



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA AGUDA DE LOS EXTRACTOS

ETANÓLICOS DE HOJAS DE *Passiflora edulis* Y *Passiflora quadrangularis* SOBRE *Rattus norvegicus* POR VÍA ORAL

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR:

LUIS CARLOS CHÁVEZ PALAQUIBAY

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 edulis* Y *Passiflora*
quadrangularis SOBRE *Rattus norvegicus* POR VÍA ORAL

Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: CHÁVEZ PALAQUIBAY LUIS CARLOS
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: ANÁLIS TOXICOLÓGICO AGUDO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Passiflora edulis* y *Passiflora quadrangularis* SOBRE *Rattus norvegicus* POR VÍA ORAL responsabilidad del señor Luis Carlos Chávez Palaquibay, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Titulación, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. Diego Vinueza DIRECTOR DE TRABAJO TITULACIÓN
Dra. Susana Abdo MIEMBRO DE TRIBUNAL
Dra. Maria Eugenia Macas MIEMBRO DE TRIBUNAL
DOCUMENTALISTA SISBIB ESPOCH

COPYRIGHT

“©” 2017, Luis Carlos Chávez Palaquibay

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.

DECLARACION DE AUTENTICIDAD

Yo, Luis Carlos Chávez Palaquibay, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y que los resultados son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación

Riobamba, 26 de Enero de 2017

LUIS CARLOS CHÁVEZ PALAQUIBAY

060360477-8

DEDICATORIA

Para mi amada esposa Jimena quien ha estado a mi lado brindándome su apoyo en los momentos difíciles y compartiendo mis triunfos; permitiendo que este largo y difícil camino sea placentero.

A mis amados padres Olga y Luis quienes jamás desmayaron en su afán de verme graduado, por su amor, paciencia y apoyo desinteresado.

A mi querido hijo Mauro, que llegó en el momento exacto cual bendición divina para reforzar mi deseo de culminar esta etapa en mi vida.

A las amigas que la vida las convirtió en hermanas Deisy, Germania, Verónica, Cristina, Karina, Johana, Paola y Gladis; que ocupan un lugar importante en mi vida y con quienes he compartido hermosos momentos; por su apoyo incondicional y acertados consejos que enriquecieron mi vida

Luis

AGRADECIMIENTO

Para mi Dios que me regalo salud y vida para cumplir este anhelo; por ser el gestor de los momentos llenos de bendiciones en mi vida; a él, que ha iluminado mi camino permitiéndome cumplir mis metas y colocando a las personas indicadas en mi sendero; por regalarme los mejores padres Luis y Olga quienes me educaron y forjaron como persona, y a quienes va dirigido mi profundo agradecimiento por su amor, paciencia y apoyo.

A mi amada esposa Jimena por su amor y apoyo en momentos difíciles; por ser la mejor compañera de vida; agradezco además a mis queridos suegros Ricardo y María por su apoyo y cariño desinteresado.

A mis queridas hermanas Verónica y Paulina por su cariño y ejemplo de superación personal y profesional.

A mis cuñados Fernando, Angélica, Edwin y Marcelo, quienes con su apoyo y consejos me permitieron no desmayar en mi afán de superación.

A mis amigos y compañeros de este trabajo de titulación Diego y Benjamín, por su paciencia y apoyo en la culminación de esta ardua labor.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por acogerme en sus aulas y permitirme adquirir nuevos conocimientos para la vida.

Para el Dr. Santiago Tixi, Dr. Javier Robles, Dra. Gabriela Alomía, por su gran colaboración en el desarrollo técnico de la investigación.

A mis maestros, en especial al BQF. Diego Vinuesa por su exigencia y apoyo que permitió enriquecer mi alma no solo de conocimiento académico sino de valores, a la Dra. Susana Abdo por su tiempo y paciencia al momento de desarrollar este trabajo de titulación.

Luis

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA.....	i
CERTIFICACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iv
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY	xv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. Plantas medicinales	3
1.1.1. <i>Uso racional</i>	3
1.1.2. <i>Conocimientos etnobotánicos</i>	5
1.2. Passiflora.....	5
1.2.1. <i>Importancia de las pasifloras</i>	6
1.2.2. <i>Especies más utilizadas</i>	6
1.2.3. <i>Usos etnobotánicos</i>	6
1.2.4. <i>Passiflora edulis</i>	8
1.2.4.1. <i>Taxonomía</i>	8
1.2.5. <i>Passiflora quadrangularis</i>	9
1.2.5.1. <i>Taxonomía</i>	10
1.2.6. <i>Usos farmacológicos</i>	10
1.2.7. <i>Composición química</i>	10
1.2.7.1. <i>Glicosidos</i>	11

1.2.7.2.	<i>Fenoles</i>	11
1.2.7.3.	<i>Alcaloides</i>	11
1.2.7.4.	<i>Carotenoides</i>	12
1.2.7.5.	<i>ÁcidoL-ascórbico</i>	12
1.2.7.6.	<i>Antocianinas:</i>	12
1.2.7.7.	<i>γ- Lactonas:</i>	12
1.2.7.8.	<i>Componentes de sabor ésteres:</i>	12
1.2.7.9.	<i>Componentes volátiles de aceite</i>	12
1.2.7.10.	<i>Aminoácidos:</i>	12
1.2.7.11.	<i>Carbohidratos:</i>	13
1.2.7.12.	<i>Minerales:</i>	13
1.2.8.	<i>Reacciones adversas</i>	13
1.3.	Toxicidad	14
1.3.1.	<i>Definiciones</i>	14
1.3.1.1.	<i>Toxicología</i>	14
1.3.1.2.	<i>Toxicidad</i>	14
1.3.1.3.	<i>Tóxico</i>	14
1.3.1.4.	<i>Efecto toxicológico</i>	14
1.3.1.5.	<i>Dosis</i>	15
1.3.2.	<i>Toxicidad aguda</i>	16
1.3.3.	<i>Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD)</i>	17
1.3.4.	<i>Directrices OECD 423</i>	17
1.3.4.1.	<i>Descripción del método</i>	18

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	20
2.1.	Tipo y Diseño de Investigación	20
2.2.	Lugar de investigación	20
2.3.	Materiales equipos y reactivos	20

2.3.1.	Materiales	20
2.3.1.1.	<i>Material Biológico</i>	20
2.3.1.2.	<i>Material Vegetal</i>	20
2.3.1.3.	<i>Materiales de laboratorio</i>	21
2.3.1.4.	<i>Equipos</i>	21
2.3.1.5.	<i>Reactivos</i>	22
2.4.	Metodología	22
2.4.1	Preparación del extracto etanólico de <i>P. edulis</i> y <i>P. quadrangularis</i>	22
2.4.3.	Tipo y Diseño de Experimentación	25
2.4.4.	Periodo de investigación (Bioensayo)	26

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS	28
3.1.	Análisis de los parámetros hematología y química sanguínea	28
3.1.1.	<i>Urea</i>	28
3.1.2.	<i>Creatinina</i>	30
3.1.3.	<i>Bilirrubina</i>	32
3.1.4.	<i>TGO</i>	35
3.1.5.	<i>TGP</i>	38
3.1.6.	<i>Glóbulos blancos</i>	40
3.1.7.	<i>Glóbulos rojos</i>	42
3.1.8.	<i>Plaquetas</i>	44
3.2.	Análisis cualitativo de la observación clínica durante 14 días después de la administración	47
3.2.1.	<i>Antes de la administración</i>	47
3.2.2.	<i>Después de la administración</i>	47
3.3.	Análisis del peso de los animales durante el ensayo	48
3.4.	Análisis histopatológico de los animales de experimentación	49

3.4.1.	<i>Análisis macroscópico</i>	49
3.4.2.	<i>Análisis microscópico</i>	51
CONCLUSIONES		54
RECOMENDACIONES		56
GLOSARIO		57
BIBLIOGRAFÍA		1

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2	Características del animal de experimentación.....	25
Tabla 2-2	Distribución de los animales de experimentación en grupos.....	26
Tabla 1-3	Valores obtenidos de urea día 1, antes de la administración.....	29
Tabla 2-3	Resultados del análisis Anova para urea antes de la administración.....	29
Tabla 3-3	Valores de urea día 14, después de la administración.....	29
Tabla 4-3	Resultados del análisis Anova para urea después de la administración.....	30
Tabla 5-3	Valores obtenidos de creatinina día 1, antes de la administración.....	31
Tabla 6-3	Resultados de Anova para creatinina antes de la administración.....	31
Tabla 7-3	Valores obtenidos de creatinina día 14, después de la administración.....	32
Tabla 8-3	Resultados de Anova para creatinina después de la administración.....	32
Tabla 9-3	Valores obtenidos de bilirrubina día 1, antes de la administración.....	34
Tabla 10-3	Resultados de Anova para Bilirrubina antes de la administración.....	34
Tabla 11-3	Valores obtenidos de bilirrubina día 14, después de la administración.....	34
Tabla 12-3	Resultados de Anova para bilirrubina después de la administración.....	35
Tabla 13-3	Valores obtenidos de TGO (AST) día 1, antes de la administración.....	36
Tabla 14-3	Resultados de Anova para TGO antes de la administración.....	37
Tabla 15-3	Valores obtenidos de TGO (AST) día 14, después de la administración.....	37
Tabla 16-3	Resultados de Anova para TGO después de la administración.....	37
Tabla 17-3	Valores obtenidos de TGP (ALT) día 1, antes de la administración.....	39
Tabla 18-3	Resultados de Anova para TGP antes de la administración.....	39
Tabla 19-3	Valores obtenidos de TGP (ALT) día 14, después de la administración.....	40
Tabla 20-3	Resultados de Anova para TGP Después de la administración.....	40
Tabla 21-3	Valores obtenidos de glóbulos blancos día 1, antes de la administración.....	41
Tabla 22-3	Resultados de Anova para glóbulos blancos antes de la administración.....	42
Tabla 23-3	Valores obtenidos de glóbulos blancos día 14, después de la administración.....	42
Tabla 24-3	Resultados de Anova para glóbulos Blancos después de la administración....	42
Tabla 25-3	Valores obtenidos de glóbulos rojos día 1, antes de la administración.....	44
Tabla 26-3	Resultados de Anova para glóbulos rojos antes de la administración.....	44
Tabla 27-3	Valores obtenidos de glóbulos rojos día 14, después de la administración....	44
Tabla 28-3	Resultados de Anova para glóbulos rojos después de la administración.....	45
Tabla 29-3	Valores obtenidos de plaquetas día 1, antes de la administración.....	46
Tabla 30-3	Resultados de Anova para plaquetas antes de la administración.....	47
Tabla 31-3	Valores obtenidos de plaquetas día 14, después de la administración.....	47
Tabla 32-3	Resultados de Anova para plaquetas después de la administración.....	47

Tabla 33-3	Promedios de los pesos de los distintos grupos durante los días 0, 7 y 15 de investigación.....	49
Tabla 34-3	Resultados de Anova para los promedios de los pesos de los distintos grupos durante los días 0, 7 y 15 de la investigación.....	49
Tabla 35-3	Resultados del examen macroscópico de los órganos del animal de experimentación en el día catorce del grupo control y grupo de experimentación.....	50
Tabla 36-3	Resultados del examen microscópico de los órganos del animal de experimentación en el día catorce del grupo control y grupo de experimentación.....	52
Tabla 37-3	Porcentaje de variación de los promedios de los valores de los análisis de los ensayos de química sanguínea y hematología del día 15, después de la administración, con respecto a los valores de referencia normales.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1	Dosis VS Efecto, DL50.....	15
Figura 2-1	Tipos de dosis.....	16
Figura 3-1	Dosis Vs porcentaje.....	16
Figura 1-3	Gráfico comparación de los valores de urea antes y después de la administración.....	30
Figura 2-3	Gráfico comparación de los valores de creatinina antes y después de la administración.....	32
Figura 3-3	Gráfico comparación de los valores de bilirrubina antes y después de la administración.....	35
Figura 4-3	Gráfico comparación de los valores de TGO (AST) antes y después de la administración.....	38
Figura 5-3	Gráfico comparación de los valores de TGP (ALT) antes y después de la administración.....	40
Figura 6-3	Gráfico comparación de los valores de glóbulos blancos antes y después de la administración.....	43
Figura 7-3	Gráfico comparación de los valores de glóbulos rojos antes y después de la administración.....	45
Figura 8-3	Gráfico comparación de los valores de plaquetas antes y después de la administración.....	48
Figura 9-3	Gráfico comparación de los promedios de los pesos de los animales experimentación en los días 0, 7 y 15.....	49

RESUMEN

El efecto tóxico de un extracto etanólico liofilizado de hojas de *Passiflora edulis* y *Passiflora quadrangularis* recolectadas en el cantón Pallatanga, fue evaluado mediante el ensayo de toxicidad aguda, durante 14 días en *Rattus norvegicus* hembras, siguiendo las pautas metodológicas descritas por la OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico) 421 y 423. Previo al ensayo las hojas de las *Passifloras* fueron secadas, pulverizadas, maceradas, sonicadas, filtradas y concentradas; 36 animales fueron adaptados durante 15 días en condiciones de micro y macroambiente recomendadas por las normas OECD antes mencionadas, agrupándolas aleatoriamente en 6 grupos de 6 animales, con suministro de agua y comida ilimitada. Durante el ensayo en el día 1, se pesó los animales y se tomó muestras sanguíneas de cada animal, en los cuales se realizó análisis de indicadores hematológicos (Glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, CHCM, leucocitos, neutrófilos linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos), química sanguínea (glucosa, alanino amino transferasa ALT o TGP, aspartato amino transferasa AST o TGO, bilirrubina, creatinina, urea). Después de la extracción sanguínea se administró por vía oral la dosis alta y baja de 2 000 y 300 mg/kg del extracto. Se evaluó durante los 14 días los signos tóxicos, variación de peso del animal, consumo de alimento, comportamiento de los animales. Al finalizar el día 14 del ensayo se tomó muestras sanguíneas para realizar ensayos de química sanguínea y biometría hemática; posterior se realizó necropsia y examen histopatológico de órganos (corazón, riñón, hígado, cerebro, pulmón). En los resultados hematológicos existió un ligero aumento en valores de glóbulos blancos, y reducción de glóbulos rojos con respecto a los valores basales antes de la administración, los cuales no sobrepasan los valores normales de referencia. En los valores de bioquímica clínica se produjo un aumento en valores de TGO, TGP y urea, que excedieron en un porcentaje mínimo los valores de referencia; el análisis histopatológico de órganos no demostró toxicidad significativa imputable a la sustancia de prueba.

PALABRAS CLAVE: <*Passiflora edulis* (MARACUYÁ)>, <*Passiflora quadrangularis* (BADEA)>, <TOXICIDAD>, <TOXICIDAD AGUDA>, <*Rattus norvegicus* (RATA ALBINA)>, <ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO>, <HEMATOLOGÍA>, <BIOQUÍMICA CLÍNICA>.

SUMMARY

The toxic effect of a lyophilized ethanolic extract of *Passiflora edulis* and *Passiflora quadrangularis* leaves collected in Pallatanga canton was evaluated through the acute toxicity assay during 14 day in *Rattus norvegicus* females following the methodological patterns described by OECD 421 and 423. Previous to the assay the *Passifloras* leaves were dried, pulverized, macerated, sonicated, filtered and concentrated; 36 animals were acquired in the biotery of the Chimborazo Higher Education Polytechnic School (Escuela Superior Politécnica de Chimborazo) adapting them during 15 days under the micro and macro environment recommended by the abode OECD norms, grouping the at random in 6 groups of 6 animals whith unlimited water and feed provision. During the assay at the day 1, the animals were weighed and blood samples of each animal were taken, in which the analysis of hematological indicators was carried out (Red blods cells, white blood cells, platelets, hemoglobin, hematocrit, VCM, HCM, leucocytes, neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosimphils and basophils), blood chemistry (glucose, alanine amino transferase ALT or TGP, aspartate amino transferase AST or TGO, bilirubin, creatinine, urea). After the blood extraction the high and low of 2 000 and 300 mg/Kg extract dose was administered. The toxic signs, variation of animal weight, feed consumption, animal behavior were evaluated during 14 days. At the end of the day 14 of the assay blood samples were taken to carry out assays of blood chemistry and hematic biometry; later necropsy and histopathological exam were conducted of organs (heart, kidney, liver, brain, lung). In the hematological results there was a slight increase in the values of white blood cells and a decrease of red blood cells as compared to the basal values before the administration which do not surpass the normal reference values. In the clinic biochemistry values an increase in the TGO, TGP and urea values was produced which exceeded, in a minimal percentage, the reference values; the histopathological analysis of the organs did not show a significant toxicity imputable to the test substance.

KEY WORDS: <*Passiflora edulis* (MARACUYÁ)>, <*Passiflora quadrangularis* (BADEA)>, <TOXICITY>, <ACUTE TOXICITY>, <*Rattus norvegicus* (ALBINIC RAT)>, <HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS>, <HEMATOLOGY>, <CLINIC BIOCHEMESTRY>.

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador existe una gran biodiversidad de especies de plantas, permitiendo la utilización de sus propiedades medicinales tradicionales, este consumo permite realizar estudios de eficacia, eficiencia y seguridad; los cuales permiten asegurar su utilización.

El consumo de *Passifloras* es común en varias partes del mundo, incluyendo el Ecuador; de ahí la importancia de realizar estudios que garanticen la eficacia y seguridad en su consumo; el estudio toxicológico es importante para avalar la utilización de esta especie.

