



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE
Passiflora tripartita. Y PRE FORMULACIÓN DE JARABE**

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

AUTOR: MARITZA CUMANDÁ CHARCO HIDALGO

TUTOR: Dra. SUSANA ABDO, M.SC.

Riobamba – Ecuador

2017

©2017, MARITZA CUMANDÁ CHARCO HIDALGO

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.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Trabajo de titulación certifica que el trabajo de investigación: “EVALUACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Passiflora tripartita*. Y PRE FORMULACIÓN DE JARABE” de responsabilidad de la joven egresada Maritza Cumandá Charco Hidalgo, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Susana Abdo

**DIRECTOR DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

BQF. Gisela Pilco

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Maritza Cumandá Charco Hidalgo, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 18 de abril 2017

MARITZA CUMANDÁ CHARCO HIDALGO

060584321-8

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis Padres, hermanos, hermanas y amigos por ayudarme a culminar una etapa muy importante en mi vida, y por su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos.

Especialmente a mi mayor motivo de inspiración Blanca Cecilia, Leticia Charco y Paola Aucapiña por ser las personas que me ayudaron a culminar esta etapa de vida.

Maritza

AGRADECIMIENTO

A la vida que me ha permitido ver nuevas oportunidades cada día.

A mí amada familia que ha sido un baluarte importante en mi diario vivir y motivadores de superación constante.

A mi directora de tesis Dra. Susana Abdo, quien con sus conocimientos, paciencia y guía supieron encausar mis esfuerzos para alcanzar esta meta académica planteada.

A mis catedráticos, por compartirme sus experiencias en mi formación profesional y académica.

A mis amigos quienes forman una parte importante de mi vida especialmente a mi amiga Angie Aucapiña por su amistad y gran apoyo en cada momento de esta etapa estudiantil

A BQF Diego Vinueza una persona admirable e inaudito, a quien estaré siempre agradecida por la oportunidad y las facilidades que brindo para desarrollar el presente trabajo de investigación.

A todos muchas gracias.....

Maritza.

INDICE DE ABREVIATURAS

OMS	Organización Mundial de la Salud
GABA	Ácido γ - aminobutírico
MAO	Monoamino oxidasa
SNC	Sistema Nervioso Central
BZD	Benzodiazepinas
CCF	Cromatografía en Capa Fina
PEG	Polietilenglicol
N°	Número
Nm	Nanómetro
%	Porcentaje
mg	Miligramos
G	Gramos
Kg	Kilogramo
Sol.	Solución
Fig.	Figura
PH	Potencial de Hidrogeno
°T	Temperatura
EtOH	Etanol
MeOH	Metanol
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
U.V	Ultravioleta
Fm	Fase móvil
I.R	Infrarrojo
mL	Mililitro
°C	Grados Celsius
Rf	Franja de referencia

TABLA DE CONTENIDO

INDICE DE ABREVIATURAS.....	i
TABLA DE CONTENIDO	ii
INDICE DE TABLAS	v
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE ANEXOS.....	viii
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN	1

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Salud mental.....	5
1.2. Ansiedad y depresión	5
1.2.1. Tipo de ansiedad.....	6
1.2.2. Tratamiento para ansiedad.....	7
1.2.4. Efectos adversos.	9
1.3. Medicinal tradicional	10
1.4. Fitofármacos.....	11
1.5. Beneficios del consumo de extractos de pasiflora	11
1.6. Formas farmacéuticas orales	12
1.6.1. Jarabe.....	13
1.6.2. Tipos de Formas farmacéuticas orales liquidas.....	13
1.6.4. Preformulación de jarabe	16
1.6.5. Estudios de Estabilidad	18
1.6.6. Factores que influyen en la estabilidad de la forma farmacéutica oral	20
1.6.7. Factores que influyen la estabilidad de jarabe	20
1.7. Passiflora tripartita	20
1.7.1. Clasificación taxonómica	21
1.7.2. Descripción de la planta	21
1.7.3. Habitat.....	22
1.7.4. Propiedades terapéuticas	22
1.7.4.1. Flavonoides	23
1.7.4.1.1. Crisina.....	24
1.7.4.2. Alcaloides	24

1.7.4.2.1.	<i>Harmanano</i>	25
1.8.	Dosis efectiva y Toxicidad	26
CAPITULO II		
2.	MARCO METODOLÓGICO	27
2.1.	Recolección del material vegetal	27
2.2.	Identificación botánica	27
2.3.	Lugar de identificación	27
2.4.	Materiales, equipos y Reactivos.	27
2.5.	Procesamiento de la planta	30
2.5.1.	<i>Secado y molienda</i>	30
2.5.2.	<i>Tamizaje fotoquímico</i>	31
2.5.3.	<i>Obtención del extracto hidroalcohólico de Passiflora tripartita</i>	31
2.6.	Control de calidad	32
2.6.1.	<i>Control de calidad de la Passiflora tripartita.</i>	32
2.6.1.1.	<i>Parámetros físicos.</i>	32
2.6.1.2.	<i>Parámetros químicos.</i>	32
2.6.2.	<i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico de Passiflora tripartita.</i>	33
2.6.2.1.	<i>Descripción organoléptica</i>	33
2.6.2.2.	<i>Parámetros Físicos</i>	33
2.6.2.3.	<i>Parámetros Químicos.</i>	33
2.7.	Pre-estabilidad del extracto hidroalcohólico de Passiflora tripartita.	35
2.7.1.	<i>Desarrollo del estudio</i>	35
2.7.2.	<i>Cromatografía en capa delgada:</i>	36
2.7.3.	<i>Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría.</i>	37
2.7.4.	<i>Valoración de pH.</i>	37
2.8.	Preformulación de jarabe con extracto hidroalcohólico de Passiflora tripartita.	37
2.8.1.	<i>Control de calidad</i>	39
2.8.1.1.	<i>Control de calidad de los excipientes utilizados en las preformulaciones de jarabe de extracto hidroalcohólico de Pasiflora tripartita.</i>	39
2.8.1.2.	<i>Control de calidad de las preformulaciones de jarabe de extracto hidroalcohólico de Pasiflora tripartita.</i>	39
2.8.1.2.3.	<i>Parámetros químicos</i>	40
2.8.1.2.4.	<i>Parámetros microbiológicos</i>	40
2.8.2.	<i>Estabilidad acelerada del jarabe de Passiflora tripartita.</i>	41
2.9.	Análisis estadístico	42

CAPITULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	43
	
3.1.	Control de calidad	43
3.1.1.	<i>Control de calidad de la materia prima</i>	43
3.1.2.	<i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico de Passiflora tripartita</i>	44
3.1.2.1.	<i>Determinación de los parámetros organolépticos</i>	44
3.1.2.2.	<i>Determinación de parámetros físicos químicos</i>	45
3.1.2.3.	<i>Tamizaje fitoquímico</i>	45
3.1.2.4.	<i>Cromatografía en capa fina</i>	47
3.1.2.5.	<i>Cuantificación de principios activos</i>	49
3.2.	Control de calidad del jarabe	51
3.3.	Control de calidad de los excipientes	53
3.4.	Estabilidad	55
3.4.1.	<i>Estabilidad del extracto hidroalcohólico de P. tripartita</i>	56
3.4.2.	<i>Estabilidad del jarabe en condiciones de temperatura elevada (45°C)</i>	61
3.4.3.	<i>Control microbiológico</i>	65
	CONCLUSIONES	66
	RECOMENDACIONES	68
	BIBLIOGRAFIA	
	ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Clasificación de los tipos de jarabes.	13
Tabla 2-1:	Programa para la caracterización de una preformulación de un activo.	16
Tabla 1-2:	Formulación del jarabe, cantidades de los componentes y pH.	38
Tabla 1-3:	Resultados del Control de calidad de hojas secas de Passiflora tripartita.	43
Tabla 2-3:	Resultados del Control de calidad de hojas y flores secas de Passiflora tripartita.	44
Tabla 3-3:	Resultados de los parámetros físico Químicos del extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	45
Tabla 4-3:	Tamizaje Fitoquímico de extracto hidroalcohólico de Passiflora tripartita.	45
Tabla 5-3:	Determinación de la concentración de flavonoides (mg de Quercetina) en el extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	49
Tabla 6-3:	Determinación de la concentración de flavonoides (mg de Àcido Gàlico) en el extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	49
Tabla 7-3:	Determinación de la capacidad captadora de radicales libres mediante método de DPPH en el extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	50
Tabla 8-3:	Características organolépticas del jarabe a base de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	51
Tabla 9-3:	Control físico Químico del jarabe a base de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	51
Tabla 10-3:	Control físico Químico del jarabe a base de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	52
Tabla 11-3:	Determinación de la concentración de flavonoides (mg de Quercetina) en el jarabe de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	52
Tabla 12-3:	Control de calidad de los excipientes de metilparabeno, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	53
Tabla 13-3:	Control de calidad de los excipientes, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	54
Tabla 14-3:	Control de calidad de los excipientes, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	54
Tabla 15-3:	Control de calidad de los excipientes, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	55
Tabla 16-3:	Control de calidad de los excipientes, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	55

