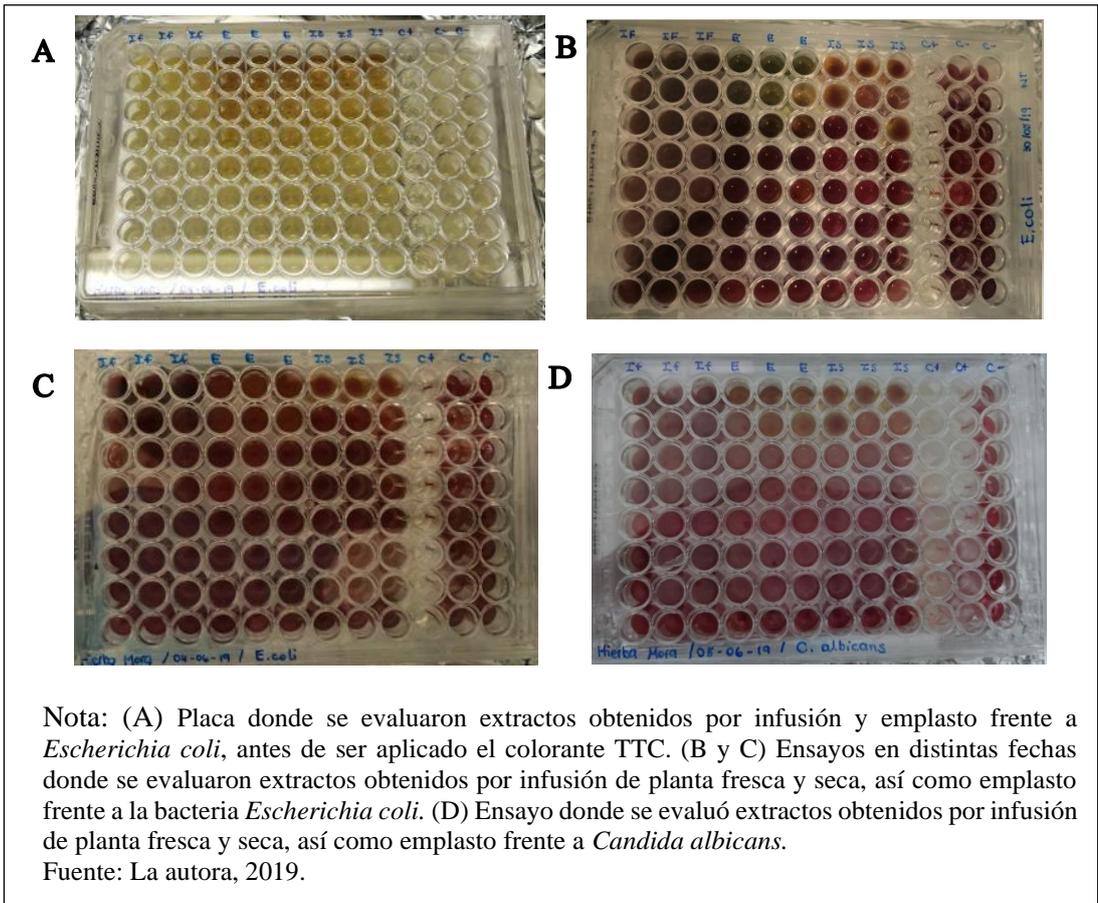
- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Asteranae Takht.
- Orden: Solanales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- Familia: Solanaceae Juss.
- Género: *Solanum* L.
- Especie: *Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti
- Nombre común: hierba mora