Los estudios toxicológicos realizados en *Passifloras* son pocos, entre los más importantes está la “Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis Sims* (maracuyá), en ratas” realizado por la universidad San Marcos de Perú en el 2 009, donde se valoró la posible toxicidad al administrar durante 28 días una dosis diaria de 200 mg/Kg, llegando a la conclusión la ausencia de toxicidad.

Pallo, Rea y Riofrío (2 014, p.30) mostraron la actividad ansiolítica suficiente para remplazar al fármaco tradicional Diazepam, del extracto hidroalcohólico de flor de Granadilla (*Passiflora ligularis*), flor de taxo (*Passiflora tripartita var. Mollissima*), flor de Badea (*Passiflora Quadrangularis*) en Ratones (*Mus musculus*).

Sollano (2 011, p.13), reporta inducción de efectos ansiolíticos de los monoflavonoides de *P. incarnata*, siendo coadyuvantes los alcaloides, en dosis de 100%, tomando en cuenta el uso de flores en extractos hidroalcohólicos (30)

Según Navarro (2 008, p.8), el extracto hidroalcohólico de partes aéreas de *Pasiflora incarnata* tiene actividad sobre el SNC, a una concentración del 40% con reducción de actividad locomotora en el ratón y al 70% presenta disminución de hipermotilidad; demostrando además actividad ansiolítica a dosis de 50 y 100% (28).

Caro (2 013, p.9) muestra que existe mayor efecto ansiolítico en extractos hidroalcohólico que en extractos clorofórmicos de *P. incarnata*; el mecanismo de acción implica la acción del sistema gabaérgico en la patología de la ansiedad, comprobando la inhibición la re captación en receptores GABA sin afectar su liberación.

En esta investigación se comparó el efecto de oxazepam (30 mg/día) con extracto de pasiflora (45 gotas/día), durante 28 días; concluyendo ausencia de diferencias significativas en la sintomatología evaluada mediante la escala de *Hamilton* entre el grupo tratado con pasiflora y el tratado con el fármaco ansiolítico; a los 4, 7, 17, 21 y 28 días tras el inicio de los tratamientos lo

que sugirió un remplazo eficaz. (32).

Dentro de los modelos de animales para analizar la actividad ansiolítica, se encuentran los condicionados y los no condicionados, en 2013 en Cartagena, la investigación de “la actividad ansiolítica de extracto acuoso de llantén y menta”, se realizó mediante la prueba del test elevado, usando una maqueta en forma de cruz con brazos largos, este se evaluó satisfactoriamente, obteniendo buenos resultados frente al control, siendo el Diazepam.

Rojas (2 009, p.3) evidencia ausencia de toxicidad en extractos de *P. edulis*, administrada en *Rattus musculus*, Vizoso (2 001, p.2) muestra ausencia de daño celular y actividad mutagénica de los extractos fluidos de *P. incarnata L.* y *Senna alata*. (106)

El objetivo de presente investigación es determinar posible toxicidad aguda de los extractos etanólicos de hojas de *P. edulis* y *P. quadrangularis* sobre *Rattus norvegicus* por vía oral; para ello se planteó identificar variación en el peso de los animales durante el ensayo, indagar cambios en ensayos de hematología y química sanguínea después de la administración de *Passifloras*, investigar alteraciones en los órganos del animal posterior a la necropsia, mediante una análisis patológico.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Plantas medicinales

Las plantas medicinales por mucho tiempo fueron la principal fuente de productos terapéuticos en la medicina tradicional. El consumo de productos naturales como medio de tratamiento de enfermedades se lo conoce como fitoterapia, la cual la definiremos como la ciencia que estudia los productos vegetales con finalidad terapéutica, usada para prevenir, curar o paliar enfermedades, su ámbito de aplicación son enfermedades leves, moderadas y tratamiento coadyuvante de enfermedades crónicas (1)

La terapia con plantas medicinales es menos agresiva, con menos efectos secundarios, contraindicaciones e interacciones, siendo mejor tolerada. Debemos diferenciar planta medicinal de droga vegetal. La OMS definió en 1978: planta medicinal aquella que en uno o más órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o son precursoras de fármacos de síntesis. Droga vegetal es la parte de la planta medicinal en la que se encuentra la mayor concentración del principio activo. (2)

Una planta medicinal se encuentra formada por numerosas sustancias químicas, las más importantes en fitoterapia son principios activos, que le confieren sus propiedades, y otras sustancias coadyuvantes o inertes que facilitarán la acción de los primeros, por ello la necesidad de ver a la planta como un todo. Cabe recalcar que no todas las plantas usadas tradicionalmente como medicinales cuentan con estudios científicos que garanticen su uso. (3)

1.1.1. Uso racional

Las plantas han sido parte integral de la práctica de la medicina. Por ello droga proviene del antiguo idioma holandés *drogge*, que significa secar, ya que los antiguos farmacéuticos, médicos y curanderos secaban las plantas para usarlas como fármacos. En la actualidad, aproximadamente el 25 % de las medicinas recetadas siguen siendo derivadas de las plantas.(4)

Las plantas medicinales al tener principios activos también están expuestas a presentar reacciones adversas, es por ello que a nivel mundial existen normativas que rigen el cultivo, consumo de plantas medicinales, así como la fabricación de medicamentos fotoquímicos; la

OMS brinda reglamentos que norman tradiciones terapéuticas destinadas a combatir la enfermedad racionalizando las tradiciones basadas en el empirismo. (5)(2)

La OMS planteo la estrategia sobre medicamentos en 2014-2016, la misma que tiene 4 objetivos: política, acceso, calidad y seguridad, y uso racional. La OMS trabaja para respaldar una estrategia y un buen control del uso de los medicamentos por parte de los profesionales de la salud que los prescriben así como su uso racional por parte de los consumidores. (6) (7)

Países vecinos de América, como es el caso de Cuba está realizando acciones de promoción racional de los medicamentos herbarios, desde antes de a la década de los 90, mediante la promoción del uso racional de los medicamentos producidos a partir de las plantas medicinales; la estrategia requiere un grupo de acciones en el orden de la comunicación, la educación y la información, con el objetivo de alcanzar actitudes y conductas acorde con la problemática del uso de los medicamentos. (8)(9)

Este programa cubano se centra en 2 componentes: primero los componentes de la información, educación y comunicación y segundo los componentes para la formación continuada de quienes prescriben los medicamentos y de los dispensadores; usando como instrumentos campañas de comunicación social y Estrategias de formación continuadas; es claro que sin la participación comunitaria y la intersectorialidad cualquier estrategia sería un fracaso. (10)

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 (11) (12)

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. (13)

Lo preocupante es que pese a que el gobierno, mediante las organizaciones rectoras de salud, no dispone lineamientos precisos sobre el uso de plantas medicinales, que garanticen la inocuidad de estos productos y que promuevan su uso racional. Motivo por el cual es necesario que desde las universidades y centros de investigación, se inicie con estudios que avalen su eficacia, pero sobre todo su seguridad.

1.1.2. Conocimientos etnobotánicos

Además de la diversidad de especies medicinales encontradas, el uso de plantas con propiedades fitoterápicas ha aumentado debido a la creencia de que todo lo que es "natural" no produce efectos adversos para la salud; el objetivo primordial de la Etnobotánica es rescatar del saber botánico tradicional relacionado al uso de la flora y su importancia del uso de plantas para afrontar las necesidades de asistencia médica. (14)

En Ecuador el estudio etnobotánico es primordialmente en la región andina y Amazonía por la gran diversidad de especies y el 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. (15)

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. (16)

1.2. Passiflora

El género *Passiflora*, abarca alrededor de 450 especies, es el más grande e importante en la familia *Passifloraceae* (la familia de la flor de la pasión), distribuidas en las regiones templadas y tropicales de América.; distribuida en regiones tropicales y subtropicales desde el nivel del mar hasta a 3 000 (m.s.n.m.), siendo las regiones templadas y subtropicales entre 400 y 2 000 (m.s.n.m), las de mayor riqueza de especies. (15)(16) (17)

Las pasifloráceas constituyen una familia botánica fácilmente reconocible, por ser mayormente plantas trepadoras provistas de una llamativa corona floral, ubicada entre el perianto y el androceo. La corona está constituida, entre otros elementos accesorios, por los rayos (radii), filamentos coloreados (pali) que, en conjunto con el perianto, sirven para atraer visual y olfatoriamente a los agentes polinizantes tales como insectos y colibríes. (18) (19)

Las *Passifloras* son bejucos que crecen a través de un sistema de tutorado y con zarcillos auxiliares. El tallo posee características leñosas y herbáceas; hojas alternas simples y otras veces compuestas; las estípulas que germinan en la base de los peciolos; las flores son bisexuales o unisexuales; de receptáculo ahuecado como una taza, con numerosos apéndices filamentosos o anulares entre la corola y los estambres, de colores brillantes y forman una corona visible de gran diversidad. (20)

1.2.1. Importancia de las pasifloras

La importancia radica en la utilidad para combatir diversas enfermedades y trastornos mentales, diurético, hepático, usada además como sedante, tranquilizante, calmante en terapias alternativas, calmando la sintomatología y el malestar, introduciendo menos; siendo más utilizados en Sudamérica y Asia.

1.2.2. Especies más utilizadas

Especies del género *Passiflora* se encuentran distribuidas en toda Latino América. Entre las especies más apreciadas del género *Passiflora* se encuentran la fruta de la pasión (*Passiflora edulis* var; *Flavicarpa*), la fruta de la pasión morada (*Passiflora edulis* Sims), granadilla (*Passiflora ligularis*) y gulupa (*Passiflora edulis* Sims; *foedulis*), apreciadas por sus propiedades organolépticas (21) (22) (23)

Las *Passifloras* han sido objeto de investigaciones para determinar sus beneficios farmacológicos y fotoquímicos, entre los más recientes tenemos: la *Passiflora caerulea*, (maracuyá o pasionaria azul), usada para tratar colitis experimental; *Passiflora manicata* (taxo silvestre) usada para proteger contra las especies reactivas del oxígeno y la glicación de proteínas. (23) (24)

La *Passiflora edulis* presenta propiedades antitumorales; mientras que la *Passiflora tripartita* se usa en trastornos gastrointestinales, por el impacto de las propiedades de pectina en la digestión de los lípidos; (25)

1.2.3. Usos etnobotánicos

El hallazgo de semillas de miles de años de especies de *Passifloras* en América del Norte muestra evidencias del uso prehistórico; además viajeros europeos en épocas de la colonia consumían *Passiflora* tanto de cultivo como de fuentes. El uso por propiedades medicamentosas fue registrado desde 1569, cuando el investigador español Monardus usó flores de *Passifloras*, desde allí se han utilizado ampliamente en terapias de salud caceras. (26)

Entre los usos etnobotánicos está el extracto de *Passiflora alata* (granadilla fragante), se le atribuye beneficioso en la atrofia muscular; la misma especie en Brasil es usado como ansiolítico, sedante, analgésico y diurético; la *Passiflora Caerulea* tiene uso sedante y/o ansiolítico, en México la raíz es usada como vermífugo, mientras que en Italia como anti-espasmódico y la cocción de hojas como emético, en Argentina se usa como antimicrobiano.

(27) (28) (17) (29).

Otras *Passifloras* utilizadas son la *P. capsularis* como emenagogo; la *P. contrayerva* es usada para avenamientos; *Passiflora edulis* se ha utilizado como sedante, diurético, antihelmíntico, antidiarreico, estimulante, hipertensión, síntomas menopáusicos y cólicos en lactantes de Sudamérica, la *P. edulis* en Medeira es considerada como remedio para el carcinoma gástrico, en la India el extracto de hojas se usa para tratar la disentería. (27)(30)(31)(32)(33)

Los frutos de la *P. foetida* son utilizados en Nigeria para tratar la histeria y el insomnio; en la india las hojas se colocan sobre la cabeza para aliviar dolores y vértigo, mientras que las hojas en cocción se usa para problemas de bilis y asma; en Brasil las hojas son utilizadas para preparar lociones para tratar erisipela he inflamaciones de la piel. (34) (35)

La *P. incarnata* es utilizada en Alemania para tratar epilepsia en ancianos, trastornos espasmódicos e insomnio; en países europeos es utilizada como medicina homeopática; en Norteamérica las hojas son usadas como té sedante, en Brasil es usado como analgésico, anti-espasmódico, anti-asmático, en Iraq el extracto es usado para tratar dismenorrea; en Turquía y América para neurosis y neuralgia. (36) (37) (38) (39)

La *P. Laurifolia* Linn (Granadilla amarilla, madreSelva de Jamaica), Se utiliza en Trinidad para tratar las palpitaciones nerviosas del corazón; el jugo se usa en Brasil para tratar fiebres intermitentes. La *P. quadrangularis* Linn (Granadilla gigante) se utiliza en el Caribe como sedante, las hojas preparadas como té se usa para la presión arterial alta y la diabetes, la decocción de la raíz se usa para histeria, el baño de hoja para enfermedades de la piel. (40).

En centro América, tallos de *P. pedunculata* Mast, partes aéreas de *P. exflora* Juss y *P. vitifolia* HBK se utilizan contra mordeduras de serpiente, todos estos usos documentados muestran la eficacia de tratamientos tradicionales y de la medicina tradicional; lo que permite plantearse la necesidad de realizar investigaciones para probar la seguridad de usar este tipo de especies. (41)

La amplia difusión de los conocimientos tradicionales y etno-farmacológicos Informes sobre los miembros del género *Passiflora*, una de la literatura sobre las especies específicas de *Passifloras*, una materia esterlina que podría glorificar los potenciales curativos mágicos De los fito-constituyentes reportados de este género; tal vez una de las más antiguas que la humanidad utilice durante los procesos de avance científico hacia la Re- exploración de nuestros patrimonios tradicionales.

1.2.4. *Passiflora edulis*

Conocido como maracuyá, pertenece a la familia *Passiflorácea*, nativa de América; con más de 400 especies de *Passiflora* y más 50 especies comestibles; presenta frutos de color púrpura (*Passiflora edulis*) y de color amarillo (tanto *P. edulis* como *P. Flavicarpa Degener*). Los principales productores de maracuyá son: Hawái, Kenia, Brasil, Perú, Colombia, Venezuela, El Salvador, Puerto Rico y Cuba; en el Ecuador actualmente se cultiva en zonas tropicales y subtropicales. (42) (43)

Las características del fruto de *P. edulis* (maracuyá) son: el fruto es redondo u ovalado, de 50 – 55 mm de diámetro con exodermo púrpura oscura cuando es maduro, además de ser dura y medir cerca de 3 mm de grosor. La pulpa es amarilla – rojiza y con cerca de 150 semillas negras jugoso; *P. edulis* y *P. flavicarpa Degener* difiere en el fruto más grande, con corteza amarilla; una pulpa ácida más aromática además de semillas cafés grandes. (42) (43)

La parte comestible del fruto tiene consistencia pulposa con semillas en cantidad, consumiéndose en forma de jugos. Su color amarillo–anaranjado es atractivo; su acidez y aroma característicos la convierten atractiva; su fruto no puede almacenarse más allá de 2 semanas en temperaturas normales; de 4 a 5 semanas entre 4 a 10° C (7° C óptimo). Pero gran parte de su sabor se pierde durante su almacenamiento. Las temperaturas inferiores a 4° C llevan a la descomposición y/o ataques de mohos. (42)(43)

Los azúcares componen la mayor parte de carbohidratos, fluctuando entre 14,4 y 21,9% para la variedad purpurea, mientras que la variedad amarilla está entre 13 y 18%. En la variedad púrpura la proporción azúcar/ácido es de 5:1 mientras en la amarilla es de 3:8; por ende, el jugo de la variedad púrpura tiene un sabor mucho más dulce. (42) (43)

1.2.4.1. Taxonomía

División: *Espermatofita*

Subdivisión: *Angiosperma*

Clase: *Dicotiledonea*

Subclase: *Arquiclámidea*

Orden: *Perietales*

Suborden: *Flacourtinae*

Familia: *Plassifloraceae*

Género: *Passiflora*

Serie: *Incarnatae*

Especie: *edulis*

Variedad: *purpúerea* y *flavicarpa* (44) (45)

1.2.5. *Passiflora quadrangularis*

La badea (*Passiflora quadrangularis*), es una fruta conocida también como parcha granadina, tumbo gigante, quijón, parcha real, maracujá, melao, giant granadilla, rata pohul y timumbelanda, es una especie que crece en la zona intertropical latinoamericana a altitudes 2500 m. Los frutos son grandes comparados con otras *Passifloras*, el fruto madura entre 62 y 85 días después de la fecundación y presenta un color verde amarillo pálido, apreciable en el ápice. (46) (47)

La pulpa es ligeramente ácida con aroma ligero que la hace óptima para bebidas refrescantes. Según diversos estudios las hojas se utilizan como sedantes y tranquilizantes, y la apigenina presente en el extracto del pericarpio induce sedación en ratones. (48) (47)

La parcha granadina (*Passiflora quadrangularis* L.), conocida en otros países como Badea, Parcha Real, Maracujá Melao, Giant Granadilla, Rata Pohul y Timum Belanda, se encuentra con frecuencia en plantaciones caseras usadas para el consumo familiar o venta, siendo su fruto usado principalmente en la preparación de bebidas refrescantes. En Ecuador las *Pasifloráceas* son poco cultivadas a nivel comercial en varias zonas del Litoral ecuatoriano, (cantones Valencia, La Maná, El Empalme). (46)

