



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA AGUDA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE HOJAS DE *Passiflora manicata* Y *Passiflora tripartita* SOBRE *Rattus norvegicus* POR VÍA ORAL

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR:

DIEGO FRANCISCO BRAVO YUMI

Riobamba-Ecuador

2017



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA AGUDA DE LOS EXTRACTOS
ETANÓLICOS DE HOJAS DE *Passiflora manicata* Y *Passiflora
tripartita* SOBRE *Rattus norvegicus* POR VÍA ORAL**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: BRAVO YUMI DIEGO FRANCISCO

TUTOR: BQF. VINUEZA TAPIA DIEGO RENATO

Riobamba-Ecuador

2017

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Titulación certifica que: El trabajo de titulación: **EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA AGUDA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE HOJAS DE *Passiflora manicata* Y *Passiflora tripartita* SOBRE *Rattus norvegicus* POR VÍA ORAL** de responsabilidad del Señor Diego Francisco Bravo Yumi, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

BQF. Diego Vinueza

DIRECTOR DE TRABAJO

TITULACIÓN

.....

.....

Dra. Susana Abdo

MIEMBRO DE TRIBUNAL

.....

.....

Dra. María Eugenia Macas

MIEMBRO DE TRIBUNAL

.....

.....

DOCUMENTALISTA SISBIB ESPOCH

.....

.....

COPYRIGHT

“©” 2017, Diego Francisco Bravo Yumi

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Diego Francisco Bravo Yumi soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 26 de enero del 2017

DIEGO FRANCISCO BRAVO YUMI

060378291-3

DEDICATORIA

Para mis ángeles terrenales Francisco, Juanita, Nelson y Gabriela quienes han estado a mi lado alentándome en mis derrotas, celebrando mis triunfos y brindándome en su amor un cálido refugio que hizo de esta travesía un viaje más placentero.

A mis maestros por haber cultivado en mí el don de la paciencia y con su ejemplo de vida educar no solo mi mente sino también mi espíritu.

A mis compañeros de aula que elegí en este arduo caminar Gabby, Taty, Marthita, Diego y Fabián, como también a mis amigos Miguel, Paúl y Adrián quienes ocupan un lugar importante en mi corazón y en mis oraciones y con quienes he compartido grandes momentos ya que han sido mi apoyo incondicional con sus palabras siempre acertadas y dirigidas a mejorar mi vida para encontrar la felicidad y la tranquilidad.

Francisco

AGRADECIMIENTO

A Dios, quien ha sido el gestor de todos los momentos que hasta hoy han sucedido en mi vida, a él, quien ha colocado en mi sendero a las personas indicadas en los momentos justos; para él, porque ha sido quien eligió a mis Padres a mi hermano como mi familia a quienes les debo lo que soy como persona, y a quienes va dirigido mi más sincero agradecimiento por su amor, dedicación, paciencia y oraciones que han sido la luz que iluminó mis días cuando estos fueron difíciles.

Mis infinitas gratitudes a mi madre, quién con sus detalles y plegarias fue la encargada de transmitir los deseos y las señales que Dios dejaba para mí como migas de pan para no perder de vista mi objetivo.

Mi agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por haberme acogido en sus aulas y darme la oportunidad de adquirir nuevos conocimientos.

Agradezco a mis maestros, BQF Vinueza, Dra. Abdo Susy y Dr. Robles Javier por su exigencia y su disciplina que ayudó a formar mi carácter y moldear mis valores, por su preocupación no solo académica sino personal, por su tiempo y paciencia que son cosas invaluableles que muy amablemente las compartieron conmigo.

Gracias infinitas a todos quienes participaron activamente en este trayecto académico, a quienes dejaron una huella imborrable con sus lecciones y ejemplo.

Francisco

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA

CERTIFICACIÓN	ii
DERECHO DE AUTOR	iii
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
TABLA DE CONTENIDO	vii
INDICE DE ABREVIATURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xv
ÍNDICE DE ANEXOS	xvi
RESUMEN	xvii
SUMMARY	Xvii

INTRODUCCIÓN	1
--------------	---

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO	3
1.1.	Plantas medicinales	3
1.2.	Uso racional de las Plantas Medicinales	3
1.3.	Conocimiento Etnobotánico	4
1.4.	<i>Passiflora</i>	5
1.4.1.	<i>Passiflora tripartita</i>	5
1.4.1.1.	<i>Taxonomía</i>	5
1.4.1.2.	<i>Descripción</i>	6
1.4.1.3.	<i>Hábitat</i>	6
1.4.1.4.	<i>Usos Etnobotánicos</i>	7

1.4.1.5.	<i>Composición Química</i>	7
1.4.1.6.	<i>Reacciones Adversas</i>	8
1.4.2.	<i>Passiflora manicata</i>	8
1.4.2.1.	<i>Taxonomía</i>	8
1.4.2.2.	<i>Descripción</i>	8
1.4.2.3.	<i>Hábitat</i>	9
1.4.2.4.	<i>Usos Etnobotánicos</i>	9
1.4.2.5.	<i>Composición Química</i>	10
1.4.2.6.	<i>Reacciones Adversas</i>	10
1.4.3.	<i>Importancia de las Plantas Passiflora</i>	10
1.5.	Investigación Farmacológica	11
1.6.	Tóxico	11
1.7.	Toxicología	11
1.8.	Toxicidad	12
1.9.	Efecto Toxicológico	12
1.10.	Estudios en animales	13
1.11.	Investigación Farmacológica de <i>Passifloras</i>	14
1.11.1.	<i>Pruebas condicionadas</i>	14
1.11.2.	<i>Pruebas no condicionadas</i>	15
1.12.	Estudios toxicológicos	15
1.13.	Toxicidad aguda	15
1.14.	Toxicidad aguda oral (arriba y abajo)	17
CAPÍTULO II		18
2.	MARCO METODOLÓGICO	18
2.1.	Tipo y Diseño de Investigación.	18
2.2.	Lugar de investigación	18
2.3.	Materiales equipos y reactivos	18
2.3.1.	<i>Materiales</i>	18
2.3.1.1.	<i>Material Biológico</i>	18

2.3.1.2.	<i>Material Vegetal</i>	19
2.3.1.3.	<i>Materiales de laboratorio</i>	19
2.3.2.	<i>Equipos</i>	19
2.3.3.	<i>Reactivos</i>	20
2.4.	Metodología	20
2.4.1.	<i>Preparación del extracto etanólico de las hojas de <i>Passiflora tripartita</i> y <i>manicata</i></i>	20
2.4.2.	<i>Cromatografía en capa fina (CCF)</i>	21
2.4.3.	<i>Cuantificación de flavonoides</i>	22
2.4.4.	<i>Preparación del vehículo (propilenglicol 15%) con el extracto</i>	23
2.4.5.	<i>Tipo y Diseño de Experimentación</i>	24
2.4.6.	<i>Periodo de investigación (Bioensayo)</i>	26
2.4.6.1.	<i>Día Cero</i>	26
2.4.6.2.	<i>Día 1 al Día 14</i>	27
2.4.6.3.	<i>Día 15</i>	28
2.4.7.	<i>Material Biológico (histopatológico)</i>	28
CAPÍTULO III		30
3.	MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	30
3.1.	Análisis cuantitativo de los valores hematológicos antes y después de su administración del extracto etanólico de las <i>P. tripartita</i> y <i>P. manicata</i> realizada en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela superior politécnica de Chimborazo.	30
3.2.	Análisis cuantitativo del promedio de los valores de Química Sanguínea del día cero y día quince de su administración del extracto etanólico de las <i>P. tripartita</i> y <i>P. manicata</i> realizada en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela superior politécnica de Chimborazo	41
3.3.	Análisis cuantitativo de la observación clínica durante 14 días tras su administración.	60

3.4.	Análisis histopatológico del animal de experimentación después de la observación clínica macroscópicamente y microscópicamente.	62
3.5.	Comparación de los niveles promedio del día 14 de valores hematológicos y química sanguínea del extracto etanólico de las <i>P. tripartita</i> y <i>P. manicata</i> .	66
	CONCLUSIONES	68
	RECOMENDACIONES	69
	BIBLIOGRAFÍA	70

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterasa
ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
ALP	Fosfatasa alcalina
CIATOX	Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico
DL50	Dosis Letal Media
FDA	Food and Drug Administration
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
INEC	Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
MAGAP	Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca
mg	Miligramo
MSP	Ministerio de Salud Pública
OMS	Organización Mundial de la Salud
OECD	The Organisation for Economic Co-operation and Development
<i>P. m.</i>	<i>Passiflora manicata</i>
<i>P. t.</i>	<i>Passiflora tripartita</i>
rpm	Revoluciones por minuto
SNC	Sistema Nervioso Central
SNP	Sistema Nervioso Periférico
U/L	Unidades internacionales sobre litro

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2	Características del animal de experimentación	24
Tabla 2-2	Grupo <i>Pasiflora tripartita</i>	25
Tabla 3-2	Grupo <i>Pasiflora manicata</i>	26
Tabla 1-3	Datos Hematológicos: recuento de Glóbulos Blancos, día cero VRN ($4-10 \times 10^{12}/L$).	30
Tabla 2-3	Resultados de Anova para la evaluación de Glóbulos Blancos día cero.	31
Tabla 3-3	Datos Hematológicos: recuento de Glóbulos Blancos, día quince VRN ($4-10 \times 10^{12}/L$).	32
Tabla 4-3	Resultados de Anova para la evaluación de Glóbulos Blancos día quince.	32
Tabla 5-3	Datos Hematológicos: recuento de Glóbulos Rojos, día cero VRN ($3.5-5 \times 10^{12}/L$)	34
Tabla 6-3	Resultados de Anova para la evaluación de Glóbulos Rojos día cero.	35
Tabla 7-3	Datos Hematológicos: recuento de Glóbulos Rojos, día quince VRN ($3.5-5 \times 10^{12}/L$)	35
Tabla 8-1	Resultados de Anova para la evaluación de Glóbulos Rojos día quince.	35
Tabla 9-3	Datos Hematológicos: recuento de Plaquetas, día cero VRN ($100-500 \times 10^9/L$)	37
Tabla 10-3	Resultados de Anova para la evaluación de Plaquetas día cero.	38
Tabla 11-3	Datos Hematológicos: recuento de Plaquetas, día quince VRN ($100-500 \times 10^9/L$)	38
Tabla 12-3	Resultados de Anova para la evaluación de Plaquetas día quince.	39
Tabla 13-3	Datos Química Sanguínea: determinación de Urea, día cero VRN (32-54 mg/dL)	41

Tabla 14-3	Resultados de Anova para la evaluación de Urea día cero.	41
Tabla 15-3	Datos Química Sanguínea: determinación de Urea, día quince VRN (32-54 mg/dL)	42
Tabla 16-3	Resultados de Anova para la evaluación de Urea día quince.	42
Tabla 17-3	Datos Química Sanguínea: determinación de Creatinina, día cero VRN (0.69-2.19 mg/dL)	44
Tabla 18-3	Resultados de Anova para la evaluación de Creatinina día cero.	45
Tabla 19-3	Datos Química Sanguínea: determinación de Creatinina, día quince VRN (0.69-2.19 mg/dL)	45
Tabla 20-3	Resultados de Anova para la evaluación de Creatinina día quince.	46
Tabla 21-3	Datos Química Sanguínea: determinación de Bilirrubina, día cero VRN (0.042-0.25 mg/dL)	48
Tabla 22-3	Resultados de Anova para la evaluación de Bilirrubina día cero.	49
Tabla 23-3	Datos Química Sanguínea: determinación de Bilirrubina, día quince VRN (0.042-0.25 mg/dL)	49
Tabla 24-3	Resultados de Anova para la evaluación de Bilirrubina día quince.	49
Tabla 25-3	Datos Química Sanguínea: determinación de TGO, día cero VRN (49.23 - 95.01 U/L)	51
Tabla 26-3	Resultados de Anova para la evaluación de TGO día cero.	52
Tabla 27-3	Datos Química Sanguínea: determinación de TGO, día quince VRN (49.23 - 95.01 U/L)	52
Tabla 28-3	Resultados de Anova para la evaluación de TGO día quince.	53
Tabla 29-3	Datos Química Sanguínea: determinación de TGP, día cero VRN (25.18 - 48.01 U/L)	55

Tabla 30-3	Resultados de Anova para la evaluación de TGP día cero.	55
Tabla 31-3	Datos Química Sanguínea: determinación de TGP, día quince VRN (25.18 - 48.01 U/L)	56
Tabla 32-3	Resultados de Anova para la evaluación de TGP día quince.	56
Tabla 33-3	Resultados de la variación de pesos grupo control y grupo de experimentación.	58
Tabla 34-3	Resultados del examen macroscópico, día quince del grupo control y grupo de experimentación	60
Tabla 35-3	Resultados del examen microscópico, día quince del grupo control y grupo de experimentación	61
Tabla 36-3	Variación hematológica, química sanguínea con respecto a la VRN	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura1-1	Dosis VS Efecto, DL50	13
Figura 2-1	Principales ensayos toxicológicos regulados	16
Figura 3-1	Métodos regulados de evaluación de la toxicidad aguda, toxicidad crónica y neurotoxicidad	17

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2	Flujograma de cromatografía en capa fina (CCF)	20
Gráfico 2-2	Flujograma de cuantificación de flavonoides totales	22
Gráfico 1-3	Variación Hematológica: GLOBULOS BLANCOS día cero y día quince del promedio del grupo experimental y grupo control	33
Gráfico 2 -3	Variación Hematológica: GLOBULOS ROJOA día cero y día quince del promedio del grupo experimental y grupo control	36
Gráfico 3-3	Variación Hematológica: PLAQUETAS día cero y día quince del promedio del grupo experimental y grupo control	39
Gráfico 4-3	Variación Química Sanguínea: UREA día cero y día quince del promedio del grupo experimental y grupo control	43
Gráfico 5 -3	Variación Química Sanguínea: CREATININA día cero y día quince del promedio del grupo experimental y grupo control	46
Gráfico 6-3	Variación Química Sanguínea: BILIRRUBUNA día cero y día quince del promedio del grupo experimental y grupo control	50
Gráfico 7-3	Variación Química Sanguínea: TGO día cero y día quince del promedio del grupo experimental y grupo control	53
Gráfico 8-3	Variación Química Sanguínea: TGP día cero y día quince del promedio del grupo experimental y grupo control	57
Gráfico 9-3	Niveles de porcentaje de los pesos promedio del grupo control y grupo de experimentación.	59
Gráfico 10-3	Porcentaje de variación con respecto a los Valores de Referencia Normales de Química Sanguínea.	64

RESUMEN

Se realizó un extracto etanólico de *Passiflora tripartita* y *Passiflora manicata* previamente recolectada en el Cantón Pallatanga de la Provincia de Chimborazo, secada, triturada, macerada, sonicada, concentrada en un rota vapor y se liofilizó para tener una muestra vegetal sólida con el fin de ser disuelta en un vehículo que es el propilenglicol para la administración en animales de experimentación (*Rattus norvegicus*) por vía oral. Se realizó el extracto de la materia vegetal en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia en los laboratorios de productos naturales y en las instalaciones del bioterio donde se administró la dosis alta-baja para los 32 animales de experimentación. Se dividió al azar las ratas en grupo control y grupo de experimentación, las cuales se les administró a una dosis baja de 300mg/Kg y dosis alta de 2000mg/Kg, en el día cero se extrajo una muestra de sangre a cada rata para las pruebas hematológicas y químicas, en el día 1 se les administró el extracto a las ratas y se observó los cambios clínicos físicos por 14 días, en el día 15 se les extrajo una muestra de sangre para ver cambios en el hematológico y química sanguínea. Tomada una muestra de sangre, se prosiguió a la necropsia del animal de experimentación para ver los cambios en los órganos riñón, hígado, pulmón, corazón y cerebro, a nivel histopatológico. No se observó mortalidad ni alteraciones clínicas o hematológicas. En conclusión, la administración oral 300 mg/kg y 2000 mg/kg del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora manicata* Y *Passiflora tripartita* en ratas no es tóxica. Se recomienda para una próxima investigación realizar un estudio subcrónico y crónico de 28 a 60 días a la misma dosis alta y baja.

PALABRAS CLAVE:

<TOXICIDAD> <TOXICIDAD AGUDA> <Passiflorácea> <Passiflora tripartita (taxo común)>
<Passiflora tripartita (taxo silvestre)> <QUÍMICA SANGUINEA> <PERFIL HEPÁTICO>
<Rattus norvegicus (ratas albinas)> <BIOQUÍMICA Y FARMACIA>

SUMMARY

An ethanolic extract of *Passiflora tripartite* and *Passiflora manicata* previously collected in Pallatanga canton of Chimborazo province was done, dried, crushed, macerated, sonicated, concentrated on a rotary evaporator and lyophilized to have a solid vegetable sample in order to be dissolved in a vehicle which is propylene glycol for oral administration in experimental animals (*Rattus norvergicus*). The extract of the vegetable matter was carried out in the Polytechnic of Chimborazo in the School of Biochemistry and Pharmacy of the Faculty of Sciences, in the laboratories of natural products and in the facilities of the bioterium where the high-low dose was administrated for the 32 animals of experimentation. Rats were randomly divided into a control group and experimental group, to which were given a low dose of 300 mg / Kg and a high dose of 2000mg / Kg, on day zero a blood sample is taken from each rat for the hematological and chemical tests. On day 1 the extract is administered to the rats and clinical, physical changes are observed for 14 days, on day 15 samples of blood are taken to see changes in hematology and blood chemistry. Once the blood was taken, the necropsy of the experimental animal was followed to see the changes in the organs like kidney, liver, lung, heart and brain at the histopathological level. No mortality or clinical or hematological alterations were observed. Conclusions: The oral administration 300 mg / Kg and 2000 mg / Kg of ethanolic extract from leaves of *Passiflora tripartite* and *Passiflora manicata* is not toxic in rats. It is recommended for a subsequent investigation to perform a subchronic and chronic study of 28 to 60 days at the same high and low doses.

Key words: <ACUTE TOXICITY> <*Passiflora tripartita* (common taxo)> <*Passiflora manicata* (wild taxo)> <BLOOD CHEMISTRY> <HEPATIC PROFILE> <*Rattus norvergicus* (albino rats)> <BIOCHEMISTRY AND PHARMACY>

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador existe una gran biodiversidad, que favorece el estudio de muchas plantas y sus efectos terapéuticos. Uno de ellos es la familia de la *Pasiflorácea*, grupo al que pertenece la llamada flor del pasión o maracuyá, cuyo efecto ansiolítico ya ha sido determinado y comprobado, y ya comercializado como ansiolítico. A más de esta planta existen más especies de *passifloras* aun sin estudiar su toxicidad, dos de ellas son la *P. manicata* y *P. tripartita*(Kifayatullah et al. 2015)

La familia *Passifloraceae* cuenta con 18 géneros y alrededor de 630 especies distribuidos a través del Neo trópico como también en la parte andina de América de sur. Las características generales son que poseen estructura liana herbácea o leñosa, raramente arbustiva o arborescente, con hojas simples y alternas. (Rodríguez-Chávez et al. 2015)

Desde tiempos antiguos se utilizaban las hojas, flores y cascara de frutos como calmante, con el fin de ayudar a la relajación y sedante. Las plantas medicinales son vegetales que elaboran sustancias que ejercen una acción farmacológica beneficiosa o perjudicial para el organismo vivo, ya que poseen principios activos que ayudan en la prevención, tratamiento de enfermedades o en otros casos provocan intoxicaciones por su mal uso.(Ngueguim et al. 2015)

En el mundo vegetal es frecuente que solo una parte de la planta sea en la que radica su actividad farmacológica y por tanto la que determine que una simple especie botánica adquiere el rango de planta medicinal.

Las plantas medicinales son aquellos vegetales que elaboran unos metabolitos secundarios llamados “principios activos”, sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial sobre el organismo vivo. Su utilidad primordial a veces específica es servir como droga o medicamento que alivie las enfermedades o restablezca la salud perdida.(Ngueguim et al. 2015)(Boeira et al. 2010)

El género *Passiflora* tiene efectos depresores sobre el sistema nervioso central, se portan como sedantes, tranquilizantes, calmantes y contra el insomnio. También se utiliza como antiespasmódico, diaforético, hipotensor, diurético, febrífugo. La cocción de las hojas se emplea para el dolor de cabeza y tratar afecciones de hígado y riñones. (Booth et al. 2012)

El extracto etanólico de *P. manicata* y *P. tripartita* con actividad terapéutica determinado ancestralmente, por lo cual se optó por los ensayos de toxicidad aguda. Esto implica la administración de la sustancia a evaluar en una sola ocasión para la determinación de la Dosis Letal (DL50), ya que permite establecer la potencia de toxicidad, en la cual se observa durante 14 días y al final en la autopsia que se realiza en el animal de experimentación para observar los efectos locales tras su administración del extracto de *Passifloras* (Ngueguim et al. 2015).