Tabla 17-3:	Determinación de la concentración de flavonoides (mg de Quercetina) en el jarabe de extracto hidroalcohólico de P. tripartita.	59
Tabla 18-3:	Test de pos- hoc HSD Tunkey al 95% de la concentración de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico del P.tripartita durante 7 días de estudio de estabilidad.....	59
Tabla 19-3:	Determinación de pH del extracto hidroalcohólico de Passiflora tripartita.....	60
Tabla 20-3:	Test de pos- hoc HSD Tunkey al 95% de pH en el extraacto hidroacohòlico de P.tripartita durante los 7 días de estudio de estabilidad.....	60
Tabla 21-3:	Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría de jarabe.....	61
Tabla 22-3:	Test de pos- hoc HSD Tunkey al 95% de la concentración de flavonoides totales en las formulaciones de jarabe durante los 30 días de estudio de estabilidad.....	62
Tabla 23-3:	Determinación de pH del jarabe	63
Tabla 24-3:	Test de pos- hoc HSD Tunkey al 95% de pH en las diferentes formulaciones de jarabe a base del extraacto hidroacohòlico de P.tripartita durante 30 días de estudio de estabilidad.....	63
Tabla 25-3:	Determinación microbiológica del jarabe de extracto de P. tripartita.	65

INDICE DE FIGURAS

Figura 1- 1:	Mecanismo de acción de las benzodiazepinas.	8
Figura 2 -1:	Mecanismo de acción de los barbitúrico.....	8
Figura 3 -1:	Mecanismo de acción de los ansiolíticos	9
Figura 4-1:	Grafico del estudio de estabilidad general de forma farmacéuticas orales. ..	19
Figura 5-1:	Passiflora tripartita. (TAXO)	21
Figura 7-1:	Fórmula molecular de la crisina	24
Figura 9-1:	Fórmula molecular del harmano	25
Figura 1-2:	Esquema de la metodología	30
Figura 2-2:	Mitología experimental para el control de calidad de la planta.....	32
Figura 3-2:	Metodología experimental para el control de calidad del extracto vegetal. ...	33
Figura 1-3:	Cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico de P. tripartita	48
Figura 2-3:	Cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de P. tripartita en Medio oxidativo.....	56
Figura 3-3:	Cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de P. tripartita en Medio alcalino.....	56
Figura 4-3:	Cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de P. tripartita en Medio àcido.....	57
Figura 5-3:	Cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de P. tripartita en Medio de luz natural	57
Figura 6-3:	Efecto de las condiciones extremas en la concentracion de flavonoides en una estabilidad de 7 días.	60
Figura 7-3:	Efecto de las condiciones extremas en la variación de pH en una estabilidad de 7 días.	61
Figura 8-3:	Efecto de las condiciones extremas en la concentracion de flavonoides en una estabilidad de 7 días.	62
Figura 9-3:	Efecto de La variación de pH en una estabilidad de 30 días.....	64

INDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** OBTENCIÓN DEL EXTRACTO FLUIDO DE *P. tripartita*.
- ANEXO B:** DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN *P. tripartita*.
- ANEXO C:** DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES *P. tripartita*.
- ANEXO D:** CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *P. tripartita*.
- ANEXO E:** DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD Y pH DE LOS EXTRACTOS
- ANEXO F:** TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE *P. tripartita*.
- ANEXO G:** ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS
- ANEXO H:** CURVA DE CALIBRACIÓN DE RUTINA PARA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60 Y 100 ppm.
- ANEXO I:** CURVA DE CALIBRACIÓN DE RUTINA PARA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60 Y 100 ppm.
- ANEXO J:** CURVA DE CALIBRACIÓN DE RUTINA PARA RADICALES LIBRES EN CONCENTRACIONES DE 10, 20, 40, 60, 80 Y 100 ppm.
- ANEXO K:** ELABORACIÓN DE JARFABE DE *P. tripartita*.
- ANEXO L:** CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE EXCIPIENTES

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar el extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir, y elaborar un jarabe. Para la evaluación del extracto se realizó un control de calidad y pruebas de estabilidad acelerada específicas para fitofármacos, descritas en (Hossein Ahdno, 2016), la cual reveló que cumple con las especificaciones según la Norma Ecuatoriana para fitofármacos. Los resultados de estabilidad demuestran que las condiciones extremas como temperatura, medios extremadamente ácidos, básicos y oxidativos afectan directamente a la concentración de flavonoides. Mediante técnicas espectrofotométricas se determinó la cantidad de flavonoides y fenoles totales del extracto. La evaluación de la capacidad captadora de radicales libres se basó en el método propuesto por Brand-Williams. Mientras que en la elaboración del jarabe a pH 4, 5 y 6 se utilizó el método en frío en el cual se incorporó el extracto vegetal en un volumen de 8.9mL por cada 5 mL de jarabe a una concentración de flavonoides totales de 23.56 mgQ/ML, los resultados organolépticos determinan que cumple con las características de calidad establecidos por la USP 30. A las formulaciones de jarabe se realizó una estabilidad forzada a una temperatura mayor a 45°C, en la cual se evaluó la concentración de flavonoides totales, pH y características organolépticas. El resultado de flavonoides totales determinó una concentración de 22.48 mgQ/mL. El pH empleado en las formulaciones se mantuvo durante los 30 días de ensayo. Dichos resultados demuestran que la mejor formulación de jarabe es la que mantiene un pH 5, ya que su concentración de flavonoides se conserva y la temperatura no genera alteración en su estructura química al igual que los excipientes mantiene una buena homogeneidad y disolución en la mezcla. Se recomienda realizar estudios de estabilidad a largo plazo y determinar su actividad terapéutica in vivo del jarabe.

PALABRAS CLAVE:

<BIOQUÍMICA>, <FITOQUÍMICA>, <TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA>, <TAXO (*Passiflora tripartita*)>, <ANSIEDAD>, <FLAVONOIDES>, <EXCIPIENTES>, <PRE FPRMULACIÓN>.

SUMMARY

The objective of this research was to evaluate the hydroalcoholic extract of *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir, and to elaborate a syrup. A specific quality control and accelerated stability test for phytopharmaceuticals, described in (Hossein Ahdno, 2016) which revealed that it complies with the specifications according to the Ecuadorian Standard for phytopharmaceuticals. Stability results demonstrate that extreme conditions such as temperature, extremely acidic, basic and oxidative media directly affect the concentration of flavonoids. By means of spectrophotometric techniques the amount of total flavonoids and phenols of the extract was determined. The evaluation of free radical scavenging capacity was based on the method proposed by Brand-Williams. While in the preparation of the syrup at pH 4, 5 and 6 the cold method was used in which the vegetable extract was incorporated in a volume of 8.9mL per 5 mL of syrup at a concentration of total flavonoids of 23.56 mg / mL, the organoleptic results determine that it complies with the quality characteristics established by the USP 30. To the syrup formulations, a forced stability was performed at a temperature above 45°C, in which the concentration of total flavonoids, pH and organoleptic characteristics. The total flavonoid result determined a concentration of 22.48 mgQ / mL. The pH used in the formulations was maintained during the 30-day test. These results demonstrate that the best formulation of syrup is the one that maintains a pH 5, since its concentration of flavonoids is conserved and the temperature does not generate alteration in its chemical structure just as the excipients maintains a good homogeneity and dissolution in the mixture. Long-term stability studies and the therapeutic activity of syrup are recommended.

KEY WORDS: <BIOCHEMISTRY>, < PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY>, <TAXO (*Passiflora tripartita*)>, <ANXIETY>, <FLAVONOIDS>, <EXCIPIENTS>, <PRE-FORMULATION >.

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad la industria farmacéutica se ha basado en conocimientos de medicina tradicional para realizar la síntesis y elaboración de diversos fármacos que han sido utilizados con fines terapéuticos específicos, como forma de alcanzar mejoría en distintas enfermedades, la mayoría de productos tienen origen vegetal, mineral, animal y el proceso de verificación científica de estas tradiciones continúa hasta la actualidad. (Cordoba, 2015, p 7) (Agapito, 2010, p 54).

Se sabe también que se ha ido descubriendo constantemente nuevas aplicaciones y usos de fármacos, muchos de estos han sido elaborados actualmente de manera sintética ya que se realizan réplicas sintéticas o se aíslan los principios activos de vegetales tradicionales conocidos incluso desde épocas prehistóricas, esto se ha ido realizando para producir en cantidades representativas a nivel Farmacéutico y generar mayor producción de medicamentos a menor costo. (Lema, 2013, pp. 34-35).

Las plantas medicinales hoy en día juegan un papel fundamental en el hombre, por ser las principales fuentes de salud, alimentación, economía y desarrollo de diversos pueblos.

Con los grandes avances de la tecnología farmacéutica que ha evolucionado año tras año se pueden elaborar fitofármacos eficaces, estandarizados y seguros para el consumo del hombre en beneficio de mejorar su salud, ya que estos tienen su respectivo control de calidad, además el resumir una planta en un fitofármaco ayudado a disminuir la utilización empírica de las plantas medicinales.

Por otra parte el uso las medicinas tradicionales, complementarias y alternativas siguen estando muy poco reglamentadas. Por esa razón, es necesario que los consumidores de todo el mundo dispongan de información e instrumentos que les permitan acceder a tratamientos adecuados, seguros y eficaces.