Son pocas especies silvestres que presentan características fenotípicas bien diferenciadas; en la actualidad la parcha granadina tiene cierta importancia comercial ya que posee cualidades para ser utilizada en la elaboración de néctares como reemplazo a la papilla de pera. En Ecuador es de inmediata necesidad producir frutas que reemplacen la materia prima importada y la parcha granadina es un prospecto importante. (46)

Es primordial invertir en su investigación a fin de ir resolviendo los problemas que presenta su cultivo; pues su escasa experiencia sobre este frutal evidencia la necesidad de investigar algunos aspectos, como es su floración y fructificación, en especial en la zona central donde se localizan la mayoría de las industrias frutícolas. (46)

1.2.5.1. Taxonomía

La clasificación taxonómica de la badea (*Passiflora quadrangularis* L.) en el reino vegetal es:

Reino: *Vegetal*

Clase: *Angiosperma*

Subclase: *Dicotiledónea*

Orden: *Parietal*

Familia: *Passifloracea*

Género: *Passiflora*

Especie: *quadrangularis* L. (49) (50)

1.2.6. Usos farmacológicos

Passiflora edulis tiene muchos ámbitos de utilidad farmacológica, entre ellos mejora la sensibilidad a la insulina, pues la cáscara aumenta las incretinas y neuropéptido hipotalámico; además tiene acción neuroprotectora, pues los triterpenoides cycloartane tienen efectos protectores en células PC12; se usa además para aliviar colitis, se respalda en el aumento de la actividad antioxidante y antiinflamatoria después del consumo de extracto de las hojas. (51) (52) (53)

La *Passiflora quadrangularis* posee actividad sedante mediante la implicación de la vía GABAérgicas del flavonoide apigenina; el extracto de *P. quadrangularis* es bactericidas y anticancerígenas; en las hojas existe hemolisina, que tiene actividad hemolítica sobre el colesterol; además extractos de esta *Passiflora* presentan acción foto protectora debido a la producción de flavonoides al ser expuesta a radiación UV-B. (54) (55) (56)

1.2.7. Composición química

En el género de *Passiflora* se conoce mediante encuesta de literatura que existe alcaloides, fenoles, flavonoides glicosilados y cianogénicos; siendo la *Passiflora incarnata* y *pasiflora edulis*, las más estudiadas y caracterizadas; a continuación se muestra los principales componentes de *Passiflora edulis*: (16)

1.2.7.1. Glicosidos

A partir del extracto etanólico de hojas secas, se determinó un ciclopropano Triterpina, denominado Passifloro fue aislado químicamente era (22R), (24S) - 22,28 - epoxi - 24 - metil - 1,3,24,28 - tetrahidroxi- 9,19 - ciclo - 9 - lanostan - 4 - óico - d - glucosil éster; además la *Passiflora edulis* es rica en glucósidos que incluyen Glucósidos de flavonoides, a saber, luteolin - 6- C- chinovoside, Luteolina- 6 - C – fucósido; además de Ciclopentenoide Glicósidos de cianhidrina, pascicapsina (57) (58) (59)

Otros glicosidos son: Ciclopentenoide Glicósidos de cianhidrina, pascicapsina y pasibiflorina; Glucósidos cianogénicos Pasicoriacin, epipassicoriacin y epitetraphyllin B cyanogenic- Rutinosido(R) -mandelonitrilo -1- ramnopiranosil - D-glucopiranosido; Ciclopentenoide Glicósidos de cianhidrina, pascicapsina y pasibiflorina; Glucósidos cianogénicos Pasicoriacin; epipassicoriacin y epitetraphyllin B; cyanogenic- Rutinosido {(R) --mandelonitrilo - 1 - ramnopiranosil - D- glucopiranosido}. (60)(61)

En menor cantidad se encuentran: cyanogenic- - Rutinosido {(R) --mandelonitrilo - 1 - ramnopiranosil - D-glucopiranosido; Amígdala, prunasina, mandelonitril oramnopiranosil -d- glucopiranosido, sambunigrina; 6 - O - 1 - arabinopiranosil - d - glucopiranosidos de linalol, alcohol bencílico y 3 metil-but-2en-1-ol; -d-glucopiranosido y 6-O- - L - ramnopiranosil - d - glucopiranosido de salicilato de metilo Y -d-glucopiranosido de eugenol (62) (63)

1.2.7.2. Fenoles

Los principales fenoles son: 4 - hidroxil- β ionol; 4 - oxo - β ionol; 4 - hidroxil - 7,8 - Dihidro - β ionol; 4 - oxo - 7,8 - dihidro- β ionol; 3 - oxo - 3-oxo-retro- α -ionolesisoméricos; 3-oxo-7,8-dihidro- β ionol; 3 - hidroxil - 1,1,6 - trimetil - 1,2,3,4 - tetrahidronaftalenoVomifoliol y dehidrovomifoliol; Alcoholes terpénicos, linalool y -aterpeneol terpeno dioles (E) y (Z) - 2,6 - dimetil - octa - 2,7 - Dieno - 1,6 - diol,2,6- dimetil-octa- 3,7-dien- 2,6-diol,2,6- Dimetil-1,8-octanodiol(64)(65)

1.2.7.3. Alcaloides

Los alcaloides más representativos son: harman (en más alta concentración 0,12 mg%), harmine, harmaline y harmalol; las hojas son más ricas en alcaloides. (66)

En menor cantidad, se encuentran diversos fito-constituyentes reportados en *Passiflora edulis*, incluyendo los siguientes:

1.2.7.4. Carotenoides

Se encuentran caracterizados los siguientes carotenoides: fitoeno, fitoflueno, α caroteno, neurosporeno, β caroteno, licopeno, prolopceno, monoepoxi- β -caroteno, β -criptoxantina, β -citraurina, antheraxantina, violaxantina, neoxantina γ -caroteno, α -criptoxantina, β apocarotenol. (67) (68)

1.2.7.5. ÁcidoL-ascórbico

1.2.7.6. Antocianinas:

Cianidin-3-O- β -glucopiranosido y Cianidin - 3 - O - β - galactopiranosido; Cianidin - 3 - glucósido; cianidin - 3 - 6'' - malonil glucósido; Pelargonidina-3- glucósido.(69)

1.2.7.7. γ - Lactonas:

γ -hexa, γ -deca y γ -docecalcetona; γ -Hepta, γ -octa y γ -nona lactona; cuatro Alquiladas y γ -lactonas. (70)

1.2.7.8. Componentes de sabor ésteres:

3-metil - tiohexan - 1 - ol; 2 - metil - 4 - propil - 1,3 - oxatiónenantiómerosedulans I y II.(71)

1.2.7.9. Componentes volátiles de aceite

Caprolato de hexilo y butirato; caproato de etilo y butirato (95%); limoneno; 2 -tridecanona (62,9%); ácido (9Z)- octadecenoico (16,6%); 2 - pentadecanona (6,2%); ácido hexadecanoico (3,2%); 2 -tridecanol (2,1%); ácido octadecanoico (2%) y óxido de cariofileno (2%).(72)

1.2.7.10. Aminoácidos:

Prolina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, alanina. (73)

1.2.7.11. *Carbohidratos:*

Fructosa, glucosa, sacarosa, maltosa, lactosa y pectina. (74)

1.2.7.12. *Minerales:*

Na, K, Mg, Ca, Zn, Al, Mn, Fe.

1.2.8. ***Reacciones adversas***

Existe poca referencia bibliográfica sobre efectos adversos secundarios tras la ingesta de *Passiflora*. Las vasculitis por hipersensibilidad y la alteración de la conciencia, son con frecuencia los efectos adversos, además el uso de *Passiflora* se relaciona ocasionalmente con la aparición de asma, rinitis y urticaria. Se cuenta con un caso descrito de taquicardia ventricular producida por la ingesta de *Passiflora* en una persona sana de 34 años de edad. (75)(76)

En el año 2 000 se reportó en Estados Unidos 15 casos de toxicidad por consumo de patentes de varios ingredientes de medicamentos donde las especies *Passiflora* formaban uno de los constituyentes con informes de latidos erráticos del corazón y taquicardia, dolor severo de cabeza, embolia, hepatitis, diarrea, neumonía, debilidad en extremidades superiores, hemorragia intracerebral, dificultad en el habla documentados por el USFDA. (16)

Los reacciones adversas a los medicamentos (RAM) reportados por Agencia de Alimentos y Medicamentos o Agencia de Drogas y Alimentos (USFDA) no se atribuyeron directamente a las *Passifloras* por que los productos fueron productos fueron multi ingredientes; *Passiflora edulis* ha demostrado toxicidad hepatobiliar y pancreática en animales y humanos; el consumo durante el embarazo y la lactancia no es recomendable debido a la presencia de los alcaloides *pasiflores* y *harmin*. (75)

1.3. Toxicidad

1.3.1. Definiciones

1.3.1.1. 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. (77) (78) (79) (80)

1.3.1.2. Toxicidad

Se define como "el estudio cualitativo y cuantitativo de los efectos deletéreos ocasionados por agentes químicos o físicos sobre la estructura y función de los sistemas vivos y la aplicación de estos estudios para la evaluación de la seguridad y la prevención de daños al hombre y a las formas de vida útiles" (Hayes,1975).

El término cualitativo antes mencionado se refiere al tipo de órgano diana afectado, en comparación con otras sustancias conocidas, mientras que el término cuantitativo se refiere a la relación dosis-respuesta. (81)

1.3.1.3. 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") (77) (82)

1.3.1.4. 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 sigmoideal, siendo de particular interés examinar: (81) (79)

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

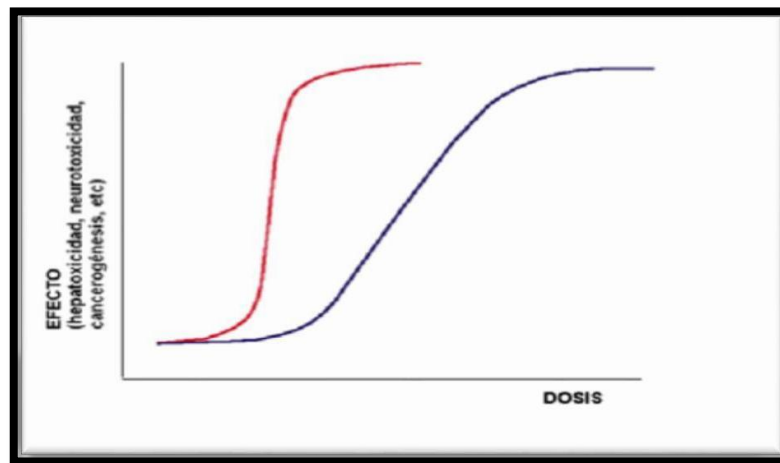


Figura 1-1: Dosis VS Efecto, DL50

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

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

Se podrían mencionar muchos otros ejemplos que también ponen de manifiesto el aforismo de Paracelso, que indica que el efecto benéfico y dañino de una sustancia depende de la dosis.

1.3.1.5. Dosis

La dosis es la cantidad absoluta de sustancia que ingresa al organismo (mg, g, ml). Existe distintos tipos de dosis: (81)

Dosis de exposición	Cantidad de xenobiótico detectada en el ambiente
Dosis absorbida	La cantidad real de la dosis de exposición que ingresa en el organismo
Dosis administrada	La cantidad administrada (puede ser oral o por otras vías)
Dosis Total	La suma de las distintas dosis recibidas por un organismo

Figura 2-1: Tipos de dosis

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

El rango de dosis necesario para producir un daño en un organismo vivo es muy amplio. Un parámetro toxicológico utilizado es la Dosis Letal 50 (DL50; Figura 3). Puede definirse como la cantidad de tóxico por peso de ser vivo que mata al 50% de la población expuesta. Se relaciona con la toxicidad aguda de una sustancia. Los estudios de toxicidad aguda tienen por objeto determinar los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia (tiempo corto).

Como usualmente, el punto final de estos estudios es la muerte del animal, la toxicidad aguda se expresa por la dosis letal 50. Es una medida poco precisa, que depende, entre otros factores de la vía de administración del compuesto así como de la especie animal utilizada en su determinación. En Tabla 1 se presentan las DL50 de distintas sustancias químicas; cada sustancia tiene su propio DL50. (83)(81) (79) (84)

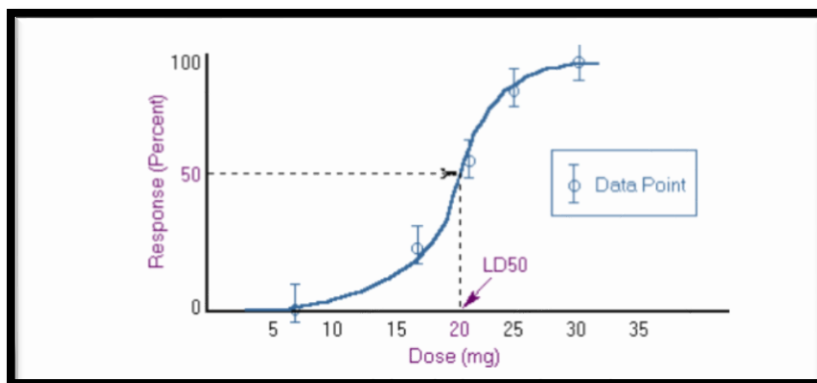


Figura 3-1: Dosis VS porcentaje

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

1.3.2. Toxicidad aguda

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. (80)

1.3.3. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD)

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico provee metodología clara y precisa para realizar evaluaciones toxicológicas, para ello publicó las directrices 401, 414, 415, 416, 443, 420,421, 423, 425; donde se aborda el procedimiento a seguir para determinar si una sustancia es tóxica, como clasificarla según su grado de toxicidad y el uso ético de animales de experimentación; en la presente investigación nos centraremos en las directrices 423 y 425. (85)
(86)

1.3.4. Directrices OECD 423 (ENSAYO DE PRODUCTOS QUÍMICOS, Toxicidad Oral Aguda; método de la Clase Tóxica Aguda)

Esta directriz crea acuerdos sobre valores de corte de la LD50 armonizados para la clasificación de las sustancias que difieren de los límites recomendados en la directriz OECD 401 (Acute Oral Toxicity), considera suficiente las pruebas en un solo sexo (usualmente hembras), Este procedimiento es reproducible, utiliza pocos animales y es capaz de clasificar sustancias de manera similar a los otros métodos de ensayo de toxicidad aguda (OECD 420-425). (85)

El método utiliza dosis predefinidas y los resultados permiten clasificar una sustancia de acuerdo con el Sistema Mundialmente Armonizado para la clasificación de sustancias químicas, los animales moribundos, o los animales que presenten signos de sufrimiento severo y duradero serán sacrificados humanamente, el método no pretende el cálculo de una DL50 precisa pero si la permite. (85)

Antes del ensayo se dispondrá información sobre la sustancia de ensayo incluyendo la identidad, estructura química, propiedades físico-químicas, resultados de ensayo sin vivo o in vitro anteriores, datos toxicológicos estructuralmente relacionados, usos previstos de la sustancia; para demostrar que la prueba es pertinente para la protección de la salud humana, ayudando en la selección de la dosis inicial más apropiada. (85)

El número inicial de animales es 3, con la misma dosis; si no se produce muerte de algún animal, se inicia con una dosis más alta en 3 ejemplares, un paso determinará el siguiente paso, es decir no es necesario realizar más pruebas.

1.3.4.1. Descripción del método

La especie de animal seleccionada es de preferencia ratas hembras jóvenes, sanas, nulíparas, de peso +20% de la media de animales antes dosificados. El ambiente de vivienda estará a 22°C (+3°C), humedad de 50-60%, iluminación artificial con secuencia de 12 horas, alimentación convencional de laboratorio, suministro ilimitado de agua potable; los animales se escogen aleatoriamente, se los marca y aclimata mínimo 5 días.

Las sustancias de ensayo se administran en un volumen constante (solución, suspensión, emulsión), evitando sobrepasar el volumen de dosis máxima para la administración; si se usa vehículo, investigar la toxicidad del mismo, preparando las dosis poco antes de la administración, la sustancia se administra en una sola dosis por sonda gástrica utilizando un tubo de estómago o una cánula (sino es posible una dosis única, administrar en fracciones máximo en 24 horas). (85)

Los animales deben estar en ayunas entre 3 a 4 horas previo y posterior a la administración; se utilizan tres animales para cada paso, seleccionando el nivel de dosis inicial a utilizar de los cuatro niveles fijados 5, 50, 300 y 2000 mg / kg de peso corporal; procurando que el nivel de dosis inicial sea el más probable que produzca mortalidad en algún animal dosificado; si no hay muerte en dosificaciones con 2000mg /kg, no se realiza más ensayos, declarando no tóxica a la sustancia analizada. (85)

Excepcionalmente y con justificación por necesidades reglamentarias específicas de uso, se considerara una dosis de 5000 mg /kg, en situaciones donde el investigador dispone de información que el material de ensayo no sea tóxico o tenga toxicidad sólo por encima de las dosis límite reguladoras; en situaciones donde hay poco o nada de información sobre toxicidad, o se espera que el material de ensayo sea tóxico, se realiza un ensayo límite con dosis de 2000 mg/kg con seis animales. (85)

Se observa individualmente los animales después de la dosificación al menos una vez durante los primeros 30 minutos, periódicamente durante las primeras 24 horas, en especial durante las primeras 4 horas, después por 14 días atendiendo el tiempo de ser necesario; el tiempo de aparición de toxicidad es fundamental, los registros deben ser individuales para cada animal, observando además cambios en la piel, ojos, membranas mucosas, respiratorios, circulatorios y patrón de comportamiento. (85)

Se deben registrar los cambios de peso corporal de las ratas en estudio; después matarlos humanamente, realizar una necropsia macroscópica a todos los animales incluidos los muertos o retirados del estudio, registrando todos los cambios patológicos graves, además realizar un

examen microscópico de órganos que muestren evidencia de patología macroscópica.