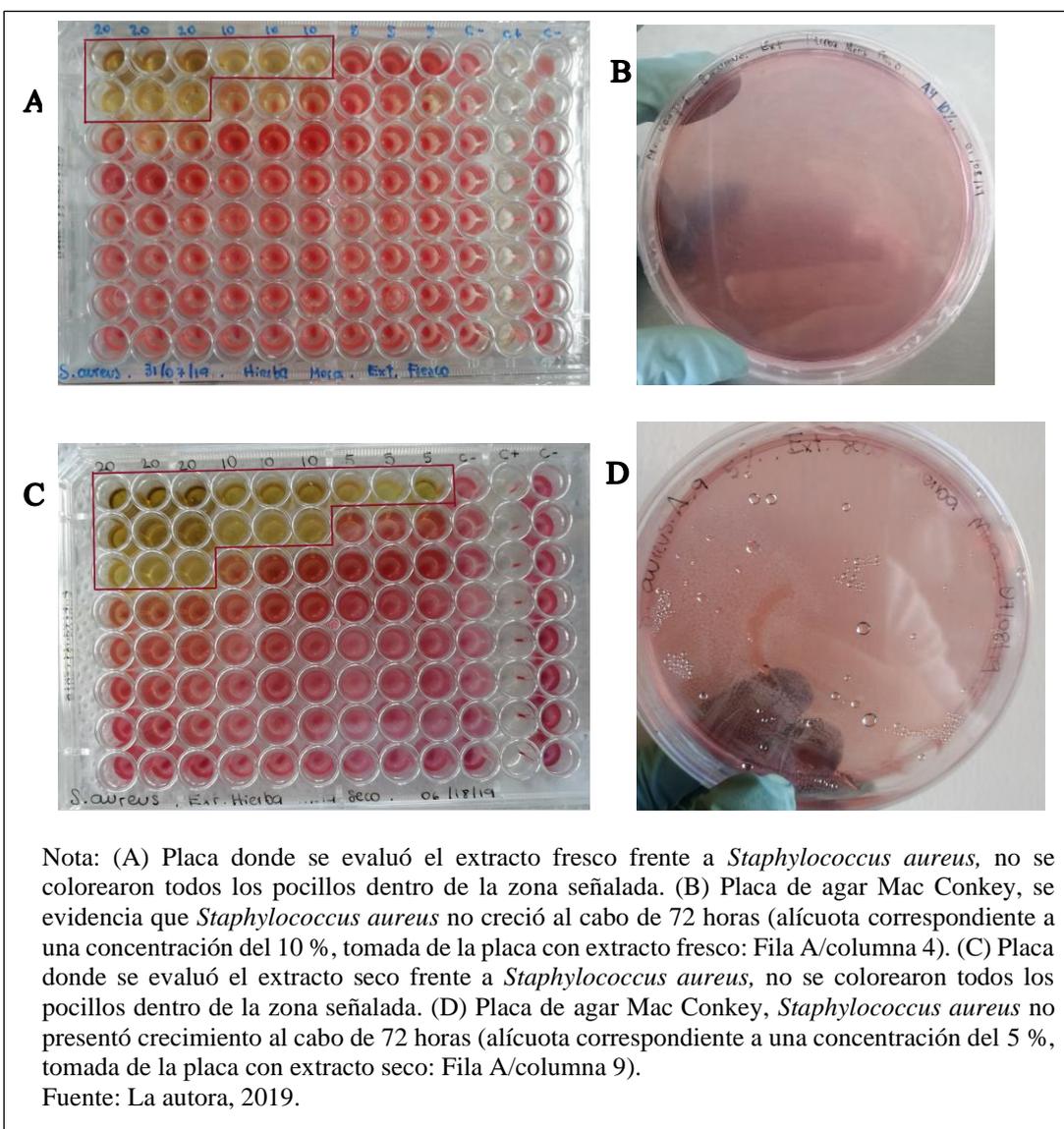
Álvaro J. Pérez

Curador de Angiospermas Herbario QCA

Anexo 3. Resultados de la técnica de microdilución en caldo

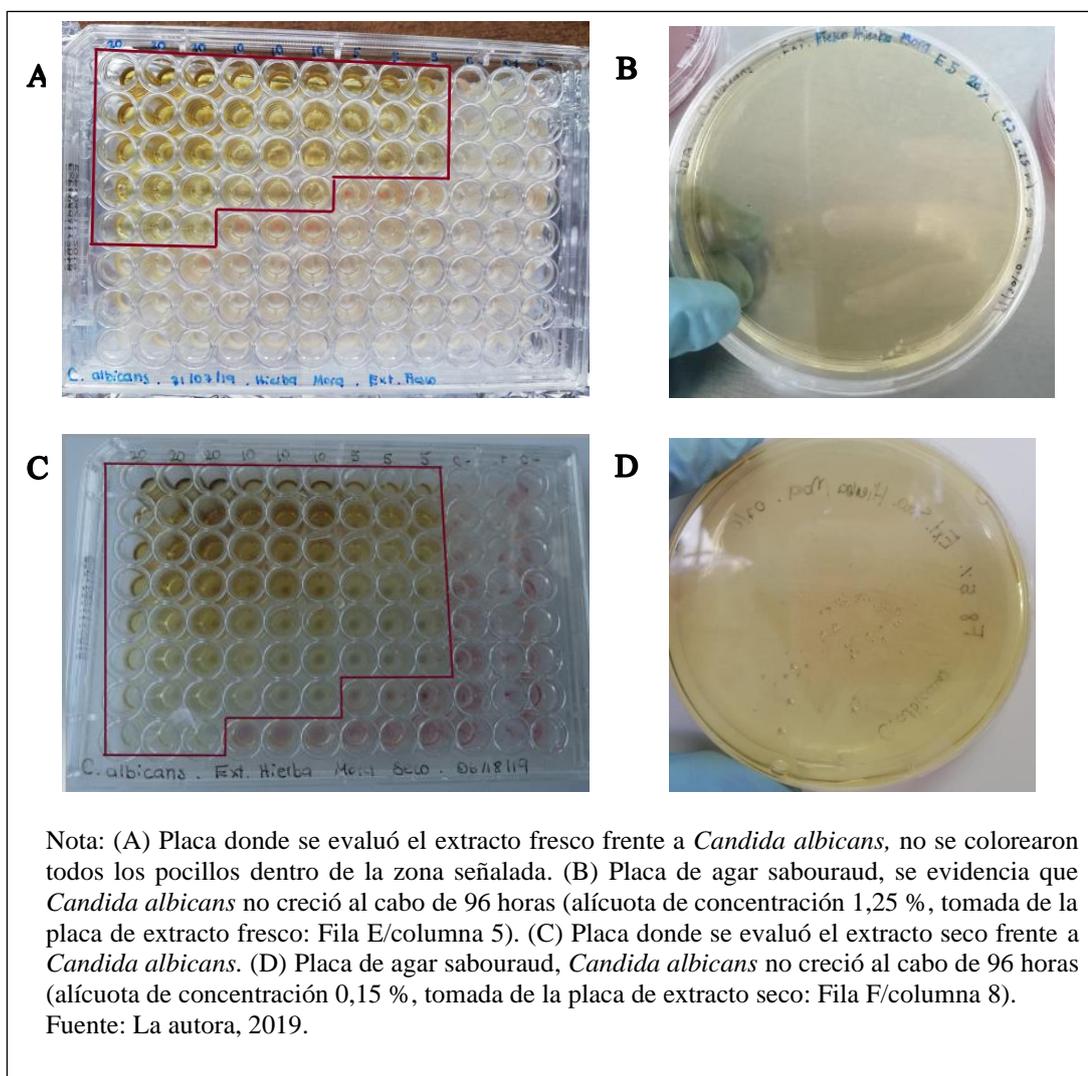


Anexo 5. Resultados de la técnica de microdilución en caldo evaluando el extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrescens* con planta fresca y seca frente a *Staphylococcus aureus*



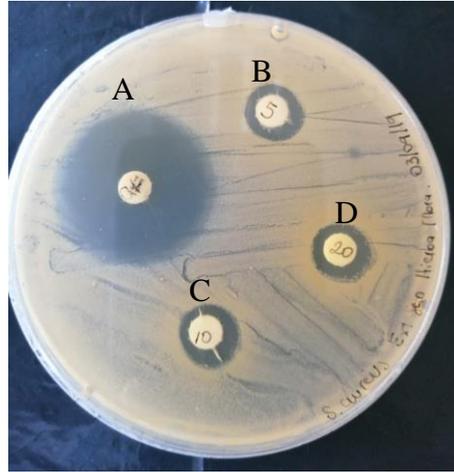
Nota: (A) Placa donde se evaluó el extracto fresco frente a *Staphylococcus aureus*, no se colorearon todos los pocillos dentro de la zona señalada. (B) Placa de agar Mac Conkey, se evidencia que *Staphylococcus aureus* no creció al cabo de 72 horas (alícuota correspondiente a una concentración del 10 %, tomada de la placa con extracto fresco: Fila A/columna 4). (C) Placa donde se evaluó el extracto seco frente a *Staphylococcus aureus*, no se colorearon todos los pocillos dentro de la zona señalada. (D) Placa de agar Mac Conkey, *Staphylococcus aureus* no presentó crecimiento al cabo de 72 horas (alícuota correspondiente a una concentración del 5 %, tomada de la placa con extracto seco: Fila A/columna 9).
Fuente: La autora, 2019.

Anexo 6. Resultados de la técnica de microdilución en caldo evaluando el extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrescens* con planta fresca y seca frente a *Candida albicans*