Uno de los principales problemas de salud que se han visto en los últimos tiempos es la Salud Mental, siendo la ansiedad un tipo de trastorno mental que junto con la depresión se han convertido en las enfermedades del milenio, esto se debe al estilo de vida que llevan gran parte de la población, a esto se suma problemas familiares, sociales, personales, políticos y económicos que en conjunto con el estrés se han convertido en un problema de salud intratable, ya que el uso de fármacos no ayuda a llevar este problema de salud. (CAÑIGUERAL, 2013, pp. 13-16)

La organización mundial de la salud en el año del 2015 afirma que apenas un 20 % de la población actual opta por el consumo de medicamentos naturales para este problema de salud, por que afirman que los fármacos comunes usados en problemas de ansiedad solamente han generado dependencia y complicaciones mayores, mientras que el 80 % restante aun acude a los ansiolíticos químicos en esperanza de una pronta recuperación. (BAGOZZI, 2016, pp. 22, 23)

Una de las medicinas alternativas para problemas de ansiedad y depresión es la fitoterapia basada en los conocimientos de la farmacología, farmacodinamia y farmacocinética de las plantas. A pesar que la medicina Natural ha sido muy poco estudiada a profundidad, varios estudios han demostrado que diversas especies de *Passiflora* tiene efectos farmacológicos que ayudan al tratamiento de problemas mentales como es la ansiedad y depresión. (ASADUJAMAN *et al.*, 2014 pp 121,122).

Varias especies de *Passiflora* son conocidas por sus aplicaciones terapéuticas, entre ellas *Passiflora tripartita* es una especie poco estudiada pero con gran potencialidad en problemas de ansiedad; al realizar un fitomedicamento a base de esta *Passiflora*, se pretende aprovecha su contenido de alcaloides y flavonoides, responsables del efecto terapéutico.

Diversos estudios científicos han demostrado que *Passiflora tripartita* posee efectos ansiolíticos por tener determinados alcaloides y flavonoides que actúan en receptores a nivel del sistema nervioso.(SHANMUGAMA, S, T.*et al.*, 2016 pp. 1278-1279).

Estudios realizados por (Chisholm *et al.*, 2016 pp 415-422) de *Passifloras* determinaron la presencia de compuestos bioactivos como quercetina (22, 36 mg g de extracto) y apigenina (21,26 mg/g de extracto) en cantidades más alta y trazas de ácido gálico y catequina. Compuestos que pueden actuar como potentes antioxidantes, antiinflamatorio y analgésicos.(Zucolotto. S; *et al.*, 2016, pp 452, 453)

Estudios realizados en el 2012 indican que los fármacos antidepresivos de origen químico en el tratamiento de ansiedad causan una leve toxicidad a nivel hepático y cerebral, es por ello que se han sustituido por medicina natural y ansiolíticos menos tóxicos como las benzodiazepinas, estos hechos dan la relevancia al farmacéutico como parte del equipo de salud y conocedor de la ciencia botánica para desarrollar un fitofármaco a base de extractos de *Passifloras*. (Pérez. R, 2004, p. 23)

Tomando en cuenta estos problemas provocados por los ansiolíticos de origen sintético, la fitoterapia toma como objetivo principal aportar diferentes preparados manufacturados de calidad a partir de plantas medicinales que, debido a los principios activos que contienen, son de

interés en el tratamiento de la ansiedad produciendo menos efectos secundarios y una eficacia moderada comparada con los fármacos químicos. (Falcón, 2012, p. 76)

Ya que *P. tripartita* se encuentra en gran parte del Ecuador, presenta mayor interés para la industria fitofarmacéutica, puesto que su aprovechamiento dependerá de la selección de la parte de la planta para que se conozcan sus características en cuanto a sus propiedades físico-químicas y así pueda ser evaluada farmacológicamente de mejor forma. (Álvaro. E, 2005, pp 13-23).

Las formas farmacéuticas orales reside su importancia en la eficacia del medicamento, como es el caso de fitofármacos, que en el transcurso del tiempo se ha elaborado gran variedad y se busca tener una mayor efectividad ya sea mediante una liberación lenta o mayor eficiencia en un tejido blando, además estudios realizados determinan que el principal objetivo de estos fitofármacos es evitar daños en el ser humano, estos daños se pueden generar por diversos factores como interacciones químicas, sustancias insolubles etc.(Gutiérrez. CH; Jaime. M, 2014 p 592).

Según (Branda *et al.*, 2013, p 17) establece que la mayoría de medicamentos de plantas Naturales tienen sabores desagradables, es por ello que la industria farmacéutica busca mejorar tanto el sabor y aspecto en fitomedicamentos, para lograr una aceptación en el mercado.

La elaboración de fitomedicamentos trasciende en la historia farmacéutica y su principal objetivo es mejorar la forma de dosificación determinada para extractos de plantas, ya que al consumir un extracto puro se ha evidenciado que genera problemas como intoxicaciones o falta de efectividad en el tratamiento así como también un consumo no racionalizado ha llevado a generar otros problemas de salud relacionados. (Dolt *et al.*, 2017, p 6-7)

Esta investigación se llevó a cabo con el objetivo de formular un jarabe a base del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita* que según bibliografía se ha comprado su efecto sedante-relajante, otorgando beneficios de no generar dependencia a fármacos químicos y disminuir los RAM (reacciones adversas a medicamentos). Mediante el control de calidad, clasificación botánica, análisis fotoquímicos y cuantificación del activo presente en el extracto de planta con procesos cromatógrafos y espectroscópicos, se determina la mejor formulación y dosis efectiva que según trabajos anteriores de investigación han demostrado que en dosis mínima no genera toxicidad, pero puede genera interacciones si el consumo es repetitivo y en tiempos largos.

Una de las principales ventajas de pre formular un jarabe de esta especie es dosificar con facilidad, tener buena aceptación por niños y adultos, sabor agradable, mayor biodisponibilidad que las formas sólidas. Sin embargo, requiere una garantía de calidad en su extracto o droga

vegetal ya que sus activos pueden verse afectados por el medio de extracción y exposición al medio externo, así como también puede genera perdida de activo al combinar con los diversos excipientes del jarabe. (Canales. P, 2009, p75) (Orellana. I, 2011, p 18)

La metodología utilizada para el desarrollo de esta investigación es de tipo experimental, el estudio de la parte fotoquímica y farmacología se resume en la tecnología farmacéutica, dentro de la metodología usada para la pre formulación de jarabe, es netamente experimental, por llevar un control sobre variables dependientes en cada proceso, siendo la más importante la cuantificación de activos y combinación adecuada de excipientes. (Acosta.P., 2002, pp. 13-30).

Para la extracción de principios activos de las plantas (alcaloides y flavonoides) se realiza mediante percolación, obteniendo un extracto de calidad y cumpliendo los parámetros de seguridad y efectividad para el uso de materia prima en el jarabe.(Guerra. A, 2011, p 51).

Por último, cabe mencionar que la importancia de este tipo de investigación no solo radica en la aportación de conocimiento científico, sino que a la vez permite promover el uso de plantas medicinales de una manera eficaz en beneficio de la salud ecuatoriana enmarcadas en los lineamientos de Buen Vivir, además de continuar con la línea de investigación en productos naturales nos ayuda a reforzar y unificar trabajos de investigación anteriores, para así poder enmarcarse en una sola línea de investigación.

Los resultados de esta investigación tienen como finalidad determinar cuál es la formulación idónea para la elaboración de jarabe y los factores que pueden influir en su preparación, para de esa manera dar un valor agregado a la producción de dichas *passiflora*, además de brindar una alternativa como fitofármaco para tratamientos de ansiedad de manera que sea de fácil dosificación y mayor efectividad.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Salud mental

Se define salud mental al completo bienestar psicológico y emocional del individuo, se dice que el individuo es consciente de todas las actividades que realiza, así como de sus estados de tensión que surgen, dando así un bienestar laboral, social y familiar para llevar un estilo de vida cotidiana y fructífera. (INEC, 2009, PP. 126-128)

Según la constitución de la OMS define la salud mental como << el completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades>>. (Paredes, 2005, p.12)

En Ecuador la salud mental tiene sus inicios desde 1995 con la creación del plan en salud mental, sin embargo no existe hasta la actualidad una ley de salud mental vigente, lo que ha hecho difícil la ejecución de planes y estrategias para su tratamiento y diagnóstico de las diversas patologías, además en el Plan Nacional del Buen Vivir la última versión de 1999 data que el presupuesto económico para este problema de salud es mínimo. (OPS, 2005, p.76)

1.2. Ansiedad y depresión

La ansiedad y depresión son reacciones que genera el SNC ante eventos externos o internos. Si el individuo se expone a situaciones de amenaza o peligro reacciona de forma inmediata el sistema de alerta para dar respuesta (la ansiedad), si el individuo sufre pérdidas irreparables de algún ser querido o se siente menospreciado en su medio, se activa el sistema de conservación de energía para dar respuesta a esta reacción. (Dold et al., 2017 Pág 45)

Se entiende por ansiedad al mecanismo defensivo ya que se genera una respuesta de alerta ante situaciones de amenaza, es considerado un mecanismo normal en todos los seres humanos porque sirve para adaptarse al medio y la manera de superar exigencias de la vida. En este sentido podemos considerar a la ansiedad como una defensa organizada frente a estímulos que rompen el equilibrio fisiológico y psicológico (COMERCIO, 2015).

