



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

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

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR:**

**BENJAMIN ANDRES ROMAN SANTOS**

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 ligularis* Y *Passiflora mixta* SOBRE *Rattus norvegicus* POR VÍA ORAL**

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de

#### **BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR:** BENJAMIN ANDRES ROMAN SANTOS

**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: ANÁLISIS TOXICOLÓGICO AGUDO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* SOBRE *Rattus norvegicus* POR VÍA ORAL responsabilidad del señor Benjamín Andrés Román Santos, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

BQF. Diego Vinueza

**DIRECTOR DE TRABAJO**

**TITULACIÓN**

.....

.....

Lcda. Karen Acosta

**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

.....

.....

BQF. Valeria Rodríguez

**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

.....

.....

**DOCUMENTALISTA**

**SISBIB ESPOCH**

.....

.....

“©” 2016, Benjamín Andrés Román Santos

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.

## **PAGINA DE RESPONSABILIDAD E IDEAS COMPARTIDAS**

Yo, Benjamín Andrés Román Santos 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.

BENJAMIN ANDRES ROMAN SANTOS

## **DEDICATORIA**

Para mis Padres Ercilia y Eduardo que me han dado el apoyo incondicional en mi educación que a pesar de ser tan difícil y larga se ha concretado.

A mis maestros que dentro y fuera de las aulas han logrado forjar una nueva persona con sus conocimientos y ética.

A mis compañeros de carrera y de vida Ángel, Esteban, y Henry que han hecho que este duro reto sea lleno de alegrías.

A todos los docentes de la escuela que han aportado con su granito de arena para la culminación exitosa de esta carrera.

Benjamín

## AGRADECIMIENTO

Primeramente a Dios, por haberme dado la salud, la fuerza y la paciencia para poder lograr este logro en mi vida profesional, gracias a él he tenido a los mejores maestros, mis padres, que me permitieron con su amor y apoyo incondicional alcanzar todos los pequeños y grandes retos que esta carrera me ha exigido.

A mi madre Ercilia Santos, por haberme dado la vida, por sus palabras de aliento, exigencias y por su infinito amor que han sido fundamentales para sobrellevar todas las etapas difíciles en mi vida.

Agradezco a mis amigos y maestros, BQF Diego Vinueza, Lcda. Karen Acosta y BQF. Carlos Espinoza por su paciencia colaboración y ayuda en todo sentido, no solo en el trabajo de titulación sino en todas las etapas que se han presentado a lo largo de la carrera, a ellos les agradezco el respeto de las diferencias de opinión y el conocimiento adquirido a lo largo de esta larga travesía.

Agradezco a los compañeros de la escuela de Bioquímica y Farmacia, que me eligieron para representarlos, por haber logrado marcar mi corazón con esas personas que Dios pone en tu camino para enseñarte que lo que logras no es tuyo sino para las personas que te respetan, aprecian y ayudan.

A mis compañeros y amigos con los que compartimos este trabajo de titulación Luis y Francisco que con paciencia y ardua trabajo me han ayudado a culminar con éxito este largo trabajo que no ha sido nada fácil, pero con ellos fue más placentero.

Un agradecimiento especial a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por haberme brindado la confianza y el apoyo en las actividades realizadas dentro y fuera de las aulas.

Benjamín

## TABLA DE CONTENIDO

<b>PORTADA</b>	<b>i</b>
<b>CERTIFICACIÓN</b>	<b>ii</b>
<b>DERECHO DE AUTOR</b>	<b>iii</b>
<b>DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD</b>	<b>iv</b>
<b>DEDICATORIA</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b>	<b>vi</b>
<b>TABLA DE CONTENIDO</b>	<b>vii</b>
<b>INDICE DE ABREVIATURAS</b>	<b>X</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS</b>	<b>xiv</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>xv</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>xvi</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Plantas medicinales</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Uso racional de las Plantas Medicinales</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Conocimiento Etnobotánico</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Passiflora</b>	<b>4</b>
<i>1.4.1. Passiflora mixta</i>	<i>5</i>
<i>1.4.1.1. Descripción</i>	<i>5</i>
<i>1.4.1.2. Hábitat</i>	<i>6</i>
<i>1.4.1.3. Taxonomía</i>	<i>6</i>
<i>1.4.1.4. Usos Etnobotánicos</i>	<i>7</i>
<i>1.4.1.5. Características fitoquímicas</i>	<i>7</i>
<b>1.4.2. Passiflora ligularis</b>	<b>8</b>
<i>1.4.2.1. Descripción</i>	<i>8</i>
<i>1.4.2.2. Hábitat</i>	<i>8</i>
<i>1.4.2.3. Taxonomía</i>	<i>8</i>
<i>1.4.2.4. Usos Etnobotánicos</i>	<i>8</i>
<i>1.4.2.5. Propiedades terapéuticas</i>	<i>9</i>



1.4.2.6.	<i>Principios activos</i>	9
<b>1.5.</b>	<b>Investigación Farmacológica</b>	<b>9</b>
1.5.1.	<i>Pruebas condicionadas</i>	10
1.5.2.	<i>Pruebas no condicionadas</i>	10
<b>1.5.3</b>	<b>Modelos animales</b>	<b>10</b>
<b>1.6.</b>	<b>Ensayos toxicológicos</b>	<b>11</b>
1.6.1.	<b>Tóxico</b>	11
1.6.2.	<b>Toxicología</b>	12
1.6.3	<b>Toxicidad</b>	12
1.6.4..	<b>Efecto Toxicológico</b>	12
1.6.5	<i>Estudios en Animales</i>	13
1.13.	<b>Toxicidad aguda</b>	13
1.14.	<b>Toxicidad aguda oral (arriba y abajo)</b>	14

## CAPÍTULO II

<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b>	<b>15</b>
2.1.	<b>Tipo y Diseño de Investigación.</b>	<b>15</b>
2.2.	<b>Lugar de investigación</b>	<b>16</b>
2.3.	<b>Materiales equipos y reactivos</b>	<b>16</b>
2.3.1.	<i>Materiales</i>	16
2.3.1.1.	<i>Material Biológico</i>	16
2.3.1.2.	<i>Material Vegetal</i>	16
2.3.1.3.	<i>Materiales de laboratorio</i>	16
2.3.2.	<i>Equipos</i>	17
2.3.3.	<i>Reactivos</i>	17
<b>2.4.</b>	<b>Metodología</b>	<b>18</b>
2.4.1.	<i>Cromatografía en capa fina (CCF)</i>	18
2.4.2.	<i>Cuantificación de flavonoides</i>	19
2.4.3.	<i>Obtención del extracto etanólico de las hojas de Passiflora ligularis y mixta</i>	20
2.4.4.	<i>Preparación del vehículo (propilenglicol 15%) con el extracto</i>	20
2.4.5.	<i>Tipo y Diseño de Experimentación</i>	21
2.4.5.1.	<i>Población de Estudio</i>	21
2.4.5.2.	<i>Selección de la Muestra /Rattus norvegicus)</i>	21

2.4.5.3.	<i>Unidad de Análisis</i>	21
2.4.6.	<b><i>Periodo de investigación (Bioensayo)</i></b>	22
2.4.6.1.	<i>Ambientación</i>	22
2.4.6.2.	<i>Día Cero</i>	23
2.4.6.3.	<i>Día 1 al Día 14</i>	23
2.4.6.4.	<i>Día 15</i>	24
2.4.7.	<b><i>Material Biológico (histopatológico)</i></b>	24

### **CAPÍTULO III**

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	26
3.1.	<b>Determinación de los valores hematológicos y los niveles de química sanguínea</b>	26
3.2.	<b>Análisis cuantitativo de los valores de los ensayos de química sanguínea y hematología,</b>	26
3.2.1	<i>Análisis de urea</i>	26
3.2.2	<i>Análisis de creatinina</i>	28
3.2.3	<i>Análisis de bilirrubina</i>	28
3.2.4	<i>Análisis de TGO</i>	31
3.2.5	<i>Análisis de TGP</i>	39
3.2.6	<i>Análisis de glóbulos blancos</i>	42
3.2.7	<i>Análisis de glóbulos rojos</i>	44
3.2.8	<i>Análisis de Plaquetas</i>	46
3.3.	<b>Análisis cualitativo de la observación clínica durante 14 días tras su administración</b>	48
3.4.	<b>Análisis histopatológico del animal de experimentación después de la observación clínica macroscópicamente y microscópicamente.</b>	50
	<b>CONCLUSIONES</b>	53
	<b>RECOMENDACIONES</b>	54
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>TGO</b>	Transaminasa Glutámico Oxalacetica
<b>TGP</b>	Transaminasa Glutámico Piruvica
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferasa
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferasa
<b>ALP</b>	Fosfatasa alcalina
<b>VRN</b>	Valor de referencia normal
<b>CIATOX</b>	Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico
<b>DL50</b>	Dosis Letal Media
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FAO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza con un factor
<b>INEC</b>	Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos
<b>INEN</b>	Instituto Ecuatoriano de Normalización
<b>MAGAP</b>	Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca
<b>MSP</b>	Ministerio de Salud Pública
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>OECD</b>	The Organisation for Economic Co-operation and Development
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>SNC</b>	Sistema Nervioso Central
<b>SNP</b>	Sistema Nervioso Periférico
<b>U/L</b>	Unidades internacionales sobre litro

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2</b>	Características del animal de experimentación	21
<b>Tabla 2-2</b>	Grupo <i>Pasiflora mixta</i>	21
<b>Tabla 3-2</b>	Grupo <i>Pasiflora ligularis</i>	22
<b>Tabla 1-3</b>	División de la población en estudio por porcentajes	25
<b>Tabla 2-3</b>	Total de animales de experimentación	26
<b>Tabla 3-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Urea antes de la administración valor de referencia (32-54mg/dl)	26
<b>Tabla 4-3</b>	Resultados de Anova para Urea antes de la administración	27
<b>Tabla 5-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Urea Después de la administración valor de referencia (32-54mg/dl)	28
<b>Tabla 6-3</b>	Resultados de Anova para Urea Después de la administración	28
<b>Tabla 7-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Creatinina antes de la administración valor de referencia (0.69-2.19 mg/dl)	29
<b>Tabla 8-3</b>	Resultados de Anova para Creatinina antes de la administración	29
<b>Tabla 9-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Creatinina después de la administración valor de referencia (0.69-2.19 mg/dl)	30
<b>Tabla 10-3</b>	Resultados de Anova para Creatinina después de la administración	30
<b>Tabla 11-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Bilirrubina antes de la administración valor de referencia (0.042-0.25 mg/dl)	31
<b>Tabla 12-3</b>	Resultados de Anova para Bilirrubina antes de la administración	32
<b>Tabla 13-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de bilirrubina después de la administración valor de referencia (0.042-0.25 mg/dl)	33
<b>Tabla 14-3</b>	Resultados de Anova para bilirrubina antes de la administración	33
<b>Tabla 15-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de TGO antes de la administración valor de referencia (49.23 - 95.01 U/L)	34
<b>Tabla 16-3</b>	Resultados de Anova para TGO antes de la administración.	34

<b>Tabla 17-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de TGO Después de la administración Valores de referencia (0.69-2.19 mg/dl)	35
<b>Tabla 18-3</b>	Resultados de Anova para TGO Antes de la administración.	35
<b>Tabla 19-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de TGP antes de la administración valor de referencia (25.18 - 48.01 U/L)	38
<b>Tabla 20-3</b>	Resultados de Anova para TGP antes de la administración	38
<b>Tabla 21-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de TGO Después de la administración Valores de referencia (0.69-2.19 mg/dl)	39
<b>Tabla 22-3</b>	Resultados de Anova para TGO Antes de la administración	39
<b>Tabla 23-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Glóbulos blancos antes de la administración valor de referencia (4-10x10 <sup>12</sup> /L)	40
<b>Tabla 24-3</b>	Resultados de Anova para glóbulos blancos antes de la administración	40
<b>Tabla 25-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de glóbulos blancos después de la administración valores de referencia (4-10x10 <sup>12</sup> /L)	42
<b>Tabla 26-3</b>	Resultados de Anova para glóbulos blancos después de la administración	42
<b>Tabla 27-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Glóbulos Rojos antes de la administración valor de referencia (3.5-5 x10 <sup>12</sup> /L)	43
<b>Tabla 28-3</b>	Resultados de Anova para glóbulos rojos antes de la administración	43
<b>Tabla 29-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Glóbulos Rojos Después de la administración Valores de referencia (3.5-5 x10 <sup>12</sup> /L)	44
<b>Tabla 30-3</b>	Resultados de Anova para glóbulos rojos después de la administración	44
<b>Tabla 31-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Plaquetas antes de la administración valor de referencia (100-500x10 <sup>9</sup> /L)	45
<b>Tabla 32-3</b>	Resultados de Anova para Plaquetas antes de la administración	46
<b>Tabla 33-3</b>	Datos para la realización del análisis Anova resultados de Plaquetas antes de la administración valor de referencia (100-500x10 <sup>9</sup> /L)	47