Se debe realizar un informe con:

- Datos individuales sobre los animales, tabulándose y resumiendo el número de animales con signos de toxicidad, número de animales muertos durante la prueba o por razones humanitarias, el curso temporal de los efectos tóxicos y la reversibilidad, necropsia.
- Informe de prueba con la sustancia de ensayo (características físicas, químicas, microbiológicas, taxonomía, pureza, vehículo usado), animales de ensayo (sepa, número, edad, sexo, dieta), condiciones de vivienda, detalles de la formulación de la sustancia de ensayo, detalles de la administración de la sustancia de ensayo (volúmenes, tiempo de dosificación), calidad de alimentos y agua, justificación para la selección de la dosis inicial.
- Resultados tabulados de: signos de toxicidad (mortalidad; Naturaleza, gravedad y duración de los efectos); peso corporal individual (inicial, final, cambios de peso corporal, a intervalos semanales); fecha y hora de la muerte si es antes del sacrificio programado; evolución temporal de los signos de toxicidad (reversibilidad); hallazgos de necropsia y hallazgos histopatológicos. Discusión, interpretación de los resultados y conclusiones.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Tipo y Diseño de Investigación.

La presente investigación es de tipo exploratoria, correlacional, con diseño experimental debido a la manipularon de distintas variables *in vivo*, que permitió observar el nivel toxicológico agudo tras la administración oral del extracto etanólico de *P. edulis* y *P. quadrangularis*. se usó un modelo control *Rattus norvegicus* hembra.

2.2. Lugar de investigación

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

2.3. Materiales equipos y reactivos

2.3.1. Materiales

2.3.1.1. Material Biológico

Se utilizó ratas (*Rattus norvegicus*) adquiridas del bioterio de la Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, con un peso de 150g, de sexo femenino y con una edad promedio de tres meses.

2.3.1.2. Material Vegetal

Como materia prima se utilizó hojas secas de *P. edulis* y *P. quadrangularis*.

2.3.1.3. *Materiales de laboratorio*

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

2.3.1.4. *Equipos*

- Balanza analítica (Radway)
- Liofilizador (Thermo)
- Molino (Thomas)
- Sonificador (Branson)

- Estufa (Mettler)
- Congelador (Whirlpool)
- Desecador
- Rota Vapor (B üchi)
- Computador
- Bomba al Vacío (Gast)
- Equipo de hematología, Hematology Analyzer IQ H360s
- Equipo de química sanguínea, Erba Mannheim XL-180

2.3.1.5. *Reactivos*

- Agua destilada
- Alcohol potable (96%)
- Alcohol preparado al 85%
- Propilenglicol 15%
- Extracto etanólico de *P. edulis* y *P. quadrangularis* (300mL/kg, 2000mL/kg)

2.4. Metodología

2.4.1. *Preparación del extracto etanólico de P. edulis y P. quadrangularis*

Las hojas de *P. edulis* y *P. quadrangularis* fueron recolectadas en el cantón Pallatanga, Provincia de Chimborazo, Ecuador; identificadas taxonómicamente por el Herbario de la ESPOCH; las hojas secas fueron trituradas y tamizadas con malla número 14, el extracto etanólico de las hojas fue preparado según la técnica del CYTED, 1995. (99)

El material seco y pulverizado de las hojas fue macerado con etanol al 85% durante 72 horas, a temperatura ambiente, protegido de la luz; se sonicó durante 30 minutos a una temperatura de 20°C; se usó filtro rápido (poros de 4,7 – 4,6 micras) y se concentró a sequedad en un evaporador rotatorio a 200 rpm con una temperatura de 40°C.

El concentrado fue liofilizado a -45°C y 100 atmósferas de presión, durante 24 horas; para alcanzar la temperatura ideal se usó Nitrógeno Líquido, el liofilizado fue conservado en un frasco color ámbar a 4°C .

2.4.2. Cromatografía en capa fina (CCF)

En el extracto liofilizado se determinó glicósidos flavónicos mediante cromatografía capa fina, como se observa en el Gráfico 1-2, se preparó soluciones alcohólicas de 2000 ppm, luego se sembró 10 μL con pipeta automática en una placa cromatográfica.

Después se introdujo la placa en la cuba, hasta que el solvente recorra las $\frac{3}{4}$ partes de la placa; se utilizó de fase móvil ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26), se retiró la placa, secó y reveló con cloruro de aluminio, posterior se observó en la cámara UV, midiendo los factores de retención (R_f). (100)

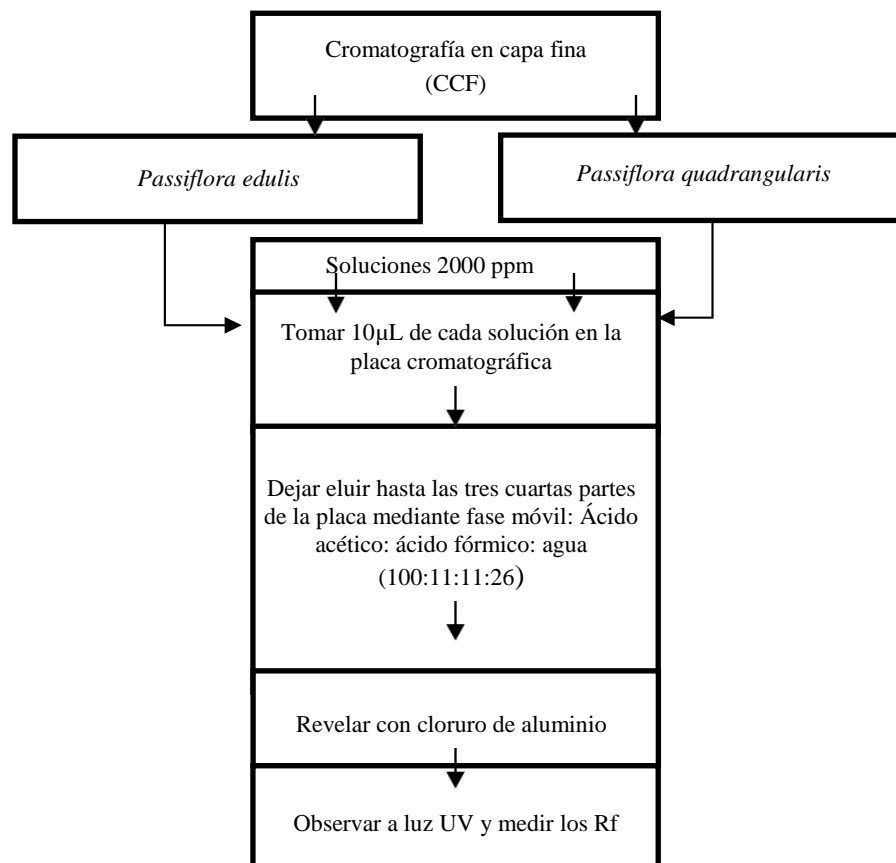


Figura 1-2 Flujo grama de cromatografía en capa fina (CCF)

Fuente: CHÁVEZ, Luis, 2017

El contenido de flavonoides en el extracto liofilizado de cada especie se determinó mediante espectrofotometría en tres repeticiones, basada en el estudio de Hua & Teik, 2012; como se observa en el Gráfico 2-2, se realizó una solución de 200 ppm, se tomó una alícuota de 200 μL y se añadió 300 μL de NaNO_2 al 5% p/v, se homogenizó la mezcla, se dejó en reposo durante 5 minutos, se añadió 300 μL de AlCl_3 al 10% p/v, se agitó y se dejó en reposo durante 6 min.

Se finalizó agregando 300 μL de NaOH 1M; la absorbancia de la reacción se midió después de 6 minutos a 510 nm. La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración usando como patrón rutina de 20 a 100 mg/L. Los flavonoides totales se expresan como miligramos de rutina por gramos de extracto liofilizado. (101)(102)

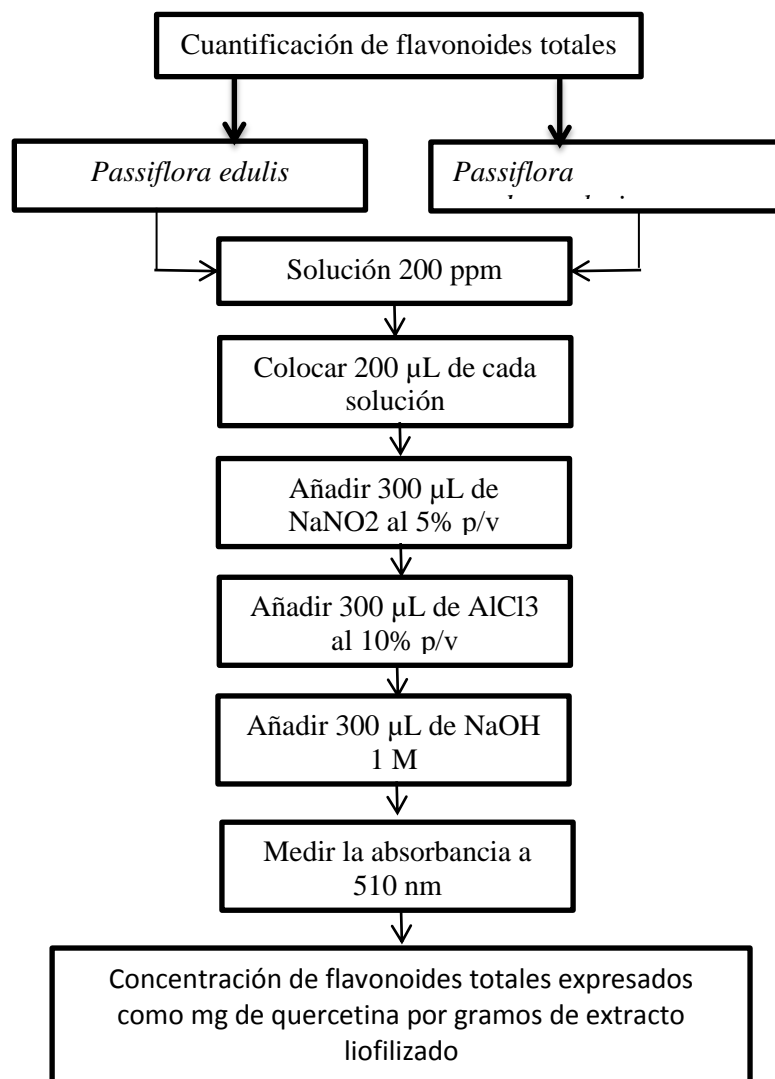


Figura 2-2 Flujograma de cuantificación de flavonoides totales
Fuente: CHÁVEZ, Luis, 2017

2.4.3. Tipo y Diseño de Experimentación

2.4.2.1. Población de Estudio

En la presente investigación se desarrolló un diseño experimental, con una población de estudio de 36 ratas.

2.4.2.2. Selección de la Muestra (*Rattus norvegicus*)

En la investigación se usó ratas albinas *norvegicus*, hembras, de 3 meses de edad, pesando en promedio 200 g como se muestra en la tabla 1-2; adquiridas y mantenidas en el bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), con alimento y agua *ad libitum*, temperatura promedio de 22°C y un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas. Respetando normas y procedimientos éticos para el manejo de animales de laboratorio establecidos internacionalmente. (85)(86).

Tabla 1-2 Características del animal de experimentación

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

Fuente: CHÁVEZ, Luis, 2017

2.4.2.3. Unidad de análisis

Los animales de experimentación fueron distribuidas en 6 grupos (blanco, vehículo, *P. edulis* 300 mg/Kg, *P. quadrangularis* 300 mg/Kg, *P. edulis* 2 000 mg/Kg y *P. quadrangularis* 2 000 mg/Kg); cada grupo conformado por 6 animales (n = 6), como se muestra en la Tabla 2-2. Durante 30 días se realizó la aclimatación de los animales.

Tabla 2-2 Distribución de los animales de experimentación en grupos.

Grupo	Grupo I Control	Grupo II Vehículo	Grupo III <i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	Grupo IV <i>P. quadrangularis</i> 300 mg/Kg	Grupo V <i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	Grupo VI <i>P. quadrangularis</i> 2000 mg/Kg
Número de animal	6	6	6	6	6	6
Especie	<i>Rattus norvegicus</i>					
Sexo	Hembras					
Edad	3 meses					
Peso promedio	200 g					
Concentración de Passiflora administrada	0	Propilenglicol al 15%	Una única dosis de 300 mg/Kg de <i>P. edulis</i> a cada animal del grupo	Una única dosis de 300 mg/Kg de <i>P. quadrangularis</i> a cada animal del grupo	Una única dosis de 2000 mg/Kg de <i>P. edulis</i> a cada animal del grupo	Una única dosis de 2000 mg/Kg de <i>P. quadrangularis</i> a cada animal del grupo
Vía de administración	Oral					
Materia prima	-	-	<i>P. edulis</i>	<i>P. quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i>	<i>P. quadrangularis</i>
Parte de la planta usada	-	-	Hojas			

Fuente: CHÁVEZ, Luis, 2017

2.4.4. Periodo de investigación (Bioensayo)

2.4.3.1. Ambientación

Después de asociar a los animales por grupos, se controló por 15 días las condiciones de macro y microambiente, se usó bebederos con 200mL de agua por día, y 10g/día/rata de alimentación, en conformidad al protocolo de investigación del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH. Con una temperatura de 25°C +/- 2°C, humedad relativa de 40% con una variedad de 10%, en un sistema de iluminación 12/12 que equivale 12 horas de luz y 12 de oscuridad. (105)

2.4.3.2. Administración y control por 14 días

Después del período de aclimatación se realizó la extracción sanguínea de cada rata, utilizando la técnica de corte en el primer tercio distal de la cola.

En las muestras sanguíneas se evaluó parámetros hematológicos (Glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, CHCM, Leucocitos, Neutrófilos Linfocitos, Monocitos, Eosinófilos y basófilos) y bioquímica sanguínea (Urea, Creatinina, Bilirrubina Total, AST, ALT); las determinaciones hematológicas y química sanguínea se realizó en equipos automatizados. (103)

Posterior a la extracción sanguínea se pesó a todos los animales, con los pesos se calculó el volumen del extracto de las *Passifloras* a ser administrado a cada animal de los grupos (*P. edulis* 300 mg/Kg, *P. quadrangularis* 300 mg/Kg, *P. edulis* 2 000 mg/Kg y *P. quadrangularis* 2 000 mg/Kg); la administración se realizó por vía oral, usando una cánula, evitando lastimar al animal.

Después de la administración se observó por 14 días el comportamiento de los animales, con énfasis en las primeras 48 horas, observando cambios de piel y pelaje, color y lacrimación de ojos, actividad autonómica, patrón respiratorio, respuesta a la manipulación, movimientos tónicos o clónicos, cambios de conducta; se midió consumo de agua, alimentación y peso. (104)

Al finalizar el día 14 se realizó la extracción sanguínea a cada animal para evaluar los mismos parámetros de hematología y química sanguínea realizados en el día de la administración. Se sacrificó a los animales, extrayendo los órganos (cerebro, corazón, pulmón, hígado y riñón) para realizar un análisis histopatológico macro y microscópico, comparando el peso y apariencia de los órganos de los grupos III, IV, V, VI con los órganos del Grupo I y con bibliografía.

Posterior al análisis macroscópico se colocó los órganos en contenedores estériles rotulados con el número del animal y el número del grupo; las muestras fueron fijadas para que las células y tejidos no sufran cambios; el procesamiento inicial de las muestras se realizó en equipo automatizado, el cual contiene cubetas listas con soluciones que permiten deshidratar eliminando exceso de agua y fijador; se aclaró (diafanización) las muestras previo a la inclusión usando parafina caliente en estado líquido.

Posterior a la inclusión se bloqueó las muestras usando un molde de acero para fijar la muestra; se realizó los cortes histológicos a un diámetro de 5 micrómetros con la ayuda del micrótopo para un corte limpio; se ejecutó el Montaje en placas portaobjetos; se efectuó la coloración de la muestra biológica usando la coloración Hematoxilina-Eosina; finalmente se observó microscópicamente las muestras.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS

3.1. Análisis de los parámetros hematología y química sanguínea, antes (día 0) y después (día 14) de la administración de *P. edulis* y *P. quadrangularis*.

3.1.1. Urea

El análisis de urea se realizó para indagar el funcionamiento del riñón del animal de experimentación, en la Tabla 1-3 y Tabla 3-3 se muestran los resultados en el ensayo antes (día 0) y después de la administración (día 15); con los resultados se realizó un análisis Anova, en la Tabla 2-3 se muestra que el valor de la probabilidad antes de la administración es 0.8, no existe una diferencia significativa en los valores de urea, mostrando un correcto funcionamiento renal.