En la actualidad la ansiedad y la depresión es una de los problemas y afecciones más comunes entre humanos, y la mayoría de personas lo sufrimos o nos vemos afectados por dicha condición en alguna época de la vida. Los trastornos de ansiedad constituyen las enfermedades psiquiátricas más frecuentes en el entorno socio-cultural y representan aquellas afecciones más atendidas por médicos generales.(IESM-OMS, 2008.,p. 77)

Como una manera de respuesta normal ante el temor y otros estímulos que suponen una condición de amenaza, la ansiedad tiene diversos componentes; entre los más importantes se puede mencionar los reflejos autónomos, comportamientos defensivos y pesimistas, estado de alerta, emociones negativas y secreción de glucocorticoides. (IESM-OMS, 2008, p. 79)(Hellem, 2016, p. 456)

1.2.1. Tipo de ansiedad

Para conocer el tipo de ansiedad se debe considerar el tipo de fármaco que consume el paciente, por motivo que existe diferencia de latencia para la aparición del efecto, tiempo de vida media y efecto adversos del paciente. (Whathiem, 2004, p. 13-14)

Se distinguen 6 tipos de ansiedad.

1. Ansiedad generalizada.- este tipo de trastorno de ansiedad es muy común en personas que llevan una vida cotidiana muy tensa, llena de preocupa excesivas.
2. Ansiedad por estrés.- el principal causal de este tipo de ansiedad es el estrés, ya que existen varios factores que generan un estrés temporal en la persona, este se puede dar por acciones momentáneas de recuerdos, preocupaciones, problemas familiares o personales. El estrés severo puede generar problemas de ansiedad severos.
3. Crisis de pánico.- este trastorno se genera por la aparición de crisis repentinas de pánico, generando un miedo intenso acompañada de taquicardia, bradicardia y amnesia temporal, esto puede generar una pedida de control. aunque estos ataques de pánico suelen durar no más de 10 minutos, sus consecuencias pueden ser graves.
4. Fobias sociales.- este trastorno está relacionado con el miedo intenso, crónico y persistente al público o al medio externo, genera inseguridad personal por lo que las personas que sufren este tipo de trastorno les cuesta relacionarse con el público, hacer amistades etc.

5. Alteraciones médicas.- es un problema psicológico, esto se debe a que las personas tienen a un consumo irracional de medicamentos por cualquier presencia leve de dolor o molestia que se presente, generando un problema de ansiedad a la falta de consumo de medicamentos ya que han generado una dependencia en su organismo, el consumo de medicamentos de manera frecuente puede deberse a varias enfermedades como hipoglicemias, enfermedades neurológicas, endocrinas y problemas de alcoholismo y drogas.
6. Síntomas de ansiedad causados por una enfermedad mental. Este tipo de trastorno va acompañado de varios síntomas de un trastorno mental, que puede ser la depresión, TOC, demencia, estrés, esquizofrenia etc. (CORDOBA, 2015) (Bond et al., 2016, p. 2)

1.2.2. Tratamiento para ansiedad

El tratamiento farmacológico de los trastornos de ansiedad tiene como objetivo aliviar los síntomas, prevenir las recaídas y evitar las secuelas, con la mayor tolerabilidad posible hacia la medicación. (Rojas, 2005, pp. 75-78). Estudios demuestran que dentro del grupo farmacológico de los ansiolíticos, los fármacos más utilizados son los barbitúricos y las benzodiazepinas. (Hellem, 2016, pp. 3-5)

1.2.2.1. Benzodiazepinas

Para el tratamiento de la ansiedad se escoge en dependencia del tipo de ansiedad, siendo las más utilizadas las benzodiazepinas con sus abreviaturas BDZ, según bibliografía este grupo farmacológico tiene sus inicios en 1960 ya que tiene su acción en el Sistema Nervioso Central. (He et al., 2016, pp. 74-85)

Mecanismo de acción

Existe una modulación alostérica a nivel del receptor GABA con aumento de la frecuencia de apertura del canal de Cl. (Cuesta, 2013, p. 32)

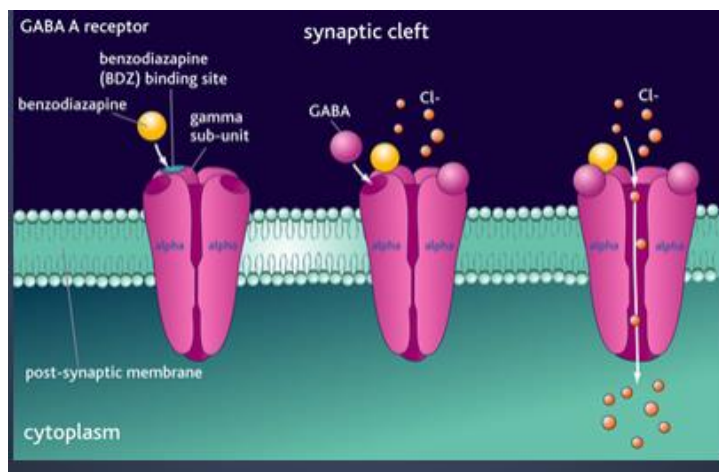


Figura 1-1: Mecanismo de acción de las benzodiazepinas.
Fuente: (Gutiérrez, 2014)

1.2.2.2. Barbitúricos

Los barbitúricos se han utilizados tradicionalmente como hipnóticos, sedantes, antiepilépticos y anestésicos. Actualmente su uso exclusivo ha sido únicamente como anestésico y en tratamientos para el tratamiento de la epilepsia.

Este tipo de fármacos se comportan también como agonistas de los receptores GABA-A, su lugar de fijación no es el mismo que el de las benzodiazepinas, pero cumplen funciones semejantes a las benzodiazepinas ya que su efecto es más intenso y menos selectivo que el de las benzodiazepinas, este efecto no se debe únicamente a sus diferencias de acción a nivel gabérgico sino a que actúan a diferentes niveles en el receptor, como es antagonizando el efecto excitador del ácido glutámico y, en concentraciones más elevadas, interfiriendo el transporte de Ca^{++} , Na^{+} y K^{+} a través de la membrana neuronal. (Cuesta, 2013 p. 35) (Liu et al., 2015, pp. 41-49)

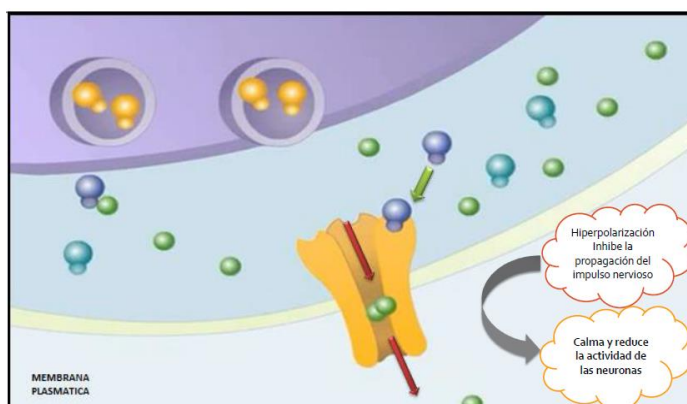


Figura 2 -1 mecanismo de acción de los barbitúricos
Fuente: (Gutiérrez, 2014)

1.2.3. Mecanismo de acción de ansiolíticos

El mecanismo de acción general de fármacos usados para problemas ansiolíticos como se indica en la figura N°3-1.

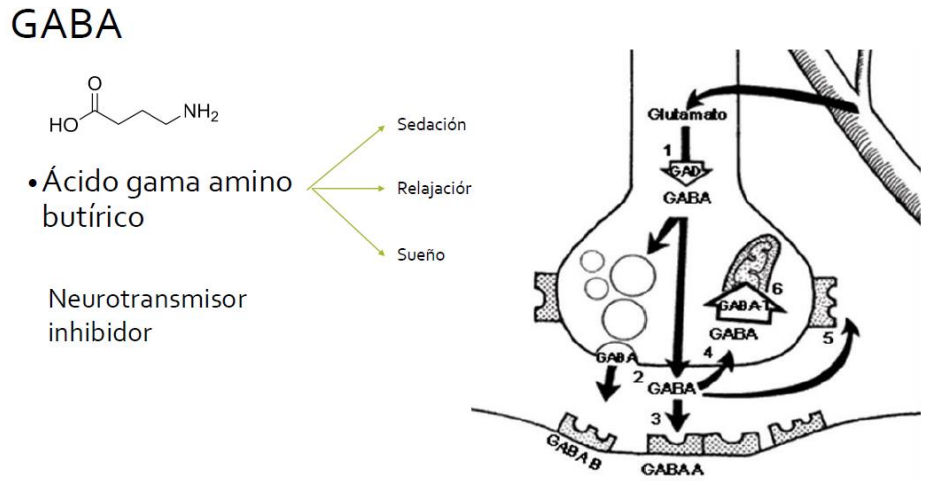


Figura: 3 -1: mecanismo de acción de los ansiolíticos
Fuente: (Andressa et al., 2015)