<b>Tabla 34-3</b>	Resultados de Anova para plaquetas después de la administración	47
<b>Tabla 35-3</b>	Datos para el ensayo Anova, promedios de los pesos de los distintos grupos durante los días 0, 7 y 15 de la investigación.	49
<b>Tabla 36-3</b>	Resultados del examen macroscópico de los órganos del animal de experimentación en el día catorce del grupo control y grupo de experimentación	49
<b>Tabla 37-3</b>	Resultados del examen microscópico de los órganos del animal de experimentación en el día catorce del grupo control y grupo de experimentación	50
<b>Tabla 38-3</b>	Tabla 3-39 valores de referencia normales, comparados con los de administración de <i>Passiflora ligularis</i> y <i>Passiflora mixta</i> .	52

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-2</b>	<i>Flujograma de cromatografía en capa fina (CCF)</i>	18
<b>Gráfico 2-2</b>	<i>Flujograma de cuantificación de flavonoides totales</i>	19
<b>Gráfico 1-3</b>	Clasificación en porcentaje de la población en estudio	25
<b>Gráfico 2-3</b>	valores de urea antes de la administración	27
<b>Gráfico 3-3</b>	Valores promedio de los grupos para urea después de la administración	28
<b>Gráfico 4-3</b>	Valores promedio de los grupos para creatinina antes de la administración	30
<b>Gráfico 5-3</b>	Valores promedio de los grupos para creatinina después de la administración	31
<b>Gráfico 6-3</b>	Valores promedio de los grupos para bilirrubina antes de la administración	33
<b>Gráfico 7-3</b>	Valores promedio de los grupos para bilirrubina después de la administración	34
<b>Gráfico 8-3</b>	Valores promedio de los grupos para TGO Antes de la administración	35
<b>Gráfico 9-3</b>	Valores promedio de los grupos para TGO después de la administración	36
<b>Gráfico 10-3</b>	Valores promedio de los grupos para TGP antes de la administración	38
<b>Gráfico 11-3</b>	Valores promedio de los grupos para TGO después de la administración	40
<b>Gráfico 12-3</b>	Valores promedio de los grupos para Glóbulos blancos antes de la administración	41
<b>Gráfico 13-3</b>	Valores promedio de los grupos para glóbulos blancos después de la administración	42
<b>Gráfico 14-3</b>	Valores promedio de los grupos para glóbulos rojos antes de la administración	44
<b>Gráfico 15-3</b>	Valores promedio de los grupos para glóbulos rojos después de la administración	45
<b>Gráfico 16-3</b>	Valores promedio de los grupos para plaquetas antes de la administración	46
<b>Gráfico 17-3</b>	Valores promedio de los grupos para plaquetas después de la administración	47
<b>Gráfico 18-3</b>	Resultados de los promedios de los pesos de los animales de experimentación en los días 0, 7 y 15.	49

## RESUMEN

La evaluación toxicológica aguda del extracto etanólico de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* en *rattus norvegicus* (Ratas Albinas). Es fue desarrollada en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en el Laboratorio de Productos Naturales y Bioterio de la Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador. El material biológico utilizado fueron ratas albinas de la especie *Rattus norvegicus* adultas, 36 hembras en total y hojas de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta*. Las hojas de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* fueron recolectadas en el cantón Penipe provincia de Chimborazo, secadas a 38°C, pulverizadas y maceradas con etanol al 85%, el producto de la maceración se sonicó, filtró, concentró y liofilizó, se conformaron cuatro grupos experimentales de 6 ratas para cada uno, se designó un grupo control y un grupo como blanco a las que se administró propilenglicol al 15% por ser el vehículo utilizado. Posteriormente, se extrajo muestras de sangre a todos los animales de experimentación para evidenciar que los valores están en el rango normal, Se administró los extractos etanólicos a una dosis de 300 mg/kg a las primeras y de 2000 mg/kg, en una sola ocasión por vía oral, se observó su comportamiento durante 14 días. Se hizo diariamente observaciones clínicas a los animales y al final del experimento se realizó las determinaciones hematológicas, de bioquímica clínica. Se extrajeron cerebro corazón, riñón, hígado y pulmón para su estudio histopatológico. Se evaluaron signos tóxicos; antes y después del ensayo, se valoraron indicadores hematológicos (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas) y bioquímica clínica (alanino amino transferasa ALT o TGP, aspartato amino transferasa AST o TGO, bilirrubina, creatinina, urea). No se observó mortalidad ni alteraciones clínicas o hematológicas que demuestren un efecto tóxico visible de los extractos Recomendamos a los investigadores continuar con el estudio de toxicidad a nivel crónico y subcrónico para descartar la toxicidad a nivel hepático de la dosis de 300mg/kg.

**Palabras clave:** <*Passiflora mixta* (TAXO)>, <*Passiflora ligularis*(GRANADILLA)>, <SIGNOS TOXICOS>, <*Rattus norvegicus* (RATA ALBINA)>, <ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO>, <HEMATOLOGÍA>, <BIOQUÍMICA CLÍNICA>.



## SUMMARY

The acute toxicological evaluation of ethanolic extract of *Passiflora ligularis* and *Passiflora mixta* on *Rattus norvegicus* (albino rats). It was held in the Laboratory of Natural Products and Bioterio from of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. The biological material used was grown-up albino rats of the species *Rattus norvegicus*, 36 female rats in total; and leaves of *Passiflora ligularis* and *Passiflora mixta*. The leaves of *Passiflora ligularis* and *Passiflora mixta* were collected in Penipe, Chimborazo province, dried-out at 38°C, pulvericed and macerated in ethanol at 85%. The product of the maceration was sonicated, filtered out, concentrated and finally freeze-dried. Four experimental groups of 6 rats each were conformed; a control group and a target group were designed and, to which were given propylene glycol at 15% because it was the vehicle that was used. Later, blood samples were taken from the rats to show that the values were within the normal range. A dose of 300 mg/kg of the freeze-dried ethanolic extract was given to the first group and 2000 mg/kg to the fourth group, on a single occasion orally; its behavior was monitored for 14 days. Clinical observations were made daily and at the end of the investigation determinations of hematological parameters and clinical biochemistry were performed. To carry out the histopathological study, brain, heart, kidney, liver and lung were taken out. Toxic signs were evaluated before and after the test, hematological indicators were valued (Red blood cells, white blood cells and platelets) and clinical biochemistry (Alanine aminotransferase ALT, aspartate aminotransferase AST, bilirubin, creatinine, urea). No mortality was observed nor clinical or hematological alterations that show a possible toxic effect of the extracts. It is recommended to continue with the toxicological study at chronic and sub chronic level to rule out any kind of liver toxicity of the 300 mg/kg dose.

**Key words:** <*Passiflora mixta* (TAXO)>,<*Passiflora ligularis* (PASSION FRUIT)>,<TOXIC SIGNS>,<*Rattus norvegicus* (ALNINO RATS)>,<HISTOPATHOLOGICAL STUDY>,<HEMATOLOGY>,<CLINICAL BIOCHEMISTRY>.

## INTRODUCCION

El género *Passiflora* comprende cerca de 500 especies que están distribuidas en regiones cálidas y tropicales del Nuevo Mundo; son mucho más raras en Asia, Australia y África tropical. Varias especies son cultivadas en los trópicos por sus frutos comestibles; los más ampliamente cultivados son *Passiflora mixta* y *ligularis Sims* (1).

Esta especie es cultivada ampliamente en países tropicales y subtropicales y existen dos variedades, *Passiflora mixta* y *ligularis Sims* var. *flavicarpa* -cuyos frutos son amarillos, crece desde el nivel del mar hasta 1 000 msnm- y, *Passiflora mixta* y *ligularis Sims* var. *purpúrea*, con frutos color púrpura y que se adapta a zonas altas por encima de 1 200 msnm (2). Se caracteriza por ser una planta leñosa perenne de hábito trepador y de rápido desarrollo, que puede alcanzar hasta 10 m de largo; las hojas son simples, alternas, con estípulas y un zarcillo en la axila, con márgenes aserrados; las flores son solitarias y axilares, fragantes y vistosas; el fruto es una baya esférica, globosa o elipsoide, que mide hasta 10 cm de diámetro y pesa hasta 190 g, de color amarillo o purpúreo, con una pulpa muy aromática (3).

El uso de *Passiflora* como una medicina fue elogiado por primera vez por un investigador español en el Perú, en 1569 (1). La información etnofarmacológica revela que *Passiflora mixta* y *ligularis Sims* ha sido utilizado en medicina tradicional en diversas partes del mundo. En Sudamérica, se bebe la infusión de hojas y flores como sedante; la infusión de las partes aéreas es utilizada en el tratamiento de tétanos, epilepsia, insomnio e hipertensión (4); además, se la indica como relajante muscular (5), diurético, para tratar dolores estomacales, tumores intestinales y fiebre (6).

Las investigaciones farmacológicas realizadas con *P. mixta* y *P. ligularis* han demostrado que posee diversas propiedades. El extracto del fruto inhibió las enzimas que tienen actividad de endopeptidasas dependientes de zinc, las metaloproteinasas de matriz extracelular MMP-2 y MMP-9 involucradas en la invasión tumoral, metástasis y angiogénesis (7), así como también inhibió la transformación neoplásica de células murinas 3T3 BALB/c tratadas con benzopireno (8)

El extracto de las hojas disminuyó la inflamación aguda y aumentó la proliferación fibroblástica, la colagenización y la neoformación capilar en la cicatrización de la vejiga de ratas (9); también, mostró una significativa actividad antiinflamatoria sobre pleuresía inducida por carragenina en ratones (10,11).

Además, aumentó significativamente el número de ratones protegidos contra convulsiones inducidas por estriquina, de manera semejante al clonazepam (12); y tuvo actividad antiviral contra herpes virus simple tipo 1, HSV-1 (13). Por otra parte, se ha aislado un péptido antifúngico en las semillas de *P. mixta* y *P. ligularis* (14).

Respecto a la actividad de los extractos de *P. mixta* y *P. ligularis* sobre el sistema nervioso central, existe información controversial. Algunos estudios demostraron efecto sedante (12), ansiolítico (15,16), tipo ansiolítico sin alterar la actividad motora (17), tipo ansiolítico sin alterar el proceso de memoria (18) y calmante tipo tranquilizante mayor (19); sin embargo, otros investigadores afirmaron que no posee efecto ansiolítico (20) ni efecto hipnótico-sedante; más bien, mostró efecto depresor no específico del sistema nervioso central (21).

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. Algunas 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 estudiada científicamente; a pesar de la experiencia obtenida de su uso tradicional en los últimos años, no debe ser ignorada (22).

## **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. (1)(2)

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. (3)(4) 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...” (4)

#### **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. (2)

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.(1)(5)

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 RAM y PRM 10 11

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. (12)

### **1.3. CONOCIMIENTO ETNOBOTÁNICO**

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.

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. (6)(3)

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.(7)

### **1.4. PASSIFLORA**

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 pasifloras aun sin estudiar su toxicidad, dos de ellas son la Pasiflora manicata y Pasiflora tripartita (8)

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. (9)(18)

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. (19)

Desde tiempos antiguos se utilizaban las hojas, flores y cascaras de frutos como calmante, ayudar a la relajación y sedante.

#### **1.4.1. PASIFLORA MIXTA**

##### **1.4.1.1. 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.

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.

Fruto baya 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. (21)

#### **1.4.1.2. 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.

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.

Para su producción se seleccionan los mejores frutos, de estos se extraen las semillas y se las deja secar bajo sombra. Se planta en semilleros y luego se trasplanta al sitio definitivo. El cultivo se efectúa sobre espalderas (sistema de soporte para la planta) dado que es un arbusto trepador. (22)

#### **1.4.1.3. Taxonomía**

**Reino:** Plantae  
**División:** Magnoliophyta  
**Clase:** Magnoliopsida  
**Orden:** Violales  
**Familia:** Passifloraceae  
**Género:** Passiflora  
**Especie:** Passiflora mixta.

**Sinónimos:** curuba de monte, taxo,

#### **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. En ambas especies se han realizado diversos estudios para conocer los componentes orgánicos presentes en sus frutos. (20).

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.

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. (22)

#### **1.4.1.5. Características fitoquímicas:**

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. (20)

#### **1.4.2. *Pasiflora ligularis***

##### **1.4.2.1. 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 las 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.