Por razones prácticas y económicas la especie convencional para este estudio son los roedores (*Rattus norvegicus*) y por razones éticas se recomienda trabajar con un pequeño número de animales para cada dosis a estudiar. La ventaja de usar estos animales es de utilizar sustancias que se obtienen previamente en un extracto en cantidades pequeñas que permite el óptimo empleo de este recurso.(Boeira et al. 2010)

La Organización Mundial de la Salud apoya el uso adecuado de medicamentos a base de plantas y promueve el uso de los recursos que se han demostrado ser seguros y eficaces. Las plantas medicinales han resistido la prueba científica, pero otros simplemente son utilizados por razones tradicionales para proteger, restaurar o mejorar la salud. La mayoría de las plantas medicinales todavía necesitan ser estudiadas científicamente; a pesar de la experiencia obtenida de su uso tradicional en los últimos años, no debe ser ignorada (Boeira et al. 2010)(Kandhare et al. 2015)

Cuando en la investigación científica se realiza una inferencia sobre la actividad biológica basada en estudios con animales, por ejemplo, ratas, que es muy habitual, que se provoque desconfianza en las personas, ya que el animal de experimentación no es igual que un ser humano, pero hay que entender que, al extrapolar la investigación con ratas al comportamiento humano, los científicos no están asumiendo que las ratas sean como las personas, sino que es el principio para determinar un fitofármaco. (F. Li et al. 2015)(Booth et al. 2012)

Este método de la clase tóxica aguda tuvo por objetivo administrar dos dosis: un alta y una baja para identificar la toxicidad de la planta en estudio, el cual se administró empleando una cánula intragástrica. Para conocer su toxicidad se realizó un análisis de sangre con las pruebas de hematología y pruebas químicas específicas como también un estudio patológico de los órganos internos del animal de experimentación. (Kifayatullah et al. 2015)(Lin et al. 2009)(Cho et al. 2016).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Plantas Medicinales

Las plantas medicinales son un recurso fundamental para las comunidades campesinas e indígenas de nuestro país. De la población ecuatoriana se estima que un 80% son dependientes de la medicina tradicional y por ende de las plantas o productos naturales, para la prevención y atención primaria de la salud y bienestar. (Ximena. 1999)(OMS 2014)

Durante algún tiempo estas plantas medicinales han sido empleadas por diferentes culturas como agentes terapéuticos, los cuales llevan a un cambio de funcionamiento del organismo ya sea para aliviar o restablecer el equilibrio del cuerpo. (Originales 2015)(Zhang 2012) Es por eso que la OMS la define como “las plantas medicinales son aquellas que contienen uno o más principios activos, los cuales administrados en dosis adecuadas producen un efecto curativo frente a las enfermedades del hombre...” (Zhang 2012)

1.2. Uso racional de las Plantas Medicinales.

Uno de los objetivos del Ministerio de Salud conjuntamente con la Organización Mundial de la Salud es de dar a conocer la Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional como su uso racional de las Plantas Medicinales. (OMS2014)

Con lo cual se requiere de diferentes situaciones como en el caso del productor, el profesional que prescribe el medicamento, el dispensador y por ultimo tenemos al consumidor ya que el constituye el determinante final para su uso.

La estrategia tiene la finalidad de promover la utilización segura, eficaz y eficiente a través de la reglamentación, la investigación para una buena contribución potencial en el uso racional de plantas medicinales dirigida al bienestar y la atención de salud a las personas.(Ximena. 1999)(Balslev et al. 2008)

El gobierno Ecuador mediante la Dirección Nacional de Medicamentos e Insumos Estratégicos desarrolla un plan de uso racional de medicamentos, con el fin de sensibilizar a la población en el adecuado tratamiento de enfermedades; La Agencia de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria, promueve el Sistema Nacional de Farmacovigilancia (SNFV), que permite identificar, reportar y resolver reacciones adversas de medicamentos (RAM) y problemas relacionados con medicamentos (PRM) (Zhang 2012)

Con el fin de garantizar la inocuidad y eficacia de productos ofertados en medios de comunicación se crea el Reglamento para la publicidad y promoción de medicamentos en general, el cual busca el derecho a disponer de bienes y servicios de óptima calidad y a elegir con libertad, así como a una información precisa y no engañosa sobre su contenido y características. (OMS 2014)(Zhang 2012)

1.3. Conocimiento Etnobotánica.

El objetivo principal del estudio de la Etnobotánica es el conocimiento y el rescate del saber botánico tradicional teniendo en cuenta particularmente relacionado al uso de la flora, ya que en específico tiene una alta importancia a nivel mundial ya que en países en desarrollo aprovechan las plantas para afrontar las necesidades de una asistencia médica.(Lagarto et al. 2005)

En el estudio de las Plantas Medicinales y etnobotánicas en el Ecuador son primordialmente seleccionadas en la región andina y amazonía por su gran número como también a la vez por el gran interés en el uso de las comunidades indígenas. En el caso de la región occidental se tiene muy pocos estudios etnobotánicos por la razón de que las comunidades campesinas no indígenas no aceptan como alternativa este tipo de medicina ancestral. (Lee 2005)(Originales 2015)

Con base a los estudios realizados en el sector andino de Ecuador se evidencia que las hojas de las Plantas Medicinales son las estructuras más utilizadas en la preparación de la medicina tradicional representando el 76.7%, mientras que las otras estructuras como el tallo es del 14.0%, la raíz 11.6%, y las flores, cristales, corteza y fruto 2.3% cada uno.(Martínez 2006)(Zhang 2012)

1.4. Passiflora

La familia *Passifloraceae* cuenta con 18 géneros y alrededor de 630 especies distribuidos a través del Neo trópico. Las características generales son que poseen estructura liana herbácea o leñosa, raramente arbustiva o arborescente, con hojas simples y alternas. Estas plantas se encuentran en Ecuador en toda la parte andina, la cual son utilizadas en el por las comunidades indígenas y campesinas. (Miroddi et al. 2013)

Desde tiempos antiguos se utilizaban las hojas, flores y cascaras de frutos como calmante, ayudar a la relajación y sedante. Las especies de pasifloras poseen una morfología específica lo que las hacen fácilmente identificables y catalogadas, teniendo por partes:

- La mayoría de las plantas son trepadoras que pueden tener tallos muy largos y flexibles que se van a enroscar en otras plantas. Pueden alcanzar los 40 metros de tallo enroscado.
- Poseen hojas lobuladas, algunas presentan hasta 3 lóbulos, de color verde oscuro con brillo en la parte delantera.
- Las flores presentan unos colores muy llamativos como rojo, amarillo, algunas de color blanco brillante, las formas son diversas, por lo general presentando 5 sépalos. (Lagarto et al. 2005)

1.4.1. Pasiflora tripartita

1.4.1.1. Taxonomía

- **Reino:** Plantae
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Orden:** Violales
- **Familia:** Passifloraceae

- **Género:** Passiflora
- **Especie:** Passiflora tripartita.
- **Sinónimos:** curuba, taxo,

1.4.1.2. *Descripción:*

- **Planta** trepadora mediante zarcillos, tallos teretes, amarillo-vellosos, de varios metros de expansión. Estípulas subreniformes, de 7-9 mm de largo y 3-4 mm de ancho, aristada, denticulada o subentera.
- **Hojas** alternas, pecioladas, pecíolos hasta 3 cm de largo, canaliculados, con 8-12 glándulas sésiles, trilobadas, partidas, lóbulos ovados u ovado-oblongos, 3-4 cm de ancho, agudos, serrado-dentados, membranáceos, lóbulos laterales divergen 45° de la nervadura central, ligeramente pubescentes en el haz y gris o amarillo-tomentosas en el envés; lámina de 5-10 cm de largo por 6-12 cm de ancho. Brácteas de 2,5-3 cm de longitud, agudas, unidas 1/3 a 1/2 de su longitud. (Pernambuco et al. 2009)
- **Flores** solitarias péndulas, axilares, sobre pedúnculos de 6-8 cm de largo; tubo del cáliz de 6,5-8 cm de longitud y 1 cm de diámetro, ligeramente dilatado en la base, verde oliváceo externamente, blanco internamente, glabro; sépalos 5, oblongos, 2,5 a 3,5 cm de largo, 1 a 1,5 cm de ancho, obtusos, aristulados, raramente pubérulos en su parte externa; pétalos 5, subiguales a los sépalos, obtusos, rosados, tubo de la corola 6-10 cm de largo; corona reducida a una banda purpúrea con unos pocos tubérculos o crenulaciones; ovario seríceo-tomentoso, estilos libres.(Pernambuco et al. 2009)(Lee 2005)
- **Fruto** bayo oblonga, de 6-9(-12) cm de largo por 4-5 cm de diámetro, epicarpio de color amarillo-claro y cubierta de pubescencia fina, mesocarpio compuesto de arilo anaranjado cubriendo a numerosas semillas.
- **Semillas** negras de 6-7,8 mm de largo, 5 mm de ancho, 2 mm de grosor, ampliamente obovadas, simétricas, ápice con un solo cuerno, base aguda, testa reticulada. (Xu et al. 2015)

1.4.1.3. Hábitat:

Es nativa de los Andes. En Perú, donde crece tanto en la costa como en la montaña y la selva, se diferencia por el tamaño, sabor y color (amarillo, negro, rojo, etc.) del fruto. En Ecuador se da en zonas con lluviosidad entre 800 a 1.500 mm anuales bien distribuidos y altitud entre los 2000 y 3200 msnm.(Xu et al. 2015)

En Ecuador, el taxo se cultiva en la serranía, especialmente en Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Chimborazo, Azuay, Cañar y Loja. En Pichincha su cultivo se encuentra asociado con los árboles de capulí, y en Tungurahua, con los de tomate árbol.(Xu et al. 2015)(Lagarto et al. 2005)

1.4.1.4. Usos Etnobotánicos.

Sus frutos son usados en la alimentación de los pobladores en los países andinos. En Ecuador se la conoce con el nombre común taxo. Por lo general la parte más usada y comercializada es el fruto, este posee gran cantidad de vitamina C y se puede consumir crudo por tener un sabor dulce, y es muy cotizado en la región sierra, por la gran variedad de platillos que se puede hacer con ello. (Lagarto et al. 2005)

También la planta en si se lo utiliza generalmente el pueblo indígena como calmar y relajar en mujeres durante los ciclos menstruales, sirve para afecciones del corazón. Las hojas se usan para combatir los golpes e hinchazones mediante emplastos convidados con otras plantas analgésicas como la manzanilla, mientras que las flores se usan principalmente en Imbabura de manera machacada para blanquear la cara y curar el espanto. (Pernambuco et al. 2009)

También se lo usa para ayudar en dolores causados por cólicos intestinales, además para tratar casos de diarrea. La *Passiflora* se la usa también para curar heridas mediante aplicación de cataplasmas. (Kifayatullah et al. 2015)

1.4.1.5. Composición Química

Se han ejecutado estudios para identificar a los flavonoides del fruto entre los que se destacan orientina, vitexina, vicenina y schaftosido además se destaca la identificación de un flavonoide derivado de la orientina.

Las hojas de la planta contienen orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina, swertisina, y 2-vicenina. (Traesel et al. 2014)(Miroddi et al. 2013)

1.4.1.6. *Reacciones Adversas*

No se han descrito reacciones adversas a las dosis terapéuticas recomendadas. A altas dosis, en tratamientos crónicos o en individuos especialmente sensibles se pueden producir reacciones adversas:

- Digestivas. Raramente aparecen náuseas y vómitos.
- Cardiovasculares. Muy raramente puede producirse taquicardia y prolongación del segmento QT.
- Neurológicas/psicológicas. Es común la aparición de sedación.

1.4.2. *Pasiflora manicata*

1.4.2.1. *Taxonomía.*

- **Reino:** Plantae
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Orden:** Violales
- **Familia:** Passifloraceae
- **Género:** Passiflora
- **Especie:** Manicata
- **Sinónimos:** Passiflora meridensis, Passiflora rhodantha Harms, Tacsonia manicata
- **Nombre Común:** Curubo de Monte, Diablito.

1.4.2.2. Descripción:

- **Plantas:** pubescentes o glabras en las superficies adaxiales de las láminas foliares, flores y frutos. Tallos angulares, esencialmente glabros o pubescentes.
- **Hojas:** ovadas, trilobuladas, de 4.2 a 10.0 cm de largo y 5.0 a 12.0 cm de ancho, redondeadas o ligeramente acorazonadas en la base, glandular, aserradas en los márgenes, densamente pubescentes en la superficie abaxial, con 4 a 9 nectarios generalmente estipitados, de 1 a 2 mm de largo repartidos sobre la superficie adaxial; estípulas generalmente suborbiculares, de 1.5 a 2.0 cm de largo y 0.5-1.0 cm de ancho, con dentaciones gruesas en el margen. (Miroddi et al. 2013)
- **Flores:** erectas de 5.0 a 5.6 cm de largo; hipantios cilíndricos, de aproximadamente 2 cm de largo; sépalos oblongos o lanceolados de 3.0 a 3.6 cm de largo, de aproximadamente 6 mm de ancho, pétalos sub-iguales a los sépalos, rojos; corona en 3 o 4 series, con filamentos de hasta 4 mm de largo, con series más exteriores color morado, con la serie interior de color blanco. (Originales 2015)(Martínez 2006)
- **Frutos:** obovados u oblongos, de 3.5 a 5.5 cm de largo y 2.0 a 3.7 cm de ancho, con pericarpio coriáceo, verde al madurar; semillas obovadas a acorazonadas, de 3.5 a 5.1 mm de largo y 2.0 a 3.0 mm de ancho, con testa reticulada, color café oscuro; arilo anaranjado poco succulento. (23).

1.4.2.3. Hábitat.

Es nativa de Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú. Posiblemente es originaria de los Andes de Perú y Chile, entre 1400m -2800 m de altitud. Crece de forma silvestre como una enredadera.

1.4.2.4. Usos Etnobotánicos.

El fruto no es considerado como comestible porque no se puede diferenciar claramente el estado maduro del estado inmaduro, durante el cual los frutos pueden tener efectos tóxicos y sicótrópos.

La planta en si se le considera como arbusto ornamental por poseer las flores de un color rojo peculiar y forma atractiva. Las hojas y flores se usan como relajantes en ciertas zonas del

Ecuador, pero es en menor proporción que las otras especies de Pasifloras. (Rodríguez-Chávez et al. 2015)

El género *Passiflora* tiene efectos depresores sobre el sistema nervioso central, se portan como sedantes, tranquilizantes, calmantes y contra el insomnio. También se utiliza como antiespasmódico, diaforético, hipotensor, diurético, febrífugo. La cocción de las hojas se emplea para el dolor de cabeza y tratar afecciones de hígado y riñones. (Rodríguez-Chávez et al. 2015)(Pernambuco et al. 2009)

También se lo usa para ayudar en dolores causados por cólicos intestinales, además para tratar casos de diarrea. La *Passiflora* se la usa también para curar heridas mediante aplicación de cataplasmas.

1.4.2.5. Composición Química.

La parte de la planta que contiene los principios activos que ejercen el efecto ansiolítico es la parte aérea.

Las flores contienen trazas de alcaloides indólicos (harmano), derivados flavónicos (quercetol, luteolol), flavonoides (crisina, vitexina,) cumarinas, ácidos fenólicos y aceites esenciales. Los compuestos que supuestamente tienen la responsabilidad de la actividad ansiolítica son alcaloides indólicos (harmano) y el flavonoide (crisina). (Liu et al. 2016)

1.4.2.6. Reacciones Adversas.

No se han descrito reacciones adversas a las dosis terapéuticas recomendadas. A altas dosis, en tratamientos crónicos o en individuos especialmente sensibles se pueden producir reacciones adversas:

- Digestivas. Raramente aparecen náuseas y vómitos.
- Cardiovasculares. Muy raramente puede producirse taquicardia y prolongación del segmento QT.
- Neurológicas/psicológicas. Es común la aparición de sedación.

1.4.3. Importancia de la Planta *Passiflora*

Para combatir los tipos de enfermedades de trastorno mental, hepático, diurético y para utilizar como sedantes, calmante, tranquilizantes se utiliza terapias alternativas que plantean el uso de plantas naturales como por ejemplo las *Passifloras*, con la finalidad de calmar los síntomas y el malestar que produce esta afección, la diferencia que tienen los productos naturales con los fármacos sintéticos es que no producen efectos adversos durante el tratamiento. (Lee 2005)(Originales 2015)

En nuestro medio no todas las personas que sufren este trastorno asisten al médico, por el contrario, optan por un tratamiento de tipo casero en el que se usan infusiones de plantas que tengan la propiedad de calmar la ansiedad, para el dolor de cabeza, para el hígado, riñón, para la presión.

Es por eso que la parte andina y amazonía de Ecuador utilizan las plantas medicinales para tratar las diferentes afecciones, las cuales para evaluar la toxicidad de las *Passifloras* se usará estudios o modelos de toxicidad aguda por vía oral (procedimiento arriba y abajo), para identificar su daño a nivel en el organismo. (Lee 2005) (Boeira et al. 2010).

1.3. Investigación farmacológica.

Una vez determinados los metabolitos secundarios con actividad terapéutica que es ansiolítica en las *P. manicata* y *P. tripartita*, se utiliza recursos para identificar el efecto tóxico, para lo cual se emplea un modelo que es en animales sensibles de manifestar modificaciones de conducta en el sujeto de estudio, el modelo de análisis va a depender del órgano o célula diana de la actividad (Rojas et al. 2009)

En el caso de la ansiedad el método más efectivo es la administración por vía oral usando ratas como modelo de estudio y someterlo a dosis alta y baja para evaluar el comportamiento después de su administración, también analizar sus niveles de biometría hemática, pruebas químicas sanguínea específicas antes y después de su administración, por ultimo evaluar los órganos después de la autopsia del animal de experimentación.

La ventaja de usar esto animales es de utilizar sustancias que se obtienen previamente en el análisis fotoquímica en cantidades pequeñas y el utilizar ratas permite el óptimo empleo de este recurso. (Xu et al. 2015)(Shanmugam et al. 2015)

1.4. Tóxico

Los tóxicos son sustancias que pueden producir algún efecto nocivo sobre un ser vivo, alterando los equilibrios vitales. Se debe considerar que las sustancias que son constituyentes de nuestro organismo pueden llegar a ser tóxicas a concentraciones superiores a las fisiológicas; nos referimos a los tóxicos como xenobióticos o compuestos extraños que proceden del exterior.

Cualquier xenobiótico endógeno o exógeno, puede actuar como tóxico. Depende de la condición del sujeto, dosis, ambiente, etc (Paracelso, siglo XVI: “Todo depende de la dosis”) (Saravanan et al. 2014)(Boeira et al. 2010)

1.5. Toxicología

Ciencia que estudia las sustancias químicas y agentes físicos, su capacidad de producir alteraciones patológicas en los seres vivos, a la par que estudia los mecanismos de producción de estas alteraciones y los medios para contrarrestarlas; además de los procedimientos para detectar y determinar tales agentes, valorando su grado de toxicidad. (Rudnicki et al. 2007)(Silva et al. 2015)

1.6. Toxicidad

En Estados Unidos, la FDA regula la investigación farmacológica. Los datos farmacológicos y toxicológicos de los estudios en animales (investigación preclínica) son remitidos a la FDA como parte de una solicitud para una nueva investigación farmacológica (NIF).

Si esos datos demuestran que el fármaco es suficientemente seguro y eficaz, se llevan a cabo estudios en la especie humana (investigación clínica) divididos en tres fases; los datos de esos estudios son remitidos como parte de una nueva aplicación farmacológica (NAF).