El ácido gamma-aminobutírico (GABA) es el neurotransmisor inhibitorio más importante del sistema nervioso central (SNC). Los fármacos ansiolíticos actúan sobre receptores específicos denominados GABA A, B y C. (Liu et al., 2015, p 42,43)

El GABA A, situado a nivel postsináptico, es un receptor ionotrópico ya que contiene un canal de cloro conformado por 5 subunidades. Si bien existen múltiples combinaciones posibles de estas subunidades, la más frecuente es 2 a- 2b-1g. Al unirse el GABA a su sitio de acción específico se produce la apertura de dicho canal, con la consiguiente entrada de cloro a la célula e hiperpolarización de la misma, dando como resultado un efecto inhibitorio. Además es un complejo macromolecular conformado por sitios de unión específicos para varios ligandos: su agonista GABA, y moduladores alostéricos tales como benzodiazepinas, barbitúricos y esteroides. (Barreto et al., 2003, p. 345-389) (Cuesta, 2013, p. 54)

1.2.4. Efectos adversos.

La OMS considera como efecto adverso a cualquier respuesta nociva o no intencionada del cuerpo a un fármaco que generalmente se produce a dosis adecuadas para el tratamiento diagnóstico o profilaxis de laguna enfermedad o trastorno. Las reacciones de medicamento se presentan en todos los pacientes, unas con mayor intensidad que otras pero en algunos casos son

más evidentes ya que generan problemas que agravan el estado de salud de paciente. Todos los medicamentos tienen efectos secundarios debido a su forma de trabajar, en especial los ansiolíticos generan erupciones, picazón, náuseas, vómitos, diarrea (o en ocasiones estreñimiento), letargo, dolores de cabeza y visión borrosa. etc. (Aguilando, 2009)

Los fármacos interactúan de alguna manera con otros, por ello algunas interacciones pueden llegar a ser muy graves, la mayoría de las reacciones adversas de estos fármacos dependen de su acción terapéutica principal, es por ello que en los niños, así como los pacientes con afectación del SNC (retraso mental, lesiones cerebrales, etc.) están preferentemente expuestos a manifestar reacciones de excitabilidad paradójica, esto se debe a que la reducción en el nivel de alerta y/o ansiedad ayuda a la liberación de conductas agresivas.

En algunos pacientes estas reacciones son letales que llevan a la aparición de un estado de coma, esto puede parecer únicamente cuando el paciente ha sido sometido a una dosis elevadas de benzodiazepinas y/o barbitúricos, sin embargo se puede optar por un tratamiento semejante para su recuperación como flumazenil, que es un antagonista competitivo de los receptores omega a pesar de que tiene un efecto de breve duración. (Pinduisaca, 2016, pp. 56-59)

Otro de los efectos adversos que generan el consumo de benzodiazepinas es la ansiedad diurna, así como el insomnio de rebote, este problema suele ocurrir tras una dosis mínima o máxima de benzodiazepinas, que en la actualidad es considerado como un mini síndrome de abstinencia a las mismas y se produce con mayor frecuencia después de la administración de un inicio de tratamiento con benzodiazepinas. (Basantes, 2009, pp. 76-98)

1.3. Medicinal tradicional

La medicina tradicional se entiende como un conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basadas en teoría, creencia y experiencia ancestral, que han sido utilizados con el fin de generar bienestar, alivio y tranquilidad al paciente, además que ayuda a prevenir, diagnosticar y mejorar diversos tratamientos de enfermedades físicas o mentales.

La medicina tradicional es aquella que utiliza únicamente plantas o partes de ella, su uso puede ser de manera natural directa o en forma natural indirecta, es decir que requiere una previa preparación, con el propósito de curar, aliviar o prevenir diversas enfermedades. (Paredes, 2005, p. 34)

Según la OMS, Organización Mundial de la Salud define a la Fitomedicina como aquella que utiliza principios activos de plantas y vegetales con fines medicinales, sustentados en el conocimiento científico actual base al actual en farmacodinamia, farmacología, farmacocinética, estudios preclínicos; estos son divulgados mediante comunidades científicas. (OPS, 2005)

1.4. Fitofármacos

Se entiende por fitofármacos a las combinación de algunos excipientes más extracto estandarizado de una o varias plantas que además fue obtenido de alguna parte de la planta mediante un procedimiento estandarizado y tiene acción medicinal el mismo que podrá ser utilizado en terapéutica. (Estrada, 2014, pp. 23-54)

1.5. Beneficios del consumo de extractos de pasiflora

Estudios demuestran que las hojas y flores de gulupa (*P. edulis* Sims) son usadas en la preparación de infusiones para los nervios y el sueño; Rodríguez. (2008) reportan que el compuesto passiflorina contiene un ingrediente activo nombrado apigenina, este tipo de metabolito se une a los receptores de benzodicepinas centrales (RBZDs) a nivel del GABA para producir efectos ansiolíticos, con un beneficio de no alterar la memoria o habilidades motoras. Demuestra también que el resultado fitoquímico que presentan las passiflorinas es altamente positivo para flavonoides, alcaloides y compuestos fenólicos en extractos de hojas y flores. (He et al., 2016, p. 82)

Uno de los más importantes beneficios de las Passifloracea, demuestran que se ha utilizado en la medicina popular tradicional brasileña para el tratamiento de la ansiedad y el insomnio (Espinal et al, 2016, p. 38). Además las especies con alto contenido de flavonoides demuestran eficacia en el tratamiento de los síntomas de la diarrea, efecto relacionado con el flavonoide quercetina. Las flores de gulupa son altamente positivas en flavonoides, lo cual las hace factibles para la elaboración de productos de uso medicinal para el control la diarrea (Sousa et al. 2008).

Varias especies del género *Passiflora* están distribuidas por toda América del Sur, y muchas de estas especies se usan en la medicina popular, principalmente como sedantes y tranquilizantes. Este estudio analiza el perfil químico de los extractos de cuatro especies de *Passiflora* utilizadas en la medicina popular, centrándose en los flavonoides, alcaloides y saponinas. (Woscha, et al. 2016, pp. 78. 85)

Otras de las propiedades atribuida tradicionalmente como afrodisíaco y para incrementar la fertilidad, es utilizada también para reducción de los efectos del estrés y la fatiga; aun cuando los mecanismos no han sido dilucidados, se ha propuesto que la maca es un adaptógeno, aumenta la energía, la resistencia y reduce el estrés` (Zucolottovet al, 2015, p. 341-349)

Trabajos de tesis realizadas en la ESPOCH en 2016, determinan que las Pasifloras tripartita y mixta, tiene efecto sedante y relajante al ser administrada en ratas, actividad que fue comprobada a distintas concentraciones, demostrando así que la dosis efectiva fue del 25mg, de extracto seco por kg peso. (Pinduisaca, 2016, pp. 54-61)

El estudio y desarrollo de extractos de las plantas medicinales requiere de equipos multidisciplinarios y debe ser abordado como una cadena productiva, empezando con la investigación y siguiendo con producción, transformación y mercadeo, involucrando al Estado y a las instituciones públicas y privadas que deben actuar coordinadamente.(Modesti, 2015, pp. 321-324)

1.6. Formas farmacéuticas orales

Las formas farmacéuticas líquidas orales son disoluciones, emulsiones o suspensiones que normalmente contienen uno o más principios activos en un vehículo apropiado; sin embargo, pueden estar constituidas por principios activos líquidos o solidos que se utilizan la para su elaboración.(Ferrari, 2010, p.67)

Varias preparaciones para uso oral son elaboradas por deferentes mecanismos como; dilución de preparaciones líquidas concentradas, disoluciones o suspensiones orales a partir de polvos o granulados, otras preparaciones son gotas o jarabes para uso oral, usando un vehículo apropiado para cada preparación. Para la elección del vehículo empleado en las preparaciones para uso oral se toma en cuenta la naturaleza del principio o principios activos de esa manera se proporcionar características organolépticas apropiadas para el uso al que se destina la preparación. (Ferrari, 2010, p.67)

De acuerdo a la Farmacopea Europea, Las preparaciones líquidas para uso oral pueden contener conservantes antimicrobianos apropiados, antioxidantes y otros excipientes, como agentes dispersantes, de suspensión, espesantes, emulsionantes, tampones, humectantes, solubilizantes, estabilizantes, aromatizantes, edulcorantes y colorantes autorizados, en cantidades determinadas. (Europa, 1994, p. 1567)

Las formas farmacéuticas líquidas orales debe ser la más inocua, cómoda y económica, también la absorción es por métodos pasivos facilitando la absorción de ácidos débiles, optima en el medio ácido del estómago, en cuanto a los álcalis son más intensos en el medio parcialmente alcalino del intestino delgado, entre sus desventajas esta la incapacidad de que se absorban algunos fármacos por su variedad de polaridad, este problema puede generar vómito por irritación de la mucosa gastrointestinal, destrucción por enzimas digestivas o por el pH gástrico, irregularidades en la absorción o propulsión en presencia de alimentos. (Europa, 1994, p. 1567)

1.6.1. Jarabe

Es una forma farmacéutica líquida, se caracteriza por tener una consistencia viscosa, constituida por una solución concentrada de azúcar en agua destilada o líquidos diversos, (85%P/V o 65%P/V), con una densidad de 1,32 g/ml. Según la Farmacopea Argentina, Son soluciones orales de concentraciones altas de sacarosa u otros azúcares, además puede contener preparaciones líquidas con un vehículo dulce y viscoso, más un activo que al combinar constituyen un jarabe.