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.

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).

#### **1.4.2.2. Hábitat**

Colombia es el principal productor a nivel mundial de esta fruta, con una producción que alcanzó las 53.000 toneladas durante el 2011, extraídas de las cerca de 4.600 hectáreas sembradas en todo el territorio nacional. Es comercializada de manera exitosa en los mercados nacionales e internacionales, principalmente en el continente europeo. Los principales cultivadores de la *Passiflora ligularis* son: Colombia, Ecuador, Costa Rica , Perú y Bolivia. Los principales importadores son Estados Unidos, Canadá, Bélgica, Holanda, Francia y España

#### **1.4.2.3. Taxonomía**

<b>Reino:</b>	Plantae
<b>División:</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Orden:</b>	Violales
<b>Familia:</b>	Passifloraceae
<b>Género:</b>	Passiflora
<b>Especie:</b>	Ligularis
<b>Sinónimos:</b>	Tacsonia ligularis
<b>Nombre Común:</b>	granadilla.

#### **1.4.2.4. Usos Etnobotánicos**

Aporta las vitaminas A, B2, B3, B6, B9, C, E y K. Y también minerales como el Calcio, Cobre, Hierro, Magnesio, Fósforo, Potasio, Selenio, Sodio, posee propiedades antioxidantes, sedantes, además favorece el sueño, elimina el insomnio antiespasmódicas..

#### **1.4.2.5. PROPIEDADES TERAPÉUTICAS**

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. (55)

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. (55)

#### **1.4.2.6. PRINCIPIOS ACTIVOS**

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). (54)

### **1.5. INVESTIGACIÓN FARMACOLÓGICA**

Una vez determinados los metabolitos secundarios con actividad terapéutica que es ansiolítica en las *P. ligularis* y *P. mixta*, 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(25).

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 estos 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. (25)

Las pruebas en roedores se pueden clasificar en condicionadas y no condicionadas.

### **1.5.1. PRUEBAS CONDICIONADAS**

Estos se basan en las respuestas que tiene el animal ante un estímulo con una respuesta ya establecida de otro estímulo. Por lo general el estímulo es agresivo hacia el animal con un choque eléctrico, Estos modelos permiten un control bastante preciso de los niveles de conducta basal por parte del experimentador.

Las desventajas que tienen son el entrenamiento previo al animal, la cantidad de individuos que se usa. (26)

### **1.5.2. PRUEBAS NO CONDICIONADAS**

No requieren de entrenamiento, por lo que son menos sensibles a procesos motivacionales y se basan en respuestas espontáneas de la conducta del roedor; éstas han permitido el desarrollo de una serie de paradigmas basados en la observación.

Pruebas no condicionadas en ratones para evaluar la actividad de una variedad de conductas del roedor y la mayoría de los procedimientos conductuales para el estudio farmacológico de la ansiedad se basan en pruebas. (25)

### **1.5.3. MODELOS ANIMALES**

La medicina científica nace con la observación y la experimentación en animales. Desde las experiencias de William Harvey, que comparó el latido cardiaco en distintas especies, los datos obtenidos mediante experimentos en animales han sido tema permanente de enfermedades

humanas han sido utilizados desde hace muchos años en distintas áreas de la investigación, constituyendo uno de los pasos fundamentales en la biomedicina. (7)

Se requieren tanto para proyectos de investigación como en pruebas diagnósticas y terapéuticas y en los controles de productos farmacológicos.

Cuando en la investigación científica se realiza una inferencia sobre la conducta humana basada en estudios con animales, por ejemplo ratas, que es muy habitual, quizá pueden provocarnos cierto recelo afirmaciones hechas sobre las personas basadas en experimentos realizados con algo tan diferente como son las ratas, 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. (8)

## **1.6. ENSAYOS TOXICOLÓGICOS**

Una vez determinados los metabolitos secundarios con actividad terapéutica que es ansiolítica en las *P. mixta* y *P. ligularis*, 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 (25).

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 estos modelos 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. (25)

### **1.6.1. 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") (12) (16)

### **1.6.2. 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. (12) (13) (14) (15)

### **1.6.3. 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.

### **1.6.4. 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: (11) (14)

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.

#### **1.6.5. 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.

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.

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.

#### **1.6.6. 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. (15)

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.

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, 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 (6).

### **Toxicidad aguda**

#### **Procedimientos:**

Dosis fija

Clase toxica aguda

Arriba y abajo

**Objetivo:** Clasificación por DL<sub>50</sub> o efectos evidentes

Al menos dos especies (una roedora y otra no-roedora) y por dos vías de exposición, siendo obligatoria la oral. (99)

#### **1.6.7. TOXICIDAD AGUDA ORAL (ARRIBA Y ABAJO)**

Este método de la clase tóxica aguda tiene por objetivo administrar dos dosis un 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.

Al finalizar los 14 días de la administración oral se realizará una necropsia el animal de experimentación en la cual se observara 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.



## 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 que se manipularon diversas variables. Esta investigación permitió observar *in vivo* el uso de un modelo control *Rattus norvegicus* para determinar el nivel toxicológico agudo tras la administración oral del extracto etanólico de las plantas *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta*.

#### 2.2. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La parte experimental de este trabajo se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, concretamente, en el Laboratorio de Productos Naturales y Bioterio.

#### 2.3. MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS

##### 2.3.1. Materiales

##### 2.3.1.1. Material Biológico

Para la investigación se utilizaron ratas albinas del género *Rattus norvegicus* de laboratorio del bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, con un peso aproximado de 200g de sexo femenino y con una edad de tres meses.

##### 2.3.1.2. Material Vegetal

Como materia prima se utilizaron las hojas secas de las especies vegetales *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta*.

##### 2.3.1.3. Materiales de laboratorio

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

### **2.3.2. Equipos**

Balanza analítica  
Liofilizador  
Sonificador  
Estufa  
Congelador  
Desecador  
Rotavapor  
Computador  
Bomba al Vacío

### **2.3.3. Reactivos**

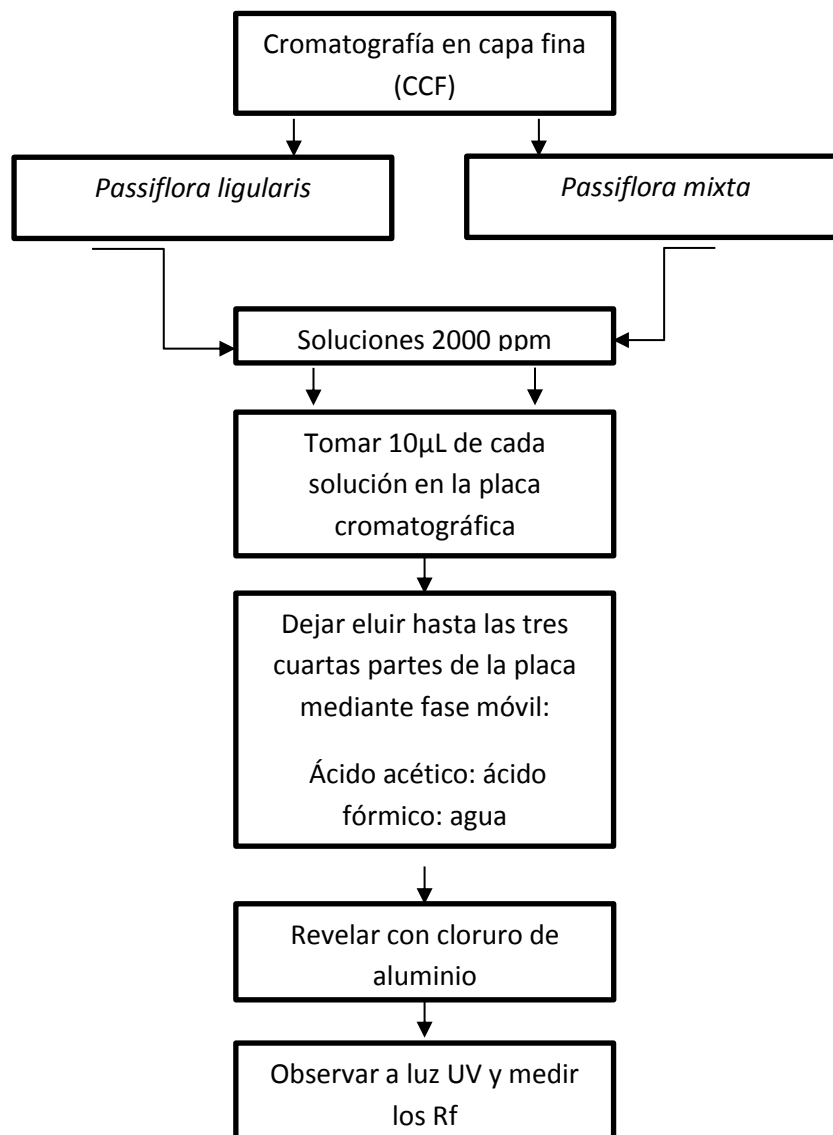
Agua destilada  
Alcohol potable (96 %)  
Alcohol preparado al 85 %  
Propilenglicol 15 %

Extracto etanólico (300 mg/kg, 2000 mg/kg)

## 2.4. Metodología

### 2.4.1. Cromatografía en capa fina (CCF)

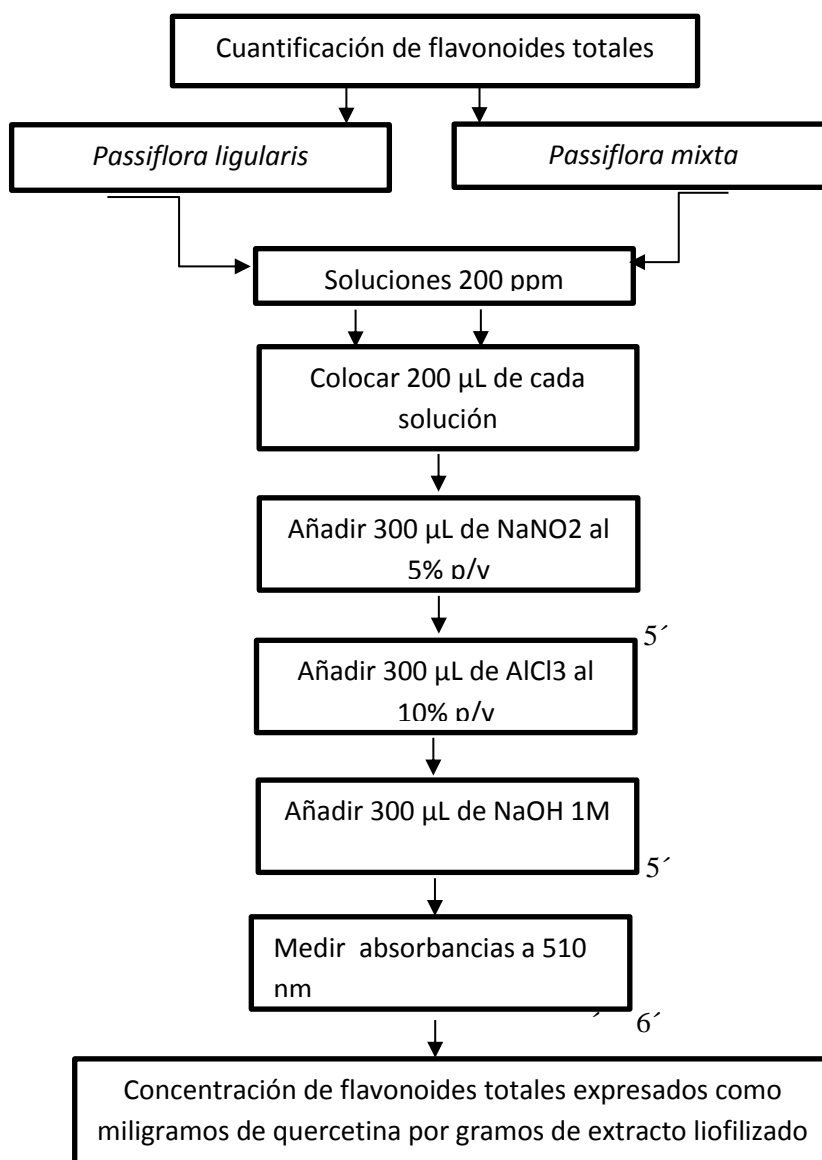
La cromatografía siguió la metodología para determinar glicósidos flavónicos (Gráfico 1-2). Se preparó soluciones alcohólicas de 2000 ppm, luego se procedió a sembrar 10 µl con pipeta automática en una placa cromatografía. Se introdujo la placa en la cuba, hasta que el solvente recorra las  $\frac{3}{4}$  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. (Wagner & Blade, 1996, p. 196)



**Gráfico 1-2** Flujoograma de cromatografía en capa fina (CCF)  
Fuente: GUAMÁN, Martha, 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 Ha & Tarik, 2012. Se realizó una solución de 200 ppm de la cual se tomó una alícuota de 200  $\mu\text{l}$ , luego se añadió 300  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  al 5% p/v, se homogenizó, se dejó en reposo durante 5 min, luego se añadieron 300  $\mu\text{l}$  de  $\text{AlCl}_3$  al 10% p/v, se agitó y se dejó en reposo durante 6 min, para finalizar se agregó 300  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaOH}$  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. (Boukhris et al, 2013, pp. 1206-1213)



**Gráfico 2-2** Flujograma de cuantificación de flavonoides totales  
**Fuente:** GUAMAN, Martha, 2016

#### **2.4.3. Obtención del extracto etanólico de las hojas de *P. ligularis* y *P. mixta***

Para el análisis se emplearon hojas completas de *P. ligularis* y *P. mixta*, recolectadas en el cantón Penipe, provincia de Chimborazo.