Aunque la FDA interviene en los 6 meses primeros de una NAF, la aprobación de una NAF generalmente lleva unos 2 a 3 años. El tiempo total en el desarrollo de un nuevo fármaco, desde una aplicación NIF hasta la aprobación de una NAF, suele estimarse entre 8 y 9 años.(Xu et al. 2015)(Pernambuco et al. 2009) (Traesel et al. 2014)

1.7. Efecto toxicológico

Algunas veces es difícil separar el efecto tóxico de efecto farmacológico. Ya en el siglo XVI, Paracelso afirmaba que "todas las sustancias son tóxicas y ninguna sustancia es tóxica. Sólo la dosis determina la toxicidad". En la representación gráfica, la curva dosis respuesta para un efecto en particular (efecto hepatotóxico, nefrotóxico, mutagénico, embriotróxico, etc.) presenta forma sigmoidal, siendo de particular interés examinar: (Boeira et al. 2010) (Rudnicki et al. 2007)

- La forma de la curva dosis respuesta
- Las respuestas a dosis bajas del agente
- La naturaleza de las respuestas a dosis altas
- La pendiente de la parte recta de la curva (acentuada = alta toxicidad; reducida = baja toxicidad)

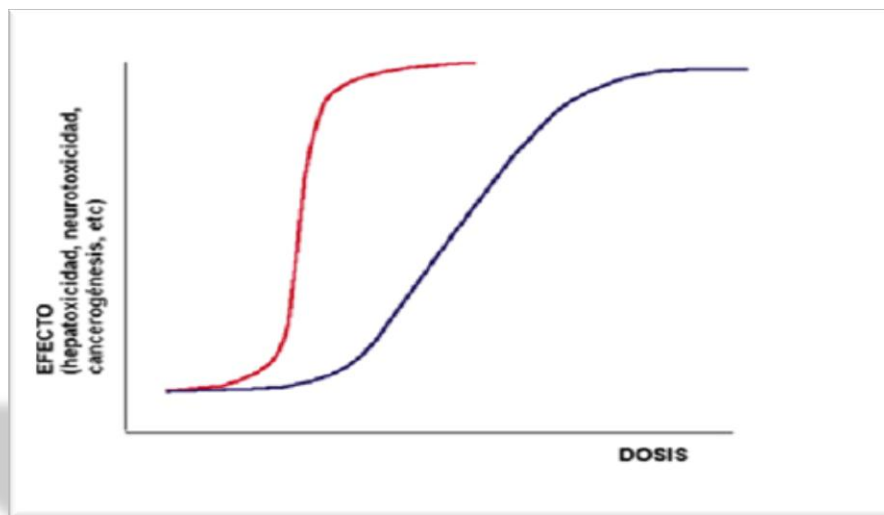


Figura1-1: Dosis VS Efecto, DL50

Fuente: Iba, 2005, http://www.iqb.es/cbasicas/bioquim/cap9/c9s01_31.htm

En la realidad las cosas no son tan sencillas y para cada parámetro examinado se obtiene una curva dosis respuesta de diferente configuración y, resultando aún más complejo que alguna puede ser superponible a las curvas dosis-respuesta farmacológicas.

Se podrían mencionar muchos otros ejemplos que también ponen de manifiesto el aforismo de Paracelso, que indica que el efecto benéfico y dañino de una sustancia depende de la dosis. (Ye et al. 2014)(Lee 2005)

1.8. Estudios en animales

Los estudios farmacocinéticos, farmacodinámicos y toxicológicos de un nuevo fármaco deben realizarse en animales de acuerdo a unas regulaciones de la FDA (las «buenas prácticas de laboratorio») previo a los estudios en la especie humana.

En todos los ensayos con animales destacan dos principios básicos: el primero es que los efectos de las sustancias químicas en los animales de laboratorio, con las debidas consideraciones, son aplicables al hombre; y el segundo hace referencia al hecho de que el empleo de dosis altas en los animales es un método necesario y válido para descubrir la posible toxicidad en el hombre. (Lagarto et al. 2005)

Puesto que el número de animales utilizados en los estudios de toxicidad es relativamente pequeño y el interés se centra en detectar respuestas tóxicas de baja incidencia, deben administrarse dosis superiores con el fin de validar la extrapolación al hombre. (Y. Li et al. 2015)(Pernambuco et al. 2009)

Los estudios en animales empleados para determinar o definir la seguridad de un fármaco incluyen estudios de toxicidad aguda, subcrónica y crónica en diversas especies animales.

1.9. Investigación farmacológica de *Passifloras*

Los metabolitos secundarios determinados, que tienen actividad terapéutica en las *P. tripartita* y *P. manicata*, son usados para identificar el efecto tóxico ya sea por vía oral o tópica, empleando en los ensayos un modelo animal sensible a manifestar modificaciones tanto físicas como de conducta, el modelo de análisis usado dependerá del órgano o célula diana susceptible al cambio en el reactivo biológico debido a la actividad de la *Passiflora*. (Lima et al. 2016)(Cho et al. 2016)

El método más efectivo de administración es por vía oral, usando roedores como modelo de estudio, sometiénolos a dosis alta y baja para evaluar su comportamiento después de su

administración, además de analizar sus niveles de biometría hemática, pruebas químicas sanguínea específicas antes y después de la administración, al final se evalúa los órganos después de la autopsia del animal de experimentación. (Lee 2005)

La ventaja al usar animales, es poder utilizar sustancias tóxicas, costosas y/o restringidas, optimizando recursos. Los ensayos en roedores se pueden clasificar en condicionadas y no condicionadas:

1.9.1. Pruebas condicionadas

Basadas en respuestas del animal a un estímulo con una respuesta ya establecida de otro estímulo. Por lo general el estímulo es agresivo hacia el animal mediante un choque eléctrico, Permitiendo controlar con precisión los niveles de conducta basal por parte del experimentador; las desventajas son el entrenamiento previo al animal y la cantidad alta de individuos que se usa. (Lasso s. f. 2014)

1.9.2. Pruebas no condicionadas

No requieren entrenamiento previo, pues son menos sensibles a procesos motivacionales, se basan en respuestas espontáneas en la conducta del reactivo biológico; permiten el desarrollo de paradigmas fundamentados en la observación.

La prueba no condicionada en roedores sirve para evaluar la actividad en una variedad de conductas del roedor y la mayoría de los procedimientos conductuales, muy utilizado para el estudio farmacológico de la ansiedad. (Lasso s. f. 2014) (Lee 2005).

1.10. Estudios toxicológicos

En la actualidad los estudios de toxicidad son de gran importancia en el desarrollo de nuevos medicamentos. El objetivo de los estudios es evaluar el riesgo o peligro potencial que un agente químico o físico puede ocasionar en la salud humana cuando son expuestos a tratamientos agudos o crónicos. (Xu et al. 2015)

El estudio toxicológico no se limita exclusivamente a fármacos sino a la mayor parte de sustancias químicas industriales (pesticidas, agroquímicos, cosméticos, plásticos, entre otros), mostrando igual complejidad en su análisis que los empleados en los fármacos.

1.11. Toxicidad aguda

Los estudios de toxicidad constituyen hoy día una parte muy importante dentro del desarrollo de un nuevo fármaco y se extienden prácticamente a lo largo de todo el mismo.

Se define como la patología que sobreviene, por una sola dosis del tóxico, a las pocas horas de la administración. También se aplica al caso de varias dosis administradas en un tiempo no mayor de 24 h. En muchos de los casos de una intoxicación aguda, aunque no en todos, se presenta un fenómeno de reversibilidad, pero, si la dosis es suficientemente alta, puede ocasionar la muerte. (Xu et al. 2015)(Rudnicki et al. 2007).

Los ensayos de toxicidad aguda implican la administración de la sustancia a evaluar en una sola ocasión para la determinación de la DL50, también conocida como dosis-única y consisten en administrar el compuesto sólo una vez en animales de una especie en particular, cepa, edad y peso que son mantenidos bajo condiciones controladas de dieta, jaulas, temperaturas, humedad relativa y tiempo de dosificación,

El concepto fue introducido por Trevan en 1917 y representa la muerte de la mitad (50%) de la población estudiada. Por razones prácticas y económicas la especie convencional para este estudio son los roedores y por razones éticas se recomienda trabajar con un pequeño número de animales para cada dosis.(Rudnicki et al. 2007)(Braga et al. 2013)

Los síntomas tóxicos que aparecen en los animales y el tiempo que tardan en aparecer. Habitualmente se utilizan por lo menos 3 especies de animales (una de las cuales no es un roedor) y la toxicidad aguda (Figura 1-2) se determina por más de una vía de administración.

En los últimos años se ha reducido el número de animales utilizados para determinar la letalidad, lo que también ha disminuido la precisión.

Se ha reconocido que esta precisión no es necesaria para la evaluación global de la toxicidad en la especie humana, ya que la DL50 o DL90 tiene poco valor predictivo si no va acompañada de

estudios a largo plazo que valoren otras manifestaciones de la toxicidad que no sean la muerte (Braga et al. 2013)

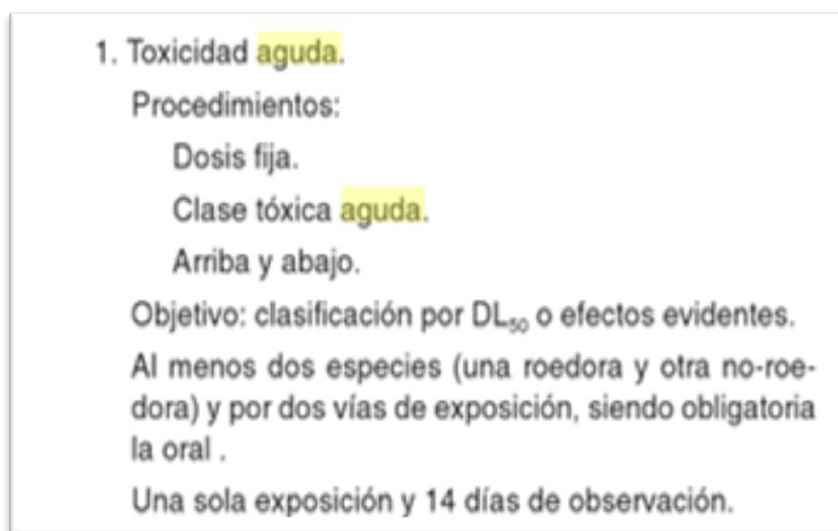


Figura 2-1: Principales ensayos toxicológicos regulados

Fuente: Repetto, 1997.

1.12. Toxicidad aguda oral (arriba y abajo)

Este método de la clase tóxica aguda tiene por objetivo administrar dos dosis una alta y una baja para identificar la toxicidad de la planta en estudio la cual se administrará empleando una cánula intragástrica.

Para saber su toxicidad se empleará un análisis de sangre con las pruebas de hematología y pruebas químicas específicas como también un estudio patológico de los órganos internos del animal de experimentación.

Para tener un control de su toxicidad se tomará en cuenta el peso corporal semanalmente y los signos tóxicos diariamente, permaneciendo en observación los animales durante 14 días.(Olaniyan & Muhammad 2015)

Al finalizar los 14 días de la administración oral se realizará una necropsia el animal de experimentación en la cual se observará macroscópicamente los órganos y tejidos fundamentales (corazón, riñón, bazo, pulmón, hígado, ovarios), luego se les tratará con un procedimiento histopatológico para observar microscópicamente los órganos mencionados. (Rudnicki et al. 2007)(Goñi et al. 2011)(Braga et al. 2013)

OCDE	UE	PROCEDIMIENTO	Nº Animales
	Código	TOXICIDAD AGUDA	
420	B1 bis	Toxicidad aguda (oral) método de dosis fija.	12 rata
423	B1.tris	Toxicidad aguda (oral) método de la clase tóxica aguda .	12 rata
425		Toxicidad aguda por vía oral- Procedimiento arriba y abajo.	15 rata
403	B2	Toxicidad aguda por inhalación.	40 rata
(433)		Toxicidad aguda por inhalación: Procedimiento de la dosis fija.	24 rata
(436)		Toxicidad aguda por inhalación: Procedimiento de la clase tóxica aguda .	
402	B3	Toxicidad aguda por vía dérmica.	35 rata
(434)		Toxicidad aguda por vía dérmica: Procedimiento de la dosis fija.	20 rata
404	B4	Toxicidad aguda - irritación de la piel.	3 conejo
405	B5	Toxicidad aguda - irritación ocular.	3 conejo
406	B6	Sensibilización de la piel.	30 cobayo
429	B42	Sensibilización dérmica: Nódulo linfático Local.	25 ratón
404	B40	Corrosión dérmica.	3 conejo
430	B40	Corrosividad <i>In vitro</i> : Resistencia eléctrica transcutánea (TER).	1 rata
431	B40 bis	Corrosividad <i>In vitro</i> : Modelo de piel humana .	0
(435)		Corrosividad <i>in vitro</i> : método de la membrana barrera.	0
432	B41	Fototoxicidad- Ensayo <i>in vitro</i> de fototoxicidad 3T3 NRU.	0

Figura 3-1: Métodos regulados de evaluación de la toxicidad aguda, toxicidad crónica

Fuente: Repetto, 1997.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Tipo y Diseño de Investigación.

La presente investigación es de tipo exploratoria, correlacional, con diseño experimental debido a la manipulación de varias variables, que permitió observar *in vivo* con el uso de un modelo control *Rattus norvegicus* hembra para determinar el nivel toxicológico agudo tras la administración oral del extracto etanólico de la planta *P. tripartita* y *P. manicata*

2.2. Lugar de investigación

La parte experimental se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia en el laboratorio de Recursos naturales y en el Bioterio de la presente Escuela.

2.3. Materiales equipos y reactivos

2.3.1. *Materiales*

2.3.1.1. *Material Biológico*

El animal de experimentación se utilizó ratas albinas (*Rattus norvegicus*) del bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, con un peso de 200g de sexo femenino y con una edad de tres meses.

2.3.1.2. *Material Vegetal*

Como materia prima se utilizó las hojas completas de la planta *P. tripartita* y *P. manicata* secas.

2.3.1.3. *Materiales de laboratorio*

- Algodón
- Balón de aforo (1000mL)
- Balón esmerilado (250mL)
- Cánula intragástrica
- Embudo simple y buchner
- Jeringa (5mL)
- Papel aluminio
- Parafilm
- Pipetas graduadas (5mL, 10mL)
- Pipetas volumétricas (5mL, 10mL)
- Probetas (100mL, 1000mL)
- Trípode
- Varilla de agitación
- Vaso del liofilizador (250mL)
- Vasos de precipitación (10mL, 50mL, 250mL)

2.3.1.4. *Equipos*

- Balanza analítica (HDM AS 220.R2)
- Bomba al Vacío (Gast)
- Computador (HP Pavilion dm4)
- Congelador (whirlpool)
- Desecador
- Estufa (Mettler)
- Liofilizador (Thermo)
- Microtomo (Thermo SCIENTIFIC FINESSE 325)
- Procesador (Thermo SCIENTIFIC STP 120)
- Rota Vapor (Buchi)
- Sonicador (Branson)

2.3.1.5. *Reactivos*

- Ácido acético
- Ácido fórmico
- Agua destilada
- Agua Bidestilada
- Alcohol potable (96%)
- Alcohol preparado al 85%

- Extracto etanólico (300mL/kg, 2000mL/kg)
- Propilenglicol 15%

2.4. Metodología

2.4.1. Preparación del extracto etanólico de las hojas de *P. tripartita* y *P. manicata*

Se emplearon las hojas de la planta *P. tripartita* y *P. manicata*, recolectadas en la provincia de Chimborazo, Cantón Pallatanga, parroquia Juan de Velasco, las mismas que fueron limpiadas y seleccionadas con las mejores condiciones. La identificación de la muestra se realizó en el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y el respectivo permiso del ministerio del ambiente.

El secado de las hojas de la planta en estudio previamente limpias, se efectuó en un cuarto oscuro a temperatura ambiente envueltas en papel periódico con el objetivo de llevar las hojas a una humedad menor del 14% según la farmacopea, el cual fue triturada en el Laboratorio de Recursos Naturales con una malla número 14 para poder disminuir el tamaño de las partículas de la droga vegetal. (Ye et al. 2014)

Con 10g de planta seca previamente triturada se coloca en un balón esmerilado de 250mL, cubriendo la boca del balón con parafilm y el resto con papel aluminio, posteriormente se añadió 50mL de solvente etanólico (alcohol 85%) para que este cubra totalmente la planta, posterior se deja por 24 horas la mezcla protegido de la luz, una vez culminado el tiempo se somete a ultrasonido por 30 minutos. (Ye et al. 2014) (Cho et al. 2016)

Mediante un embudo buchner con un sistema de bomba al vacío se filtra la muestra para separar el líquido de la materia vegetal sólida la cual se coloca en un balón esmerilado de 250 mL, para la realización del concentrado mediante evaporación con la ayuda de un Rotavapor a 200rpm con una temperatura del baño maría de 40°C. Al tener el extracto concentrado se procederá este a congelar utilizando Nitrógeno, la muestra se llevará al equipo liofilizador que tiene un sistema de bomba al vacío con el fin de que la muestra se seque la cual tiene un tiempo de 12 horas.

2.4.1. Cromatografía en capa fina (CCF)

La cromatografía se utilizó la metodología para determinar glicósidos flavónicos (Gráfico 3-2). Se preparó soluciones alcohólicas de 2000 ppm, luego se procedió aplicar 10 μ L con pipeta automática en una placa cromatográfica. Se introdujo la placa en la cuba, hasta que el solvente recorra las $\frac{3}{4}$ partes de la placa; se utilizó la fase móvil ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26). Se retiró la placa y se dejó secar. Se reveló con cloruro de aluminio y observó en la cámara UV. Se midieron los Rf(Shanmugam et al. 2015)