El principal componente de un jarabe es el edulcorante este puede ser sacarosa y otros azúcares, ciertos polialcoholes como el sorbitol o la glicerina puede estar presente en las soluciones orales para inhibir la cristalización y modificar la solubilidad, el gusto, la palatabilidad y otras propiedades del vehículo. Además contienen conservantes para impedir el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos.

En diversas formas farmacéuticas orales se h optado por la utilización de edulcorantes sintéticos, por ende se requiere de un viscosante que ayuda a dar las características ideales del jarabe, tales soluciones dulces viscosas, sin azúcares, son ocasionalmente preparadas como vehículos para la administración de los principios activos a los pacientes diabéticos. (Aguilando, 2009, p. 87)

1.6.2. Tipos de Formas farmacéuticas orales líquidas

Tabla: 1-1: Clasificación de los tipos de jarabes.

Jarabes	Composición cuantitativa	ventajas	Desventajas
Simple	Sacarosa/agua 65%p/p – 85%p/v Densidad: 1.32 g/ml	Económico. No conservante. No edulcorante.	No diabéticos. Baja estabilidad. Difícil elaboración.
Azúcar invertido	Glucosa/fructuosa equimolecular Densidad: 1.34 g/ml	Poder edulcorante. Fácil elaboración.	No diabéticos. Baja estabilidad. Si conservante.
Fructuosa	Fructuosa/agua (a/a)	Poder edulcorante. Económico. Fácil elaboración.	No diabéticos. Baja estabilidad. Si conservante.
Glucosa	Glucosa/agua (a/a)	Económico. Evita cristalización. Fácil elaboración.	No diabéticos. Baja estabilidad, poder edulcorante. Si conservante.
Sorbitol	Sorbitol 70% y agua (uso menor al 50% p/v)	Si diabéticos. Fácil elaboración.	Si conservante.
Industrial	CMC 1.% (baja viscosidad) Sacarina Ciclamato sodico Conservante colorante, aromatizante.	Si diabéticos. Alta estabilidad.	Difícil elaboración. Si conservante, edulcorante, aromatizante, colorante. No económico.

Fuente: (Ferrari, 2010)

Jarabe simple.- es aquel que se utiliza agua destilada como único vehículo para disolver la sacarosa, el jarabe resultante se llama jarabe simple.

Jarabe medicado.- es una preparación acuosa que contiene uno o más sustancias medicinales agregadas.

Jarabe aromático.- se denomina al jarabe no medicado pero que contiene diversas sustancias aromáticas o de sabor agradable, se utilizarse como vehículo o agente aromatizante en algunas prescripciones médicas, como es el caso del jarabe de goma arábica, cereza, cacao y naranja.

Características generales de jarabes.

Los jarabes deben ser;

- límpidos,
- transparentes,

- dulzor
- color, olor y sabor depende de las sustancias medicinales incorporadas.

Las características físicas son;

- la densidad,
- punto de ebullición
- viscosidad (Ferrari, 2010, p. 56)

1.6.3. Composición química.

Componentes generales de los jarabes.

- Sacarosa
- Principios activos
- Conservadores
- Colorantes
- Agua purificada
- Codisolventes
- Saborizantes

Sacarosa.- actúa como edulcorante en una solución, además le confiere un aumento de la presión osmótica que impide el desarrollo fúngico y bacteriano ya que cumple con la función de sustraer de los microorganismos por ósmosis el agua que ellos necesitan para su desarrollo.

Principios activos.- Son las sustancias o drogas principales cuya función es dar un efecto terapéutico otorgándole una característica única a cada tipo de medicamento.

Preservantes.- es la principal Sustancias que a determinada concentración actúa evitando la proliferación de microorganismos en las diferentes formas farmacéuticas

Colorantes.- son aquellos compuestos que tienen como finalidad impartir color a la preparación para una mejorar sus características organolépticas.

Vehículo.- como principal vehículo son los líquidos destinados a la solubilización o dispersión de partículas sólidas facilitando así la administración del medicamento.

Codisolvente.- es aquel que ayuda a formar una mezcla homogénea de compuestos y así poder incorporar la mezcla o el activo en un jarabe.

Edulcorantes o saborizantes.- Son sustancias destinadas a enmascarar sabores desagradables en los preparados farmacéuticos.

Factores a tomar en cuenta para la elección del sabor para jarabes

Para poder seleccionar un determinado sabor para una forma farmacéutica se debe tomar en cuenta su sabor original o natural del activo y excipientes y en cuanto a estas características de sabores naturales se puede clasificar 4 tipos de sabores que ayudan a disimular su sabor natural.

- Sabor salado: El jarabe de canela es el mejor vehículo para el cloruro amónico y otras drogas saladas, como el salicilato sódico y el citrato férrico amónico, según H. N. Wright. Además se puede usar sabor de naranja, cítricos, cerezas, cacao, cerezo silvestre, frambuesa.
- Sabor amargo: Wright observó que el jarabe de cacao es el mejor vehículo para disimular el sabor amargo; después vienen los siguientes, frambuesa, cacao preparado, cerezas, de canela, de zarzaparrilla compuesto.
- Sabor acre o ácido: El jarabe de frambuesa y de otras frutas es particularmente eficaz para disimular el sabor de drogas ácidas. Mientras que para disimular el sabor acre de sustancias como cápsicum, ayudan sabores cítricos
- Sabor Aceitoso: Se puede disimular el mal sabor del aceite de ricino con un volumen igual de jarabe aromático de ruibarbo, o con jarabe de zarzaparrilla compuesto, y emulsionando la mezcla con un fino chorro de agua de soda. Además son útiles las combinaciones de limón, naranja, almendra, cilantro, geranio, cardamomo y anís. (Vargas et al., 2009, pp. 67-69)

1.6.4. Pre formulación de jarabe

Para una preformulación de una forma farmacéutica se involucra la aplicación de los principios biofarmacéuticos y los parámetros fisicoquímicos de las sustancias activas donde son caracterizadas a partir de un objetivo, diseñado, sistematizado como óptimo para su función en el organismo. Una vez de haber iniciado los programas de preformulación se debe considerar:

- la concentración del fármaco a evaluar.
- las condiciones fisicoquímicas del fármaco.
- su clasificación terapéutica y la dosis anticipada del fármaco
- integración completa de la información de la formulación. (Vargas, 2009, pp. 12-45)

Tabla: 2-1: programa para la caracterización de una pre formulación de un activo.

Prueba	Método /función / caracterización
Espectrofotometría UV	Ensayo sencillo
Solubilidad Acuosa pKa Sales Solventes Kw	Fase de solubilidad/Pureza Intrínseca y pH efectos Control de la solubilidad, Formación de sales Solubilidad, higroscopicidad y estabilidad Vehículos y extracción Lipofilicidad, estructuras activas
Punto de fusión	DSC , polimorfismo hidratos y solvatos
Ensayo desarrollados	UV,HPLC y TLC
Estabilidad En solución y en estado sólido Derivados	Térmica, hidrólisis,pH, oxidación, fotólisis y iones metálicos
Microscopia	Tamaño de partícula y morfología
Densidad granel Propiedades de flujo	Formulación de tableta y capsulas
Propiedades de compresión	Adición y elección de excipientes
Compatibilidad de excipientes	Con estudios preliminares de DSC confirmación por TLC

Fuente: (Ferrari, 2010)

1.6.4.1. Factores que debe tomar en cuenta para la pre formulación

Para realizar una pre formulación de una forma farmacéutica el principal factor a tomar en cuenta es el activo, es por ello que si el fármaco es nuevo se debe validar inicialmente y realizar datos clínicos de biodisponibilidad, seguidamente se debe realizar los estudios biológicos y clínicos de una sustancia activa, se deben respetar sus características químicas, terapéuticas y las dosis preliminares.

Es importante también que el formulador tenga conocimiento de las propiedades de estabilidad a la luz, humedad, solubilidad, de excipiente, principios activos (análisis termal o métodos de estabilidad acelerada). (Wholton, 1956, p. 123).

Se deben tomar en cuenta los datos de solubilidad intrínseca de la fase sólida como factor primordial y la constante de disociación o pka, el pH en solución, así como también la dispersión agua y solventes.

Todo fármaco deben cumplir con la solubilidad, el pH del intestino es de 6.5 a 8 .0. En general una base débil mostrara una mayor solubilidad a valores bajos de pH y baja solubilidad a altos valores de pH, y para elegir una sal se deben conocer sus características de consumo y toxicidad.

Otra de las Propiedades que pueden afectar la elaboración de una forma farmacéutica son las propiedades físico-mecánicas, como tamaño de partícula, densidad aparente y relativa, compresibilidad, micrografía, punto de fusión, sabor, olor, color y apariencia.

Al controlar las propiedades físicas, químicas y físico-mecánicas de la nueva entidad química ayudan a esta sea conocida y pura, en lo que corresponde a sus sales permiten verificar si se pueden cristalizar, revisando la forma de las partículas, las características de higroscopicidad, análisis térmico, difracción de rayos X, estabilidad acelerada del estado sólido y disolución in vitro del fármaco. (Europa, 1964)

Es importante también identificar el lugar donde el fármaco ejerce su actividad terapéuticas a nivel gastrointestinal o tiene una ruta particular, también debe tomar en cuenta la velocidad aparente de disolución en el tubo digestivo, la permeación limita la absorción (Ferrari, 2010).