Para la identificación de las especies se utilizó el Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, esto es necesario para obtener el permiso del ministerio del ambiente.

Se realizó el secado de las hojas de las especies de *P. ligularis* y *P. mixta*, las cuales fueron envueltas en papel periódico y colocadas en un cuarto oscuro a temperatura ambiente.

Las hojas secas fueron trituradas en el molino con una malla del número 14 para poder disminuir el tamaño de las partículas de la droga vegetal y optimizar así el proceso de extracción.

Se pesaron 10 g de planta seca previamente molida, añaden 250 ml de etanol al 85% para que este cubra totalmente el material triturado de la planta. Se deja macerando la muestra durante 24 horas. Se aplicó sonicación durante 30 minutos a una temperatura de 20°C. Una vez sonicada la mezcla, se lleva a filtración mediante un embudo Buchner con un sistema de bomba al vacío para separar el líquido de la materia vegetal sólida, el producto que tenemos es líquido sin partes de la planta triturada la cual se pone en un balón esmerilado de 250 ml.

El extracto obtenido después de la filtración al vacío es sometido a una evaporación con la ayuda de un rota vapor a 200 rpm con una temperatura del baño maría de 40°C, en la cual se evapora el contenido de etanol presente en la solución.

El extracto concentrado se congeló utilizando nitrógeno líquido, la muestra se llevó 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.

#### **2.4.4. 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 100 ml de agua destilada, la cual se calculó por volumen/volumen

## 2.4.5. Tipo y Diseño de Experimentación

### 2.4.5.1. Población de Estudio

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 300 mg/Kg (dosis baja) y de 2000 mg/Kg (dosis alta).

### 2.4.5.2. Selección de la Muestra (*Rattus norvegicus*)

Los grupos de ratas para el control toxicológico agudo administrado por vía oral a una dosis baja y alta, se conformaron teniendo en cuenta los factores que se detallan en la tabla 1-2.

**Tabla 1-2** Características del animal de experimentación

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

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

### 2.4.5.3. Unidad de Análisis

Para cada *Passiflora* estudiada se emplearon 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 y 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** Grupos *Pasiflora mixta*

Grupo	Grupo I	Grupo II:	Grupo III	Grupo IV
Numero de animal	6	6	6	6
Administración	Sin Administración	Administradas solo con la dosis del vehículo	Administradas a Dosis única a cada miembro del grupo	Administradas a Dosis única a cada miembro del grupo

		(propilenglicol)	(300mg/kg)	(2000mg/kg)
<b>Extracto a administrara</b>			<i>Pasiflora mixta</i>	<i>Pasiflora mixta</i>
<b>Tipo de administración</b>	Vía oral			

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 3-2** Grupos de *Pasiflora ligularis*

Grupo	Grupo I	Grupo II:	Grupo III	Grupo IV
<b>Numero de animal</b>	6	6	6	6
<b>Administración</b>	Sin Administración	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)
<b>Extracto a administrara</b>			<i>Pasiflora ligularis</i>	<i>Pasiflora ligularis</i>
<b>Tipo de administración</b>	Vía oral			

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

#### 2.4.6. Periodo de investigación (Bioensayo)

##### 2.4.6.1. Ambientación

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 3-2 que contiene IV grupos, los cuales fueron divididos por peso con una relación de dosis baja a pesos medianos y dosis altas a peso altos. Los grupos control I, II con pesos más bajos, todos los animales 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. Las condiciones ambientales a las que fueron sometidos fueron; 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.

Todos los grupos de animales de experimentación se trataron con ética animal y se etiquetó la caja de vivienda como también a cada animal de experimentación (ROBALINO, C. 2014).

#### **2.4.6.2. Día cero**

Una vez transcurrido el periodo de ambientación de 31 días de los animales de experimentación, divididos por grupo de dosificación, se realizó determinó el peso inicial. Además, el mismo día se realizó la extracción sanguínea a cada animal de experimentación en dos tubos diferentes de color violeta y de color rojo para determinar:

Perfil hematológico: Glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, CHCM, leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos

Parámetros de Bioquímica sanguínea: urea, creatinina, bilirrubina total, AST, ALT.

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

Grupo I: grupo control, al cual no se le administró ningún extracto.

Grupo II: se le administró por vía oral solamente propilenglicol al 15% como vehículo.

Grupo III: se le administró por vía oral el vehículo junto con el extracto etanólico (*Pasiflora ligularis* y *mixta*) a una dosis baja de 300 mg/kg peso del animal de experimentación.

Grupo IV: se le administró el vehículo junto con el extracto etanólico (*Pasiflora ligularis* y *Pasiflora mixta*) a una dosis alta que en este caso es de 2000 mg/kg peso del animal de experimentación por vía oral.

#### **2.4.6.3. Día 1 al Día 14: Observación de parámetros clínicos cualitativos**

El bioensayo se realizó durante 15 días a partir del día de administración (día cero). Del día 1 al día 14 se observaron los siguientes parámetros clínicos de forma cualitativa:

- Cambios en la piel (cambios de color, presencia de moretones o hematomas) y del pelaje (erizado o caída).
- Consumo del agua, determinando el dispendio de agua en ml.
- Consumo de alimento, determinando el peso de los pellets/día ingeridos.
- La actividad autonómica, observando si el animal de experimentación presentaba lacrimación principalmente en los 3 primeros días, el color de ojos el patrón respiratorio después de la administración en especial en la dosis alta.
- Cambio de postura en el microambiente como también la respuesta a la manipulación, la presencia de movimientos tónicos o clónicos en especial en las dosis altas como también una presencia de estereotipias. durante los tres primeros días se determinó principalmente la presencia de automutilación.



#### **2.4.6.4. Día 15**

El día 15 del bioensayo se realizó el sacrificio del animal para la realización del análisis histopatológico de los órganos: cerebro, corazón, pulmón, hígado y riñón.

#### **2.4.7. Análisis Histopatológico**

El material biológico objeto del análisis histopatológico fueron los órganos (cerebro, corazón, pulmón, hígado y riñón), resultantes de la autopsia del animal de experimentación, para el estudio de toxicidad en los tejidos.

El material biológico fue etiquetado según el tipo de órgano, el tipo de dosificación, color, y colocado en un contenedor estéril para la realización de cortes histológicos.

Una vez tomada la muestra del material biológico se realizó la fijación con formol al 10%, para evitar que el tejido tenga cambios en sus células y mantenga intactas sus propiedades.

En esta etapa se utilizó un equipo automático que contiene 12 cubetas listas para las muestras. Cada tratamiento duró 18 horas, con el fin de conseguir:

- Deshidratación: las muestra que contiene aún agua en su interior son deshidratadas y, además, se elimina el exceso del fijador.
- Aclaramiento o diafanización: para que la muestra sea más transparente para su posterior lectura.
- Inclusión: la muestra biológica es colocada en parafina caliente en estado líquido

Una vez terminada la inclusión, la muestra fue extraída del equipo para su solidificación en un molde de acero

Se realizaron los cortes histológicos a un diámetro de 5 micrómetros con la ayuda del micrótopo para un corte.

El corte fue colocado en una placa portaobjeto para teñirla con una coloración hematoxilina-eosina, con una secuencia adecuada para que los tejidos obtengan la coloración adecuada para la observación microscópicamente.

Se observaron las placas histológicas luego del tratamiento para determinar el nivel de daño en los tejidos de cada órgano del animal de experimentación.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS

#### 3.1. Determinación de los valores hematológicos y los niveles de química sanguínea

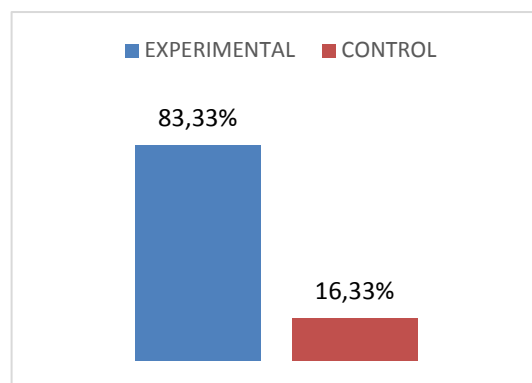
Como se evidencia en la tabla 1-3, en el estudio se usaron 36 animales de experimentación distribuidos de la siguiente manera: en el grupo experimental 30 ratas (83,33%), y para el grupo control se emplearon 6 ratas (16,77%).

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, conjuntamente se utilizaron investigaciones de Ndaleh Wozerou Nghonjuyi, Christian Keambou Tiambo, Germain Sotoing Taiwe, Jean Paul Toukala (2016) y Fengjin Li, Xiaoli He (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.

**Tabla 1-3:** División de la población de estudio por porcentajes

GRUPO	CANTIDAD	POCENTAJE %
EXPERIMENTAL	30	83.33%
CONTROL	6	16.77%
TOTAL	36	100%

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016



**Gráfico 1-3** Clasificación en porcentaje de la población en estudio  
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 2-3 se observó que el total de animales de experimentación 36, todas de sexo femenino. Existe una diferencia entre los porcentajes de los grupos, en el experimental el 40% corresponde a la *Pasiflora ligularis* y el 60% corresponde a la *Passiflora mixta*, mientras que el grupo control se encuentra el 100% de *Passiflora ligularis* y el 0% es *Passiflora mixta*.

Esta proporcionalidad se debe a que el grupo control usado en *Passiflora ligularis*, también se usara para *Passiflora mixta*; las ratas utilizadas son hembras jóvenes, sanas, nulíparas, de peso +20% de la media de animales antes dosificados como lo indica la OECF 423

**Tabla 2-3** Total de animales de experimentación

GENERO	GRUPO EXPERIMENTAL				GRUPO DE CONTROL		TOTAL	
	DOSIS CON VEHÍCULO	DOSIS BAJA 300mg/kg	DOSIS ALTA 2000mg/kg	PORCENTAJE	NUMERO	PORCENTAJE	NUMERO	PORCENTAJE
<i>Pasiflora ligularis</i>	6	6	6	40%	6	100%	24	66.66%
<i>Pasiflora mixta</i>	0	6	6	60%	0	0%	12	33.33%
<b>TOTAL</b>	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>100%</b>	<b>6</b>	<b>100%</b>	<b>36</b>	<b>100%</b>

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

### 3.2. Análisis cuantitativo de los valores de los ensayos de química sanguínea y hematología.

#### 3.2.1. Análisis de urea

En la tabla 3-3 se muestran los resultados del análisis de urea en los animales de experimentación separados por grupos. Estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 4-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,96 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

**Tabla 3-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de Urea antes de la administración valor de referencia (32-54mg/dl)

Colores	Blanco	Vehículo mg/Kg	ligularis 300 mg/Kg	mixta 300 mg/Kg	ligularis 2000 mg/Kg	Mixta 2000 mg/Kg
Sin Color	46,80	52,80	44,20	48,00	52,00	46,50
Rojo	50,00	51,10	42,00	38,00	42,00	52,40
Negro	36,10	47,70	46,00	52,00	45,70	46,10
Verde	38,90	40,10	54,00	49,30	41,70	43,50

Violeta	46,80	37,70	32,00	49,00	31,70	46,10
Rosado	36,10	40,10	46,00	28,00	52,00	43,50
	42,45	44,92	44,03	44,05	44,18	46,35

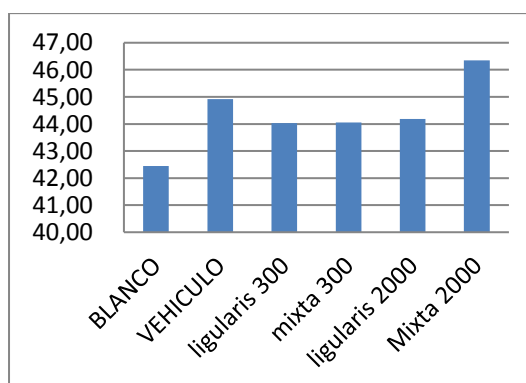
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 4-3** Resultados de Anova para Urea antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	48,88	5,00	9,78	0,21	0,96	2,53
Dentro de los grupos	1.420,08	30,00	47,34			
Total	1.468,96	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 2-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de urea obtenidos evidenciando que todos los grupos poseen valores dentro del rango y junto con el análisis ANOVA que muestra que no existen diferencias representativas, comprobando así un correcto funcionamiento renal.