En Tabla 4-3 se muestran que la probabilidad de test Anova al final del ensayo es $1,829 \times 10^{-9}$, mostrando diferencia entre los grupos a los que se administró *P. edulis* y *P. quadrangularis* con el grupo control y vehículo, en la Figura 1-3 se evidencia el aumento en los promedios de los resultados de Urea en el día 15, los valores promedio del grupo *P. edulis* y *P. quadrangularis* en concentración de 2 000 mg/Kg sobrepasan el VRN.

Según Rojas (2006, p.3) el aumento en los valores de urea se debe a alteración funcional renal provocado por hipotensión, debido a la presencia de altas concentraciones de flavonoides de la *P. edulis*, sobre todo quercetina, importante hipotensor, provocando caída del flujo sanguíneo y la presión arterial sistólica y diastólica.

Madridejos (2016, p.37) indica que la disminución del flujo sanguíneo produce disminución en el filtrado glomerular, aumentando los valores de Urea; el efecto antihipertensivo de la *P. edulis* ha sido comprobado por Rojas (2006, p. 3). (87)(88)

Tabla 1-3 Valores obtenidos de urea día 0, antes de la administración, (valor de referencia 32-54mg/dL)

Grupos/animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 300 mg/Kg	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 2000 mg/Kg
1	40,80	52,80	48,10	52,80	44,40	52,70
2	50,00	51,10	46,00	47,70	47,20	50,00
3	48,20	47,70	50,50	52,00	35,40	49,70
4	45,90	50,10	40,90	46,00	49,70	42,90
5	46,70	46,70	49,70	30,10	50,20	50,40
6	49,80	41,70	40,20	50,50	45,40	48,90
PROMEDIO	46,90	48,35	45,90	46,52	45,38	49,10

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 2-3 Resultados del análisis 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	61,78	5,00	12,36	0,47	0,80	2,53
Dentro de los grupos	790,35	30,00	26,35			
Total	852,13	35,00				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 3-3 Valores de urea día 15, después de la administración.

Grupos/animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i>
1	49,60	51,00	51,90	56,40	52,30	61,00
2	40,70	51,20	52,00	48,50	53,00	58,60
3	50,50	43,70	51,90	46,90	62,90	54,40
4	42,60	51,70	52,80	47,20	53,60	54,90
5	50,70	56,70	52,90	55,60	73,90	65,10
6	50,27	39,80	53,00	56,20	53,30	59,30
PROMEDIO	47,40	49,02	52,42	51,80	58,17	58,88

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 4-3 Resultados del análisis 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	662,12	5,00	132,42	4,64	1,829E-	2,53
Dentro de los grupos	857,05	30,00	28,57			
Total	1.519,17	35,00				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

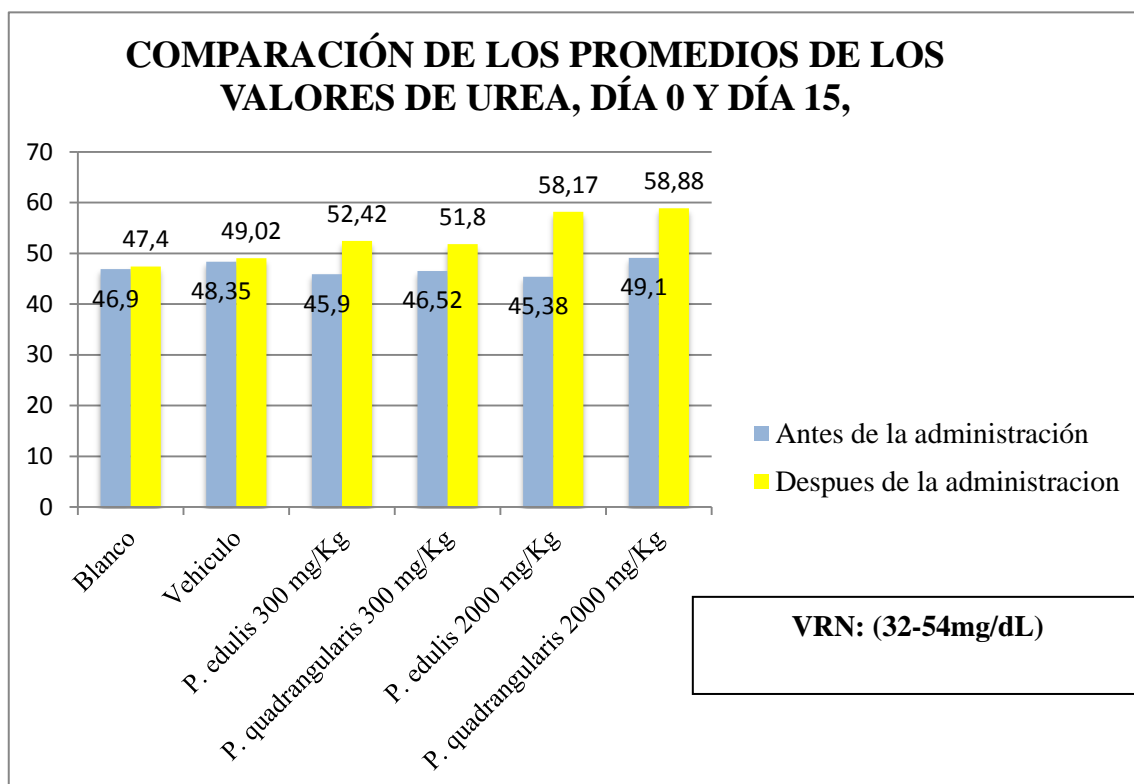


Figura 1-3 Gráfico comparación de los valores de urea antes y después de la administración.
Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

3.1.2. Creatinina

El análisis de Creatinina se realizó para indagar el funcionamiento del riñón del animal de experimentación, en la Tabla 5-3 y Tabla 7-3 se muestran los resultados en el ensayo antes y después de la administración (día 14); con los resultados se realizó una análisis Anova, en la Tabla 6-3 se muestra que el valor de la probabilidad antes de la administración es 0,92, no existe una diferencia significativa en los valores entre los grupos.

Mostrando un correcto funcionamiento renal al inicio del ensayo, pues los valores de Creatinina en la Tabla 5-3 no exceden los VRN; en Tabla 8-3 se muestran que la probabilidad de test Anova al final del ensayo es $7,5972E-07$, mostrando diferencia entre los grupos a los que se administró las Passifloras con el grupo control y vehículo, en la Figura 2-3 se evidencia el aumento en los promedios de los resultados de Creatinina en el día 15 con respecto al día 1 antes de la administración.

Según Rojas (2 009, p. 12) el aumento en los valores de creatinina se debe a alteración funcional renal provocado por hipotensión, debido a la presencia de altas concentraciones de flavonoides de la *P. edulis*, sobre todo quercetina, importante hipotensor, provocando caída del flujo sanguíneo y la presión arterial sistólica y diastólica; en la presente investigación los valores no exceden los VRN.

Tabla 5-3 Valores obtenidos de creatinina día 0, antes de la administración, (VRN: 0.69-2.19 mg/dL)

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>
1	0,87	0,72	0,65	0,43	0,61	0,65
2	1,28	1,61	0,51	0,43	1,20	1,09
3	1,19	0,80	0,83	1,15	0,54	0,77
4	1,23	0,71	0,91	1,53	0,70	0,77
5	0,87	0,80	1,51	0,73	1,70	0,77
6	0,69	0,71	0,83	1,43	0,42	0,67
PROMEDIO	1,02	0,89	0,87	0,95	0,86	0,79

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 6-3 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				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 7-3 Valores obtenidos de creatinina día 15, después de la administración.

Grupos/animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i>
1	0,910	0,900	0,860	1,06	1,770	1,670
2	0,780	0,790	1,180	0,720	2,010	2,060
3	0,930	0,810	0,740	1,600	2,080	1,720
4	1,380	0,850	1,020	1,030	1,600	2,600
5	0,910	0,790	0,860	1,660	2,600	2,170
6	0,830	0,850	1,740	0,920	1,810	2,600
PROMEDIO	0,957	0,832	1,067	1,186	1,978	2,137

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 8-3 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	8,653	5,000	1,731	15,514	7,5972E-07	2,621
Dentro de los grupos	2,677	24,000	0,112			
Total	11,330	29,000				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

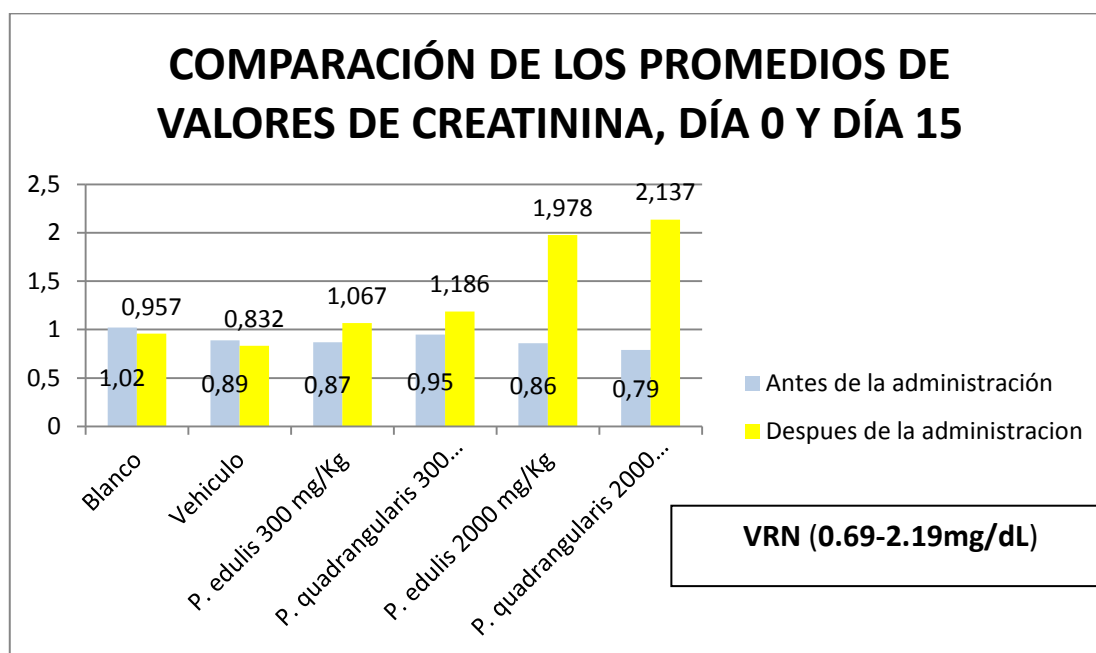


Figura 2-3 Gráfico comparación de los valores de creatinina antes y después de la administración.

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

3.1.3. *Bilirrubina*

El análisis de Bilirrubina se realizó para indagar el funcionamiento del hígado del animal de experimentación, en la Tabla 9-3 y Tabla 11-3 se muestran los resultados en el ensayo antes (día 0) y después de la administración (día 15); con los resultados se realizó una análisis Anova, en la Tabla 10-3 se muestra que el valor de la probabilidad antes de la administración es 0.20, no existe una diferencia significativa en los valores entre los grupos.

Mostrando un correcto funcionamiento hepático al inicio del ensayo, pues los valores de Creatinina en la Tabla 9-3 no exceden los VRN; en Tabla 11-3 se muestran que la probabilidad de test Anova al final del ensayo es 0,0228, mostrando diferencia entre los grupos a los que se administró las Passifloras con el grupo control y vehículo, en la Figura 3-3 se evidencia el aumento en los promedios de los resultados de Bilirrubina en el día 15 con respecto al día 0 antes de la administración.

La elevación en los valores de Bilirrubina podría deberse a la presencia de saponinas triterpenoidales en las hojas de *P. edulis* y *P. quadrangularis*, las cuales según Al- Habori (2 002, p.13) puedan ser responsables de alteración funcional del hígado. (95)

Burgos (2 004) maniesta que la mayoría de las saponinas triterpeinodales tienen una estructura química similar a las hormonas esteroideas, una de las hormonas que presenta mayor semejanza es el estrógeno, la cual según Yamamoto (2 006, p. 18) presenta efecto hepatotóxico y alteración funcional del hígado, aumentando los valores de Bilirrubina. (93)(95)(96)

En la presente investigación los valores de bilirrubina en el último día, no sobrepasaron los VRN, asumiendo ausencia de toxicidad hepática, pues según la conferencia de febrero de 2 001 de la Agencia de Alimentos y Medicamento (FDA), manifiesta que para determinar hepatotoxicidad, los valores de bilirrubina deben aumentar el doble del límite superior del VRN, asociado a cualquier aumento de fosfatasa alcalina y/o TGO (AST). (90)

Tabla 9-3 Valores obtenidos de bilirrubina día 0, antes de la administración, (VRN: 0.042-0.25 mg/dL)

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>
1	0,110	0,099	0,095	0,081	0,130	0,098
2	0,099	0,100	0,240	0,210	0,190	0,097
3	0,100	0,100	0,180	0,095	0,099	0,098
4	0,099	0,099	0,150	0,060	0,210	0,099
5	0,100	0,098	0,093	0,089	0,120	0,098
6	0,110	0,099	0,098	0,220	0,110	0,099
PROMEDIO	0,103	0,099	0,143	0,126	0,143	0,098

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 10-3 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	0,01	5,00	0,00	1,55	0,20	2,53
Dentro de los grupos	0,05	30,00	0,00			
Total	0,07	35,00				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 11-3 Valores obtenidos de bilirrubina día 15, después de la administración

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>
1	0,099	0,099	0,098	0,093	0,115	0,330
2	0,099	0,099	0,230	0,270	0,094	0,215
3	0,098	0,110	0,190	0,110	0,280	0,200
4	0,099	0,100	0,150	0,094	0,140	0,160
5	0,100	0,099	0,098	0,120	0,220	0,350
6	0,098	0,110	0,099	0,290	0,310	0,100
PROMEDIO	0,099	0,103	0,144	0,163	0,193	0,140

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 12-3 Resultados de Anova para bilirrubina 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	0,0751	5,0000	0,0150	3,0919	0,0228	2,5336
Dentro de los grupos	0,1458	30,0000	0,0049			
Total	0,2210	35,0000				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

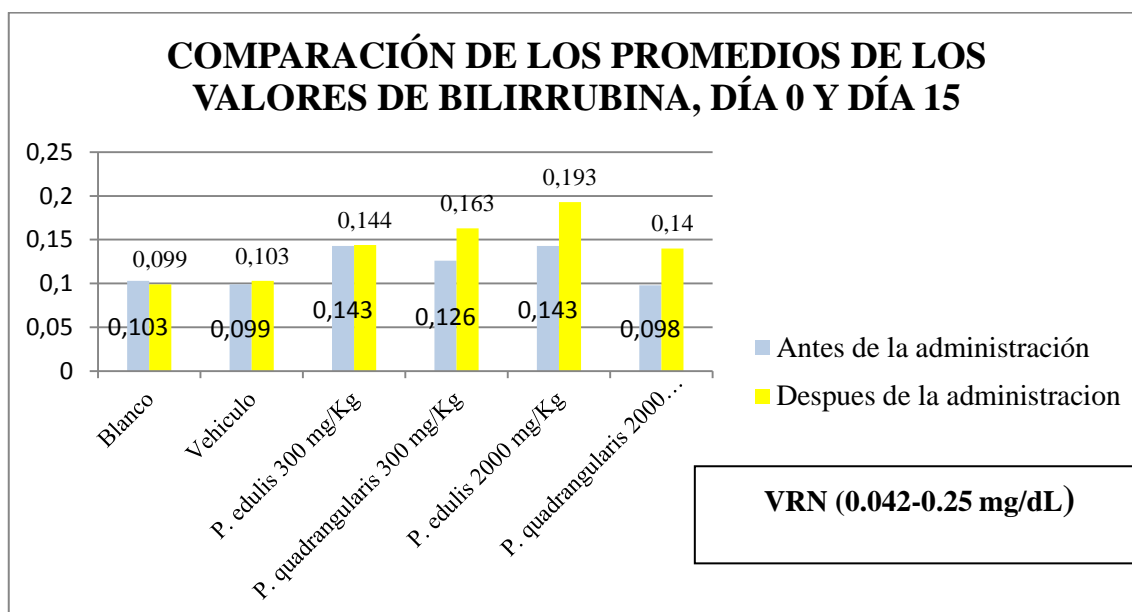


Figura 3-3 Gráfico comparación de los valores de bilirrubina antes y después de la administración.

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

3.1.4. TGO

El análisis de la enzima aminotransferasa de aspartato (TGO o AST) se realizó para indagar el funcionamiento del hígado del animal de experimentación, en la Tabla 13-3 y Tabla 15-3 se muestran los resultados en el ensayo antes (día 0) y después (día 15) de la administración; con los resultados se realizó un análisis Anova, en la Tabla 14-3 se muestra que el valor de la probabilidad antes de la administración es 0.49, no existe una diferencia significativa de los valores promedio entre los grupos.

Mostrando un correcto funcionamiento hepático al inicio del ensayo, pues los valores de TGO en la Tabla 13-3 no exceden los VRN; en Tabla 16-3 se muestran que la probabilidad de test Anova al final del ensayo es 2,63235E-06, mostrando diferencia entre los grupos a los que se

administró las Passifloras con el grupo control y vehículo; demostrando influencia de las *Passifloras* sobre los animales.