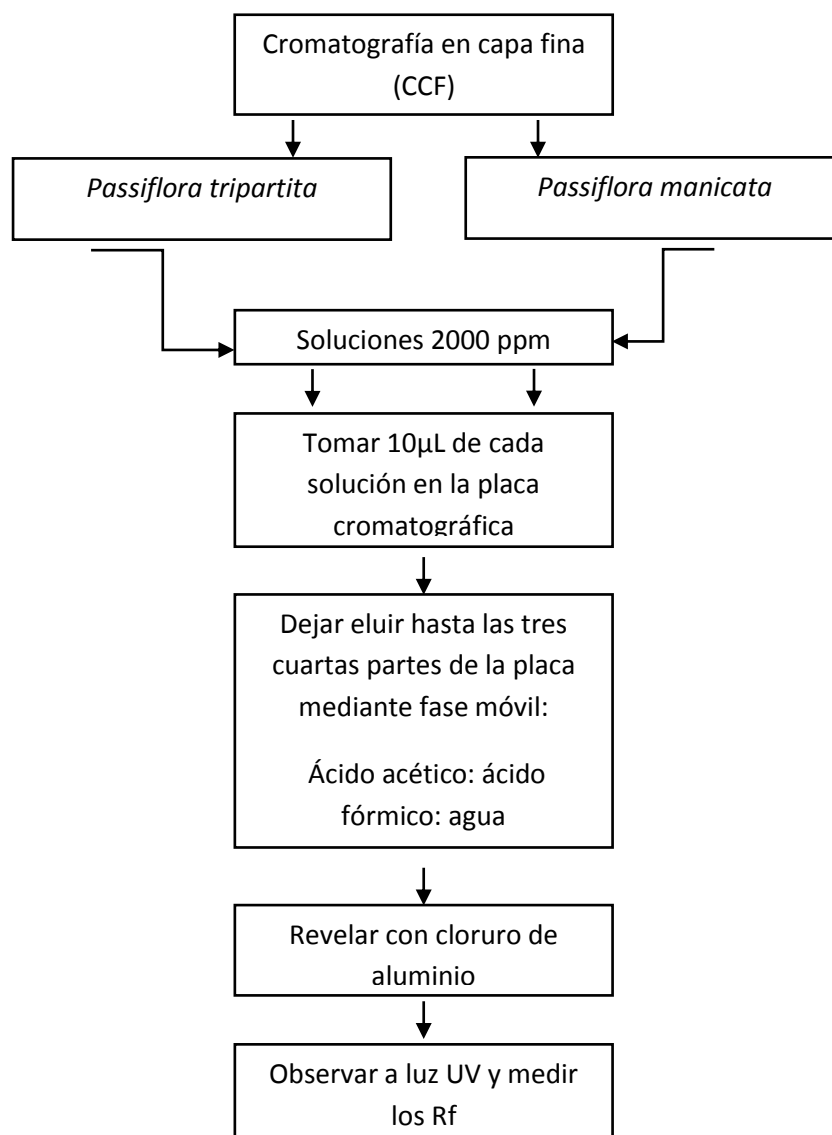


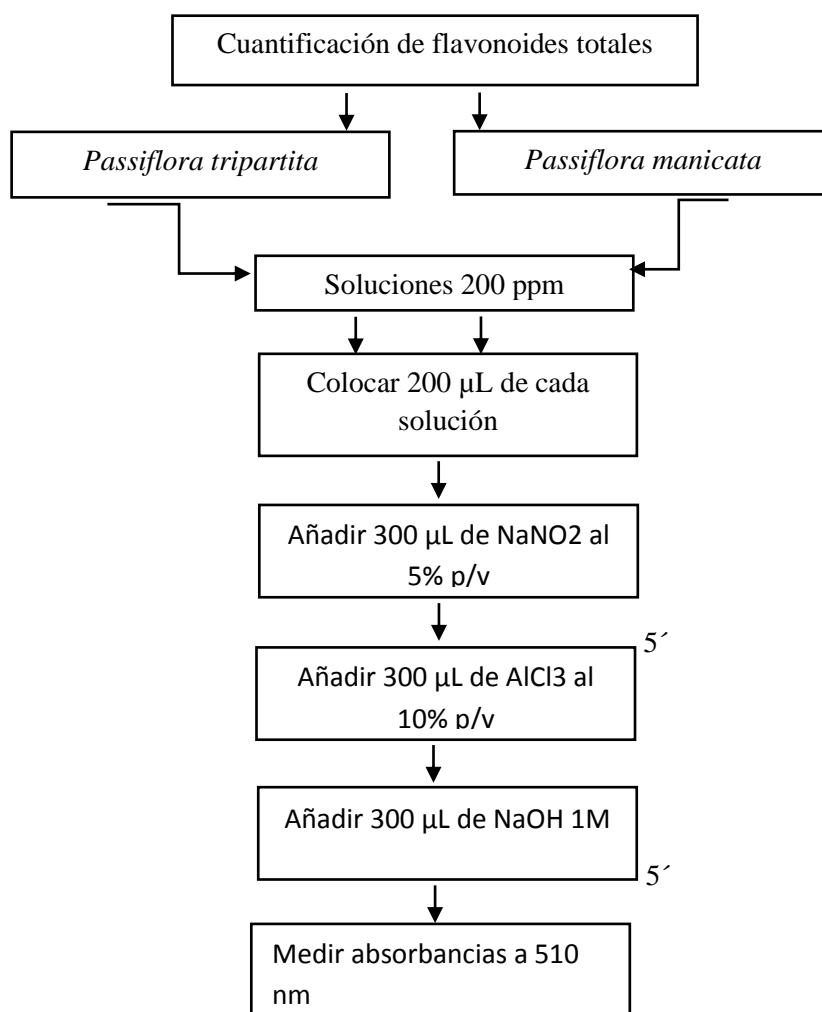
Gráfico: 1-2 Flujograma de cromatografía en capa fina (CCF)

Fuente: BRAVO, Diego, 2016

2.4.2. Cuantificación de flavonoides

El contenido de flavonoides en extractos liofilizado de cada especie fue medido por espectrofotometría en tres repeticiones y está basada en el estudio de Hua & Teik, 2012. Se realizó una solución de 200 ppm de la cual se tomó una alícuota de 200 μL , luego se añadió 300 μL de NaNO_2 al 5% p/v, se homogenizó, se dejó en reposo durante 5 min, luego se añadieron 300 μL de AlCl_3 al 10% p/v, se agitó y se dejó en reposo durante 6min, para finalizar se agregó 300 μL de NaOH 1M.

La absorbancia de la reacción fue medida después de 6 minutos de la última adición, a 510 nm. La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración de rutina de 20 a 100 mg/L. Los flavonoides totales se expresan como miligramos de quercetina por gramos de extracto liofilizado. (Das et al. 2015)(Saravanan et al. 2014)



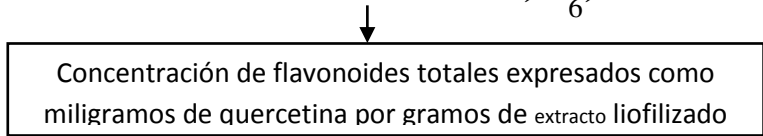


Gráfico: 2-2 Flujoograma de cuantificación de flavonoides totales

Fuente: BRAVO, Diego, 2016

2.4.2. Preparación del vehículo (propilenglicol 15%) con el extracto

El vehículo que va acompañado con el extracto de *Passiflora* para la administración por vía oral a los animales de experimentación se lo realizó en un 15%, es decir 15 mL de propilenglicol aforado en 100mL de agua destilada, la cual se calculó por volumen/volumen

2.4.3. Tipo y Diseño de Experimentación

En la presente investigación se lleva a cabo un diseño experimental por lo tanto la población de estudio es el total de ratas administradas a dos dosificaciones de 300mg/Kg (dosis baja) y de 2000mg/Kg (dosis alta) peso del animal de experimentación

La selección de los grupos de ratas para el control toxicológico agudo administrado por vía oral a una dosis baja y alta fue conformada tomando en cuenta varios factores como se los demuestra en la tabla 1-2

Tabla 1-2: Características del animal de experimentación

CARACTERISTICAS	<i>Rattus norvegicus</i>
Cantidad	36
Edad	adultez
Sexo	Hembra
Peso promedio	200 g

Fuente: BRAVO, Diego, 2016

Para cada *Passiflora* estudiada se empleó cuatro grupos de animales de experimentación los cuales se definieron por peso y están conformados de un número determinado como se lo puede ver en las tablas 2-2, 3-2, cada grupo esta designado según la dosis los cuales son:

- Grupo I: control
- Grupo II: propilenglicol
- Grupo III: toxicidad aguda por vía oral de baja concentración
- Grupo IV: toxicidad aguda por vía oral de alta concentración

Tabla 2-2: Grupo *P. tripartita*

Grupo	Grupo I	Grupo II:	Grupo III	Grupo IV
Numero de animal	6	6	6	6
Especie	<i>Rattus norvegicus</i>			
Sexo	Hembras			
Edad	3 meses de edad			
Peso promedio	200 g			
Administración	Sin extracto etanólico	Administradas solo con la dosis del vehículo (propilenglicol)	Administradas a Dosis única a cada miembro del grupo (300mg/kg)	Administradas a Dosis única a cada miembro del grupo (2000mg/kg)
Tipo de administración	Vía oral			
Materia prima	<i>P. tripartita</i>			
Parte de la planta usada	Hojas completas			

Fuente: BRAVO, Diego, 2016

Tabla 3-2 Grupo *P. manicata*

Grupo	Grupo I	Grupo II:	Grupo III	Grupo IV
Numero de animal	6	6	6	6
Especie	<i>Rattus norvegicus</i>			
Sexo	Hembras			
Edad	3 meses de edad			
Peso promedio	200 g			
Administración	Sin extracto etanólico	Administradas solo con la dosis del vehículo (propilenglicol 15%)	Administradas a Dosis única a cada miembro del grupo (300mg/kg)	Administradas a Dosis única a cada miembro del grupo (2000mg/kg)
Tipo de administración	Vía oral			
Materia prima	<i>P. manicata</i>			
Parte de la planta usada	Hojas completas			

Fuente: BRAVO, Diego, 2016

Esta proporcionalidad se debe a que en el grupo experimental se trabajó con un solo número determinado de ratas en la dosis administrada, en cambio que el vehículo se utiliza el mismo grupo para ambas *Passifloras*, al igual que el grupo control solo se trabajó con un número determinado de ratas; a pesar de ello la participación de los animales de experimentación fue muy cautelosa por parte del investigador para identificarlas por bloques.

2.4.4. Periodo de investigación (Bioensayo)

La determinación de la actividad toxicológica se realizó empleando procedimientos in vivo utilizando 36 ratas (*Rattus norvegicus*), cuyos animales de experimentación en primer lugar se los dividió como indica en la tabla 2.3-2 que contiene IV grupos los cuales se los dividió por peso rata con una relación de dosis baja a pesos medianos y dosis altas a peso altos, mientras tanto que los grupos control I, II son pesos más bajos y se los estandarizó por un periodo de ambientación de 31 días a las mismas condiciones ambientales, con bebedero conteniendo 200mL de agua, como también de alimentación 10g/día/rata que equivale a un pellet, esto se

realizó de acuerdo al protocolo de investigación en el BIOTERIO de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH. Con una temperatura de 25°C con un intervalo de 2°C, a una humedad relativa de 40% con una variedad de 10%, con un sistema de 12/12 que significa 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.(Braga et al. 2013)(Traesel et al. 2014)(Y. Li et al. 2015)

Todos los grupos de animales de experimentación se trataron con ética animal y concorde a sus experimentaciones se etiquetó la caja de vivienda como también a cada animal de experimentación por bloques.

2.4.4.1. *Día cero*

Una vez transcurrido el periodo de ambientación que duró 31 días con las cajas etiquetadas y divididos los animales de experimentación por cada grupo de dosificación se realizó el pesaje a todas las ratas el cual demuestra con que peso iniciamos la investigación(Pernambuco et al. 2009)(Dhawan et al. 2004)

En el mismo día se le extrajo el líquido vital a cada animal de experimentación en dos tubos diferentes de color violeta y de color rojo para determinar cada parámetro que son:

- Hematológico: Glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, CHCM, Leucocitos, Neutrófilos Linfocitos, Monocitos, Eosinófilos y basófilos
- Bioquímica sanguínea: Urea, Creatinina, Bilirrubina Total, AST, ALT.

Al terminar la extracción de sangre se les dosificó siguiendo el orden de la Tabla 2-2 y 3-2, de la siguiente manera:

- Grupo I: es el grupo control el cual no se le administro ningún extracto.
- Grupo II: es este grupo se le administro solo el vehículo que en este caso es el propilenglicol al 15% y por vía oral al animal de experimentación.
- Grupo III: a diferencia del grupo II se le administro el vehículo junto con el extracto etanólico (*P. manicata* y *P. tripartita*) a una dosis baja que en este caso es de 300mg/Kg peso del animal de experimentación por vía oral.

- Grupo IV: a diferencia del grupo II se le administra el vehículo junto con el extracto etanólico (*P. manicata* y *P. tripartita*) a una dosis baja que en este caso es de 2000mg/Kg peso del animal de experimentación por vía oral.(Miroddi et al. 2013)(Dhawan et al. 2004) (Goñi et al. 2011)

2.4.4.2. Día 1 al Día 14

El bioensayo se lo realizó durante 15 días a partir desde el día de administración en este caso es el día cero, con lo cual se observó clínicamente fundamentalmente los siguientes parámetros de forma cualitativa:

- Se prestó atención los cambios de piel y del pelaje como si se tiene un color diferente en la piel como moretones o la presencia de hematomas así también se determinó si el pelaje esta erizado o la caída del mismo.
- En el caso del consumo del agua y de alimentación de determino mediante el dispendio de agua en mL y el peso de los pellets/día que comen los animales de experimentación
- En la parte de la actividad autonómica se observó principalmente si el animal de experimentación tenía una la lacrimación principalmente en los 3 primeros días, el color de ojos, el patrón respiratorio después de la administración en especial en la dosis alta.
- Durante los 15 días de investigación se observó si en el animal de experimentación tenía un cambio de postura en el microambiente como también la respuesta a la manipulación.
- Se observó detenidamente la presencia de movimientos tónicos o clónicos en especial en las dosis altas como también una presencia de estereotipias.
- Durante los 3 primeros días se determinó principalmente la presencia de automutilación en todas las administraciones. (Silva et al. 2012)(Rojas 2009)(Rojas et al. 2009)

2.4.4.3. *Día 15*

Se realizó el sacrificio del animal para la realización del estudio de cortes histológicos conjunto con el diagnóstico de los siguientes órganos:

- **Histopatológico:** cerebro, corazón, pulmón, hígado y riñón.(Rojas et al. 2009)

2.4.5. *Material biológico (histopatológico)*

Nuestro material biológico es una autopsia del animal de experimentación para el estudio de toxicidad en los tejidos de los diferentes órganos especificados.

Todo el material biológico se los etiquetó según el tipo de órgano, el tipo de dosificación, color que se le asignó a cada animal de experimentación y se los puso en un contenedor estéril para la realización de cortes histológicos. (Ansaloni et al. 2010)

Una vez tomada la muestra del material biológico sufrió la muestra un tratamiento que se le llama Fijación con la idea de que el tejido no sufra cambios en sus células y que se mantenga intacto sus propiedades.

Esta es la etapa se utilizó un equipo que contiene cubetas listas con soluciones para las muestras la cual es automática y cada tratamiento duró 18 horas ya que contiene 18 cubetas, entre las funciones que cumple son:

- **Deshidratación:** la muestra se deshidrata y que contiene aún agua en su interior y para quitar el exceso del fijador.
- **Aclaramiento o diafanización:** para que la muestra sea más transparente para su posterior lectura.
- **Inclusión:** a la muestra biológica se le pone en parafina caliente en estado líquido

Una vez terminado la inclusión a la muestra se le saca del procesador para solidificar a la muestra en un molde de acero para que quede fija la muestra. Se realizó los cortes histológicos a un diámetro de 5 micrómetros con la ayuda del micrótopo para un corte limpio. En este paso el corte ya sacado del micrótopo se puso en una placa portaobjeto para posteriormente teñir la muestra.(Das et al. 2015)(Ana et al. 2005)

La muestra biológica que está en la placa portaobjeto se tiñe con una coloración Hematoxilina-Eosina con una secuencia adecuada para que los tejidos obtenga su coloración adecuada para la observación microscópicamente. Se observó las placas histológicas luego del tratamiento para determinar su nivel de daño en los tejidos de cada órgano del animal de experimentación.(Bravo & Rada 2007)

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS

El número de animales de experimentación que se usó en esta investigación es similar a la población expuesta OECD 421-423 (organización para la cooperación y el desarrollo económico) toxicidad alta y baja como modelo clásico de toxicidad, según Ndaleh Wozerou Nghonjuyi, et al. (2016) y Fengjin Liet al. (2015) cuyo grupo expuesto fue de 3, de 6, 15 ratas respectivamente para cada modelo de experimentación llamado modelo experimental arriba y bajo de toxicidad aguda.

Los animales seleccionados fueron ratas hembras jóvenes, sanas, nulíparas, de peso +20% de la media de animales antes dosificados como lo indica la OECP 423, como preferencia al tener más susceptibilidad como lo indica los autores Draulio C. et al. (2012). de las cuales sangre para los siguientes análisis hematológicos, química sanguínea como se indican a continuación:

3.1. Análisis cuantitativo de los valores hematológicos antes y después de su administración del extracto etanólico de las *P. tripartita* y *P. manicata* realizada en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela superior politécnica de Chimborazo.

Tabla 1-3 Datos hematológicos: recuento de Glóbulos Blancos, día cero VRN ($4 \cdot 10^{12}/L$).

BLOQUE	Blanco	Vehículo	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	8,35	9,16	9,98	7,37	8,27	8,62
Bloque 2	7,45	7,15	11,55	8,52	8,33	9,29
Bloque 3	8,53	9,25	7,79	7,21	10,18	8,89
Bloque 4	7,48	7,08	8,30	7,83	10,06	9,74
Bloque 5	7,64	8,01	7,27	9,13	7,77	9,91
Bloque 6	7,56	7,67	7,79	9,13	8,33	8,41
PROMEDIO	7,83	8,13	8,78	8,20	8,82	9,14

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 2-3 Resultados de Anova para la evaluación de Glóbulos Blancos día cero.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7,97	5,00	1,59	1,59	0,19	2,53
Dentro de los grupos	30,07	30,00	1,00			
Total	38,04	35,00				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 3-3 Datos hematológicos: recuento de Glóbulos Blancos, día quince VRN ($4 \cdot 10^6 / L$).

BLOQUE	Blanco	Vehículo	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	9,05	10,19	7,22	8,09	9,65	9,97
Bloque 2	8,13	8,36	9,86	8,25	9,13	10,3
Bloque 3	8,01	9,09	11,01	10,23	10,48	9,97
Bloque 4	7,03	8,98	7,22	11,16	10,14	10,07
Bloque 5	8,05	7,09	8,91	7,25	8,98	10,03
Bloque 6	7,19	8,98	11,41	9,018	9,78	9,68
PROMEDIO	7,91	8,78	9,27	9,00	9,69	10,00

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 4-3 Resultados de Anova para la evaluación de Glóbulos Blancos día quince

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	16,35	5	3,27	2,66	0,041	2,53
Dentro de los grupos	36,84	30	1,23			
Total	53,19	35				

Realizado por: Diego Bravo, 2015

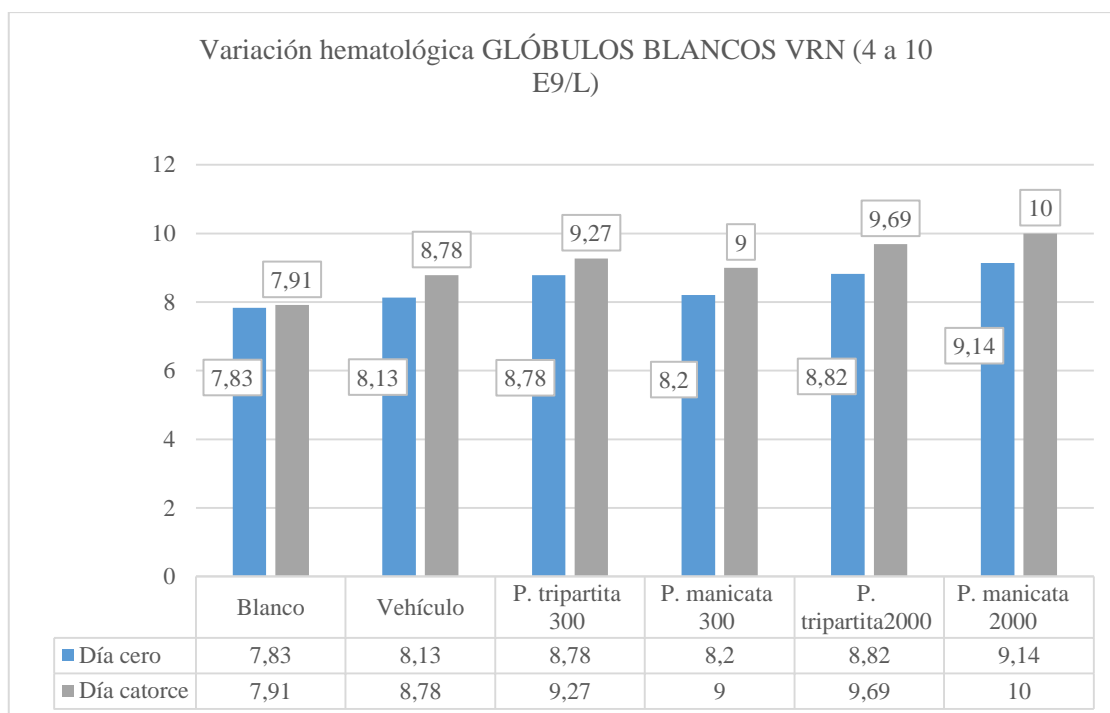


Gráfico 1-3: Variación hematológica GLÓBULOS BLANCOS del día cero y quince del promedio del grupo experimental y grupo control.

En la tabla 1-3 se muestran los resultados del análisis de Glóbulos blancos en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración posterior de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 2-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,19 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En la tabla 3-3 se muestran los resultados del análisis de Glóbulos Blancos en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 4-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,04 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

Como se evidencia en el gráfico 1-3 todos los promedios están en el rango de los valores normales de los glóbulos blancos, siendo el menor el grupo control con $7,91 \times 10^{12}/L$. y el mayor el grupo de experimentación que es la *P. manicata* con una administración de 2000 mg/Kg con

un promedio de $10,00 \times 10^{12}/L$ que bordea el límite superior de los valores de referencia, lo que nos indica que hay diferencia mínima en este grupo de dosificación.

Amit D. Kandhare (2015) nos indica que en el análisis de glóbulos blancos se encuentra un alza no significativa en los promedios basales en un estudio de investigación, esto se especifica a una respuesta misma del organismo ya que al ingerir una sustancia extraña y a una dosis muy elevada como en este caso que es de 2000 mg/Kg peso de la rata se encuentra ligeramente elevada con respecto al grupo control, pero sigue en los valores de referencia.