**Gráfico 2-3** Valores promedio de los grupos para urea antes de la administración

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 5-3 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 *pasifloras ligularis* y *mixta* 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 0,01 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

En el gráfico 3-3 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 *ligularis* 2000 de 61,38 y *mixta* 2000 de 69,38.

**Tabla 5-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de Urea Después de la administración valor de referencia (32-54mg/dl)

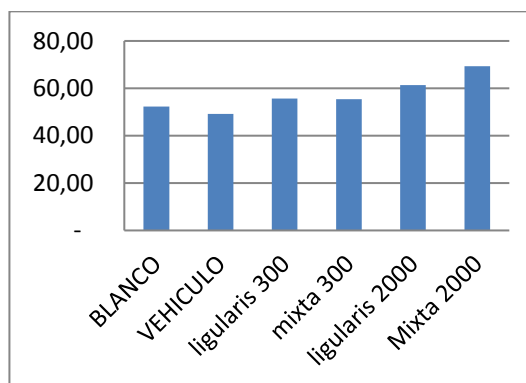
Colores	Blanco	Vehículo mg/Kg	ligularis 300 mg/Kg	mixta 300 mg/Kg	ligularis 2000 mg/Kg	Mixta 2000 mg/Kg
Sin Color	56,00	59,00	55,10	48,50	55,60	67,40
Rojo	42,70	46,70	52,80	59,70	57,50	59,70
Negro	59,20	41,70	57,50	58,30	71,20	84,50
Verde	56,80	46,70	50,50	68,80	40,90	67,50
Violeta	42,70	59,00	65,10	48,50	65,60	57,50
Rosado	56,80	41,70	52,80	48,30	77,50	79,70
	52,37	49,13	55,63	55,35	61,38	69,38

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 6-3** Resultados de Anova para Urea Después de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.561,46	5,00	312,29	3,73	0,01	2,53
Dentro de los grupos	2.510,41	30,00	83,68			
Total	4.071,87	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016



**Gráfico 3-3** Valores promedio de los grupos para urea después de la administración  
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

### 3.2.2. Análisis de Creatinina

En la tabla 7-3 se muestran los resultados del análisis de creatinina en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 8-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,92 no 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 creatinina obtenidos evidenciando que todos los grupos poseen valores dentro del rango y junto con el análisis ANOVA que nos dice no tienen diferencias representativas, se comprobó que ningún animal posee daño a nivel renal

**Tabla 7-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de Creatinina antes de la administración valor de referencia (0.69-2.19 mg/dl)

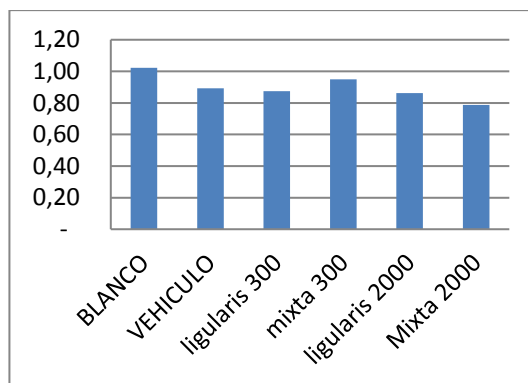
Colores	Blanco	Vehículo mg/Kg	ligularis 300 mg/Kg	mixta 300 mg/Kg	ligularis 2000 mg/Kg	Mixta 2000 mg/Kg
SIN COLOR	0,87	0,72	0,65	0,43	0,61	0,65
ROJO	1,28	1,61	0,51	0,43	1,20	1,09
NEGRO	1,19	0,80	0,83	1,15	0,54	0,77
VERDE	1,23	0,71	0,91	1,53	0,70	0,77
VIOLETA	0,87	0,80	1,51	0,73	1,70	0,77
ROSADO	0,69	0,71	0,83	1,43	0,42	0,67
TOTAL	1,02	0,89	0,87	0,95	0,86	0,79

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 8-3** Resultados de Anova para Creatinina antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,19	5,00	0,04	0,29	0,92	2,53
Dentro de los grupos	4,04	30,00	0,13			
Total	4,24	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016



**Gráfico 4-3** Valores promedio de los grupos para creatinina antes de la administración  
**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 9-3 se muestran los resultados del análisis de creatinina en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 10-3 evidenciando que al tener una probabilidad de  $9,17905E-09$  no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

**Tabla 9-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de Creatinina después de la administración valor de referencia (0.69-2.19 mg/dl)

	BLANCO	VEHICULO	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
SIN COLOR	0,79	0,78	1,72	1,68	1,6	1,81
ROJO	0,81	0,73	1,6	1,74	2,02	2,58
NEGRO	0,85	0,78	2,73	1,82	2,15	2,6
VERDE	0,79	0,91	1,66	2,86	2,67	2,6
VIOLETA	0,85	0,73	2,22	1,74	2,6	1,81
ROSADO	0,818	0,786	1,986	1,968	2,208	2,28
TOTAL	0,79	0,78	1,72	1,68	1,6	1,81

**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

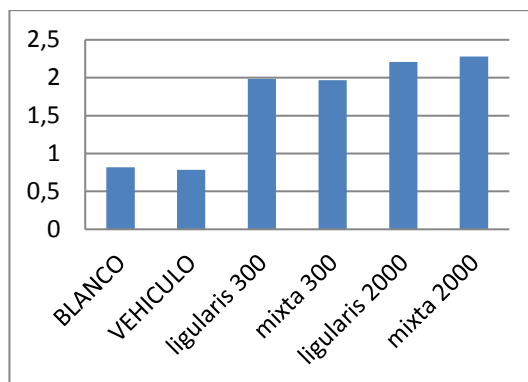
**Tabla 10-3** Resultados de Anova para Creatinina después de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	12,8008	5	2,56016	20,07653701	9,17905E-09	2,533554548
Dentro de los grupos	3,8256	30	0,12752			

<b>Total</b>	16,6264	35				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 5-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de creatinina obtenidos después de la administración de las especies de pasifloras en donde existen valores en los promedios que no se encuentran dentro del rango



**Gráfico 5-3** Valores promedio de los grupos para creatinina después de la administración

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

Los valores de creatinina no sobrepasaron los límites superiores de los valores de referencia normal mientras que la urea aumentó en 7,72 y 9,04 %, para *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* respectivamente, con respecto al Valor de Referencia Normal, siendo estos valores no representativos de daño renal y que en el estudio histopatológico no se presentaron daños en los tejidos podemos afirmar que es una alteración en el funcionamiento renal. (93)

El aumento de los niveles de urea y creatinina demuestra una alteración en el funcionamiento renal, una de las causas es la hipotensión, debido a los efectos que presenta la *Passiflora ligularis* y mixta por su efecto ansiolítico y la presencia de flavonoides, en su mayoría quercetina, que es conocida por la acción que ejerce sobre la presión arterial sistólica, diastólica y media. (1) (2) (3)

### 3.2.3. Análisis de bilirrubina

En la tabla 11-3 se muestran los resultados del análisis de bilirrubina en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 12-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,51 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado



**Tabla 11-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de Bilirrubina antes de la administración valor de referencia (0.042-0.25 mg/dl)

	BLANCO	VEHICULO	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
SIN COLOR	0,06	0,19	0,05	0,15	0,19	0,08
ROJO	0,19	0,05	0,10	0,05	0,18	0,06
NEGRO	0,09	0,05	0,20	0,17	0,15	0,09
VERDE	0,08	0,37	0,06	0,09	0,12	0,10
VIOLETA	0,06	0,05	0,10	0,09	0,15	0,09
ROSADO	0,16	0,10	0,20	0,15	0,18	0,10
TOTAL	0,11	0,13	0,12	0,12	0,16	0,09

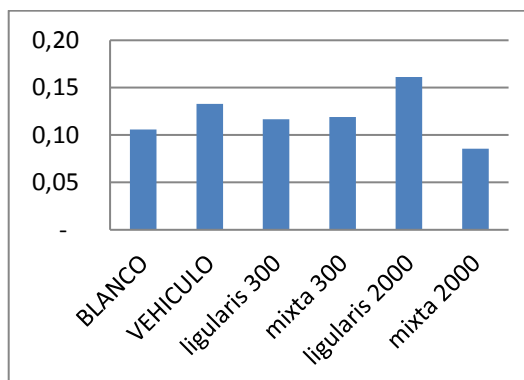
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 12-3** Resultados de Anova para Bilirrubina antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,02	5,00	0,00	0,87	0,51	2,53
Dentro de los grupos	0,14	30,00	0,00			
Total	0,16	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 6-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de bilirrubina obtenidos evidenciando que todos los grupos poseen valores dentro del rango y junto con el análisis ANOVA que nos dice no tienen diferencias representativas, podemos comprobar el correcto funcionamiento hepático



**Gráfico 6-3** Valores promedio de los grupos para bilirrubina antes de la administración  
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 13-3 se muestran los resultados del análisis de bilirrubina en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 14-3 evidenciando que al tener una probabilidad de  $3,75334E-11$  existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

**Tabla 13-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de bilirrubina después de la administración valor de referencia (0.042-0.25 mg/dl)

	BLANCO	VEHICULO	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
SIN COLOR	0,088	1,02	0,1	0,153	0,15	0,205
ROJO	0,093	0,76	0,049	0,132	0,12	0,23
NEGRO	0,097	0,98	0,12	0,152	0,24	0,7
VERDE	0,175	0,76	0,46	0,06	0,24	0,12
VIOLETA	0,093	1,02	0,1	0,153	0,45	0,12
ROSADO	0,175	0,98	0,044	0,252	0,12	0,14
TOTAL	0,088	1,02	0,1	0,153	0,15	0,205

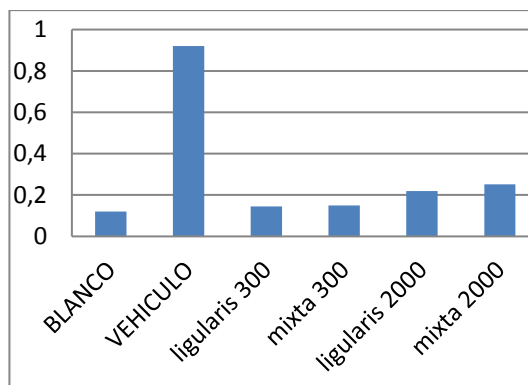
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 14-3** Resultados de Anova para bilirrubina antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2,829927583	5	0,565985517	30,37417813	6,97378E-11	2,533554548
Dentro de los grupos	0,559013167	30	0,018633772			
Total	3,38894075	35				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 7-3 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 dentro del rango, siendo estos *ligularis* 2000 de 0,27 y *mixta* 2000 de 0,33.