Nota: (A) Placa donde se evaluó el extracto fresco frente a *Candida albicans*, no se colorearon todos los pocillos dentro de la zona señalada. (B) Placa de agar sabouraud, se evidencia que *Candida albicans* no creció al cabo de 96 horas (alícuota de concentración 1,25 %, tomada de la placa de extracto fresco: Fila E/columna 5). (C) Placa donde se evaluó el extracto seco frente a *Candida albicans*. (D) Placa de agar sabouraud, *Candida albicans* no creció al cabo de 96 horas (alícuota de concentración 0,15 %, tomada de la placa de extracto seco: Fila F/columna 8).
Fuente: La autora, 2019.

Anexo 7. Resultados de la técnica de Kirby-Bauer evaluando el extracto hidroalcohólico de *Solanum nigrescens* con planta seca frente a *Staphylococcus aureus*



Nota: Placa en donde se evaluó el extracto seco de *Solanum nigrescens* mediante la técnica de Kirby-Bauer frente a *Staphylococcus aureus*. (A) Control positivo antibiótico tetraciclina. (B) Halo de inhibición del extracto evaluado a una concentración del 5 %. (C) Halo de inhibición del extracto evaluado a una concentración del 10 %. (D) Halo de inhibición del extracto evaluado a una concentración del 20 %.

Fuente: La autora, 2019.