En la Figura 4-3 se evidencia el aumento en los promedios de los resultados de TGO en el día 15 con respecto al día 0 antes de la administración, sobrepasando en los grupos *P. edulis* 2 000 mg/Kg y *P. quadrangularis* 2 000 mg/Kg; Según Risso (2 016,p.2) reporta que la elevación de la enzima con frecuencia no demuestra daño hepático, sino más bien “tolerancia adaptativa”, debido a que los valores retornan a la normalidad.

La tolerancia adaptativa se da por la gran capacidad de auto regeneración del hígado; según la Asociación Americana Para El Estudio De Enfermedades Hepáticas en la conferencia del 2 011, manifiesta que para determinar toxicidad, los valores de TGO y TGP deben aumentar en 300 % del límite superior del VRN; los aumentos de TGO representan alteración funcional y no daño hepático. (90)(92)

Tabla 13-3 Valores obtenidos de TGO (AST) día 0, antes de la administración, (VRN: 49.23 - 95.01 U/L)

Grupos/ animales	Blanco	Vehículo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 2000 mg/Kg
1	49,00	55,90	68,90	63,90	83,00	97,50
2	57,20	63,20	65,80	73,10	77,30	46,00
3	68,80	49,00	75,20	83,80	85,20	49,80
4	69,80	86,00	54,20	83,10	68,00	74,70
5	63,00	79,00	65,80	83,10	68,00	99,80
6	58,80	86,00	75,20	73,90	57,30	54,70
PROMEDIO	61,10	69,85	67,52	76,82	73,13	70,42

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 14-3 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				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 15-3 Valores obtenidos de TGO (AST) día 15, después de la administración

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P. quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 2000 mg/Kg
SIN COLOR	84,700	47,400	91,800	95,600	95,300	105,300
1	59,200	81,200	81,500	86,900	101,700	94,300
2	66,400	79,600	71,600	92,000	90,500	107,700
3	58,900	55,700	90,100	86,000	93,000	89,000
4	74,700	79,200	73,600	96,900	100,000	97,700
5	59,200	59,000	68,100	72,000	89,700	99,300
PROMEDIO	67,183	67,017	79,450	88,233	95,033	98,883

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 16-3 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	5.651,393	5,000	1.130,279	11,631	2,63235E-06	2,534
Dentro de los grupos	2.915,267	30,000	97,176			
Total	8.566,660	35,000				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

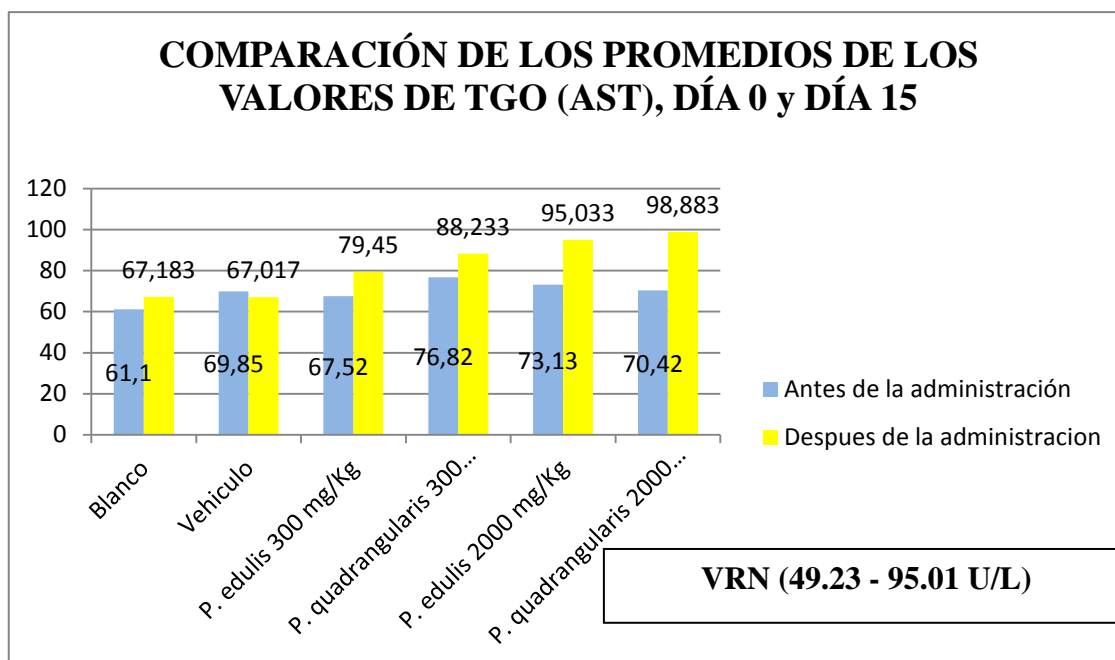


Figura 4-3 Gráfico comparación de los valores de TGO (AST) antes y después de la administración.

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

3.1.5. TGP

El análisis de la enzima aminotransferasa de alanina (TGP o ALT) se realizó para investigar el funcionamiento del hígado del animal de experimentación, en la Tabla 17-3 y Tabla 19-3 se muestran los resultados en el ensayo antes y después de la administración (día 15) respectivamente; con los resultados se realizó un análisis Anova, en la Tabla 18-3 se muestra que el valor de la probabilidad antes de la administración es 0,75, no existe una diferencia significativa en los valores entre los grupos.

Mostrando un correcto funcionamiento hepático al inicio del ensayo, pues los valores de TGP en la Tabla 17-3 no exceden los VRN; en Tabla 20-3 se muestra que la probabilidad de test Anova al final del ensayo es 0,017, mostrando diferencia entre los grupos a los que se administró las *Passifloras* con respecto al grupo control y vehículo; demostrando influencia de las *Passifloras* sobre los animales.

En la Figura 5-3 se evidencia el aumento en los promedios de los resultados de TGP en el día 14 con respecto al día 1 antes de la administración, los grupos *P. quadrangularis* 300 mg/Kg, *P. edulis* 2 000 mg/Kg y *P. quadrangularis* 2 000 mg/Kg sobrepasando los VRN; Navarro (2006, p.13) diferencia entre injuria hepática (daño tisular hepático) y alteración funcional hepático, por la elevación de los valores de la enzima, en la injuria la elevación es en alto porcentaje sobre los VRN. (92)

Según la FDA (2 001) aumentos en los valores de TGP son considerados como injuria hepática cuando sus valores aumentan un 300 % sobre el VRN, asociados a patología macro y microscópica en el hígado; los valores de TGP no exceden en alto porcentaje los VRN, indicando ausencia de injuria hepática. (92)

Tabla 17-3 Valores obtenidos de TGP (ALT) día 0, antes de la administración, (VRN: 25.18 - 48.01U/L).

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>
1	42,60	43,10	36,80	49,00	48,50	53,40
2	52,70	42,00	48,20	51,60	45,40	42,60
3	46,20	45,70	48,50	43,90	45,70	40,80
4	46,70	47,70	42,60	50,60	47,00	43,40
5	42,60	53,10	48,20	41,60	48,50	40,80
6	56,70	47,70	48,50	40,60	47,00	43,40
PROMEDIO	47,92	46,55	45,47	46,22	47,02	44,07

Realizado por: Luis Chávez, 2017

Tabla 18-3 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	52,95	5,00	10,59	0,54	0,75	2,53
Dentro de los grupos	590,95	30,00	19,70			
Total	643,90	35,00				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 19-3 Valores obtenidos de TGP (ALT) día 15, después de la administración

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P. quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i>
1	49,00	41,50	54,60	47,00	48,50	53,40
2	42,70	39,10	48,20	65,60	55,40	72,60
3	52,60	43,10	43,60	48,70	85,70	40,80
4	32,30	49,00	47,00	46,20	57,00	63,40
5	53,90	53,10	39,60	42,70	48,50	80,80
6	49,00	43,50	47,00	47,00	87,00	53,40
PROMEDIO	46,58	44,88	46,67	49,53	63,68	60,73

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 20-3 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	1.963,718	5,000	392,744	3,303	0,017	2,534
Dentro de los grupos	3.567,525	30,000	118,918			
Total	5.531,243	35,000				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

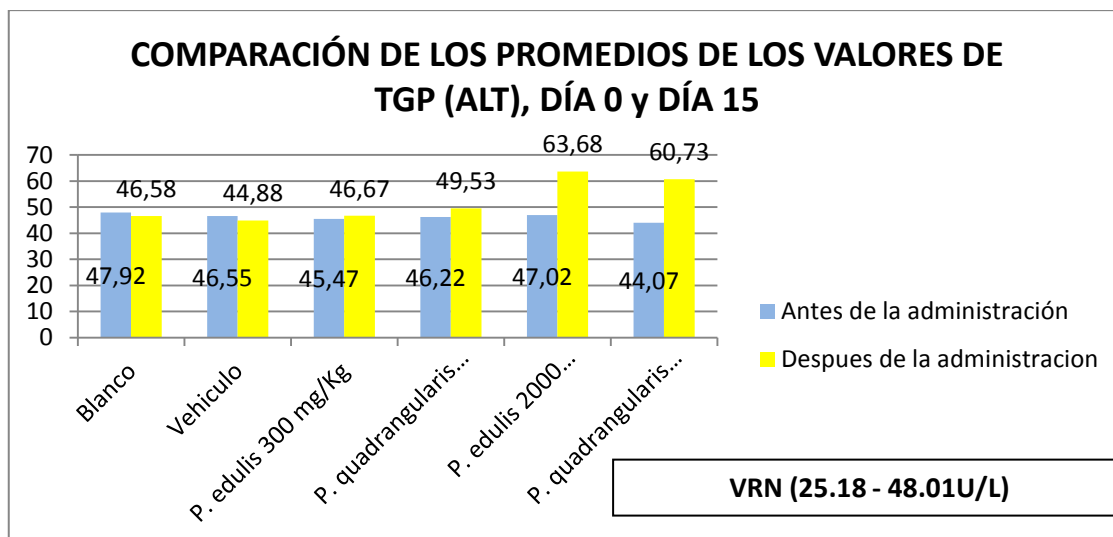


Figura 5-3 Gráfico comparación de los valores de TGP (ALT) antes y después de la administración.

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

3.1.6. Glóbulos blancos

El análisis de glóbulos blancos se realizó para investigar posibles cambios hematológicos en el animal de experimentación, en la Tabla 21-3 y Tabla 23-3 se muestran los resultados en el ensayo antes (día 0) y después de la administración (día 15); con los resultados se realizó un análisis Anova, en la Tabla 22-3 se muestra que el valor de la probabilidad antes de la administración es 0.96, no existe una diferencia significativa en los valores entre los grupos.

Mostrando ausencia de posibles infecciones al inicio del ensayo, pues los valores de glóbulos blancos en la Tabla 21-3 no exceden los VRN; en Tabla 24-3 se muestra que la probabilidad de test Anova al final del ensayo es 1,4133E-05, mostrando diferencia entre los grupos a los que se administró las *P. edulis* y *P. quadrangularis* con respecto al grupo control y vehículo; demostrando influencia de las *Pasifloras* sobre los animales.

En la Figura 6-3 se evidencia el aumento en los promedios de los resultados de glóbulos blancos en el día 14 con respecto al día 1 antes de la administración, los grupos *edulis* 2 000 mg/Kg y *P. quadrangularis* 2 000 mg/Kg sobrepasaron ligeramente los VRN; Amit D. Kandhare (2015) manifiesta que el aumento no significativo en el valor de glóbulos blancos se relaciona con respuestas propias del organismo al ingerir una sustancia extraña, directamente proporcional a la dosis.

Ben-Gui Ye (2014), concluye que al administrar dosis de 1000, 2000 4000 y 10000 mg/Kg a ratas, no se encuentra una diferencia significativa en los valores de glóbulos blancos, Ahlem et al. (2009) manifiesta que el extracto de *Pasifloras* no provoca alteraciones en glóbulos blancos.

Tabla 21-3 Valores obtenidos de glóbulos blancos día 0, antes de la administración, (VRN: 4-10 x10E12/L).

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P. quadrangularis</i> 300 mg/Kg	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 2000 mg/Kg
1	8,45	9,46	8,32	6,73	8,38	5,31
2	7,15	7,15	7,33	7,21	7,98	7,21
3	7,80	8,25	7,38	8,23	9,15	8,29
4	7,48	7,08	7,27	9,13	6,35	9,91
5	7,64	8,31	7,35	6,72	8,18	8,41
6	7,56	7,67	7,31	9,03	7,45	7,69
PROMEDIO	7,68	7,99	7,49	7,84	7,92	7,80

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 22-3 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	0,94	5,00	0,19	0,20	0,96	2,53
Dentro de los grupos	27,96	30,00	0,93			
Total	28,91	35,00				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 23-3 Valores obtenidos de glóbulos blancos día 15, después de la administración

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P. quadrangularis</i> 300 mg/Kg	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 2000 mg/Kg
1	8,15	8,36	10,38	10,60	10,36	10,93
2	7,05	9,19	9,75	10,02	11,03	10,84
3	9,41	7,09	8,04	9,82	9,78	9,40
4	7,63	8,98	8,91	9,73	9,97	9,51
5	8,06	8,41	9,38	8,99	10,13	9,89
6	8,20	9,19	9,95	10,82	10,08	10,08
PROMEDIO	8,08	8,54	9,40	10,00	10,23	10,11

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 24-3 Resultados de Anova para glóbulos Blancos después de la administración.

Origen de las variaciones	Suma de cuasad	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	24,10	5,00	4,82	9,67	1,4133E-05	2,53
Dentro de los grupos	14,95	30,00	0,50			
Total	39,05	35,00				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

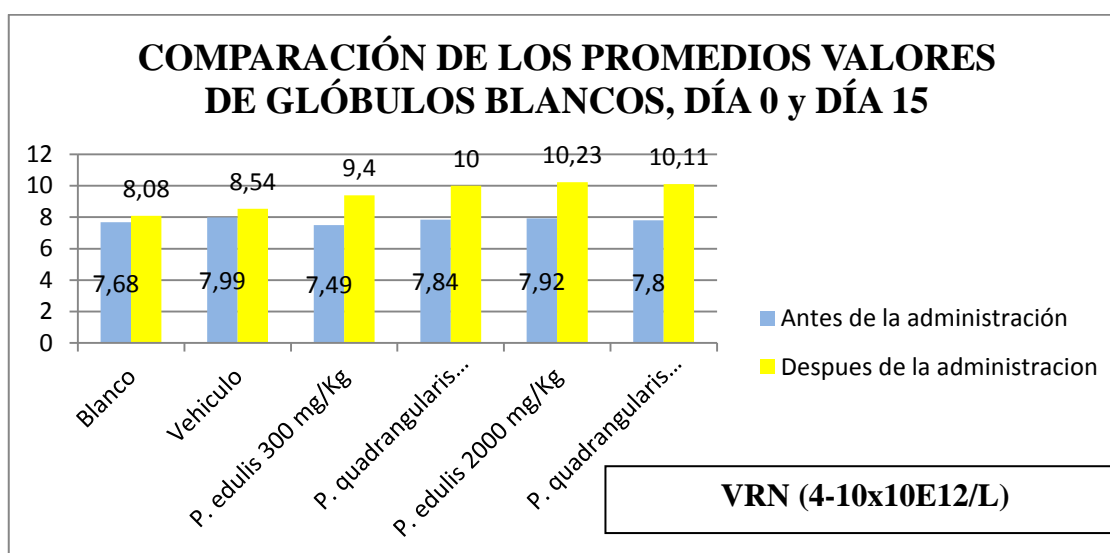


Figura 6-3 Gráfico comparación de los valores de glóbulos blancos antes y después de la administración.

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

3.1.7. Glóbulos rojos

El análisis de glóbulos rojos se realizó para investigar posibles cambios hematológicos en el animal de experimentación, en la Tabla 25-3 y Tabla 27-3 se muestran los resultados en el ensayo antes (día 0) y después de la administración (día 15); con los resultados se realizó un análisis Anova, en la Tabla 26-3 se muestra que el valor de la probabilidad antes de la administración es 0.66, no existe una diferencia significativa en los valores entre los grupos.

Mostrando ausencia de patologías asociadas a alteraciones en este parámetro, pues los valores de Glóbulos Rojos en la Tabla 25-3 no exceden los VRN; en Tabla 28-3 se muestra que la probabilidad de test Anova al final del ensayo es 0,247, mostrando diferencia entre los grupos a los que se administró las *P. edulis* y *P. quadrangularis* con respecto al grupo control y vehículo;

demostrando influencia de las *Pasifloras* sobre los animales.

En la Figura 7-3 se evidencia disminución en los promedios de los resultados de glóbulos rojos en el día 15 con respecto al día 1 antes de la administración, sin sobrepasar los VRN; Liangqing Zheng (2016, p.14) indica que los glóbulos rojos disminuyen por mayor producción de óxido nítrico, el mismo que actúa como vaso dilatador, Rojas (2009) muestra el efecto hipotensor del óxido nítrico, disminuyendo la presión sistólica, diastólica y media; reduciendo la necesidad de oxígeno del organismo y de glóbulos rojos transportadores de oxígeno.

Tabla 25-3 Valores obtenidos de glóbulos rojos día 0, antes de la administración, (VRN: $3.5-5 \times 10^{12}/L$).