**Gráfico 7-3** Valores promedio de los grupos para bilirrubina después de la administración

**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

Las saponinas triterpenoidales tienen una estructura química similar a las hormonas esteroideas; y conociendo el efecto hepatotóxico de los estrógenos, se puede relacionar con la variación en la función hepática y la subida de los valores de bilirrubina en el presente estudio, el porcentaje de aumento de bilirrubina por sobre el nivel de referencia normal no es considerable. (4) (5) (6)

En la tabla 15-3 se muestran los resultados del análisis de TGO en los animales de experimentación separados por grupos, cuyos resultados se presentan en la tabla 16-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,49 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

**Tabla 15-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de TGO antes de la administración valor de referencia (49.23 - 95.01 U/L)

	BLANCO	VEHICULO	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
SIN COLOR	49,00	55,90	68,90	63,90	83,00	97,50
ROJO	57,20	63,20	65,80	73,10	77,30	46,00
NEGRO	68,80	49,00	75,20	83,80	85,20	49,80
VERDE	69,80	86,00	54,20	83,10	68,00	74,70
VIOLETA	63,00	79,00	65,80	83,10	68,00	99,80
ROSADO	58,80	86,00	75,20	73,90	57,30	54,70
TOTAL	61,10	69,85	67,52	76,82	73,13	70,42

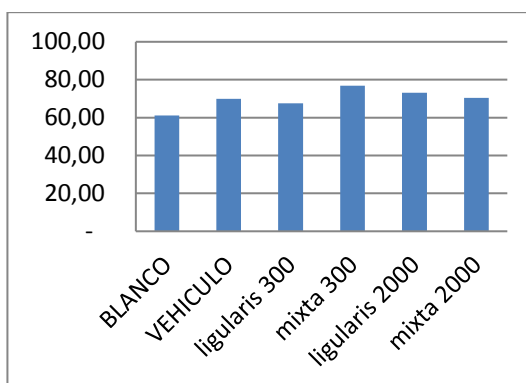
**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 16-3** Resultados de Anova para TGO antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	849,79	5,00	169,96	0,90	0,49	2,53
Dentro de los grupos	5.651,69	30,00	188,39			
Total	6.501,48	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 8-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de TGO obtenidos evidenciando que todos los grupos poseen valores dentro del rango y junto con el análisis ANOVA que nos dice no tienen diferencias representativas, podemos comprobar el correcto funcionamiento Hepático



**Gráfico 8-3** Valores promedio de los grupos para TGO Antes de la administración

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 17-3 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. ligularis* y *P. mixta* 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 0,00083875 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

**Tabla 17-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de TGO Después de la administración Valores de referencia (0.69-2.19 mg/dl)

	BLANCO	VEHICULO	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
SIN COLOR	54,7	57,4	85,2	98,6	103,2	89,8
ROJO	79,2	51,2	90,4	90,3	98,7	93,7
NEGRO	66,4	59,6	93,2	76,5	93,9	91,5
VERDE	68,9	81,2	91,3	89,2	100,7	143,2
VIOLETA	59,2	87,4	95,2	98,6	93,2	83,2
ROSADO	68,9	69,6	90,4	96,5	108,7	89,2
TOTAL	54,7	57,4	85,2	98,6	103,2	89,8

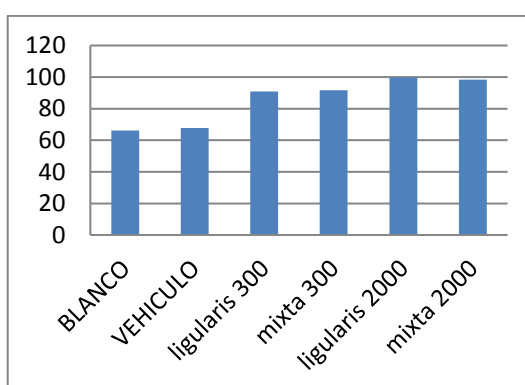
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 18-3** Resultados de Anova para TGO Después de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	19.021,88	5,00	3.804,38	5,68	0,00083875	2,53
Dentro de los grupos	20.079,16	30,00	669,31			
Total	39.101,04	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 9-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de TGO 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 *ligularis* 2000 de 138,90 y *mixta* 2000 de 120,35.



**Gráfico 9-3** Valores promedio de los grupos para TGO después de la administración  
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

La enzima TGO presentó un aumento en las medias de los grupos de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* de 4,971 3,603% respectivamente con respecto al valor de referencia normal; esto contrastado con el análisis histopatológico se puede considerar que esta enzima no es un marcador específico y no representa necesariamente daño hepático. De hecho, la elevación de esta enzima con frecuencia no indica daño hepático, como lo demuestra el hecho de que, en muchos casos, los valores retornan a la normalidad; denominándose tolerancia adaptativa, esta tolerancia se da por la gran capacidad de autoregeneración del hígado; según la conferencia de febrero de 2001 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 tres veces el límite superior del rango normal sumado al aumento de FAL (fosfatasa alcalina); o aumento de bilirrubina de más del doble del límite superior normal más cualquier elevación de TGO o fosfatasa alcalina. (90) (92)

### 3.2.5. Análisis de TGP

En la tabla 19-3 se muestran los resultados del análisis de TGP en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 20-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,51 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

La enzima ALT (TGP) es citosólica y se encuentra en concentraciones más altas en hepatocitos, de manera que el incremento en el suero podría ser debido a modificaciones en la permeabilidad transmembranal, considerándose como un indicador altamente sensible de hepatotoxicidad; en la presente investigación, este incremento no fue estadísticamente significativo, lo cual nos indicaría ausencia de toxicidad a este nivel. (93) (94)

**Tabla 19-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de TGP antes de la administración valor de referencia (25.18 - 48.01 U/L)

	BLANCO	VEHICULO	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
SIN COLOR	49,00	31,50	48,50	49,00	69,50	140,20
ROJO	25,70	43,10	50,80	50,00	105,10	69,40
NEGRO	42,60	41,10	59,50	39,80	101,90	96,20
VERDE	32,30	33,10	41,80	61,00	72,20	69,50
VIOLETA	42,70	51,50	38,50	39,00	69,50	69,50

ROSADO	42,30	43,10	50,80	53,00	75,10	79,40
TOTAL	39,10	40,57	48,32	48,63	82,22	87,37

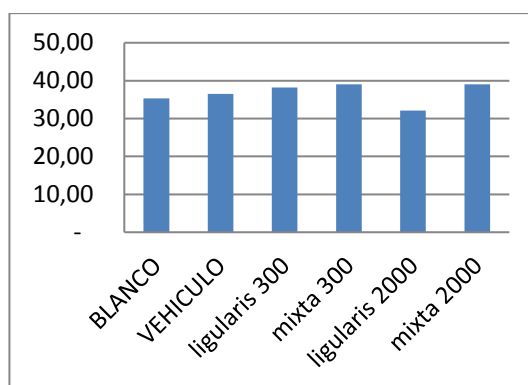
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 20-3** Resultados de Anova para TGP antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	218,86	5,00	43,77	0,87	0,51	2,53
Dentro de los grupos	1.508,22	30,00	50,27			
Total	1.727,08	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 10-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de TGP obtenidos evidenciando que todos los grupos poseen valores dentro del rango y junto con el análisis ANOVA que nos dice no tienen diferencias representativas, podemos comprobar el correcto funcionamiento Hepático



**Gráfico 10-3** Valores promedio de los grupos para TGP antes de la administración

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 21-3 se muestran los resultados del análisis de TGP en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 22-3 evidenciando que al tener una probabilidad de  $1,19652E-06$  existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

**Tabla 21-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de TGP Después de la administración Valores de referencia (0.69-2.19 mg/dl)

	BLANCO	VEHICULO	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
SIN COLOR	49	31,5	48,5	49	49,5	50,2
ROJO	25,7	33,1	50,8	50	55,1	49,4
NEGRO	32,6	41,1	59,5	39,8	61,9	61,2
VERDE	32,3	33,1	41,8	61	42,2	47,5
VIOLETA	42,7	31,5	38,5	39	50,5	43,5
ROSADO	42,3	43,1	50,8	53	55,1	69,4
TOTAL	49	31,5	48,5	49	49,5	50,2

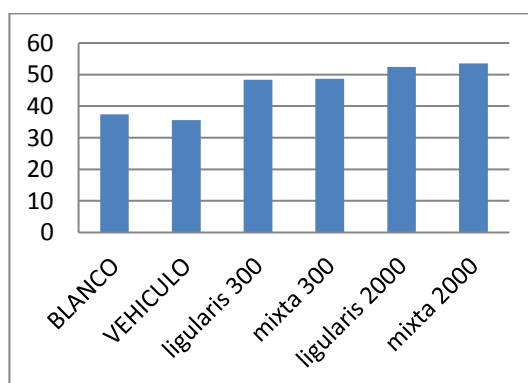
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 22-3** Resultados de Anova para TGP Después de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1752,232222	5	350,4464444	5,767115197	0,000761611	2,533554548
Dentro de los grupos	1822,99	30	60,76633333			
Total	3575,222222	35				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 11-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de TGO 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 *ligularis 2000* de 82,22 y *mixta 2000* de 87,37.



**Gráfico 11-3** Valores promedio de los grupos para TGP después de la administración  
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016



### 3.2.6. Análisis de glóbulos blancos

En la tabla 23-3 se muestran los resultados del análisis de glóbulos blancos en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 24-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,67 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

**Tabla 23-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de glóbulos blancos antes de la administración valor de referencia ( $4-10 \times 10^{12}/L$ )

Colores	Blanco	Vehículo	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
Blanco	8,45	9,46	8,32	6,73	8,38	5,31
Rojo	7,45	9,16	11,55	7,21	8,33	9,29
Negro	7,80	8,25	7,38	8,23	9,15	8,29
Verde	8,53	8,01	7,27	9,13	10,06	9,74
Violeta	7,64	8,31	7,35	6,72	8,18	8,41
Rosado	7,63	8,72	7,31	9,03	8,33	8,41
PROMEDIO	7,92	8,65	8,20	7,84	8,74	8,24

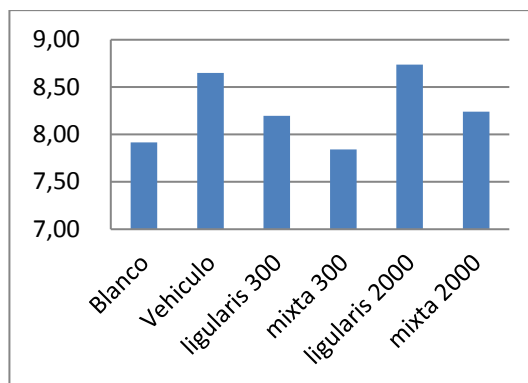
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 24-3** Resultados de Anova para glóbulos blancos antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4,07	5,00	0,81	0,65	0,67	2,53
Dentro de los grupos	37,76	30,00	1,26			
Total	41,83	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 12-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de glóbulos blancos obtenidos evidenciando que todos los grupos poseen valores dentro del rango y junto con el análisis ANOVA que nos dice no tienen diferencias representativas



**Gráfico 12-3** Valores promedio de los grupos para Glóbulos blancos antes de la administración

**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 25-3 se muestran los resultados del análisis de glóbulos blancos en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 26-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,02 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

**Tabla 25-5** Datos para la realización del análisis Anova resultados de glóbulos blancos después de la administración valores de referencia ( $4-10 \times 10^{12}/L$ )

Colores	Blanco	Vehículo	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
Blanco	8,15	7,09	11,01	10,23	11,65	11,10
Rojo	7,05	9,19	9,75	8,09	11,03	9,03
Negro	9,41	10,19	7,22	9,62	10,94	9,40
Verde	9,05	8,98	11,41	9,73	9,97	9,91
Violeta	8,06	8,41	9,38	11,16	10,13	9,89
Rosado	8,20	8,98	7,22	9,02	10,08	12,48
PROMEDIO	8,32	8,81	9,33	9,64	10,63	10,30

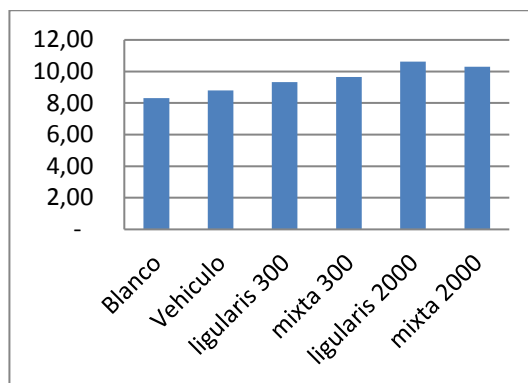
**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 26-3** Resultados de Anova para glóbulos blancos después de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	23,09	5,00	4,62	3,40	0,02	2,53
Dentro de los grupos	40,78	30,00	1,36			
Total	63,87	35,00				

**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 13-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de glóbulos blancos 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 *ligularis* 2000 de 10.63 y *mixta* 2000 de 10.30.