1.6.5. Estudios de Estabilidad

El concepto de estabilidad fue evolucionando a medida que se fue incrementando el avance tecnológico. A comienzos de 1950 y hasta mediados de 1960, la verificación de estabilidad en un producto se limitaba a desarrollar una formulación que mantuviera los parámetros organolépticos. En la actualidad se realiza estudio durante el período de vida útil del fármaco, su principal control es cumplir con los requisitos de estabilidad química, física y microbiológica.

Según la ICH (Internacional Conference of Harmonisation): El propósito de un estudio de estabilidad es proveer evidencia de cómo la calidad de un fármaco varía con el tiempo, proponer un envase específico, las condiciones de conservación, almacenamiento y estimar un período de vida útil en el cual se debe mantener los parámetros químicos, físicos y/o microbiológicos preestablecidos en el diseño del producto y determinados en el estudio del mismo. (Harmonisation, 1986)

En la estabilidad de un producto, los factores que participan en un intercambio energético son

- principio activo (API)

- excipientes
- material de envase

Factores externos

Por lo tanto debemos considerar en el programa preliminar de estabilidad todos estos factores y para ellos debemos encarar estudios exploratorios y confirmatorios

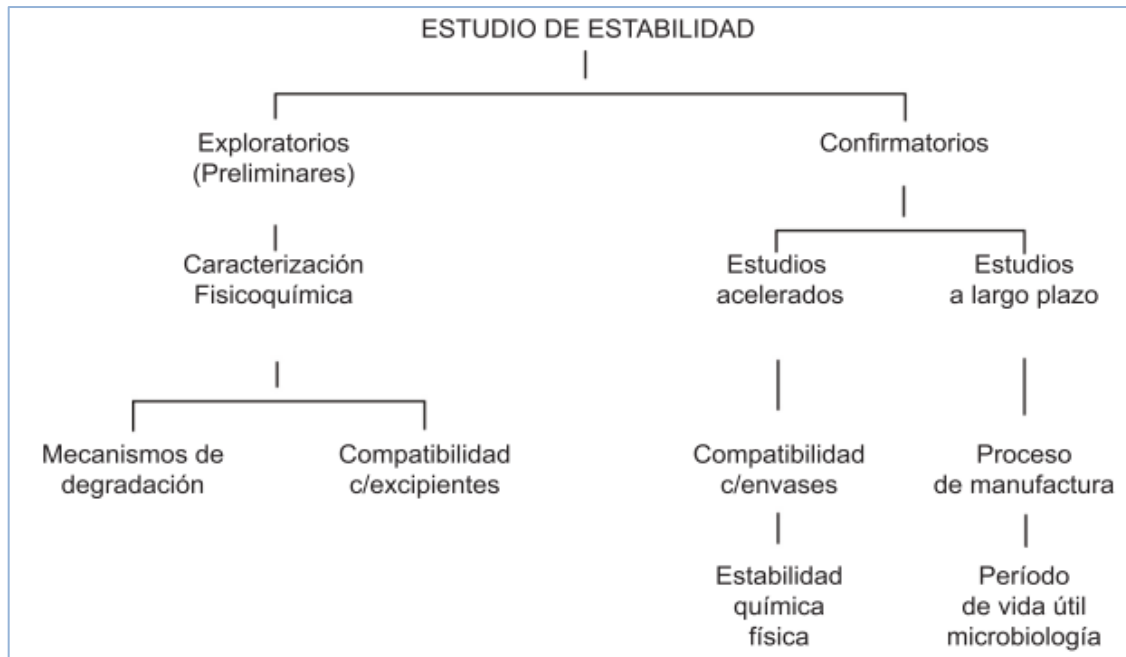


Figura: 4-1: Grafico del estudio de estabilidad general de forma farmacéuticas orales.

Fuente: (Vargas, 2009)

El Programa de estabilidad preliminar está enfocado en evaluar el comportamiento del principio activo y que sus resultados se encuentren dentro de especificaciones de la farmacopea europea o en la Norma General de Fitomedicamentos, además el fármaco se debe conservar bajo condiciones preestablecidas.

Cuando se establece un programa de estabilidad para una forma farmacéutica, se debe disponer información sobre:

a) Origen del principio activo:

- síntesis química
- biotecnológico
- fitoterápico
- opoterápico
- semisintético

b) Lugar de distribución del producto

- en un país
- en una zona
- en varias zonas
- en todo el mundo (Cepeda, 2013, p 84)

1.6.6. Factores que influyen en la estabilidad de la forma farmacéutica oral

Los principales factores que influyen una formulación farmacéutica son:

- Origen del activo
- Calidad de excipientes
- Humedad del ambiente
- Temperatura relativa
- Condiciones ambientales internas y externas
- Control microbiológico. (Wholton, 1956, p. 134)

1.6.7. Factores que influyen la estabilidad de jarabe

Los diversos análisis realizados por tesis anteriores, demuestran que los extractos de pasifloras por su alto contenido de Alcaloides y Flavonoides son muy inestables en pH muy ácido o alcalinos, además demuestran que los factores ambientales son un factor alterante en este tipo de passifloras, entre otros factores tenemos:

- Condiciones de humedad
- Humedad
- pH
- solubilidad
- temperatura

1.7. Passiflora tripartita

El termino Passiflora tiene un significado, el cual es “flor de la pasión”. Este término se refiere a la época colonial, en la cual los españoles vieron representado en la flor, la pasión o sufrimiento de Jesucristo. (Martínez, 2011, p. 76)

TAXO (*Passiflora tripartita* var. Jus)



Figura: 5 -1: *Passiflora tripartita*. (TAXO)
Fuente: (Corado, 2005, p. 71)

El género *Passiflora* comprende plantas trepadoras con flores muy coloristas. Este nombre se inicia del hecho de que los misioneros jesuitas en América del Sur utilizaban para representar la Pasión de Cristo a los nativos, utilizaban tanto la flor como su pistilo y los diseños de su corola, al unir varias de estas flores se asemejan una corona de espinas, martillo y clavos de la crucifixión (Corado, 2005, p. 72)

1.7.1. Clasificación taxonómica

DIVISIÓN TAXONÓMICA

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden : Violale
- Familia: Passifloracea
- Género :Passiflora
- Especie: *Passiflora tripartita* var. Jus

1.7.2. Descripción de la planta

La *Passiflora tripartita* es nativo y se encuentran comúnmente en el medio silvestre en los valles andinos de Venezuela y el este de Colombia, Bolivia, Ecuador y Perú. Se cree que esta especie de flores fue domesticada poco antes de la conquista española. Hoy en día su cultivo es muy evidente en varias partes del Ecuador y los frutos se venden regularmente. (Shuayprom, 2016, pp. 64-68).

Además el taxo se cultiva en varios lugares de California ya que sus flores son usadas como ornamental bajo el nombre "pasiflora softleaf"; se cultiva en cierta medida en Hawái y en la India. En lo que se refiere al clima de Nueva Zelanda parece muy adecuado para ello y ha crecido allí, más o menos desde hace varias décadas (Morton, 1987), es por ello que esta especie crece en climas subtropicales y sin necesidad de cuidados especiales en su cultivo. (Corado, 2005, p.68)

Su Descripción Botánica indica que es una planta trepadora, vigorosa, que llega a medir aproximadamente 6.7 metros, sus tallos tienen una forma cilíndrica densamente recubierto con pelos amarillos, Sus hojas son profundamente lobuladas de 3 a 4 pulgadas (7.5-10 cm) de largo y 2 - 6 cm de ancho, son finamente dentada y vellosas, en la parte anteriormente son grisáceo o amarillento-aterciopelado, en lo que corresponde a las estípulas son cortas, delgadas y curvo.

Su flor atractiva tiene un tubo largo que mide de 3 a 4 en (7,5 a 10 cm), de color verde, tiene corola con 5 sépalos y pétalos oblongos, y sus colores únicos van de rosa hasta rosadas con un ancho de 5-7.5 cm y con corona púrpura. Su fruto es oblonga o alargada ovoide, 5-12 cm de largo, 2 – 4 cm de ancho. La corteza es gruesa, correosa, blanquecino o amarillo, pulpa muy aromática (arilos), de color salmón, y rico en sabor, rodea a las pequeñas semillas reticuladas planas, negras, elípticas y envueltas en mucílago (Morton, 1987, p. 89) (Francófonos, 2001, p.54)

1.7.3. *Habitad*

Esta especie está en alturas entre 6.000 y 7.200 pies (1,800-3,200 m) en los Andes, y actualmente se encuentra muy bien adaptada a altitudes de 4,000 a 6,000 pies (1,200-1,800 m) en otros países como Hawái y Nueva Zelanda estas plantas puede tolerar breves descensos de temperatura de 28.4° F (-2° C) (Morton, 1987, p 67).