Grupos/ animales	Blanco	Vehicul o	<i>P. edulis</i> 300	<i>P. quadrangularis</i> 300 mg/Kg	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 2000 mg/Kg
1	4,33	5,22	3,50	4,57	4,58	4,85
2	4,89	4,70	5,00	3,57	4,28	4,95
3	4,61	4,30	4,95	5,29	3,89	3,75
4	4,75	3,83	5,04	4,29	3,99	3,66
5	4,68	4,96	4,97	4,27	5,01	4,35
6	4,72	4,07	5,01	3,99	4,99	4,46
PROMEDIO	4,66	4,51	4,74	4,33	4,46	4,34

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 26-3 Resultados de Anova para glóbulos rojos antes de la administración

Origen de las variaciones	Suma de cuadrad	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,86	5,00	0,17	0,66	0,66	2,53
Dentro de los grupos	7,80	30,00	0,26			

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 27-3 Valores obtenidos de glóbulos rojos día 15, después de la administración

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>
1	4,580	4,540	4,610	4,090	4,150	4,880
2	5,030	4,940	4,790	4,790	4,660	4,060
3	4,180	5,320	4,010	4,300	5,010	3,540
4	5,110	3,410	4,780	3,940	4,000	3,950
5	4,288	4,303	5,010	4,110	4,370	4,280
6	4,913	5,040	4,690	4,280	5,060	4,260
PROMEDIO	4,683	4,592	4,648	4,252	4,542	4,162

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 28-3 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	1,437	5,000	0,287	1,417	0,247	2,534
Dentro de los grupos	6,086	30,000	0,203			
Total	7,523	35,000				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

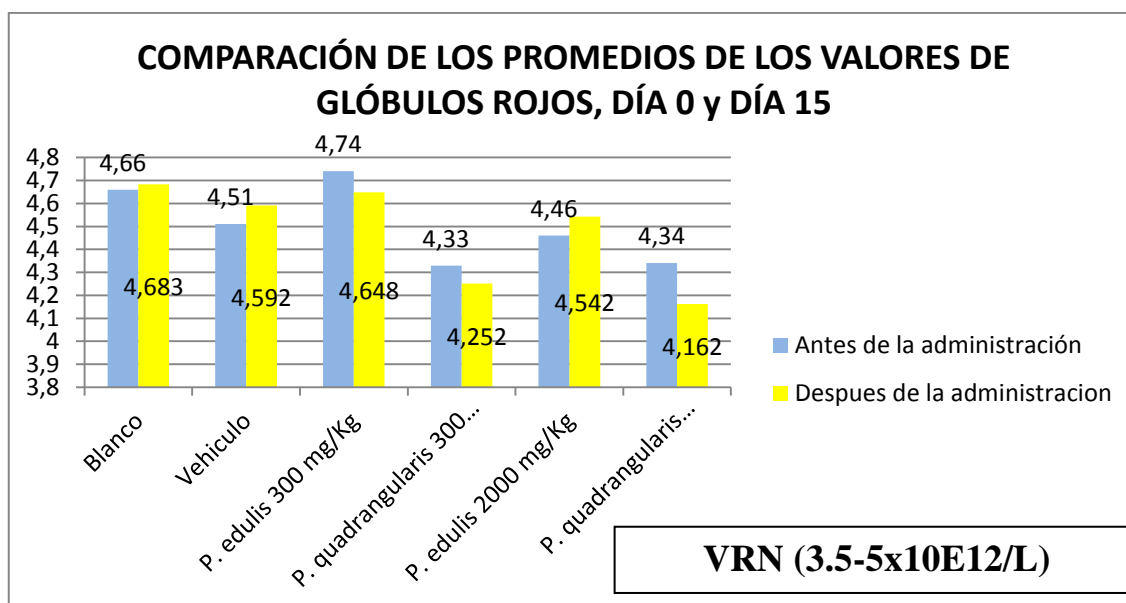


Figura 7-3 Gráfico comparación de los valores de glóbulos rojos antes y después de la administración.

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

3.1.8. Plaquetas

El análisis de Plaquetas se realizó para investigar posibles cambios hematológicos en el animal de experimentación, en la Tabla 29-3 y Tabla 31-3 se muestran los resultados en el ensayo antes (día 0) y después de la administración (día 15); con los resultados se realizó una análisis Anova, en la Tabla 30-3 se muestra que el valor de la probabilidad antes de la administración es 0.92, no existe una diferencia significativa en los valores entre los grupos.

Mostrando ausencia de patologías asociadas a alteraciones en este parámetro, pues los valores de Plaquetas en la Tabla 29-3 no exceden los VRN; en Tabla 32-3 se muestra que la probabilidad de test Anova al final del ensayo es 0,736231674, no existe una diferencia significativa en los valores entre los grupos a los que se administró las *P. edulis* Y *p. quadrangularis* con respecto al grupo control y vehículo; demostrando influencia de las *Pasifloras* sobre los animales.

En la Figura 8-3 se evidencia disminución en los promedios de los resultados de plaquetas en el día 14 con respecto al día 1 antes de la administración, sin sobrepasar los VRN; MyoungLae Cho (2016) concluye que los cambios en el número de plaquetas es por ausencia de daño tisular en los órganos estudiados en el análisis histopatológico.

Andressa Braga (2013) muestra que en los órganos estudiados a nivel histopatológico no presenta daños en la toxicidad aguda por consiguiente no hay elevación en los resultados de plaquetas por ausencia de tapón plaquetario, demostrando ausencia de sangrado.

Tabla 29-3 Valores obtenidos de plaquetas día 0, antes de la administración, (VRN: 100-500 x10E9/L).

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i>
Blanco	318,00	333,00	564,00	474,00	466,00	496,00
Rojo	360,00	403,00	288,00	434,00	336,00	395,00
Negro	339,00	354,00	289,00	338,00	347,00	217,00
Verde	349,50	439,00	287,00	238,00	329,00	416,00
Violeta	344,25	368,00	288,50	394,00	448,00	495,00
Rosado	346,88	396,50	287,75	438,00	307,00	219,00
PROMEDIO	342,94	382,25	334,04	386,00	372,17	373,00

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 30-3 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	13.794,42	6,00	2.299,07	0,31	0,92	2,43
Dentro de los grupos	211.757,82	29,00	7.301,99			
Total	225.552,23	35,00				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 31-3 Valores obtenidos de plaquetas día 15, después de la administración

Grupos/ animales	Blanco	Vehiculo	<i>P. edulis</i> 300	<i>P. quadrangulari</i>	<i>P. edulis</i> 2000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i>
Blanco	329,000	529,000	303,000	338,000	391,000	480,000
Rojo	409,000	329,000	405,000	423,100	328,000	411,000
Negro	333,000	321,000	393,000	413,000	409,000	295,000
Verde	358,000	466,000	297,000	365,000	442,000	352,000
Violeta	384,750	411,250	303,000	350,000	401,000	420,000
Rosado	313,667	307,000	435,000	402,800	395,000	331,000
PROMEDIO	354,569	393,875	356,000	381,983	394,333	381,500

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 32-3 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	9446,47284	5	1889,294568	0,551084956	0,736231674	2,533554548
Dentro de los grupos	102849,5451	30	3428,31817			
Total	112296,0179	35				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

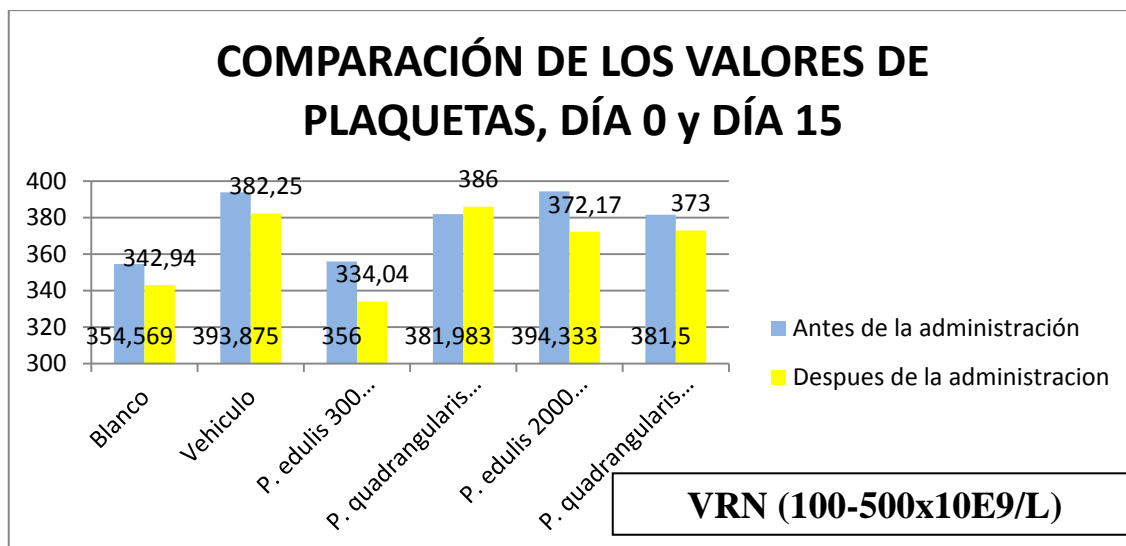


Figura 8-3 Gráfico comparación de los valores de plaquetas antes y después de la administración.

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

3.2. Análisis cualitativo de la observación clínica durante 14 días después de la administración.

3.2.1. 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.

3.2.2. 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 las *Passifloras* en concentraciones de 2 000mg/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.

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

Tabla 33-3 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			
Peso en gramos	Día 0	Día 7	Día 15
Blanco	183,617	184,168	184,504
Vehículo	208,233	207,784	209,240
P. edulis 300 mg/Kg	176,283	176,812	177,135
P. quadrangularis 300 mg/Kg	179,683	179,324	180,551
P. edulis 2 000 mg/Kg	207,033	207,654	208,033
P. quadrangularis 2 000 mg/Kg	212,133	211,708	213,159

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

Tabla 34-3 Resultados de Anova para los promedios de los pesos de los distintos grupos durante los días 0, 7 y 15 de la investigación

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico
Entre grupos	2634,047686	5	526,8095373	1038,1260	1,00877E-	4,38737418
Dentro de los grupos	3,044772062	6	0,50746201			
Total	2637,092459	11				

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

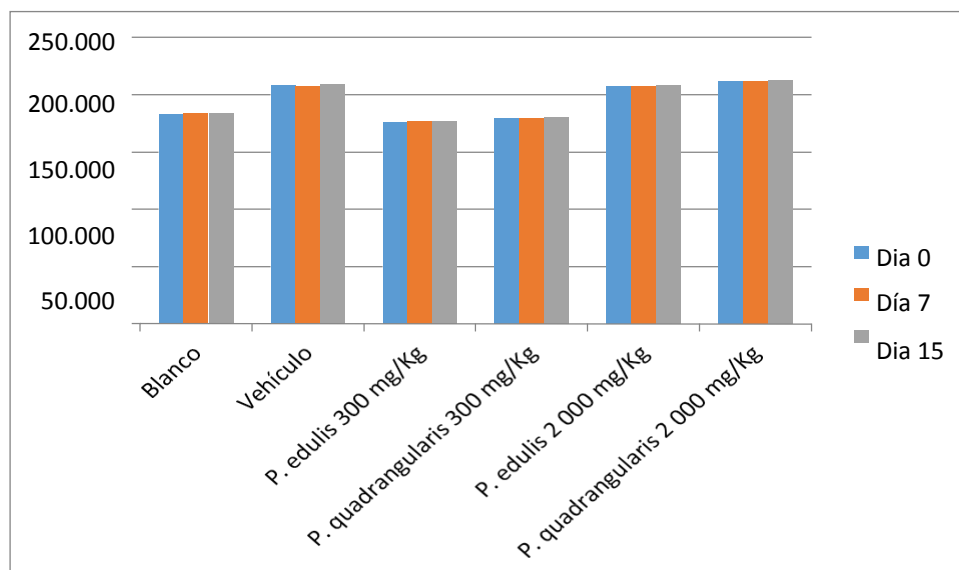


Figura 9-3 Gráfico comparación de los promedios de los pesos de los animales experimentación en los días 0, 7 y 15.

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

En la tabla 33-3 se muestra el promedio de los pesos de los animales de experimentación de los grupos blanco, vehículo y administración, durante los días 0, 7 y 15 de la investigación; en los cuales se realizó un análisis Anova (tabla 34-3), el valor de la probabilidad es $1,00 \times 10^{-8}$, lo cual indica que existe diferencia significativa entre los resultados de los promedios de los pesos entre los días 0, 7 y 15.

La figura 9-3 muestra la comparación de los promedios de los pesos de cada grupo en los días 0, 7 y 15; Rojas (2009) documenta la alteración no significativa del peso de los animales durante el ensayo de toxicidad aguda de *P. edulis*, en la presente investigación el porcentaje de aumento de peso es de 0,48 %, corroborando lo registrado en dicha investigación. (90)(91)(92)

3.4. Análisis histopatológico de los animales de experimentación después de la observación clínica.

3.4.1. 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 35-3 Resultados del examen macroscópico de los órganos del animal de experimentación en el día catorce del grupo control y grupo de experimentación.

HITOPATOLÓGICO MACROSCÓPICO						
Animal	Blanco	Vehículo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i> 300 mg/Kg	<i>P. edulis</i> 2 000 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i> 2 000 mg/Kg
CEREBRO						
1	n	n	n	n	n	n
2	n	n	n	n	n	n
3	n	n	n	n	n	n
4	n	n	n	n	n	n
5	n	n	n	n	n	n
6	n	n	n	n	n	n
CORAZÓN						

1	n	n	n	n	n	n
2	n	n	n	n	n	n
3	n	n	n	n	n	n
4	n	n	n	n	n	n
5	n	n	n	n	n	n
6	n	n	n	n	n	n
PULMÓN						
1	n	n	n	n	n	n
2	n	n	n	n	n	n
3	n	n	n	n	n	n
4	n	n	n	n	n	n
5	n	n	n	n	n	n
6	n	n	n	n	n	n
HIGADO						
1	n	n	n	n	n	n
2	n	n	n	n	n	n
3	n	n	n	n	n	n
4	n	n	n	g	n	n
5	n	n	n	n	n	n
6	n	n	n	n	n	n
RIÑÓN						
1	n	n	n	n	n	n
2	n	n	n	n	n	n
3	n	n	n	n	n	n
4	n	n	n	n	n	n
5	n	n	n	n	n	n
6	n	n	n	n	n	n
n = normal				g = graso		

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

En la tabla 36-3 se observa que después de la necropsia, no existen daños en los órganos cerebro, pulmones, riñones, hígado y corazón, todos presentan coloración característica, peso normal y ausencia de patologías macroscópicas.

3.4.2. Análisis microscópico.

Tabla 36-3 Resultados del análisis microscópico de los órganos del animal de experimentación en el día catorce del grupo control y grupo de experimentación.

Histopatológico Microscópico						
Anima 1	Blanco	Vehícu lo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 300 mg/Kg	<i>P. edulis</i> 2 000 mg/Kg	<i>P. quadrangularis</i> 2 000 mg/Kg
CEREBRO						
1	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
2	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
3	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
4	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
5	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
6	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
CORAZÓN						
1	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
2	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
3	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
4	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
5	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
6	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
PULMÓN						
1	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
2	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
3	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
4	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
5	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
6	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a

HÍGADO						
1	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
2	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
3	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
4	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
5	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
6	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
RIÑÓN						
1	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
2	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
3	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
4	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
5	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
6	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a	s/a
s/a= sin alteración						

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

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

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

3.5. Comparación de los niveles promedio del día 14 de valores hematológicos y química sanguínea del extracto etanólico de las *Passifloras edulis* y *P. quadrangularis* con respecto al valor de referencia

Tabla 37-3 Porcentaje de variación de los promedios de los valores de los análisis de los ensayos de química sanguínea y hematología del día 15, después de la administración, con respecto a los valores de referencia normales.

	Valor de referencia	unidades	vehículo	<i>P. edulis</i> 300 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i> 300	<i>P: edulis</i> 2 000 mg/Kg	<i>P.</i> <i>quadrangularis</i> 2000 mg/Kg
Urea	32-54	mg/dL	(12,23)	(2,93)	(4,07)	7,72	9,04
Creatinina	0.69-2.19	mg/dL	(56,32)	(51,29)	(45,84)	(9,67)	(2,44)
Bilirrubina	0.042-	mg/dL	(60,47)	(42,33)	(34,87)	(22,75)	(9,67)
TGO	49.23 -	U/L	(29,29)	(51,33)	(7,13)	0,02	4,08
TGP	25.18 -	U/L	(2,97)	(2,80)	3,17	32,65	26,50
Glóbulos blancos	4 a 10	E9/L	(19,16)	(5,98)	(0,04)	2,25	1,08
Glóbulos rojos	3,5 a 5	E12/L	(6,33)	(7,03)	(14,97)	(9,17)	(16,77)
Plaquetas	100 a 500	E9/L	(29,09)	(28,80)	(23,60)	(21,13)	(23,70)

Realizado por: CHÁVEZ Luis, 2017

En la Tabla 37-3 se muestra los porcentajes de variación entre los valores de los ensayos de química sanguínea y hematología del día 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.

En los valores de los ensayos de urea, TGO y plaquetas los grupos a los que se administró *Passifloras edulis* y *quadrangularis* 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 *Passifloa edulis* en dosis de 300 mg/Kg y 2000 mg/Kg, además de *Passiflora quadrangularis* 2 000 mg/Kg sobrepaso los VRN. Estos porcentajes de elevación.

CONCLUSIONES

Durante el periodo de exposición de 14 días no se observó síntomas tóxicos asociados a la dosis administrada, no se registró muerte de ningún animal; el porcentaje de aumento de peso no es representativo de daño toxico.