**Gráfico 13-3** Valores promedio de los grupos para glóbulos blancos después de la administración

**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

### 3.2.7. Análisis de Glóbulos rojos

En la tabla 27-3 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 *pasifloras ligularis* y *mixta* 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 0,41 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

**Tabla 27-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de Glóbulos Rojos antes de la administración valor de referencia ( $3.5-5 \times 10^{12}/L$ )

Colores	Blanco	Vehículo	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
Blanco	4,33	5,22	3,50	4,57	4,58	4,85
Rojo	4,99	4,22	3,92	3,57	4,01	3,75
Negro	4,61	4,30	4,95	5,29	3,89	3,75
Verde	3,99	4,96	5,04	4,25	4,31	3,70
Violeta	4,68	4,96	4,97	4,27	5,01	4,35
Rosado	4,80	4,68	5,01	4,29	4,71	4,35
PROMEDIO	4,57	4,72	4,56	4,37	4,42	4,13

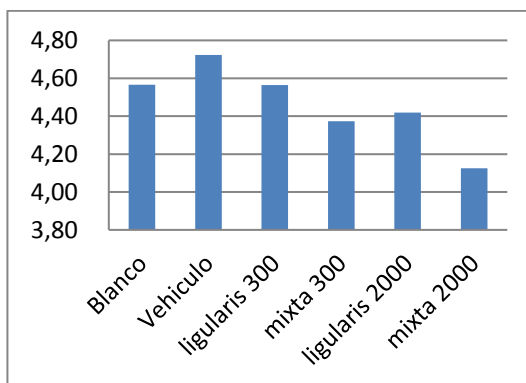
**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 28-3** Resultados de Anova para glóbulos rojos antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,28	5,00	0,26	1,05	0,41	2,53
Dentro de los grupos	7,28	30,00	0,24			
Total	8,56	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 14-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de glóbulos rojos obtenidos evidenciando que todos los grupos poseen valores dentro del rango y junto con el análisis ANOVA que nos dice no tienen diferencias representativas



**Gráfico 14-3** Valores promedio de los grupos para glóbulos rojos antes de la administración

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 29-3 se muestran los resultados del análisis glóbulos rojos en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 30-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,833011891 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

**Tabla 29-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de Glóbulos Rojos Después de la administración Valores de referencia ( $3.5-5 \times 10^{12}/L$ )

Colores	Blanco	Vehículo	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
Blanco	4,58	4,32	4,52	4,09	3,9	3,61
Rojo	3,58	3,94	3,79	3,99	4,06	4,11
Negro	4,18	5,14	4,42	4,8	4,61	4,54
Verde	4,58	3,41	5,52	3,94	3,25	4,5
Violeta	4,2875	4,3025	4,51	4,47	4,95	3,08
Rosado	4,113333333	3,41	3,92	4,79	3,86	4,84
PROMEDIO	4,58	4,32	4,52	4,09	3,9	3,61

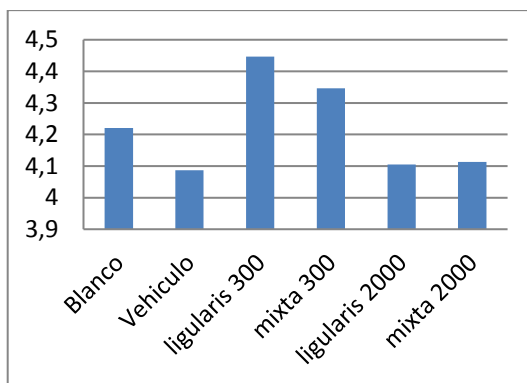
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 30-3** Resultados de Anova para glóbulos rojos después de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,658149923	5	0,131629985	0,417189169	0,833011891	2,533554548
Dentro de los grupos	9,46548912	30	0,315516304			
Total	10,12363904	35				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 15-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de glóbulos rojos obtenidos después de la administración de las especies de pasifloras en donde existen valores en los promedios que se encuentran dentro del rango



**Gráfico 15-3** Valores promedio de los grupos para glóbulos rojos después de la administración

**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

La quercetina promueve la expresión del ARNm de sintasa que es el que impulsa la creación del óxido nítrico que es un conocido vasodilatador endotelial. Entonces si la presión arterial es menor se necesita menos producción de glóbulos rojos justificando así la baja de los valores de este parámetro en la presente investigación. (1) (2) (3).

### 3.2.8. Análisis de Plaquetas

En la tabla 31-3 se muestran los resultados del análisis de plaquetas en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 32-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0,41 no existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado

**Tabla 31-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de plaquetas antes de la administración valor de referencia (100-500x10<sup>9</sup>/L)

Blanco	Vehículo	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000	Blanco
318,00	333,00	564,00	474,00	466,00	496,00	318,00
460,00	403,00	344,00	434,00	451,00	217,00	460,00
339,00	354,00	289,00	338,00	347,00	217,00	339,00
318,00	408,00	287,00	408,00	342,00	529,00	318,00
344,25	368,00	288,50	394,00	448,00	495,00	344,25
399,50	374,50	287,75	238,00	451,00	495,00	399,50
363,13	373,42	343,38	381,00	417,50	408,17	363,13

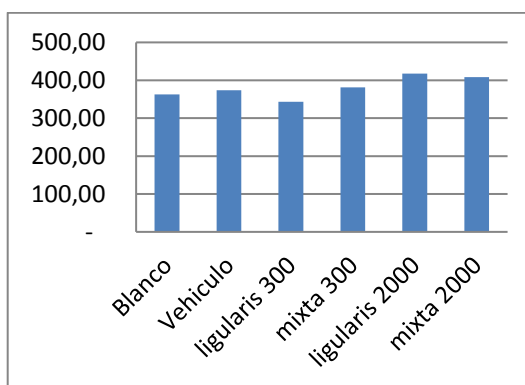
**Fuente:** ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 32-3** Resultados de Anova para Plaquetas antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	23.177,31	5,00	4.635,46	0,57	0,72	2,53
Dentro de los grupos	242.083,23	30,00	8.069,44			
Total	265.260,53	35,00				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 16-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de plaquetas obtenidos evidenciando que todos los grupos poseen valores dentro del rango y junto con el análisis ANOVA que nos dice no tienen diferencias representativas.



**Gráfico 16-3** Valores promedio de los grupos para plaquetas antes de la administración  
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En la tabla 33-3 se muestran los resultados del análisis de plaquetas en los animales de experimentación separados por grupos, estos datos fueron sometidos a un análisis ANOVA, cuyos resultados se presentan en la tabla 34-3 evidenciando que al tener una probabilidad de 0.01 existe una diferencia significativa entre los diferentes grupos de animales dentro de este parámetro de química sanguínea analizado.

**Tabla 33-3** Datos para la realización del análisis Anova resultados de Plaquetas antes de la administración valor de referencia (100-500x10<sup>9</sup>/L)

Colores	Blanco	Vehículo	ligularis 300	mixta 300	ligularis 2000	mixta 2000
Blanco	329,0	321,0	390,0	438,0	396,0	489,0
Rojo	369,0	329,0	495,0	390,9	418,0	372,0
Negro	383,0	329,0	404,0	403,0	494,0	385,0

Verde	429,0	466,0	390,0	465,0	442,0	452,0
Violeta	384,8	411,3	373,0	416,0	491,0	420,0
Rosado	393,7	376,0	404,0	303,1	435,0	481,0
PROMEDIO	329,0	321,0	390,0	438,0	396,0	489,0

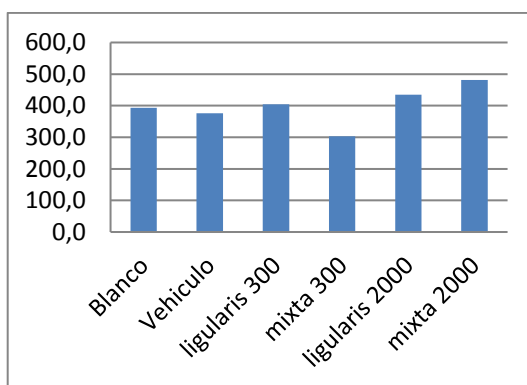
Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

**Tabla 34-3** Resultados de Anova para plaquetas después de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	24636,4992	5	4927,29985	2,21973755	0,078282691	2,53355455
Dentro de los grupos	66593,0056	30	2219,76685			
Total	91229,5049	35				

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En el gráfico 17-3 se realiza la comparación de los resultados del contenido de plaquetas obtenidos después de la administración de las especies de pasifloras en donde existen valores en los promedios que se encuentran dentro del rango.



**Gráfico 17-3** Valores promedio de los grupos para plaquetas después de la administración

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

MyoungLae Cho (2016) manifiesta que no existe cambio en valores de plaquetas por ausencia de daño tisular en los órganos estudiados; Andressa Braga (2013) indica que en los órganos estudiados a nivel histopatológico no presentan daños en estudios de toxicidad aguda, en la presente investigación no existe cambios en los valores de plaquetas en los grupos donde se administró *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta*; además el valor de la probabilidad del test Anova muestra que no hay diferencia entre los grupos que se administró *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* con respecto al grupo blanco y vehículo.



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

#### Antes de la administración

Durante los 15 días de aclimatación los animales presentaron conducta normal, patrones de alimentación estándar; realizaban procesos de excreción uniformes, sin signos de patologías macroscópicas aparentes.

#### Después de la administración

Durante las primeras cuatro horas los animales presentaron sedación, somnolencia, falta de movilidad, disminución de apetito y consumo de agua, siendo esta reacción más notoria en los grupos a los que se administró *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* en concentraciones de 2000mg/Kg; después de las cuatro primeras horas, los efectos sedantes comenzaron a disminuir, manteniendo la falta de apetito.

Durante el segundo día la movilidad aumentó, el consumo de agua sobrepasó el promedio de los días de aclimatación, incrementó el apetito con respecto al día de administración, manteniendo una ligera somnolencia. Desde el segundo al quinto día, los promedios de consumo de agua y alimentos se estabilizaron desapareciendo totalmente la sedación y somnolencia; a partir del día 6 los parámetros de consumo de agua y bebida se normalizaron.

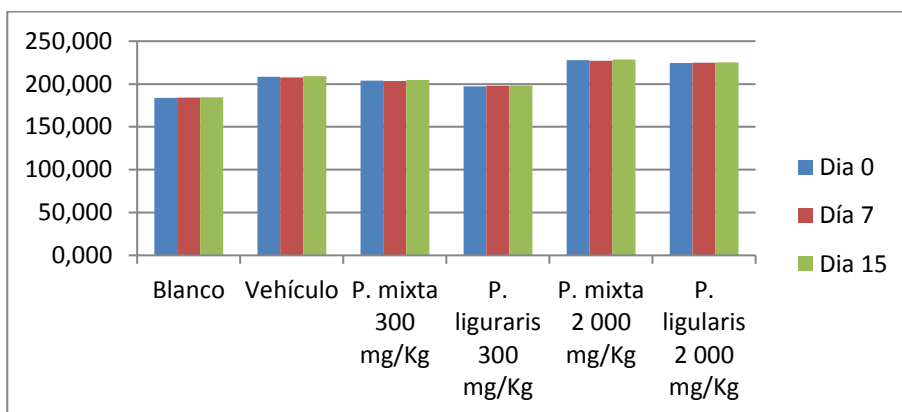
#### Análisis del peso de los animales durante el ensayo.

En la Tabla 35-3 se muestran los promedios de los pesos de cada grupo en los días 0, 7 y 15. Evidenciando que el promedio de variación de los pesos en los animales de experimentación no es significativo, en la presente investigación el porcentaje de aumento de peso es de 0,48 %.

**Tabla 35-3** Datos para el ensayo Anova, promedios de los pesos de los distintos grupos durante los días 0, 7 y 15 de la investigación

Variación del promedio de los pesos en los grupos administrados, blanco y vehículo			
Peso en gramos	Día 0	Día 7	Día 15
Blanco	183,617	184,168	184,504
Vehículo	208,233	207,784	209,240
<i>P. mixta</i> 30-0 mg/Kg	203,833	203,427	204,819
<i>P. ligularis</i> 300 mg/Kg	197,333	197,925	198,288
<i>P. mixta</i> 2 000 mg/Kg	227,667	227,210	228,768
<i>P. ligularis</i> 2 000 mg/Kg	224,333	225,006	225,416

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016



**Gráfico 18-3** Resultados de los promedios de los pesos de los animales de experimentación en los días 0, 7 y 15.

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

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

#### Análisis macroscópico.

Después de la autopsia de los animales, se observó que no existen daños en los órganos cerebro, pulmones, riñones, hígado y corazón, todos presentan coloración característica y ausencia de patologías macroscópicas.

**Tabla 36-3** Resultados del análisis macroscópico de los órganos estudiados

Histopatológico Macroscópico						
	Blanco	Vehículo	<i>P. ligularis</i> 300 mg/Kg	<i>P. mixta</i> 300 mg/Kg	<i>P. ligularis</i> 2 000 mg/Kg	<i>P. mixta</i> 2 000 mg/Kg
<b>CEREBRO</b>						
<b>BLANCO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROJO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VERDE</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VIOLETA</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROSADO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>CORAZÓN</b>						
<b>BLANCO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROJO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VERDE</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VIOLETA</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal

<b>ROSADO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>PULMÓN</b>						
<b>BLANCO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROJO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VERDE</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VIOLETA</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROSADO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>HIGADO</b>						
<b>BLANCO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROJO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VERDE</b>	normal	normal	normal	graso	normal	normal
<b>VIOLETA</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROSADO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>RIÑÓN</b>						
<b>BLANCO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROJO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VERDE</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>VIOLETA</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal
<b>ROSADO</b>	normal	normal	normal	normal	normal	normal

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

### Análisis microscópico.

El informe del médico patólogo mostró la ausencia de patologías, debido a ausencia de lesión tisular.