Ben-Gui Ye (2014), concluye que, a las diferentes dosis de 1000, 2000 4000 y 10000 mg/Kg peso de rata, no se encuentra una diferencia significativa en los valores de glóbulos blancos de la investigación de toxicidad aguda. El extracto de plantas de *Passifloras* no tiene ningún comportamiento anormal con respecto a sus estructuras con el organismo de la rata con los glóbulos blancos, lo que está en concordancia con lo explicado por Ahlem et al. (2009)

Tabla 5-3 Datos hematológicos: recuento de Glóbulos Rojos, día cero VRN ($3.5-5 \times 10^{12}/L$)

BLOQUE	Blanco	Vehículo	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	4,43	4,22	4,38	4,56	4,53	4,54
Bloque 2	4,99	3,70	3,92	4,25	4,01	3,75
Bloque 3	3,99	4,30	4,61	3,57	5,03	3,84
Bloque 4	4,75	7,53	4,18	4,27	4,31	3,70
Bloque 5	4,68	4,96	5,04	3,79	3,53	3,66
Bloque 6	4,72	4,07	4,61	4,29	4,71	4,35
PROMEDIO	4,59	4,94	4,46	4,12	4,35	3,97

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 6-3 Resultados de Anova para la evaluación de Glóbulos Rojos día cero

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2,74	5,00	0,55	1,18	0,34	2,53
Dentro de los grupos	13,96	30,00	0,47			
Total	16,70	35,00				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 7-3 Datos hematológicos: recuento de Glóbulos Rojos, día quince VRN ($3.5-5 \times 10^{12}/L$).

BLOQUE	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	4,58	5,14	4,42	5,11	4,14	4,48
Bloque 2	4,18	4,54	5,09	4,17	3,97	3,6
Bloque 3	5,18	4,37	4,52	4,18	4,91	3,79
Bloque 4	3,81	3,91	3,92	5,47	4,11	3,59
Bloque 5	4,30	4,32	4,78	4,13	3,41	3,55
Bloque 6	4,04	3,41	5,52	4,79	4,52	4,29
TOTAL	4,35	4,28	4,71	4,64	4,18	3,88

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 8-3 Resultados de Anova para la evaluación de Glóbulos Rojos día quince

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2,80	5	0,56	2,06	0,099	2,53
Dentro de los grupos	8,15	30	0,27			
Total	10,94	35				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

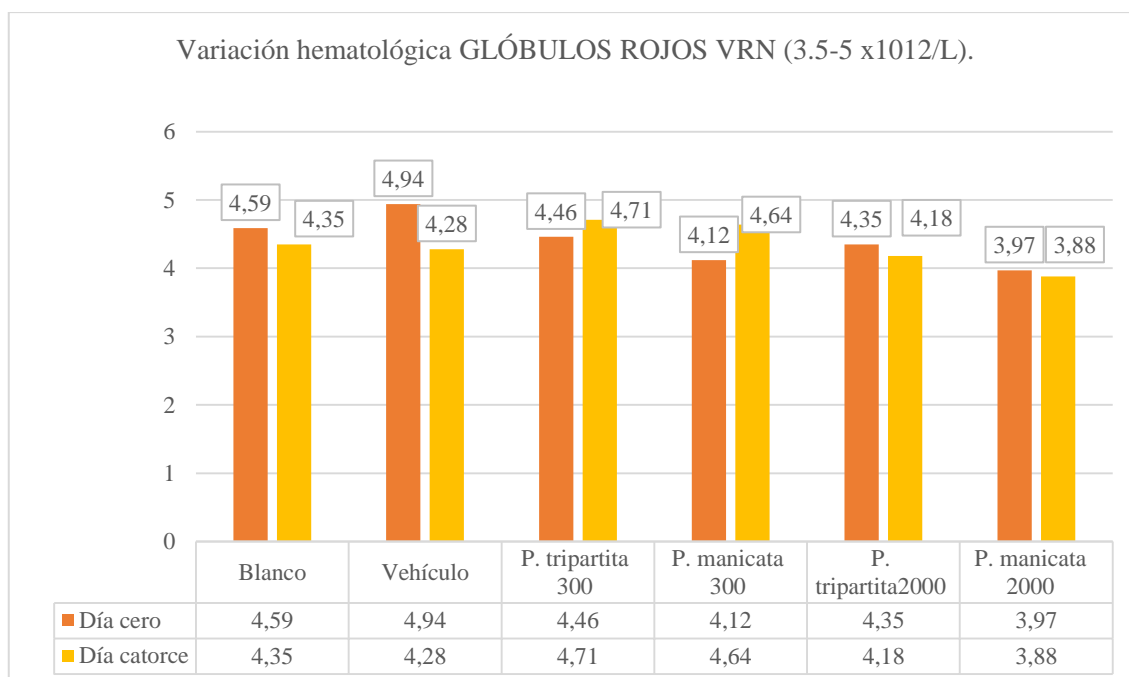


Gráfico 2-3: Variación hematológica GLÓBULOS ROJOS del día cero y quince del promedio del grupo experimental y grupo control.

En la tabla 5-3 se muestran los resultados del análisis de Glóbulos Rojos en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración posterior de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 6-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,34 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En la tabla 7-3 se muestran los resultados del análisis de Glóbulos Rojos en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 8-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,09 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de control y de experimentación dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En el gráfico 2-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de glóbulos rojos obtenidos en el día catorce después de la administración de las especies de pasifloras en donde existen valores en los promedios entre el grupo control que tiene 4,35 con el grupo experimental de mayor dosis de las *P. tripartita* y *P. manicata* de $4,18 \times 10^{12}/L$, $3,88 \times 10^{12}/L$ respectivamente.

Como se evidencia en el gráfico 6-3 todos los promedios están dentro del rango de los valores normales de los glóbulos rojos, dando una diferencia significativa mínima y no por el aumento sino porque los valores de las *Passifloras* a mayor dosis bajaron comparando con el grupo control y con el grupo experimental del día cero antes de la administración. Esto nos indica que tiene un efecto sobre los glóbulos rojos las plantas.

Liangqing Zheng (2016) nos indica que los cambios de glóbulos rojos disminuyen al deberse que se encuentra mayor producción de óxido nítrico ya que las pasifloras actúan como vaso dilatador, esto argumentamos con lo que dice Ben-Gui Ye (2014) que tiene un efecto hipotensor bajando la presión sistólica, diastólica y media, ya que el organismo no necesita muchos glóbulos rojos para el transporte de oxígeno.

Ben-Gui Ye (2014), concluye que, a las diferentes dosis de 1000, 2000 4000 y 10000 mg/Kg peso de rata, no se encuentra una diferencia significativa de aumento en los valores de glóbulos rojos de la investigación de toxicidad aguda, pero existe una disminución y se lo atribuye a la mayor producción de óxido nítrico que actúa como hipotensor ya que la composición química de las pasifloras tiene un compuesto llamado quercetina el que ayuda o interactúa en el cuerpo para la mayor producción de óxido nítrico.

Tabla 9-3 Datos hematológicos: recuento de Plaquetas, día cero VRN (100-500x10⁹/L)

BLOQUE	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	318,00	403,00	359,00	427,00	422,00	648,00
Bloque 2	460,00	303,00	344,00	408,00	451,00	217,00
Bloque 3	318,00	404,00	431,50	434,00	305,00	498,00
Bloque 4	349,50	439,00	476,00	424,00	342,00	529,00
Bloque 5	344,25	408,00	387,00	438,00	502,00	416,00
Bloque 6	346,88	396,50	431,50	238,00	451,00	495,00
PROMEDIO	356,10	391,40	404,83	394,83	412,17	467,17

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 10-3 Resultados de Anova para la evaluación de Plaquetas día cero

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	39.429,86	5,00	7.885,97	1,19	0,34	2,53
Dentro de los grupos	198.339,22	30,00	6.611,31			
Total	237.769,08	35,00				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 11-3 Datos hematológicos: recuento de Plaquetas, día quince VRN (100-500x10⁹/L)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i>	<i>P. manicata</i>	<i>P. tripartita</i>	<i>P. manicata</i>
			300 mg/Kg	300 mg/Kg	2000 mg/Kg	2000 mg/Kg
Bloque 1	429	529	514	700,9	430	651
Bloque 2	383	379	487	390	459	258
Bloque 3	383	543	520	407	312	501
Bloque 4	358	360	494	416	354	531
Bloque 5	411,25	321	417	418	512	436
Bloque 6	307	416	460	353,1	459	500
TOTAL	378,54	424,67	482,00	447,50	421,00	479,50

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 12-3 Resultados de Anova para la evaluación de Plaquetas día quince

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	46476,30	5	9295,26	1,12	0,373	2,53
Dentro de los grupos	249972,55	30	8332,49			
Total	296448,86	35				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

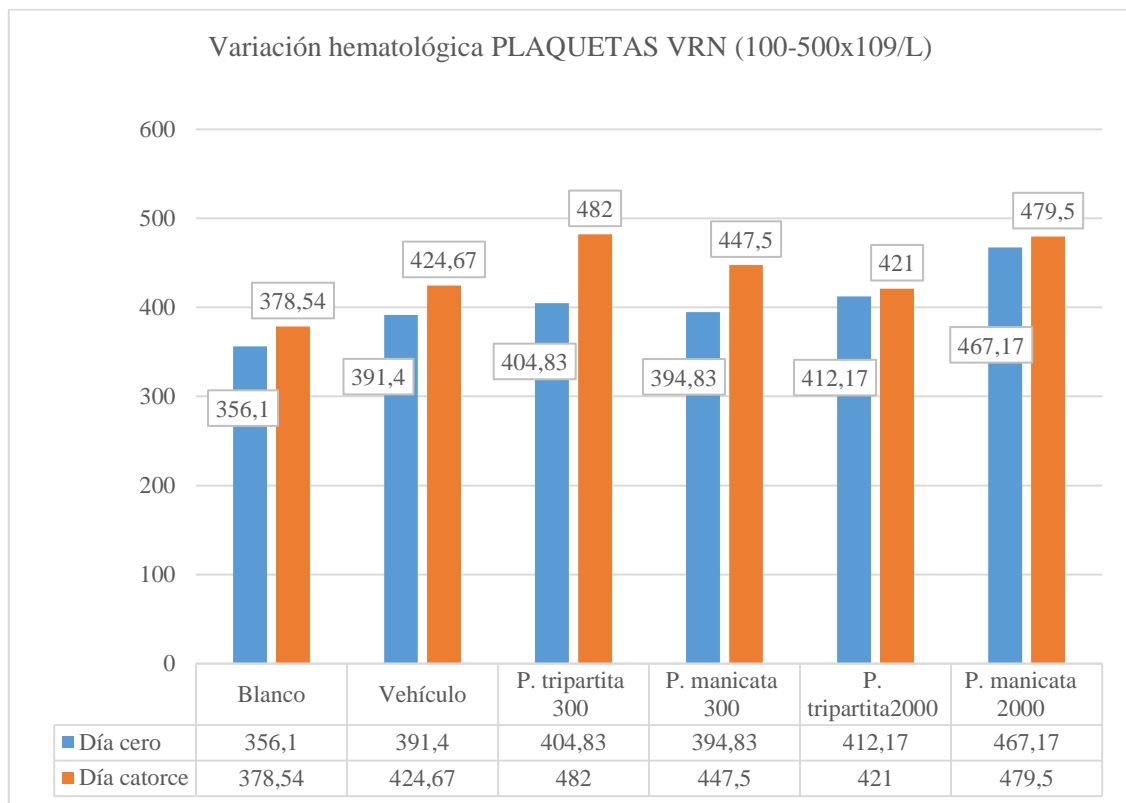


Gráfico 3-3: Variación hematológica PLAQUETAS del día cero y quince del promedio del grupo experimental y grupo control.

En la tabla 9-3 se muestran los resultados del análisis de plaquetas en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración posterior de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 10-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,34 no existe una diferencia significativa

entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

En la tabla 11-3 se muestran los resultados del análisis de plaquetas en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 12-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,3 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de control y de experimentación dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En el gráfico 3-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de plaquetas obtenidos en el día quince después de la administración de las especies de *Passifloras* en donde existen valores de los promedios entre el grupo control que tiene 378,54 x10⁹/L con el grupo experimental, como también la comparación a los resultados del día cero antes de la administración.

Como se evidencia en el gráfico 3-3 todos los promedios están dentro del rango de los valores normales de plaquetas, dando una diferencia significativa mínima y no por que están fuera del rango, sino que tiene diferencia entre el grupo control y el grupo de experimentación. Como también se puede evidenciar que se tiene un cambio entre el día cero y el día después de la administración esto puede deberse a la dosis que se empleó que fue de 300 y 2000mg/Kg peso rata.

MyoungLae Cho (2016) nos indica que los cambios de plaquetas de los valores basales a los valores de las ratas no tienen un cambio significativo en los parámetros por la razón de que no hay ningún daño tisular en los órganos estudiados en el histopatológico.

Andressa Braga (2013) concluye que en los órganos estudiados a nivel histopatológico no presenta daños en la toxicidad aguda por consiguiente no hay un alza en los resultados de plaquetas ya que no existe la presencia del tapón plaquetarios y en si no se tiene la cascada plaquetaria activada.

3.2. Análisis cuantitativo del promedio de los valores de Química Sanguínea del día cero y día quince de su administración del extracto etanólico de las *P. tripartita* y *P. manicata* realizada en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela superior politécnica de Chimborazo

Tabla 13- 3: Datos Química Sanguínea: determinación de Urea, día cero VRN (32-54 mg/dL)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	40,8	52,8	48,1	52,8	44,4	52,7
Bloque 2	50	51,1	46	47,7	47,2	50
Bloque 3	48,2	47,7	50,5	52	35,4	49,7
Bloque 4	45,9	50,1	40,9	46	49,7	42,9
Bloque 5	46,7	46,7	49,7	30,1	50,2	50,4
Bloque 6	49,8	41,7	40,2	50,5	45,4	48,9
PROMEDIO	46,90	48,35	45,90	46,52	45,38	49,10

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 14- 3: Resultados de Anova para la evaluación de Urea día cero

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	61,78	5,00	12,36	0,47	0,80	2,53
Dentro de los grupos	790,35	30,00	26,35			
Total	852,13	35,00				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 15- 3: Datos Química Sanguínea: determinación de Urea, día quince VRN (32-54 mg/dL)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	41,8	53,1	50,8	53,2	55,1	55,2
Bloque 2	50,3	52,3	49,1	49,1	55,9	54,5
Bloque 3	49,2	50,9	53,7	52,7	55,7	55,8
Bloque 4	45,8	51,7	48,2	50,7	56,1	58,1
Bloque 5	46,1	48,9	52,7	39,1	55,7	57,7
Bloque 6	50,3	43,9	42,2	52,5	54,9	55,8
TOTAL	47,25	50,13	49,45	49,55	55,57	56,18

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 16- 3: Resultados de Anova para la evaluación de Urea día quince

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	397,689	5	79,537	6,798	0,00024024	2,533
Dentro de los grupos	350,980	30	11,699			
Total	748,669	35				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

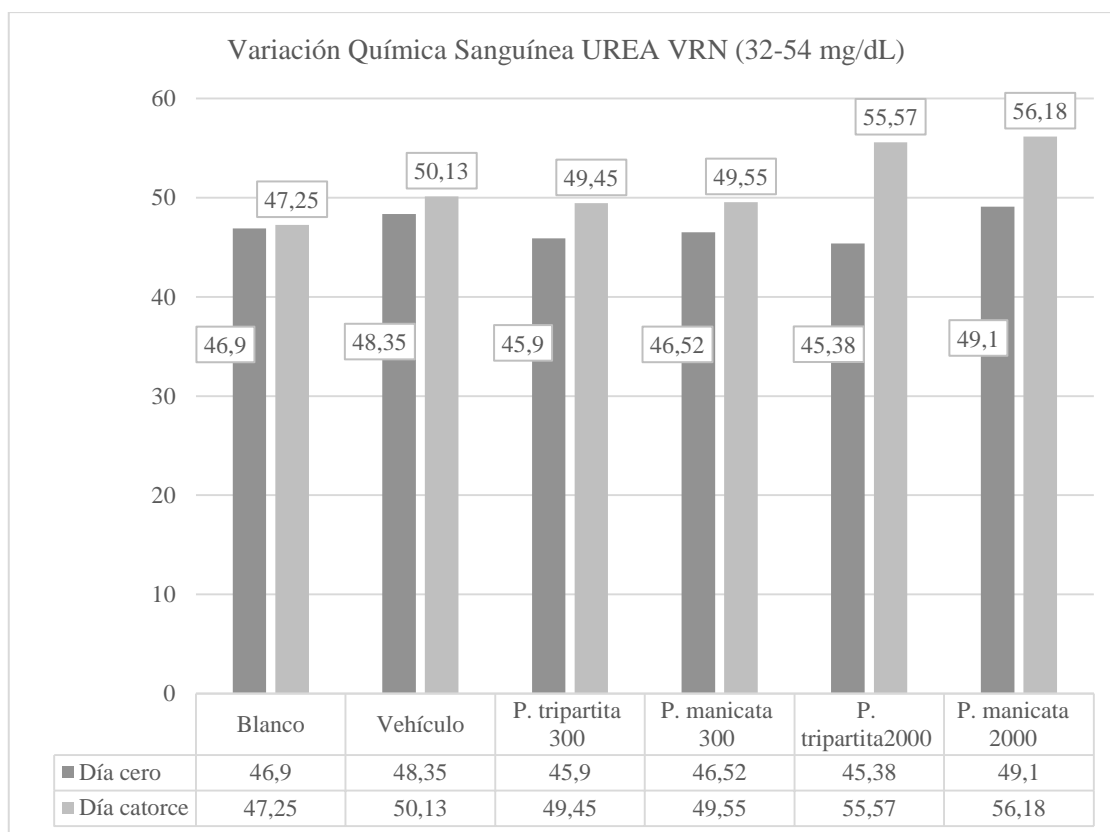


Gráfico 4-3: Variación Química Sanguínea UREA del día cero y quince del promedio del grupo experimental y grupo control.

En la tabla 13-3 se muestran los resultados del análisis de urea en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración posterior de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 14-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0.8 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En la tabla 15-3 se muestran los resultados del análisis de urea en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 16-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,00024024 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En el gráfico 4-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de urea obtenidos después de la administración de las especies de pasifloras en donde existen valores en los

promedios que no se encuentran dentro del rango, siendo estos *P. tripartita* 2000 de 55,57 mg/dL y *P. manicata* 2000 de 56,18 mg/dL.

Rojas, (2006) expresa en el artículo de Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora*, el aumento de los niveles de Urea puede deberse a un daño renal, una de las causas para un mal funcionamiento de los riñones es la hipotensión, provocando caída del filtrado glomerular y del flujo sanguíneo renal.

Para explicar sobre la hipotensión con relación de los valores de urea Vázquez Vigoa (1998) conjuntamente con el trabajo de Madrideo Mora, Rosa (2016), se concluye que la *P. tripartita* y *P. manicata* son ricas en flavonoides, sobre todo quercetina, la cual induce una reducción significativa en la presión arterial sistólica, diastólica y media, pues promueve la expresión del ARNm de sintasa del óxido nítrico endotelial aumentando su producción, principal vasodilatador.