La enzima TGO presentó un aumento en las medias de los grupos de *Passiflora edulis* y *P. quadrangularis* del 0,025 % y 4,076 % respectivamente con respecto al valor de referencia normal; sin embargo, esta enzima no es un marcador específico y no representa necesariamente daño hepático tratándose de tolerancia adaptativa.

Los niveles de TGO y TGP en los grupos de administración de *Passifloras edulis* y *P. quadrangularis* administrada a 2000 mg/Kg no alcanzaron el triple del VNR, mientras que la bilirrubina no sobrepasó el límite superior de VRN; por lo tanto la elevación de los valores de TGO y TGP son atribuibles a función hepática y no a lesión hepática.

La enzima ALT (TGP) se incrementó en bajo porcentaje por lo que se descarta permeabilidad transmembranal o daño celular en hepatocitos, lo cual nos indica ausencia de toxicidad a nivel hepático.

Los parámetros Urea y creatinina se incrementan después de la administración de *Passifloras*, sin pasarse de los valores de referencia; debido al efecto hipotensor de los flavonoides, en especial de la quercetina, disminuyendo el filtrado glomerular por disminución en la presión arterial sistólica, diastólica y media; descartando toxicidad a nivel renal; el efecto hipotensor también se debe a la expresión del ARNm de sintasa del óxido nítrico endotelial principal vasodilatador, promovido por la quercetina.

Los valores de bilirrubina aumentaron después de la administración de *Passifloras*, sin pasarse de los valores de referencia; debido a la presencia de saponinas triterpéridicas presentes en las hojas de *Passiflora edulis* y *P. quadrangularis*, las cuales tienen una estructura química similar a las hormonas esteroides y provocan alteración reversible en funcionamiento hepático; por lo tanto se descarta toxicidad a nivel hepático.

Los valores de glóbulos rojos disminuyen durante el ensayo sin sobrepasar los valores de referencia normales, esta disminución es debido a la formación de óxido nítrico principal vasodilatador, provocando baja de la presión sistólica, diastólica y media; el óxido nítrico es inducido por quercetina el cual es componente de las *Passifloras*; debido a la hipotensión arterial el organismo necesita de menos transporte de oxígeno, justificando la disminución de glóbulos rojos, principal transportador de oxígeno.

Los valores de los ensayos de glóbulos blancos y plaquetas no sufren alteraciones significativas respecto a los valores basales, este hecho se comprueba con la ausencia de cambios estructurales y tóxicos de los órganos en el análisis patológico

El informe histopatológico muestra usencia de patologías, este parámetro asociado a los datos de los ensayos de química sanguínea, hematología y variación en el peso de los animales, nos permite concluir que no existe toxicidad aguda debido a la administración de *Passifloras edulis* y *P. quadrangularis* a dosis de 300 y 2 000 mg/Kg.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un estudio subcrónico de 28 días utilizando un extracto etanólico de *Passifloras edulis* y *P. quadrangularis* en dosis de 300 y 2000 mg/kg, para correlacionarlo con el presente estudio toxicológico agudo, permitiendo confirmar o rechazar la hipótesis de ausencia de toxicidad en estas concentraciones.

Se recomienda realizar la evaluación toxicológica aguda de *Passifloras edulis* y *P. quadrangularis* en dosis superiores a los 2000 mg/kg, siguiendo los parámetros recomendados por la OECD 423.

GLOSARIO

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

BIBLIOGRAFÍA

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

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

AL-HABORI, M. “Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals”, Vol. 82, *Ethnopharmacol* 2002, pp 1

ANESINI, C y PEREZ, C. “Screening of plants used in argentine folk medicine for antimicrobial activity”, Vol. 39, New York- USA, *Journal of Ethnopharmacology*, 1993. pp 5-6

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, San Pablo- Brasil, pp. 158-163.

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

ANZOISE, M; et al. “Propiedades beneficiosas de *Passiflora caerulea* en la colitis experimental”, Vol. 194, *Diario de Etnofarmacología*, Buenos Aires- Argentina, 2016, pp. 137-145.

ARRIAZA, A.; et al. “Volatile constituents from fruit shells of *P. edulis* Sims Vol. 9 *Journal of*

Essential Oil Research” 1997, pp. 235-236.

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

BARTRAM, T. *Herbal medicine*. London- Inglaterra: Robinson Publishers, 1998, pp. 45-50.

BETIM CAZARIN, Cinthia Baú ; et al. “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- Brasil, 2015, pp. 575-586.

BOMBARDELLI, C; et al. “Passiflorine, a new glycoside from *Passiflora edulis*”, Vol. 14 *Fitoquímica*, Portland-Inglaterra, 1975, pp 123.

Braga, A.; et al. “Repeated administration of an aqueous spray-dried extract of the leaves of *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae) inhibits body weight gain without altering mice behavior”, Vol. 145(1), *J Ethnopharmacol*, 2013, pp 59–66.

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, Glauca, et al. “*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- Brasil, pp. 862-870.

CARNÉ, Xavier “La nueva directiva europea sobre medicamentos tradicionales a base de

plantas y su transposición a la normativa española”, Vol. 121, *Medicina Clínica*, Barcelona-España, 2003, pp. 655-657.

CARVAJAL DE PABÓN, Luz Marina y ÁLVAREZ, Lizeth Marely. “Algunas especies de passiflora y su capacidad antioxidante”, Medellín- Colombia, Vol. 16, *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2011, pp 13.

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

CHALLIER, P.; KOULIBALY, A.; y FONTIVIELLE, J. *Fruit glycosides as aroma precursors Wissenschafts-Technikhistoriker*, London- Inglaterra, Vol. 21, *Kommunikations*, 1990, pp 13.

CHARALAMBOUS, G, y INGLET, G. *Instrumental Analysis of Food* , V 2: Recent Progres. Orlando- USA., United Kindong, 1983, pp 34.

CHASSAGNE, D.; y CROUZET, J. “Cyanogenic glycoside from Passiflora”, Vol. 49 *Phytochemistry*, 1998, pp 757-759.

CHASSAGNE, D.; BOULANGER, R.; y CROUZET, J. “Enzymatic hydrolysis of edible Passiflora fruit glycosides” Vol. 66, New York- USA, *Food Chemistry*, 1999, pp. 281-288

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

COLOMBIA, CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación. Santa Fe de Bogotá. 1995. p. 220.

CUBA, MINSAP, Ministerio de Salud Pública cuba. Programa Nacional para el Desarrollo y la Generalización de la Medicina Natural y Tradicional. La Habana- Cuba, 1997, pp 76.

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

DAS, N.; GOSHWAMI, D.; HASAN, S.; RAIHAN, S. *Evaluation of acute and subacute toxicity induced by methanol extract of Terminalia citrina leaves in Sprague Dawley rats. J Acute Dis* [En línea]
[Consulta: 11 de 08 de 2016.]
[.http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2221618915000529](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2221618915000529)

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

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, *Journal of Ethnopharmacology*, Haryana- la India, 2004, pp 1-23.

DÍAZ, Padilla; & CLAUDIA Y SEPÚLVEDA, Carolina. “Identificación del Principal Pigmento Presente en la Cáscara del Maracuyá Púrpura (*Passiflora edulis*”. *Información Tecnológica*, vol. 17, La Serena-Chile, 2006, pp 12.

ECUADOR, 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/>.

ECUADOR, 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/>.

ESPAÑA, Instituto Bernaldo Quiros. iqb.es. [En línea] 02 de 2005.
[Citado el: 06 de 08 de 2016.]
<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma05/tox/tox03.htm>.

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-Colombia, 2016, pp. 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>.

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

FELTER, H. y LLOYD, J. “John American Rey de Dispensatory”, Vol. 31, *Eclectic Medical Publications*, Portland- USA, 1983, pp 17-23.

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*, 21-25.

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

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

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

GARCÍA MILIAN, Ana Julia, y otros. “Estrategia para lograr un uso racional de los medicamentos herbarios”. Vol. 10, *Plant Med*, La Habana- Cuba, 2005, pp 1.

GARCÍA, Voces; et al. “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. “Occurance of cis isomers of Provitamin A in Brazilian fruits” Vol. 42, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Brasilia- Brasil, 1994, pp. 1303.

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

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

HERNÁNDEZ, Tzasná; y otros. “Fitoquímica y actividades biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del valle de tehuacán-cuicatlán”. Vol. 18, Mexico DF-Mexico, 2015, pp. 116-121.

HERNÁNDEZ, Y. “Memorias Jornadas de Investigación Años 2009 - 2013”. Agronomía Coordinación de Investigaciones [en línea], 2014, (Venezuela). [Consulta: 19 de 07 de 2016].
Disponibile en: [http:// www.ucv.ve/uploads/media/Memorias _Jornadas_de_Investigaci%](http://www.ucv.ve/uploads/media/Memorias_Jornadas_de_Investigaci%20)

HICKEY, M y KING, C. “100 Families of Flowering Plants”. Cambridge- Inglaterra., 1988. pp. 130-133.

JIMÉNEZ, A. M.; SIERRA, C. A. y RODRÍGUEZ PULIDO, F. “Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. fo *edulis*) fruit from Colombia during the ripening”.7, Bogotá- colombia: Food Research International, 2011, *Food Research International*, Vol. 44, pp.1912-1918.

JAMIR, T. y SHARMA, H. “Folklore medicinal plants of Nagaland Assam Indian Journal de los conocimientos tradicionales”, Nagaland – La India, Vol. 3, pp. 365-372, 2014.

KAMALDEEP, Dhawan; SANJU, Dhawan y ANUPAM , Sharma. *Passiflora*: a review update, Vol. 94, *Journal of Ethnopharmacology*, Panjab- La India, 2004, pp 12.

KAMALDEEP Dhawan, SURESH Kumar y ANUPAM Sharma “Anti-anxiety studies on extracts of *Passiflora incarnata* Linneaus”, Vol. 78, Chandigar- La India, 2001, pp 1.

KIDOEY, L.; et al. “Anthocyanins in fruits of *Passiflora edulis* and *P. suberosa*”, Vol. 10, *Journal of Food Composition and Analysis*, 1997, París- Francia, pp. 49-54.

LIN, Q.; et al. “Inhibition of inducible nitric oxide synthase”. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 118, 2008, pp 13.

LUTOMSKI, J;et al. “Die Bedeutung der Passionsblume in der Heilkunde. Importance of Passion flower in the therapeutics” Vol. 10, *Pharmazie in Unserer Zeit*, Liberpool. Inglaterra, 1981, pp. 45-49.

MADRIDEJOS MORA, Rosa. “Efectos de las plantas medicinales en los pacientes afectados de insuficiencia cardíaca”, Vol. 23, Barcelona- España, *Formación Médica Continuada en*

Atención Primaria, 2016, pp 12.

MARECK, U, HERRMANN, K y GALENSA, “The 6-Cchinovoside and 6-C-fucoside of luteolin from *Passiflora edulis* “, Vol. 30, *Phytochemistry*, Oxford- Inglaterra 1991 pp 3486-3487.

MATEU, J. y LÓPEZ, E. Síntesis Toxicológica. Valencia- España 1997, pp 45.

MCGUIRE M, CHRISTOPHER. “*Passiflora incarnata* (Passifloraceae): Una nueva cosecha de la fruta”. Vol. 53, Nueva York- USA: *Economic Botany*, 1999, pp 35.

MERCADENTE, A.; BRITTON, G.; y RODRIGUEZ, A. “Carotenoids” Vol. 46, *Journal of Agriculture and Food*, Chicago, USA, 1998, pp 4102-4106.

Miroddi, M.; et al. “*Passiflora incarnata* L.: Ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials” Vol. 150, *J Ethnopharmacol*; 2013, pp 3.

MODESTI COSTA, Geison; et al. “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- Brasil, pp. 451-458.

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

Morton, J. F. *Atlas of Medicinal Plants of Middle America*. Springfield- USA: Charles C. Thomas, 1981. pp.1281-1282.

MOWREY, D. *Herbal Tonic Therapies*. [En línea]. 1998.

[Citado el: 5 de 08 de 2016.]

<https://www.amazon.com/Herbal-Tonic-Therapies-Daniel-Mowrey/dp/0879835656>.

NAVARRO, Victor J. y SENIOR, John R. “Drug-Related Hepatotoxicity”, Vol. 354, Washington- USA, *The New England Journal of medicine* , 2006, pp 1.

NITZ, S.; KOLLMANN BERGER, H. y DRAWERT, F. “Determination of nonnatural flavors in sparkling fruit wines”, Vol. 12, *Chemical and Microbial Technology*, Lebensm 1990, pp. 105-110.

NWOSU, M. O. “Herbs for mental disorders”, Vol. 70, Nsukka- Nigeria, *Fitoterapia*, 1998, pp 11.

Olafsdottir, E.; Andersen, J.; y Jaroszewski, J. “Cyanohydrin”. 11, 1988, Vol. 28, pp 127-132.

OSORIO, C; y DUQUE, C. “Oxygenated monoterpenoids from badea (*Passiflora quadrangularis*) fruit pulp”. *Phytochemistry*, vol. 53, 1 2000, Bogotá-Colombia, pp 11.

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, Bogotá-Colombia. 2010.
[Consulta: 15 de 08 de 2016].
Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/3044/1/790737.2010.pdf>.

OTZOY ROSALES, Mynor; y 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>.

REPETTO JIMENES, MANUEL; Y REPETTO KUHN, GUILLERMO. *Toxicología Fundamental*, 4º Edición. Madrid-España : Diaz de Santos, 2009. pp 33.

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

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; et al.” 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-Perú, 2006, pp1-3.

ROJAS, Juan y DÍAZ, David. “Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas Vol. 70, Lima- Perú, *Anales de la Facultad de Medicina San Marcos* ,2009, pp 1.

SARAVANAN, S.; ARUNACHALAM, K. y PARIMELAZHAGAN, T. *Antioxidant, analgesic, anti- inflammatory and antipyretic effects of polyphenols from Passiflora subpeltata leaves - A promising species of Passiflora. Ind Crops Prod*, [En línea] 2 008
[Citado el: 17 de 09 de 2016.]
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.038>.

SEEF, Leonard. “The Problems of Establishing Causalit. U.S.Fud and Drug Administration. Hepatotoxicity SteeringGroupMeeting”. 3, NewYork- USA :Elsebier, 2006, Vol.70, pp 15.

SHANMUGAM, S.; et al. “HPLC-DAD-MS identification of polyphenols from *Passiflora eschenaultii* and determination of their antioxidant, analgesic, anti-inflammatory and antipyretic properties”. *Arab J Chem*. 2015, pp 131.

SILVA, D.C.; et al. “Polysaccharide isolated from *Passiflora edulis*: Characterization and

antitumor properties. Carbohydr Polym”, Vol. 87(1) , *Food and Chemical Toxicology*, 2012, pp 139.

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, pp. 63–72.

SPENCER, Kevin; y SEIGLER, D. “Passicocin: un glucósido cianogénico sulfatado de *Passiflora coccinea*”, Vol. 24, *Phytochemistry*, Birmingham- Inglaterra 1985, pp 123.

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

SUIZA, 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.

SUIZA, 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>.

TAYLOR, L. *Maracuja*, Herbal Secrets of the Rainforest. Austin- USA : Prime Publishing, 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- Brasil: *Chemistry Toxicol*, 2014, pp 15.

VANDERPLANK, John. *Passion flowers*, Portland, Oregon-USA: Timber Press, 2 004, pp 35.

VANACLOCHA, B y CAÑIGUERAL, S. Fitoterapia. *Vademécum de prescripción*. Barcelona- España: Masson, 2003, pp 34.

VAIDYA, ASHOK D. y DEVASAGAYAM, THOMAS P. “Estado Actual de Medicamentos a base de plantas” La India- Mumbai” Vol. 41, *Diario de Bioquímica Clínica y Nutrición*, 2007, pp 123.

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>.

VAZQUEZ VIGO, Alfredo y CRUZ ÁLVAREZ, Nélica María, “Hipertensión arterial en el anciano” Vol. 37, La Habana- Cuba, *Revista Cubana de Medicina*, 1998, pp 12.

VIZOSO PARRA, Angel; y Ramos Ruiz, Alberto. “ Passiflora incarnata L. y Senna alata (L.) Roxo: Estudio toxicogenético que emplea 2 sistemas de ensayos a corto plazo”, 1, La Habana- Cuba: *Plant med*, 2001, Vol.7 (1), pp 27-31.

WATT, John M. y BREYER-BRANDWIJK, María G. *Las plantas medicinales y venenosas de África meridional y oriental*. Edinburgo- Escocia: Livingston, 1962. pp. 823-830.

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

YAMAMOTO, Y.; et al. “Estrogen receptor α mediates 17 α -ethynylestradiol causing hepatotoxicity”, Vol. 183, *Journal of Biological Chemistry*, 2006, pp 13.

YULDASHEVA, L; et al. Sapiens. “La actividad hemolítica del colesterol depende de Passiflora quadrangularis hojas”. *Revista Brasileira de Investigación Médica y Biológica*, vol. 38,

2005, San Pablo- Brasil, pp 2.

ZERPA ZERPA, María Alexandra y OTAHOLA GÓMEZ, Víctor Alejandro;
“Morfoanatomía del tallo de tres especies del género passiflora l. Passifloraceae”, Vol. 26,
Maturín Saber, 2014, pp 56- 63.