**Tabla 3-37** Resultados del examen macroscópico de los órganos del animal de experimentación en el día catorce del grupo control y grupo de experimentación.

Histopatológico Macroscópico						
	Blanco	Vehículo	<i>P. ligularis</i> 300 mg/Kg	<i>P. mixta</i> 300 mg/Kg	<i>P. ligularis</i> 2 000 mg/Kg	<i>P. mixta</i> 2 000 mg/Kg
<b>CEREBRO</b>						
<b>BLANCO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROJO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VERDE</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VIOLETA</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROSADO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración

<b>CORAZÓN</b>						
<b>BLANCO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROJO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VERDE</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VIOLETA</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROSADO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>PULMÓN</b>						
<b>BLANCO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROJO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VERDE</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VIOLETA</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROSADO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>HIGADO</b>						
<b>BLANCO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROJO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VERDE</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	graso	sin alteración	sin alteración
<b>VIOLETA</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROSADO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>RIÑÓN</b>						
<b>BLANCO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROJO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VERDE</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>VIOLETA</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración
<b>ROSADO</b>	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración	sin alteración

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

Rojas (2 009) concluye que al administrar dosis de 200 mg/Kg de *Passiflora ediles* por 28 días no existe daño patológico microscópico ni macroscópico.

En la Tabla 38-3 se muestra los porcentajes de variación entre los valores de los ensayos de química sanguínea y hematología del 15, después de la administración; los valores entre paréntesis son valores negativos, por tanto no sobrepasaron los valores de referencia; no todos los parámetros se elevaron, así los ensayos de bilirrubina, creatinina, glóbulos rojos y plaquetas, los promedios de los valores de todos los grupos no excedieron el valor máximo de los VRN

**Tabla 38-3** valores de referencia normales, comparados con los de administración de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta*.

	Valor de referencia	unidades	vehículo	<i>P. ligularis</i> 300 mg/kg	<i>P. mixta</i> 300 mg/kg	<i>P. ligularis</i> 2000mg/kg	<i>P. mixta</i> 2000 mg/kg
Urea	32-54	mg/dl	9,388	26,344	25,653	10,586	13,056
Creatinina	0.69-2.19	mg/dl	(9,533)	121,183	105,263	(0,228)	0,228
Bilirrubina	0.042-0.25	mg/dl	0,193	24,732	26,331	(12,000)	1,000
TGO	49.23 - 95.01	U/L	(3,030)	34,707	19,267	4,971	3,603
TGP	25.18 - 48.01	U/L	(2,513)	26,539	24,488	9,109	11,505
Glóbulos Blancos	4 a 10	E9/L	1,804	13,838	24,297	6,333	3,022
Glóbulos Rojos	3,5 a 5	E12/L	(13,455)	(2,588)	(0,610)	(17,900)	(17,733)
Plaquetas	100 a 500	E9/L	(0,368)	19,209	5,687	(10,800)	(13,367)

Fuente: ROMÁN, Benjamín, 2016

En los valores de los ensayos de urea, TGO y plaquetas, los grupos a los que se administró *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* en dosis de 2 000 mg/Kg, sobrepasaron el VRN; en el ensayo de TGP los promedios de los grupos a los que se administró *Passiflora ligularis* en dosis de 300 mg/Kg y 2000 mg/Kg, además de *Passiflora mixta* 2000 mg/Kg sobrepasó los VRN.

## Conclusiones

Los exámenes hematológicos y de química sanguínea pueden ser correlacionados con los posibles daños sobre un órgano específico. Los valores obtenidos en los indicadores hematológicos no mostraron alteraciones importantes debido a que las fluctuaciones presentadas se encuentran dentro del rango establecido por el grupo control y la referencia en bibliografía.

Para considerar un daño hepático los niveles de bilirrubina, TGO y TGP deben sobrepasar el triple del valor de referencia normal. En la presente investigación, los niveles de estos parámetros en los grupos de administración de *Pasiflora ligularis* y *Pasiflora mixta* administrada a 2000 mg/Kg no alcanzaron el triple del valor de referencia demostrando que no existe daño hepático.

Los animales de experimentación tratados con los extractos etanólico de *Passiflora ligularis* y *Passiflora mixta* no presentaron mortalidad ni signos tóxicos atribuibles a la administración del extracto a dosis de 300 mg/kg y 2000 mg/kg. De acuerdo a este resultado, se puede afirmar que los extractos etanólicos de *Pasiflora ligularis* y *Pasiflora mixta* no produjeron toxicidad significativa a las dosis utilizadas en el ensayo de toxicidad aguda oral.

**RECOMENDACIONES:**

Es necesario realizar un estudio toxicológico crónico y subcrónico con los extractos de *Pasiflora ligularis* y *Pasiflora mixta* a una dosis de 300mg/kg, 2000 mg/kg por un lapso de 28 días, para correlacionar el estudio de la toxicidad aguda y complementar los resultados de la seguridad de estos.

## BIBLIOGRAFIA

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

**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) pp. 1912-1918.

**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) 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.

**ANDERSEN, J y JAROSZEWSKI, J** *Cyanohydrin*. Olafsdottir Vol. 28, 1988, págs. 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) 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

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

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

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



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

**BARTRAM, T.** *Herbal medicine*. London : Robinson Publishers, 1998.

**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*, São Paulo, 2015, págs. 575-586.

**BOMBARDELLI, y otros** *Passiflorine, a new glycoside from Passiflora edulis* Vol. 14 *Fitoquímica* 1975

**BOSCH VALDÉS, F,** *La medicina natural y tradicional en Cuba* Vol. 12 *Resumed La Habana*, 1999, págs. 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 págs. 1-9

**CARIELO LIMA, Glaucia, y otros** *Passiflora edulis peel intake improves insulin sensitivity, increasing incretins and hypothalamic satietogenic neuropeptide in rats on a high-fat diet*, Vol. 36 *Nutrición*, Rio de Janeiro, págs. 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*, Barcelona, 2003, págs. 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

**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

**CHARALAMBOUS, G y INGLET, 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, págs. 757-759

**CHASSAGNE, D, BOULANGER, R y CROUZET, J** *Enzymatic hydrolysis of edible Passiflora fruit glycosides* Vol. 66 *Food Chemistry* 1999, págs. 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 pp 1-40

**DA SILVA MORRONE, Maurilio, y otros** *Passiflora manicata (Juss.) aqueous leaf extract protects against reactive* Vol. 60 *Food and Chemical Toxicology*, Porto Alegre, 2013, págs. 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), (Edinburgh) pp. 1975-1979.

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

**DEGROSSY, M.** Conceptos básicos de Toxicología. [En línea] repositorio.ub.edu.ar. 2013. [Consulta: 11 de 08 de 2016.] Disponible en: <http://repositorio.ub.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3658/4050%20-%20toxicologia%20-%20degrossi.pdf?sequence=1>.

**DHAWAN K, DHAWAN S, SHARMA A, PASSIFLORA** Vol. 94 *PubMed* 2004

**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), (La Serena).

**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*, Bogotá, 2016, págs. 329-342.

**FANG, T y LING, S. 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 Portland : s.n., 1983

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

**FISHER, L; et al. Sapiens**. “*Toxicity of Passiflora incarnata*”. *Toxicology & Clinical Toxicology*, vol. 38, s.n (2000), (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*, La Habana, 2005,

**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), 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, pág. 1303.

**GOSELIN, Robert; et al. Sapiens**. *Clinical Toxicology of Commercial Products*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984. 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* , Carolina, 1989, págs. 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, Mexico DF, 2015, págs. 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]. Disponible en:  
[http://www.ucv.ve/uploads/media/Memorias\\_Jornadas\\_de\\_Investigaci%C3%B3n\\_2014.pdf](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] Disponible en:

[https://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/ToxAlim/ToxAlim\\_L1.pdf](https://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/ToxAlim/ToxAlim_L1.pdf).

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

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

**KAMALDEEP , Dhawan, SANJU , Dhawan y ANUPAM ,** Sharma Passiflora: a review update Panjab Vol. 94 Elsevier Journal of Ethnopharmacology 2004

**KAMALDEEP Dhawan, SURESH Kumar y ANUPAM Sharma** Anti-anxiety studies on extracts of Passiflora incarnata Linneaus, Vol. 78 Chandigar , 2001

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

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

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

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

**LIN, Q; et al. Sapiens.** “Inhibition of inducible nitric oxide synthase”. Journal of Ethnopharmacology, vol. 118, s.n (2008)

**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, págs. 45-49

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

**MARECK, U, HERRMANN, K y GALENSA,** The 6-C-hinovoside and 6-C-fucoside of luteolin from Passiflora edulis Vol. 30 Phytochemistry 1991 págs. 3486-3487

**MARTÍNEZ, C.** “Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos”. Botánica Económica de los Andes Centrales [En línea], 2006. (Ecuador) [Consulta: 03 de 10 de 2016]. Disponible en: <http://www.beisa.dk/Publications/BEISA Book pdfer/Capitulo 18.pdf>.

**MATEU, J; & LÓPEZ, E.** Síntesis Toxicológica. Valencia 1997.

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

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

**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. MSP.** Ministerio de Salud Pública 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/>.

**MINSAP** Ministerio de Salud Pública cuba. Programa Nacional para el Desarrollo y la Generalización de la Medicina Natural y Tradicional. La Habana, 1997.

**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, Santa Catarina, págs. 451-458.

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

**MORTON, J F.** Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Springfield, 1981. págs. 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>.

**MSP. 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>.

**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, págs. 105-110.

**NWOSU, M O** Herbs for mental disorders Vol. 70 Nsukka Fitoterapia, 1998

**OECD/OCDE.** “Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method”. Guideline for the Testing of Chemicals. OECD Publishing, 2001.

**OECD/OCDE.** “Acute Oral Toxicity – Up and Down Procedure”. Guideline for the Testing of Chemicals. OECD 425. Publishing, 2001.

**OMS.** Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional [En línea] 2013. [Consulta: 29 de 09 de 2016] Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf).

**OMS.** Estrategias sobre medicamentos de la OMS: 2000- 2003. Programa de Acción sobre Medicamentos Esenciales de la Organización Mundial de la Salud. Ginebra, 2000.

**OMS.** 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]. Disponible en: <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), (Bogotá).

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

**RAWAT, P S.** Select Your Dose and Potency. New Delhi : Jain Publishers, 1987. págs. 481-482.

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

**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 Lima 2006

**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

**ROJAS, JUAN; & DÍAZ, DAVID.** Anales de la Facultad de Medicina San Marcos. Puerto Rico, 2012.

**Salud,** Organización Mundial de la. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional. Catalogación por la Biblioteca de la OMS China : s.n., 2014, pág. 14

**SIMPSON, B, EGYANKOR, K y MARTIN, A** Extraction, purification and determination of pectin in tropical fruits Vol. 8 Journal of Food Processing and Preservation, 1984, págs. 63–72.

**SPENCER , Kevin y SEIGLER, D** Passicoccin: un glucósido cianogénico sulfatado de *Passiflora coccinea*, Vol. 24 Phitochemistry 1985

**TAYLOR, L. MARACUJA,** Herbal Secrets of the Rainforest. Austin : Prime Publising, 1996

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

**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

**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. Barcelona: Masson, 2003.

**VANDERPLANK, John.** Passion flowers. Marston House, 2000.

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

**WATT, John Mitchell y BREYER-BRANDWIJK, María Gerdina.** Las plantas medicinales y venenosas de África meridional y oriental. Edinburg : Livingston, 1962. págs. 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, págs. 452-455

**YAMAMOTO, Y,** y otros, Estrogen receptor  $\alpha$  mediates 17  $\alpha$ -ethynylestradiol causing hepatotoxicity, Vol. 183, Journal of Biological Chemistry, 2006

**YULDASHEVA, L;** et al. Sapiens. “La actividad hemolítica del colesterol depende de *Passiflra quadrangularis* hojas”. Revista Brasileira de Investigación Médica y Biológica, vol. 38, s.n (2005), (Brasil).

**ZERPA ZERPA, María Alexandra y OTAHOLA GÓMEZ, Víctor Alejandro;** MORFOANATOMIA DEL TALLO DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO PASSIFLORA L. PASSIFLORACEAE Vol. 26 Maturín Saber 2014