Tabla 17-3 Datos Química Sanguínea: determinación de Creatinina, día cero VRN (0.69-2.19 mg/dL)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	0,87	0,72	0,80	1,28	0,87	0,46
Bloque 2	1,28	1,61	1,17	1,01	0,99	0,88
Bloque 3	1,19	0,80	1,03	1,68	1,24	1,08
Bloque 4	0,93	0,71	1,65	0,89	1,43	1,05
Bloque 5	1,12	1,72	1,03	1,28	0,94	1,38
Bloque 6	0,98	1,53	1,23	1,19	1,36	1,04
TOTAL	1,06	1,18	1,15	1,22	1,14	0,98

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 18-3 Resultados de Anova para la evaluación de Creatinina día cero

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,23	5,00	0,05	0,48	0,79	2,53
Dentro de los grupos	2,82	30,00	0,09			
Total	3,05	35,00				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 19-3 Datos Química Sanguínea: determinación de Creatinina, día quince VRN (0.69-2.19 mg/dL)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	0,9	0,91	1,54	1,68	1,04	1,08
Bloque 2	1,2	1,78	1,67	1,77	1,14	1,32
Bloque 3	1,21	1,13	1,14	1,92	1,59	1,48
Bloque 4	0,85	1,22	1,61	1,22	1,65	1,43
Bloque 5	1,19	1,02	1,04	1,38	1,31	1,59
Bloque 6	1,03	1,07	1,22	1,49	1,48	1,39
PROMEDIO	1,06	1,19	1,37	1,58	1,37	1,38

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 20-3 Resultados de Anova para la evaluación de Creatinina día quince

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,95	5	0,19	3,23	0,019	2,53
Dentro de los grupos	1,76	30	0,06			
Total	2,70	35				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

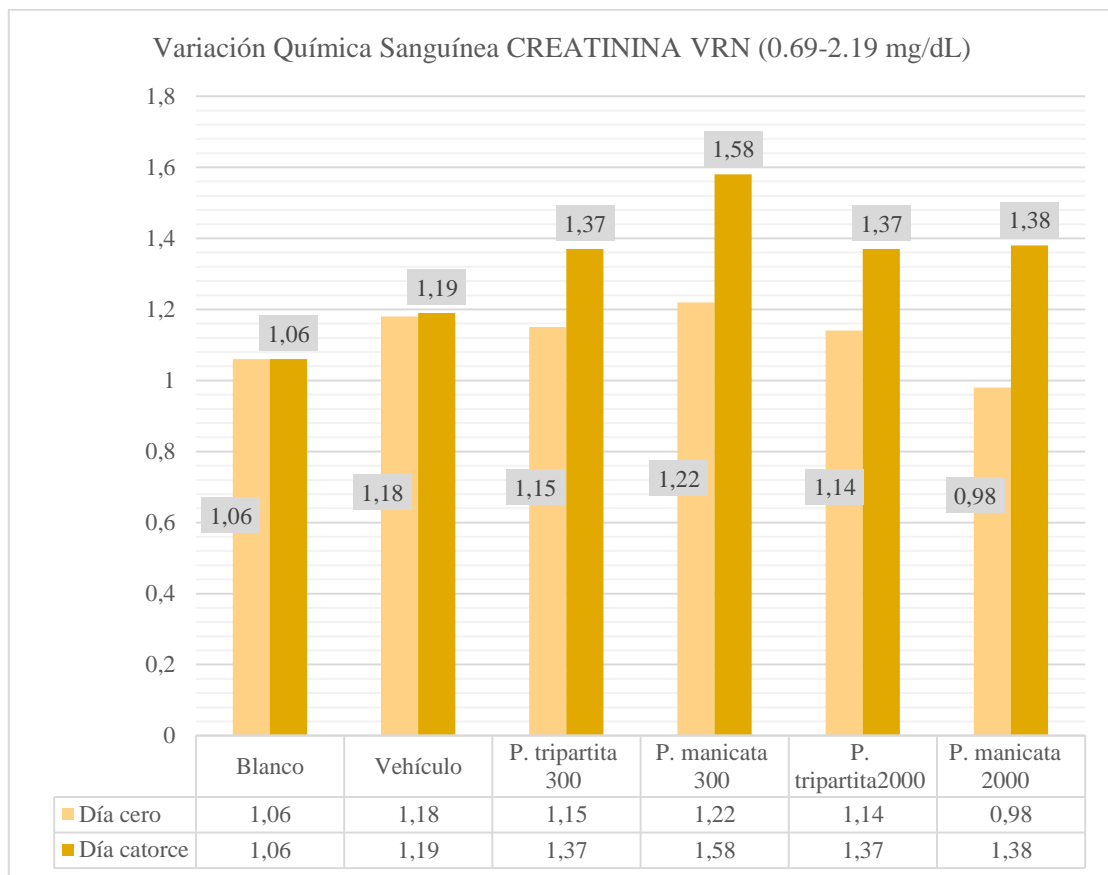


Gráfico 5-3: Variación Química Sanguínea CREATININA día cero y quince del promedio del grupo experimental y grupo control.

En la tabla 17-3 se muestran los resultados del análisis de creatinina en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración posterior de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 18-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,79 no existe una diferencia significativa

entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

En la tabla 19-3 se muestran los resultados del análisis de Creatinina en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó las administraciones de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 20-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,019 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En el gráfico 5-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de creatinina obtenidos el día catorce después de la administración de las especies de *Pasifloras* en donde todos los promedios están dentro del rango de referencia, teniendo en claro que se tiene una diferencia significativa entre el grupo control que tiene un valor de 1,03 mg/dL y el grupo de experimentación manicata de 1,58 mg/dL cada uno.

Rojas, (2006) expresa que el aumento de los niveles de creatinina puede deberse a un daño renal, una de las causas para un mal funcionamiento de los riñones es la hipotensión, provocando caída del filtrado glomerular y del flujo sanguíneo renal, en cambio en nuestra investigación no se obtuvo un aumento más alto de los valores normales solo un aumento entre grupos lo que nos indica que no se tiene un mal funcionamiento de riñón.

Para explicar sobre la hipotensión con relación de los valores de urea Vázquez Vigoa (1998) conjuntamente con el trabajo de Madrideo Mora, Rosa (2016), podemos expresar que *P. tripartita* y *P. manicata* son ricas en flavonoides, sobre todo quercetina, la cual induce una reducción significativa en la presión arterial sistólica, diastólica y media, pues promueve la expresión del ARNm de sintasa del óxido nítrico endotelial, principal vasodilatador.

Tabla 21-3 Datos Química Sanguínea: determinación de Bilirrubina, día cero VRN (0.042-0.25 mg/dL)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	0,09	0,09	0,05	0,15	0,08	0,06
Bloque 2	0,10	0,10	0,10	0,19	0,14	0,10
Bloque 3	0,12	0,02	0,11	0,07	0,18	0,18
Bloque 4	0,08	0,10	0,09	0,07	0,23	0,19
Bloque 5	0,10	0,08	0,09	0,10	0,08	0,09
Bloque 6	0,19	0,18	0,10	0,08	0,11	0,14
TOTAL	0,11	0,09	0,09	0,11	0,14	0,13

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 22-3 Resultados de Anova para la evaluación de Bilirrubina día cero

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,01	5,00	0,00	0,93	0,48	2,53
Dentro de los grupos	0,07	30,00	0,00			
Total	0,08	35,00				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 23-3 Datos Química Sanguínea: determinación de Bilirrubina, día quince VRN (0.042-0.25 mg/dL)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	0,09	0,092	0,054	0,19	0,099	0,098
Bloque 2	0,097	0,057	0,099	0,21	0,19	0,23
Bloque 3	0,12	0,047	0,16	0,089	0,23	0,24
Bloque 4	0,083	0,097	0,098	0,91	0,25	0,22
Bloque 5	0,098	0,076	0,19	0,18	0,12	0,14
Bloque 6	0,19	0,098	0,31	0,99	0,21	0,2
PROMEDIO	0,11	0,08	0,15	0,43	0,18	0,19

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 24-3 Resultados de Anova para la evaluación de Bilirrubina día quince

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,46	5	0,09	3,09	0,025	2,53
Dentro de los grupos	0,92	30	0,03			
Total	1,38	35				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

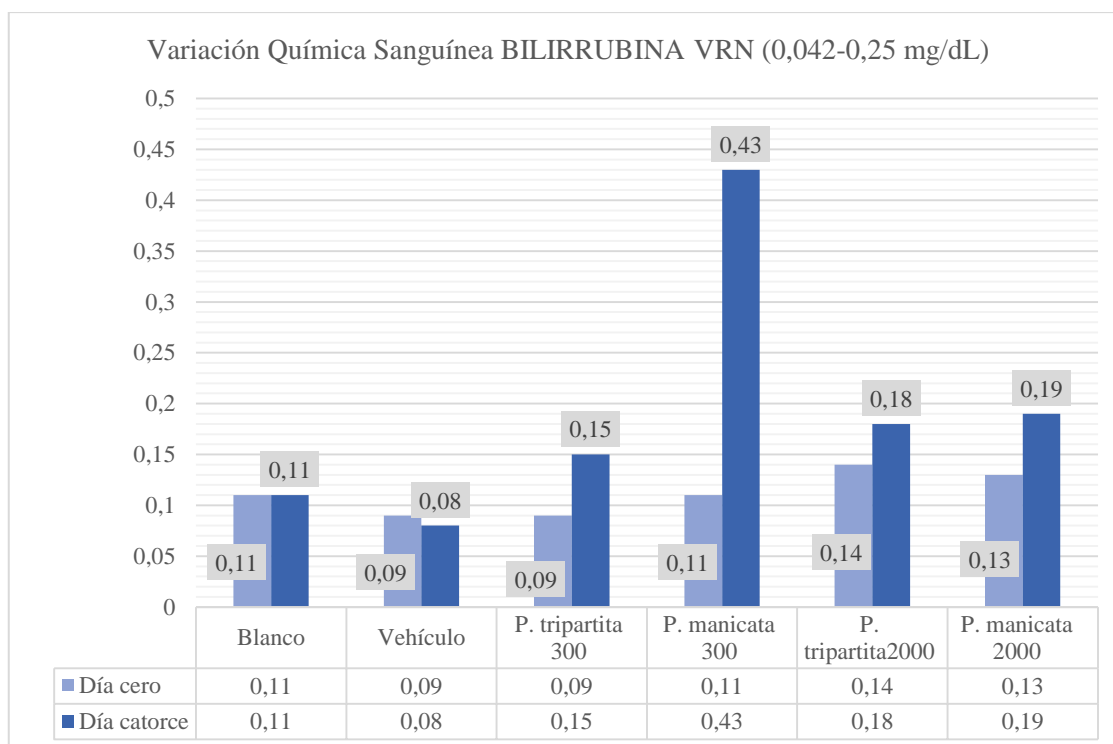


Gráfico 6-3: Variación Química Sanguínea BILIRRUBINA día cero y quince del promedio del grupo experimental y grupo control.

En la tabla 21-3 se muestran los resultados del análisis de Bilirrubina en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración posterior de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 22-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,48 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

En la tabla 23-3 se muestran los resultados del análisis de Bilirrubina en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 24-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,025 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En el gráfico 6-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de bilirrubina obtenidos después de la administración de las especies de pasifloras en donde existen valores en los promedios que no se encuentran en concordancia con el grupo control ya que se tiene 1,06 mg/dL mientras que el grupo de experimentación es de 1,58 mg/dL de *P. manicata*.

Jane M. Boeira (2010) se expresa que la bilirrubina con respecto a su incrementación pero no significativa se debe a la presencia de saponinas triterpenoidales presentes en las hojas de *Passifloras*, debido a este compuesto se debe al efecto que tiene sobre el hígado un efecto tóxico con la posibilidad de un daño en el tejido, mientras que en la presente investigación los valores no sobrepasan de los valores de referencia y con el histopatológico se pudo decir que no hay toxicidad ya que no se encontró ningún daño a nivel tisular.

Janet Mobolaji Olaniyan (2016) concluyen que las saponinas tripterpenoidales poseen una estructura muy similar a los esteroides y estos son un efecto hepatotóxicos a los estrógenos; que a un nivel toxico subcrónico sube muy levemente fuera de los rangos normales de la bilirrubina. En la presente investigación tenemos una subida, pero no están fuera de los rangos lo que indica no hay un efecto toxico que se pudo complementar con el análisis histopatológico.

Tabla 25-3 Datos Química Sanguínea: determinación de TGO, día cero VRN (49.23-95.01U/L)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	73,00	85,90	81,80	91,40	71,40	81,70
Bloque 2	67,20	83,20	53,60	82,20	82,20	78,60
Bloque 3	59,80	69,00	99,60	95,20	70,20	91,50
Bloque 4	59,80	89,60	97,60	87,10	77,10	44,80
Bloque 5	67,20	64,70	54,70	91,40	71,40	81,70
Bloque 6	60,80	79,20	69,20	82,20	82,20	91,50
TOTAL	64,63	78,60	76,08	88,25	75,75	78,30

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 26-3 Resultados de Anova para la evaluación de TGO día cero

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.716,75	5,00	343,35	2,30	0,07	2,53
Dentro de los grupos	4.474,87	30,00	149,16			
Total	6.191,62	35,00				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 27-3 Datos Química Sanguínea: determinación de TGO, día quince VRN (49.23-95.01 U/L)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	84,7	86,6	84,8	92,6	95,3	96,6
Bloque 2	69,2	81,2	61,5	85,9	95,3	95,9
Bloque 3	66,4	79,6	99,9	95,6	95,7	97,4
Bloque 4	61,9	92,7	97,1	89,6	95,3	95
Bloque 5	69,7	76,2	57,1	93,9	95,7	97,3
Bloque 6	59,2	83,5	72,3	82,9	96,9	97,2
PROMEDIO	68,52	83,30	78,78	90,08	95,70	96,57

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 28-3 Resultados de Anova para la evaluación de TGO día quince

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3515,43	5	703,09	9,08	2,4198E-05	2,53
Dentro de los grupos	2322,28	30	77,41			
Total	5837,71	35				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

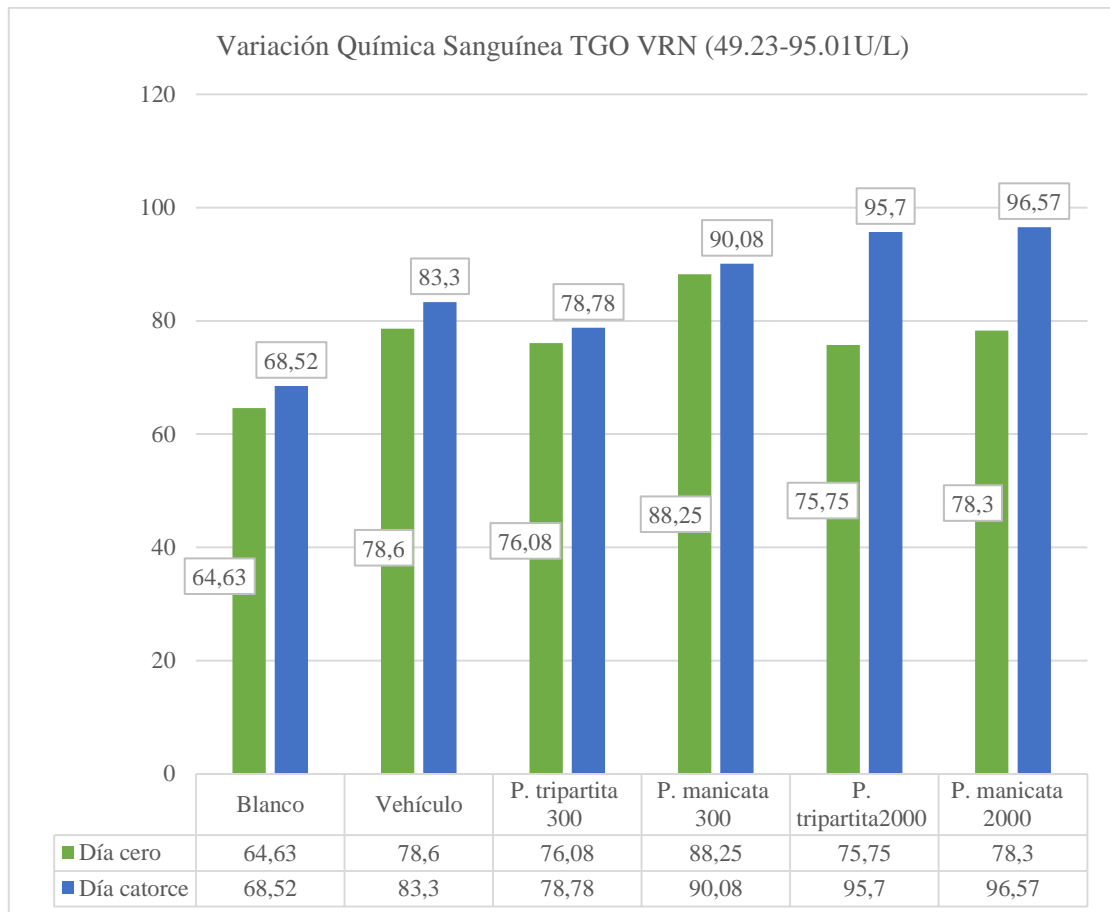


Gráfico 7-3: Variación Química Sanguínea TGO día cero y quince del promedio del grupo experimental y grupo control.

En la tabla 25-3 se muestran los resultados del análisis de TGO en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración posterior de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas,

estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 26-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,07 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

En la tabla 27-3 se muestran los resultados del análisis de TGO en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 28-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 2,4198E-05 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En el gráfico 7-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de urea obtenidos después de la administración de las especies de pasifloras en donde existen valores en los promedios que no se encuentran dentro del rango, siendo estos *P. tripartita* 2000 de 95,70 U/L y *P. manicata* 2000 de 96,57 U/L

Sasikala V (2011) nos indica en el estudio analgésico y antiinflamatorio los niveles de TGO suben del valor de referencia como en el caso de esta investigación y se debe a la atribución como respuesta del cuerpo, pero no es toxica o no indica un daño hepático ya que en muchos casos los niveles regresan a su estado normal como lo indica la FDA del año 2001.

MyoungLae Cho (2016) con la investigación aguda y subcrónica se define que se encuentra la presencia de modificaciones en la permeabilidad transmembranal o daño celular, considerándose como un indicador altamente sensible de hepatotoxicidad con la ayuda de la FDA del año 2001 considerándose el 300% más del valor límite superior del valor de referencia, por esta razón se deduce que en la presente investigación no hay la presencia de ningún daño.

Tabla 29-3 Datos Química Sanguínea: determinación de TGP, día cero VRN (25.18 - 48.01 U/L)

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	42,60	53,10	33,10	53,10	47,50	41,30
Bloque 2	47,70	49,00	39,70	48,00	39,80	45,70
Bloque 3	36,20	45,70	45,00	39,70	43,90	43,40
Bloque 4	46,70	47,70	55,00	42,20	37,20	45,40
Bloque 5	37,70	49,00	49,00	48,00	47,50	41,30
Bloque 6	46,20	42,70	42,70	49,70	39,80	43,40
TOTAL	42,85	47,87	44,08	46,78	42,62	43,42

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 303 Resultados de Anova para la evaluación de TGP día cero

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	144,61	5,00	28,92	1,23	0,32	2,53
Dentro de los grupos	702,90	30,00	23,43			
Total	847,51	35,00				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 31-3 Datos Química Sanguínea: determinación de TGP, día quince VRN (25.18 - 48.01 U/L).

Bloque	BLANCO	VEHICULO	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
Bloque 1	41,6	45,5	34,1	53,7	49,1	50,5
Bloque 2	47,8	53,1	41,2	47,7	48,9	52,5
Bloque 3	35,6	43,1	44,8	42,3	48,1	51,3
Bloque 4	46,9	49	56	46,5	48,8	52,9
Bloque 5	37,6	42,7	51,8	44,7	49,1	51,3
Bloque 6	46,4	45,7	44	49,3	47,9	51,5
TOTAL	42,65	46,52	45,32	47,37	48,65	51,67

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Tabla 32-3 Resultados de Anova para la evaluación de TGP día quince

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	279,72	5	55,94	2,86	0,034	2,53
Dentro de los grupos	596,05	30	19,87			
Total	875,77	35				

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

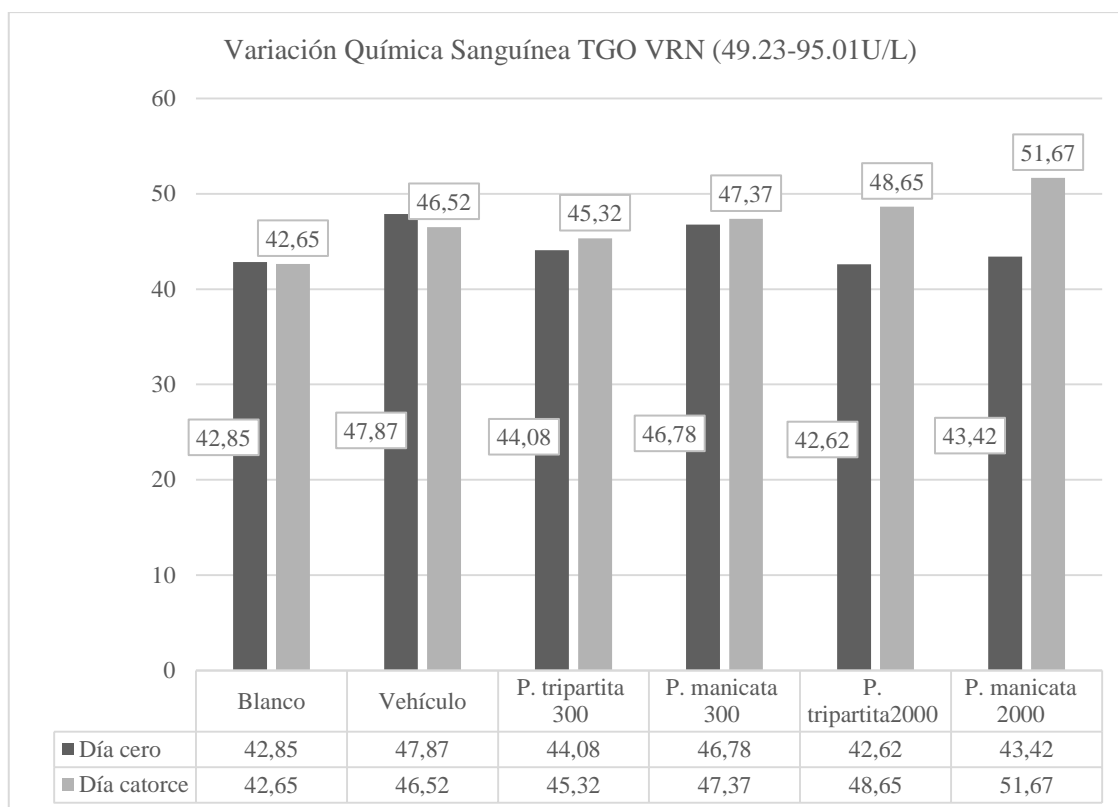


Gráfico 8-3: Variación Química Sanguínea TGP del día cero y quince del promedio del grupo experimental y grupo control.

En la tabla 29-3 se muestran los resultados del análisis de TGP en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración posterior de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 30-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,32 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

En la tabla 31-3 se muestran los resultados del análisis de TGP en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 32-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,034 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En el gráfico 8-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de urea obtenidos después de la administración de las especies de pasifloras en donde existen valores en los

promedios que no se encuentran dentro del rango, siendo estos *P. tripartita* 2000 de 48,05 U/L y *P. manicata* 2000 de 51,67 U/L

Sasikala V (2011) nos indica en el estudio analgésico y antiinflamatorio los niveles de TGP suben del valor de referencia como en el caso de esta investigación y se debe a la atribución como respuesta del cuerpo, pero no es toxica o no indica un daño hepático ya que en muchos casos los niveles regresan a su estado normal como lo indica la FDA del año 2001.

MyoungLae Cho (2016) con la investigación aguda y subcrónica se define que se encuentra la presencia de modificaciones en la permeabilidad transmembranal o daño celular, considerándose como un indicador altamente sensible de hepatotoxicidad con la ayuda de la FDA del año 2001 considerándose el 300% más del valor límite superior del valor de referencia, por esta razón se deduce que en la presente investigación no hay la presencia se ningún daño.

3.3. Análisis cuantitativo de la observación clínica durante 14 días tras su administración.

Tabla 33-3 Resultado de la variación de pesos grupo control y grupo de experimentación.

Variación del promedio de los pesos en los grupos administrados.				% aumento de peso entre el día 0 y el 15
Peso en gramos	Día 0	Día 7	Día 15	
Blanco	183,617	184,168	184,504	0,48349823
Vehículo	208,233	207,784	209,240	0,483319994
P. tripartita 300 mg/Kg	191,400	191,974	192,335	0,488366423
P. manicata 300 mg/Kg	198,267	197,903	199,232	0,486650975
P. tripartita 2 000 mg/Kg	214,667	215,311	215,705	0,483618012
P. manicata 2 000 mg/Kg	220,500	220,053	221,566	0,483219955

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

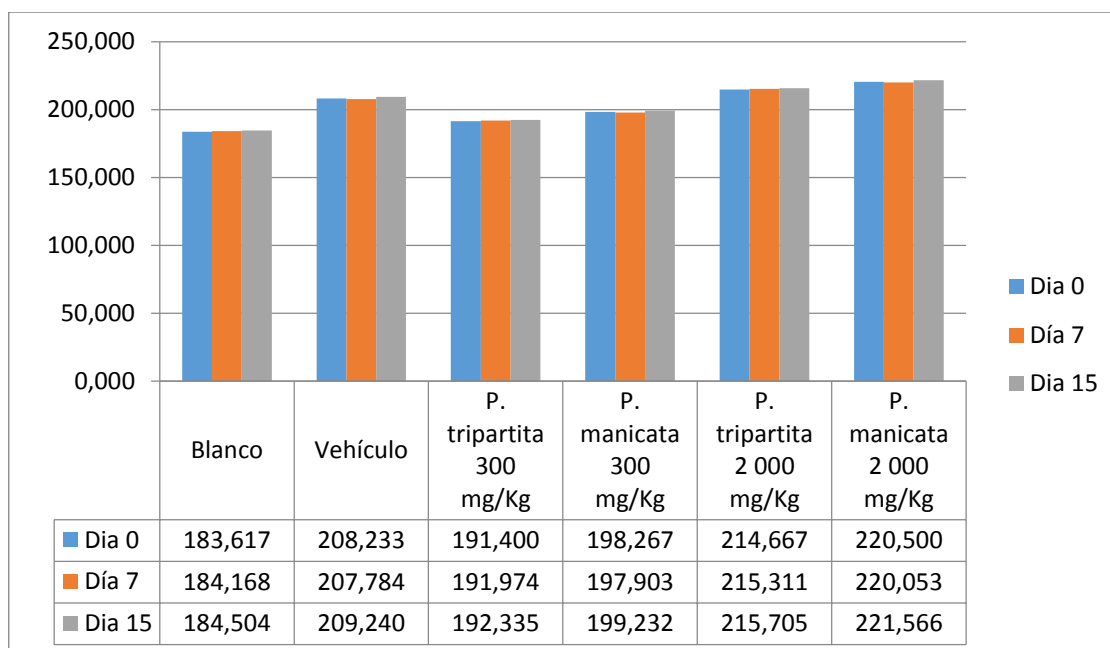


Gráfico 9-3: Niveles de porcentaje de los pesos promedio de grupo control y grupo administración.

Como se demuestra en la tabla 33-3 los porcentajes de aumento de peso tienen una diferencia no significativa ya que todos aumentan un 0.48% con respecto al día cero, al día séptimo y al día catorce que fue el último día de la observación clínica a las dosis específicas.

En la gráfica 9-3 se demuestra los niveles de los porcentajes indicando la variación de los pesos, según ROJAS (2014) en la investigación de toxicidad aguda y subcrónica de la *Passiflora* argumenta que el incremento de los pesos del animal de experimentación no son muy significativos ya que el tubo un aumento del 0.97% en toxicidad aguda mientras que el 0,2% obtuvo en la subcrónica, pudiendo decir que los animales de experimentación no sufren un cambio significativo en la alimentación tras la administración.

Yixing Li, colaboradores (2015), de la investigación toxicidad aguda y crónica de la reacción cysteine Maillard, indica que los porcentajes de aumento de peso no varían significativamente, ya que los extractos administrados de plantas no tienen un efecto en el apetito del animal o no produce efecto de hambre fuera de lo habitual.

Con estos dos argumentos de artículos científicos se puede discutir que los efectos del extracto de las pasifloras administradas no producen un cambio en la ingesta del animal de experimentación, claro está en indicar que el grupo control y el grupo de experimentación tienen el mismo nivel de ingesta de alimento y el mismo porcentaje de peso, lo que indica que no se tiene un incremento de peso significativo.

3.4. Análisis histopatológico del animal de experimentación después de la observación clínica macroscópicamente y microscópicamente.

Tabla 34-3 Resultado examen macroscópico, día quince del grupo control y grupo de experimentación.

Histopatológico Macroscópico						
	Blanco	Vehículo	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2000 mg/Kg
CEREBRO						
BLOQUE 1	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 2	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 3	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 4	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 5	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 6	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
CORAZÓN						
BLOQUE 1	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 2	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 3	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 4	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 5	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 6	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
PULMÓN						
BLOQUE 1	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 2	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 3	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 4	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 5	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 6	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
HIGADO						
BLOQUE 1	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 2	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 3	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 4	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 5	o.n.	o.n.	o.n.	o.a.	o.n.	o.n.
BLOQUE 6	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
RIÑÓN						

BLOQUE 1	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 2	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 3	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 4	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 5	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.
BLOQUE 6	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.	o.n.

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

Las abreviaturas n y o.a. significan normal, órgano anormal correspondientemente

Tabla 35-3 Resultado examen macroscópico, día catorce del grupo control y grupo de experimentación.

Histopatológico Microscópico						
	Blanco	Vehículo	<i>P. tripartita</i> 300 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 300 mg/Kg	<i>P. tripartita</i> 2000 mg/Kg	<i>P. manicata</i> 2 000 mg/Kg
CEREBRO						
BLOQUE 1	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 2	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 3	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 4	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 5	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 6	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
CORAZÓN						
BLOQUE 1	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 2	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 3	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 4	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 5	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 6	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
PULMÓN						
BLOQUE 1	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 2	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 3	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 4	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 5	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 6	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
HIGADO						

BLOQUE 1	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 2	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 3	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 4	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 5	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 6	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
RIÑÓN						
BLOQUE 1	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 2	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 3	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 4	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 5	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.
BLOQUE 6	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.	s.a.

Realizado por: Diego Bravo, 2017

Las abreviaturas s.a significa sin alteración.

En la tabla 34-3, 35-3, se observó que al terminar el tratamiento a diferentes concentraciones de administración del extracto no provocó ningún efecto tóxico a nivel de los órganos implicados en funciones directas en el metabolismo de las sustancias (estómago, hígado y riñones), los resultados demostraron ser seguras a las concentraciones administradas del extracto.

Como lo indica en el cuadro 38-3 a nivel macroscópico todas las muestras están normales sin ninguna especificación de apareamiento de puntos de diferente color o aspecto de alguna alteración, excepto en la dosis de la manicata 300 de color verde ya que en el hígado se observó la presencia de tejido adiposo en abundancia.

Como se demuestra en la tabla 39-3 se puede definir que ningún órgano a nivel microscópico esta alterado en sus tejidos como en el caso del hígado lobulillos hepáticos de arquitectura normal, espacios porta normales, congestión vascular normal. En el riñón Glomérulos normales, túbulos de calibre Normales, Vasos Congestivos normales. En el corazón y pulmón sin ningún daño de arquitectura ni laceraciones. En el caso del cerebro normal en las capas e integridad de la zona protectora.

3.5. Comparación de los niveles promedio del día 14 de valores hematológicos y química sanguínea del extracto etanólico de las *P. tripartita* y *P. manicata*.

Tabla 36-3 Variación hematológica, química sanguínea con respecto a los VRNS.

Química Sanguínea y Hematológicos	Valor de referencia unidades	Blanco día 15	Vehículo día 15	<i>P. tripartita</i> 300 día 15	<i>P. manicata</i> 300 día 15	<i>P. tripartita</i> 2000 día 15	<i>P. manicata</i> 2000 día 15	% de variación con respecto al VRN	% de variación con respecto al VRN	% de variación con respecto al VRN	% de variación con respecto al VRN	% de variación con respecto al VRN	% de variación con respecto al VRN
Urea	32-54 mg/dL	47,25	50,13	49,45	49,55	55,57	56,18	-12,5	-7,160	-8,426	-8,241	2,901	4,043
Creatinina	0.69-2.19 mg/dL	1,06	1,19	1,37	1,58	1,37	1,38	-50,77	-44,98	-36,57	-27,01	-36,65	-36,03
Bilirrubina	0.042-0.25 mg/dL	0,11	0,08	0,15	0,43	0,18	0,19	-54,80	-68,87	-39,27	71,27	-26,73	-24,80
TGO	49.23 - 95.01 U/L	68,52	83,30	78,78	90,08	95,70	96,57	-27,88	-12,33	-17,08	-5,19	0,73	1,64
TGP	25.18 - 48.01 U/L	42,65	46,52	45,32	47,37	48,65	51,67	-11,16	-3,11	-5,61	-1,34	1,33	7,62
Glóbulos Blancos	4 a 10 E9/L	7,91	8,78	9,27	9,00	9,69	10,00	-20,90	-12,18	-7,28	-10,00	-3,07	0,03
Glóbulos Rojos	3,5 a 5 E12/L	4,35	4,28	4,71	4,64	4,18	3,88	-13,03	-14,37	-5,83	-7,17	-16,47	-22,33
Plaquetas	100 a 500 109/L	378,54	424,67	482,00	447,50	421,00	479,50	-24,29	-15,07	-3,60	-10,50	-15,80	-4,10

Realizado por: BRAVO, Diego 2017

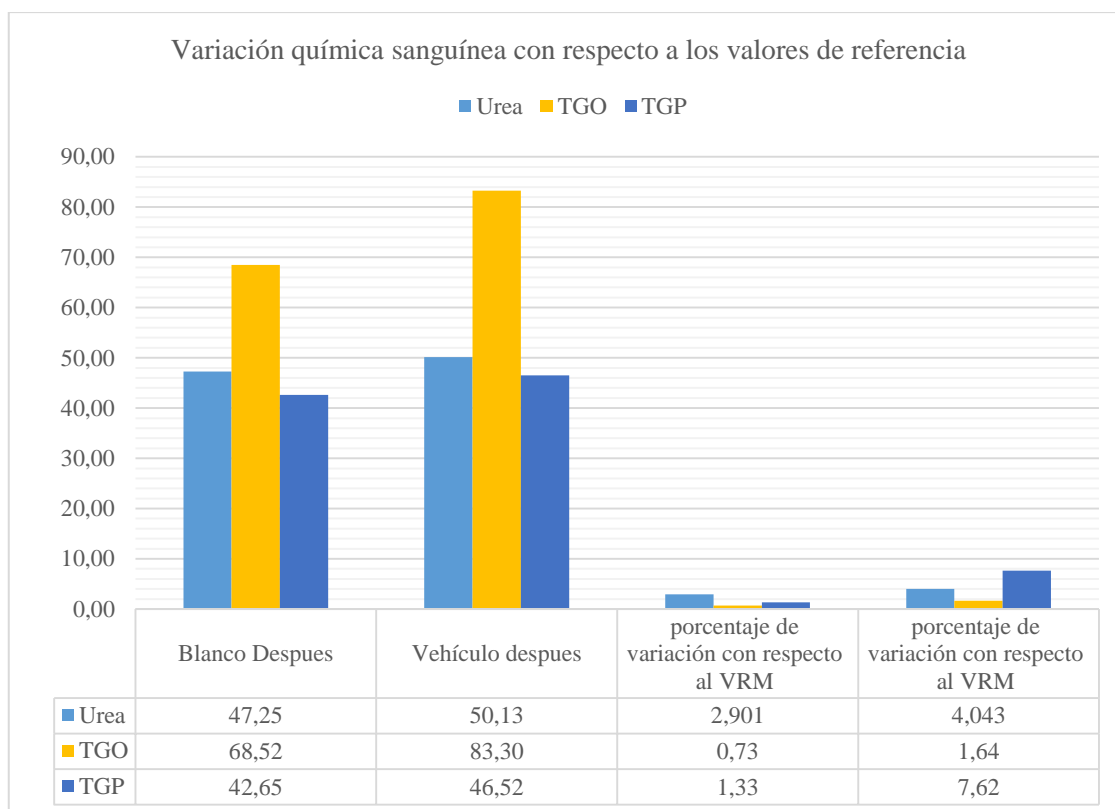


Grafico 10-3 Porcentaje de variación con respecto a los Valores de Referencia Normales de Química Sanguínea.

En la tabla 36-3 se muestran los resultados del análisis de todos los datos del día catorce en los animales de experimentación separados por grupos, en los que se realizó la administración de los extractos de las especies de *P. tripartita* y *P. manicata* en las concentraciones especificadas. evidenciando que el porcentaje de variación de valores normales con respecto al día catorce no salen de los rangos en el grupo control y experimentación a bajas dosis, mientras que a dosis elevada se salió del rango en las pruebas sanguíneas de Urea, TGO y TGP.

En el grafico 10-3 nos representa los valores de referencia normales de la administración alta de los grupos de experimentación comparando el día cero con el día catorce. Lo que nos indica que el TGO, TGP y Urea ya que en el caso de TGP y TGO se deduce que su incremento se debe a un daño hepático, pero si fuera un incremento de 300 y 200 mayor al valor de referencia normal. En el caso de la urea se debe a la mayor producción de óxido nítrico provocando caída del filtrado glomerular y del flujo sanguíneo renal.

Estos valores demostrados no son muy significativos para decir que es un daño hepático ni renal ya que la FDA determina que para ser un daño debe incrementarse 300 y 200 veces mayor al valor de referencia normal superior.

La tolerancia adaptativa se da por la gran capacidad de auto regeneración del hígado; según la conferencia de febrero de 2 001 de la FDA y la Asociación Americana para el Estudio de Enfermedades Hepáticas se determina que la injuria hepática (patología hepática), por los hallazgos de niveles de TGO y TGP implica trecientas veces el límite superior del rango normal sumado al aumento de FAL (fosfatasa alcalina); o aumento de bilirrubina de más de doscientas veces del límite superior normal más cualquier elevación de TGO o fosfatasa alcalina.

CONCLUSIONES

En la presente investigación, la administración por vía oral de una sola dosis 300mg/Kg a un grupo y de 2000mg/Kg al otro grupo de extracto etanólico de las hojas de *P. tripartita* y *P. manicata*, durante 14 días, no se asoció a mortalidad de las ratas ni signos tóxicos evidentes, además de no existir alteración alguna de parámetros físicos y de comportamiento evaluados

El peso corporal es un indicador de gran importancia, pues está involucrado en una serie de cambios orgánicos en diferentes etapas de la vida. Es por ello que una variación en su valor sugiere algún efecto adverso de drogas o químicos y se considera significativa si hay una disminución de más de 10% del peso corporal inicial. Este indicador, en este estudio, tuvo un comportamiento normal de ganancia de peso y no se encontró diferencias significativas con respecto al control.

Los exámenes hematológicos y de química sanguínea son de gran valor en los ensayos toxicológicos a largo plazo, ya que los mismos son indicativos del alcance y profundidad de un daño. Además, los resultados alcanzados pueden ser correlacionados con los posibles daños sobre un órgano específico. Los valores obtenidos en los indicadores hematológicos no mostraron alteraciones importantes; las variaciones encontradas se encuentran dentro del rango establecido por el grupo control y por la literatura especializada

En condiciones experimentales, la administración oral a dosis repetidas durante 14 días del extracto etanólico de las hojas de *P. tripartita* y *P. manicata*, en ratas, no mostró toxicidad fisiológica, morfológica, neurológica, de comportamiento, bioquímica sanguínea ni a nivel histopatológico.

RECOMENDACIONES:

Se debe realizar un extracto etanólico de las *P. manicata* y *P. tripartita* a dosis de 300mg/Kg, 2000 mg/Kg para un estudio toxicológico subcrónico de 28 días, para correlacionar el estudio de la toxicidad aguda y descartar el daño hepático.

Se debe realizar un extracto etanólico de las *P. manicata* y *P. tripartita* a dosis de 300mg/Kg, 2000 mg/Kg para un estudio toxicológico crónico mayor de 28 días, para correlacionar el estudio de la toxicidad aguda como también el subcrónico y descartar el daño hepático.

BIBLIOGRAFÍA.

AKHONDZADEH, S, y otros *Passionflower in the treatment of generalized anxiety* Vol. 26 Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics Teherán : s.n., 2011, China-Beijing pp. 366-367

ACURIO, Luna; et al. Sapiens. “*Propiedades físicas, químicas, térmicas y nutricionales de la badea (Passiflora quadrangularis)*”. Agroindustrial Science Universidad Nacional de Trujillo, vol. 5, s.n 2015, México-Guanajuato, pp. 95-101.

AGENCIA DE REGULACIÓN, Control y Vigilancia Sanitaria. ARCSA. Sistema Nacional de Farmacovigilancia (SNFV). [En línea] 2013.

[Citado el: 18 de 08 de **2016.**]

<http://www.controlsanitario.gob.ec/sistemafarmacovigilancia/>.

AL-HABORI , M *Toxicological evaluation of Catha edulis leaves: a long term feeding experiment in animals*, Vol. 82, Ethnopharmacol 2002. Portugal-Aveiro pp. 46-50.

ANDERSEN, J y JAROSZEWSKI, J *Cyanohydrin*. Olafsdottir Vol. 28, 1988, India-Panjb pp. 127-132.

ANDRESSA, G; et al. Sapiens. “*Implicación de la vía GABAérgicas en la actividad sedante de apigenina, el flavonoide principal Passiflora quadrangularis pericarpio*”. Revista Brasileira de Farmacognosia, vol. 25, 2015, Brasil-Rio de Janeiro pp. 158-163.

ANESINI, C y PEREZ, C *Screening of plants used in argentine folk medicine for antimicrobial activity* Vol. 39 New York Journal of Ethnopharmacology 1993 pp. 120-124.

ANTOIGNONI, Fabiana; et al. Sapiens. "Induction of flavonoid production by UV-B radiation in *Passiflora quadrangularis* callus cultures". *Fitoterapia*, vol. 78, s.n 2007, Italia-Bologna pp. 345-352.

ANZOISE, M, y otros *Propiedades beneficiosas de Passiflora caerulea en la colitis experimental* Vol. 194 *Diario de Etnofarmacología*, Argentina-Buenos Aires, 2016, pp. 137-145.

ARRIAZA, A, y otros *Volatile constituents from fruit shells of P. edulis Sims* Vol. 9 *Journal of Essential Oil Research* 1997, Brasil-Sampaulo. pp. 235-236.

B, Ximena *Traffic International Cambridge*, International T Ecuador-Quito 1999 pp. 57-58

BARTRAM, T. *Herbal medicine*. Inglaterra-London: Robinson Publishers, 1998. Pp. 101-112.

BETIM CAZARIN, Cinthia Baú , y otros, *Intake of Passiflora edulis leaf extract improves antioxidant and anti-inflammatory status in rats with 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid induced colitis* Vol. 17 *Journal of Functional Foods*, Brasil-São Paulo, 2015, pp. 575-586.

BOMBARDELLI, y otros *Passiflorine, a new glycoside from Passiflora edulis* Vol. 14 Fitoquímica 1975, Inglaterra-Liverpool, pp. 98-102.

BOSCH VALDÉS, F, *La medicina natural y tradicional en Cuba* Vol. 12 Resumed Cuba-La Habana, 1999, pp. 3-6

BURGOS, R, HANCKE, J y WIKMAN, G *Toxicological assessment of Aralia mandshurica (Araliaceae) root extract after subchronic administration in rats* Vol. 8 John Wiley & Sons, Ltd 1994 Inglaterra-london, pp. 1-9

CARIELO LIMA, Glauca, y otros *Passiflora edulis peel intake improves insulin sensitivity, increasing incretins and hypothalamic satiety peptide in rats on a high-fat diet*, Vol. 36 Nutrición, Brasil-Rio de Janeiro, pp. 862-870.

CARNÉ, Xavier *La nueva directiva europea sobre medicamentos tradicionales a base de plantas y su transposición a la normativa española* Vol. 121 Medicina Clínica, España-Barcelona, 2003, pp. 655-657.

CARVAJAL DE PABÓN, Luz Marina y ÁLVAREZ, Lizeth Marelly *ALGUNAS ESPECIES DE PASSIFLORA Y SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE*, Medellín Vol. 16 Revista Cubana de Plantas Medicinales, 2011 Cuba-Santiago de Cuba, pp. 245-258.

CASTRO MARCELO, JUAN; & PAREDES RODRIGES, CESAR. *Cultivo de Maracuyá*. Perú, Lima: Amaya Robles, 2010, pp. 4-5

CHALLIER, P, KOULIBALY, A A y FONTIVIELLE, J *Fruit glycosides as aroma precursors* *Wissenschafts-Technikhistoriker* Vol. 21 Kommunikations 1990, Estados Unidos-San Francisco. pp. 38-49.

CHARALAMBOUS, G y INGLETT, G. *Instrumental Analysis of Food V 2: Recent Progres.* Orlando, United Kindong, 1983.

CHASSAGNE, D y CROUZET, J A *cyanogenic glycoside from Passiflora* Vol. 49 *Phytochemistry* 1998, Inglaterra-Birbinghan pp. 757-759

CHASSAGNE, D, BOULANGER, R y CROUZET, J *Enzymatic hydrolysis of edible Passiflora fruit glycosides* Vol. 66 *Food Chemistry* 1999, China-Tianjin pp. 281-288

CHOPRA, R N y BADHWAR, R L *Las plantas venenosas de la India Ram Nath,* Vol. 10 *Indian Journal of Agricultural Science II* 1965 India-New delhi pp 1-40

CUBA, MINSAP Ministerio de Salud Pública cuba. Programa Nacional para el Desarrollo y la Generalización de la Medicina Natural y Tradicional. Cuba-La Habana, 1997. Pp. 348-367

DA SILVA MORRONE, Maurilio, y otros *Passiflora manicata (Juss.) aqueous leaf extract protects against reactive* Vol. 60 *Food and Chemical Toxicology,* Brasil-Porto Alegre, 2013, pp. 45-51.

DAWSON, Wayne; et al. Sapiens. “Assessing the risk of plant invasion arising from biodiversity conservation”. Springer Science & Business Media, vol. 17, s.n 2008, Alemania-Edinburgh pp. 1975-1979.

DE FREITAS, P y GOMEZ, C *Ensayos farmacológicos del extracto crudo de Passiflora alata.* Oga Vol. 50 PubMed 1984, Estados Unidos-Chicago pp. 303-306

DEGROSSY, M. Conceptos básicos de Toxicología. [En línea] repositorio.ub.edu.ar. 2013.

[Consulta: 11 de 08 de 2016.]

[http://repositorio.ub.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3658/4050%20-%20toxicologia%20-%20degrossi.pdf?sequence=1.](http://repositorio.ub.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3658/4050%20-%20toxicologia%20-%20degrossi.pdf?sequence=1)

DÍAZ, Padilla; & CLAUDIA Y SEPÚLVEDA, Carolina. “Identificación del Principal Pigmento Presente en la Cáscara del Maracuyá Púrpura (*Passiflora edulis*”. *Información Tecnológica*, vol. 17, s.n 2006, Chile-La serena. pp 167-170

ECUADOR, MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA (MSP). AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL SANIARIA (ARCSA). Reglamento para la publicidad y promoción de medicamentos en general. [En línea] 2013.

[Citado el: 18 de 08 de 2016.]

[http://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/plugins/download-monitor/download.php?id=779&force=0.](http://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/plugins/download-monitor/download.php?id=779&force=0)

ECUADOR, MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA (MSP) promueve el uso racional de medicamentos. [En línea] 2015.

[Citado el: 19 de 08 de 2016.]

<http://www.salud.gob.ec/ministerio-de-salud-publica-promueve-el-uso-racional-de-medicamentos/>.

ECUADOR, SALUD, Organización Mundial de la. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional. Catalogación por la Biblioteca de la OMS Ecuador-Quito: s.n., 2014, pp. 14

ESPINAL RUIZ, Mauricio, y otros *Impact of pectin properties on lipid digestion under simulated gastrointestinal conditions: Comparison of citrus and banana passion fruit (Passiflora tripartita var. mollissima) pectins* Vol. 52 Food Hydrocolloids, Colombia-Bogotá, 2016, pp. 329-342.

ESTADOS UNIDOS, ORGANIZACIÓN DE LA TOXICIDAD Y CONTROL (OECD/OCDE). “Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method”. Guideline for the Testing of Chemicals. OECD Publishing, 2001.pp. 34-49

ESTADOS UNIDOS, ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD/OCDE). “Acute Oral Toxicity – Up and Down Procedure”. Guideline for the Testing of Chemicals. OECD 425. Publishing, 2001. Pp. 123-129

FANG, T y LING, S. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO). Standardization on the inspection of natural fruit juices. 6. Inspection of 6 fruit juices authenticity by aminoacid distribution patterns. [En línea] 1984.

[Citado el: 03 de 08 de 2016.]

<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302127975>.

FELTER, H y LLOYD, John *American Rey de Dispensatory* Vol. 31 Eclectic Medical Publications Inglaterra-Portland : s.n., 1983 pp. 28-37.

FENG-QING, Xu, y otros Protective effects of cycloartane triterpenoides from *Passiflora edulis* Sims Vol. 115, *Fitoterapia*, China-Kunming, 2016, pp. 122-127.

FEUILLET C, MACDOUGAL J; *Nuevos Conocimientos Sobre La Evolución De La Passiflora Subgénero Decaloba (Passifloraceae): Las Relaciones Filogenéticas Y Morfológicas Sinapomorfías* Vol. 38 La Sociedad Americana de taxonomistas de plantas. Estados Unidos-Chicago pp. 18-25

FISHER, L; et al. Sapiens. “*Toxicity of Passiflora incarnata*”. *Toxicology & Clinical Toxicology*, vol. 38, s.n 2000, Canada-Salt Lake City pp. 63

GARCÍA MILIAN, Ana Julia, y otros *Estrategia para lograr un uso racional de los medicamentos herbarios* Vol. 10 *Plant Med*, Cuba-La Habana, 2005, pp. 78-79

GARCÍA, Voces; et al. Sapiens. “*Uso de plantas medicinales en el tratamiento de la ansiedad y la depresión*”. *Formación Médica Continuada en Atención Primaria*, vol. 9, n° 1 2002, Perú-Lima pp. 50-56.

GODAY, H y RODRIGUEZ, A D *Occurance of cis isomers of Provitamin A in Brazilian fruits* Vol. 42 Journal of Agriculture and Food Chemistry 1994, Estados Unidos-Chicago pp. 1303.

GOSSELIN, Robert; et al. Sapiens. *Clinical Toxicology of Commercial Products*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984 Estados Unidos-Los Angeles. pp. 125-128.

GREMILLON, K J The development of a mutualistic relationship between humans and maypops (*P. incarnata* L.) in the Southeastern Vol. 9 Journal of Ethnobiology , Estados Unidos-Carolina, 1989, pp. 135-155

HERNÁNDEZ, Tzasná, y otros *Fitoquímica y actividades biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del valle de Tehuacán-Cuicatlán* Vol. 18, México-México DF, 2015, pp. 116-121.

HERNÁNDEZ, Y. “*Memorias Jornadas de Investigación Años 2009 - 2013*”. Agronomía Coordinación de Investigaciones [en línea], 2014, Venezuela.

[Consulta: 19 de 07 de 2016].

http://www.ucv.ve/uploads/media/Memorias_Jornadas_de_Investigaci%C3%B3n_2014.pdf.

HERNÁNDEZ-GUIJO, Jesús Miguel. Departamento de Farmacología de la Universidad de Madrid. [En línea] (Tesis), Madrid 2011.

Consulta: 09 de 08 de 2016]

https://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/ToxAlim/ToxAlim_L1.pdf.

HICKEY, M y KING, C. 100 Families of Flowering Plants. Inglaterra-Cambridge : s.n., 1988. pp. 130-133.

JAMIR, T T y SHARMA, H K Folklore medicinal plants of Nagaland Assam Indian Journal de los conocimientos tradicionales, Cuba Habana, Vol. 3, pp. 365-372 2014

JIMÉNEZ, A; & RODRIGUEZ-PULIDO, F. “*Physicochemical characterisation of gulupa (Passiflora edulis Sims. fo edulis) fruit from Colombia during the ripening*”. Food research International, vol. 44, 2011, Bogotá-Colombia, pp. 1912-1918.

KIDOEY, L, y otros Anthocyanins in fruits of *Passiflora edulis* and *P. suberosa* Vol. 10 Journal of Food Composition and Analysis, 1997, Brasil-Sao Paulo pp. 49-54.

KLAASEN, Amdur; & CASARETT, Doull. “Toxicology of *Passiflora*’s genus”. The Basic Science of Poins 1986, New York. pp.34-35

LEE, C. “Consumo de Fitofármacos y Apifármacos en el Hospital Docente Clínico Quirúrgico Gral. Calixto García Íñiguez”. Revista Hospitalaria, vol. 10, n° 2 2005, Cuba-La Habana. pp. 76

LEONARD B, The Problems of Establishing Causality. U.S. Food and Drug Administration. Hepatotoxicity Steering Group Meeting, Vol. 70, New York Elsevier 2006 pp 34-37

LUTOMSKI, J, y otros Die Bedeutung der Passionsblume in der Heilkunde. Importance of Passion flower in the therapeutics Vol. 10 Pharmazie in Unserer Zeit 1981, China-Beijing pp. 45-49

MADRIDEJOS MORA, Rosa, Efectos de las plantas medicinales en los pacientes afectados de insuficiencia cardíaca Vol. 23 España-Barcelona Formación Médica Continuada en Atención Primaria 2016 pp. 58

MARECK, U, HERRMANN, K y GALENSA, The 6-C-hydroxy and 6-C-fucoside of luteolin from *Passiflora edulis* Vol. 30 Phytochemistry 1991 Brasil-Rio de Janeiro pp. 3486-3487

MARTÍNEZ, C. “Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos”. Botánica Económica de los Andes Centrales [En línea], 2006. Ecuador-Quito [

Consulta: 03 de 10 de 2016].

http://www.beisa.dk/Publications/BEISA_Book_pdf/Capitulo_18.pdf.

MCGUIRE M, CHRISTOPHER. *Passiflora incarnata* (Passifloraceae): Una nueva cosecha de la fruta Vol. 53 Nueva York-Los Angeles : Economic Botany, 1999, pp. 18-34

MERCADENTE, A Z, BRITTON, G y RODRIGUEZ, A . Carotenoids Vol. 46 Journal of Agriculture and Food 1998, España-Valencia pp 4102-4106.

MODESTI COSTA, Geison , y otros Perfiles químicos de las preparaciones tradicionales de cuatro Sudamericana Passiflora especies mediante técnicas cromatográficas y electroforéticas capilares Vol. 26 Revista Brasileira de Farmacognosia, Brasil-Santa Catarina, pp 451-458.

MORÓN RODRÍGUEZ, F. Plantas medicinales y medicamentos herbarios. En: Farmacología general. Cuba-La Habana : Ciencias Médicas, 2002. pp. 195.

MORTON, J F. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Estados Unidos-Springfield, 1981. pp. 1281-1282.

MOWREY, D. Herbal Tonic Therapies. [En línea] 1998. [Citado el: 5 de 08 de 2016.] <https://www.amazon.com/Herbal-Tonic-Therapies-Daniel-Mowrey/dp/0879835656>.

NAVARRO, Victor J y SENIOR, John R, Drug-Related Hepatotoxicity, Vol. 354 Washington, The New England Journal of medicine 2006

NITZ, S, KOLLMANNBERGER, H y DRAWERT, F Determination of nonnatural flavors in sparkling fruit wines Vol. 12 Chemical and Microbial Technology Lebensm 1990, España-Valencia pp. 105-110.

NACIONES UNIDAS-FRANCIA, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional [En línea] 2013.

[Consulta: 29 de 09 de 2016]

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf.

NACIONES UNIDAS-FRANCIA, Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategias sobre medicamentos de la OMS: 2000- 2003. Programa de Acción sobre Medicamentos Esenciales de la Organización Mundial de la Salud. Francia- Ginebra, 2000.pp. 48-50

NACIONES UNIDAS-FRANCIA, Organización Mundial de la Salud (OMS). Monographs on Selected Medicinal Plants. Vol 4. [En línea] 2009.

[Citado el: 10 de 08 de 2016.]

<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/index1.html>.

ORTÍZ VALLEJO, Diana Carolina. Estudio de la variabilidad genética en materiales comerciales de gulupa (*Passiflora edulis f. edulis* Sims) en Colombia [en línea] (tesis). Universidad Nacional de Colombia, Colombia. 2010.

[Consulta: 15 de 08 de 2016].

<http://www.bdigital.unal.edu.co/3044/1/790737.2010.pdf>.

OSORIO, C; & DUQUE, C. “Oxygenated monoterpenoids from badea (*Passiflora quadrangularis*) fruit pulp”. *Phytochemistry*, vol. 53, 1 2000, Colombia-Bogotá pp. 126

OTZOY ROSALES, Mynor; & ALVARADO GÜINAC , David. Colecta y Caracterización de cultivares de Granadilla de Costa [en línea] (tesis). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. 2003.

[Consulta: 15 de 08 de 2016].

<http://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/prunian/INF-2003-006.pdf>.

RAWAT, P S. Select Your Dose and Potency. New Delhi : Jain Publishers, Estados Unidos. Los Angeles 1987. pp. 481-482.

REPETTO JIMENES, MANUEL Y REPETTO KUHN, GUILLERMO. Toxicología Fundamental. 4° Edición. Madrid-España : Diaz de Santos, 2009. Pp. 472

RISSO, Marina Valeria “Hepatotoxicidad” Enfoque Clínico Toxicológico” .. [En línea] 2008.

[Citado el: 17 de 09 de 2016.]

<http://www.fmed.uba.ar/depto/toxico1/hepatotoxicidad.pdf>.

ROJAS Juan, y otros Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de Passiflora edulis (maracuyá), en ratas, Vol. 67 Perú-Lima 2006 pp. 238

ROJAS, Juan y DÍAZ, David; Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas Vol. 70 Lima Anales de la Facultad de Medicina San Marcos 2009 Perú-Lima pp. 273

ROJAS, JUAN; & DÍAZ, DAVID. Anales de la Facultad de Medicina San Marcos. Costa Rica-Puerto Rico, 2012. pp. 59

SIMPSON, B, EGYANKOR, K y MARTIN, A Extraction, purification and determination of pectin in tropical fruits Vol. 8 Journal of Food Processing and Preservation, Estados Unidos-Los Angeles 1984, pp. 63–72.

SPENCER , Kevin y SEIGLER, D Passicoccin: un glucósido cianogénico sulfatado de *Passiflora coccinea*, Vol. 24 Phitochemistry 1985 España-Barcelona pp. 438-439

TRAESEL, Giseli Karenina y COELHO DE SOUZA, Juliane, Acute And Subacute (28 Days) Oral Toxicity Assessment Of The Oil Vol. 32 Brasil-Rio de Janeiro : Chem Toxicol, 2014 pp. 62

VAIDYA, ASHOK D y DEVASAGAYAM, THOMAS P Estado Actual de Medicamentos a base de plantas en la India Mumbay Vol. 41 Diario de Bioquímica Clínica y Nutrición 2007 India-Nueva Delhi

VALLE VEGA, Pedro. Toxicología de alimentos [En línea]. Universidad Nacional Autónoma de México, México (2000).

[Consulta: 13 de 08 de 2016.]

Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/eswww/fulltext/toxicolo/toxico/alimento.html>.

VANACLOCHA, B y CAÑIGUERAL, S. Fitoterapia. Vademécum de prescripción. España-Barcelona: Masson, 2003.pp 201-210

VAZQUEZ Vigoa, ALFREDO y CRUZ Álvarez, NÉLIDA María, Hipertensión arterial en el anciano Vol. 37, La Habana Revista Cubana de Medicina, Cuba-La Habana 1998. pp. 12-15

WATT, John Mitchell y BREYER-BRANDWIJK, María Gerdina. Las plantas medicinales y venenosas de África meridional y oriental. Edinburg: Inglaterra-Livingston, 1962. pp. 823-830.

WINTERHALTER, P Bound terpenoids in the juice of the purple passion fruit (*P. edulis* Sims) , Vol. 38 Journal of Agriculture and Food Chemistry 1990,Estados Unidos-Chicago pp. 452-455

YAMAMOTO, Y, y otros, Estrogen receptor α mediates 17 α -ethynylestradiol causing hepatotoxicity, Vol. 183, Journal of Biological Chemistry, China-Beijing 2006 pp. 28-34

YULDASHEVA, L; et al. Sapiens. “La actividad hemolítica del colesterol depende de *Passiflora quadrangularis* hojas”. Revista Brasileira de Investigación Médica y Biológica, vol. 38, s.n 2005, Brasil-Río de Janeiro. pp. 19-37

ZERPA ZERPA, María Alexandra y OTAHOLA GÓMEZ, Víctor Alejandro; Morfoanatomía del tallo de tres especies del género *Passiflora* l. *Passifloraceae* Vol. 26 Venezuela-Maturín Saber 2014 pp. 45-57