1.7.4. *Propiedades terapéuticas*

La literatura etnobotánica ha indicado que la planta *Passiflora tripartita* contiene una variedad de compuestos, incluyendo alcaloides, fenoles, flavonoides, glucósidos cianogénicos y derivados. Según estudios realizado en tesis de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, demuestran que el extracto de hojas de esta especies de Passiflora poseen actividad sedante y ansiolítico, así como también para el tratamiento de diabetes, hipertensión, anti inflamatoria, antioxidantes, antibacteriano y propiedades anti fúngicas.

Para apoyo de estas afirmaciones, un estudio realizado por Birner y Nicolls ha demostrado el aislamiento de un compuesto antibacteriano y antimicótico llamado Passicol de *P. tripartita*. (Ramaiya et al., 2014, p. 78)

El taxo es considerado una fruta andina pero además de sus hojas su fruta también tiene propiedades terapéuticas que han demostrado que se utiliza para frenar los estados de ansiedad y cansancio también posee un efecto sedante debido a su contenido de pasiflora, esta fruta rica en vitamina C no solo funciona como calmante.

De acuerdo a todos los estudios anteriores realizados demuestran que la parte de la planta que contiene los principios activos que ejercen el efecto ansiolítico es la parte aérea, sus hojas y flores ya que contienen altas concentraciones de alcaloides de tipo indólicos (harmano), derivados flavónicos (quercetol, luteolol), flavonoides (crisina, vitexina,) cumarinas, ácidos fenólicos y aceites esenciales. Dentro de los alcaloides que se presume que cumplen con la función son indólicos (harmano) y el flavonoide (crisina). (Asadujjaman et al., 2014, p. 67).

Según encuestas personalizadas realizadas en el sector de recolección de la planta, el señor Juan Carlos Quevedo comunero de Penipe, en la provincia de Chimborazo, comenta que esta planta calma y regula los ciclos menstruales al mezclarla con culantrillo. Además, indica que sirve para afecciones del corazón y molestias durante el posparto, las hojas de la planta se usan también para combatir golpes e hinchazones en la piel. (Asadujjaman et al., 2014, p.75)

1.7.4.1. Flavonoides

Los flavonoides son un tipo de metabolitos secundarios de las plantas y están presentes en casi todas las plantas terrestres, son los encargados de proporcionan protección UV y el color de la plantas. De acuerdo a su estructura química se caracteriza por tener un sistema de anillo condensado que consta de un anillo aromático y un anillo de benzopirano con un sustituyente fenilo. Se encuentran en las plantas en forma glicosilada.

Los flavonoides antes de la absorción oral, se someten a desglicosilación ya sea por lactasa hidrolasa floridzina o citosólica β -glucosidase. La aglicona absorbida se conjuga a continuación, por metilación, sulfatación o glucuronidación. (Andressa et al, 2015, p. 63).

Los flavonoides actúan a nivel del SNC de la siguiente manera; las agliconas y los conjugados pueden pasar la barrera hematoencefálica, varias flavonas se unen al sitio de benzodiazepinas en el receptor GABA A que resulta en sedación, efectos ansiolíticos o anticonvulsivos. Además los

flavonoides de varias clases son inhibidores de la monoamina oxidasa A o B, trabajando de ese modo como antidepresivos o para mejorar las condiciones de los pacientes de Parkinson. Flavonoles, flavanonas y antocianidinas tienen efectos protectores trabajan impidiendo los procesos inflamatorios que conducen a la lesión del nervio. (Jäger et al., 2011) (Kumar et al., 2011).

El metabolismo de los flavonoides es intenso a nivel del SNC y una parte importante que no es absorbida se excretan por la orina, se metabolizan en primer lugar en el hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase I en las que se introducen o exponen grupos polares; en segundo lugar en el colon mediante reacciones de biotransformación de fase II, en las que los microorganismos degradan los flavonoides no absorbidos (Martínez et al., 2002) (Kumar et al., 2011).

1.7.4.1.1. *Crisina*

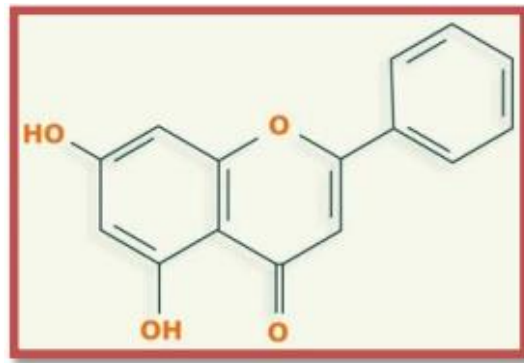


Figura: 6-1: Fórmula molecular de la crisina

La crisina es un flavonoide que se encuentra en la familia Passifloraceae, actualmente varios estudios han determinado la presencia de flavonoides como la crisina en varias Passifloraceae y poseen afinidad por el receptor GABA, por lo tanto armonizan la actividad de los canales de Cl⁻ en las neuronas ejerciendo efectos ansiolíticos.

Algunos estudios también demuestran que este flavonoide, a diferencia del Diazepam, no produce efectos amnésicos en los animales estudiados incluso en dosis altas. (Andressa, 2015, p. 65).

1.7.4.2. *Alcaloides*

Es uno de los grupos más grande de metabolitos secundarios de las plantas, se encuentran en los tejidos periféricos de los órganos de la planta, es decir en la camisa de las semillas, corteza del tallo, raíz o fruto y en la epidermis de la hoja; esto permite saber que efectúan una importante

función como la de protección a la planta del ataque de insectos ya que se caracterizan por ser de sabor amargo y desagradable.

Al estado libre se encuentran como glucósidos, o formando sales con ácidos orgánicos, se les atribuye diferentes actividades farmacológicas como: antiespasmódicas, anestésicas locales, sedantes, hipnóticas, eméticas, expectorantes, antipiréticas, amebicidas, entre otras. (Lepidium, 2009)

Estudios demuestran que hasta el momento se han aislado alrededor de 15000 alcaloides de las plantas (Thaiz y Zeiger, 2010, p.381) pero quedan aún muchos por descubrir y aislar, quedando evidencias que queda aún un amplio campo para su investigación, además varios estudios se han realizado por su importancia farmacológica, medicinal y agroquímica que se les atribuye

Los alcaloides son considerados como uno de los grupos de compuestos más importantes dentro de las sustancias de origen natural con interés terapéutico, además presentan notables propiedades fisiológicas y toxicológicas que se ejercen fundamentalmente sobre el Sistema Nervioso Central (SNC), Por tan motivo pueden ser usados como fármacos, sin descartar que el uso prolongado de alguno de estos compuestos produce en el hombre acostumbamiento, que constituyen verdaderas toxicomanías, conduciendo a una dependencia física y psíquica o a un aumento de la tolerancia.(Woscha, 2016, p.67)

1.7.4.2.1. Harmanano

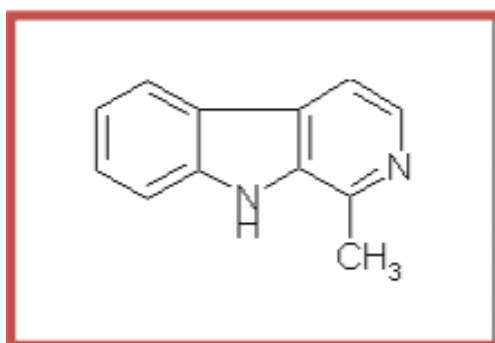


Figura: 7-1. Fórmula Molecular Del Harmano

El Harmanano es un tipo de alcaloide indólico se describe en el género Passiflora en la década de 1950, y su biosíntesis es a partir del L-triptófano que se ha propuesto por Slaytor y McFarlane en 1968. Tiene actividad sedante o hipnótica ya que interactúa con una variedad de sistemas de neuroreceptores, y es inhibidores de la enzima mono amino oxidasa (MAO) (Pinduisaca, 2016, p. 45)

1.8. Dosis efectiva y Toxicidad

La gran mayoría de extractos usados en la vida cotidiana han demostrado efectividad a una concentración de 40 a 60 %, ya que se ha demostrado que al disminuir pierden efecto terapéutico y sobre su dosis genera toxicidad.(Sollozo, 2011).

Según (Riofrío Basantes, 2009) determina que la dosis efectiva de un extracto liofilizado de *P. tripartita* fue de 30mg/kg, ya que los animales en experimentación reaccionaron frente a problemas de ansiedad.

Los estudios demostrados por Silva Fabián, 2017 determinan que la dosis efectiva de extracto liofilizado de *P. tripartita* fue de 25mg /kg. Como todo fármaco químico al igual que un fitofármaco el consumo por un tiempo prolongado a una dosis alta, ha generado problemas de toxicidad a diferentes niveles del cuerpo y para evitar dosis tóxicas mortales se ha determinado en varios estudios que todo fitofármaco debe administrarse por un máximo de 14 días.(Toledo et al., 2007).

El consumo frecuente de extractos de plantas a dosis altas causan daños a nivel hepático y gástrico, en estudios de toxicidad realizados en ensayos in vivo demuestran que el extracto de *P. tripartita* a dosis mayor de 30mg, evidencia daños hepáticos, Biliares, y alteración del Sistema Nervioso Central.(Zucolotto et al., 2016, p. 87)

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Recolección del material vegetal

La especie de *Passiflora tripartita* se recogió en el cantón Riobamba, en la Parroquia Juan de Velasco, en el barrio san Antonio de Padua, zonas ubicadas en la Provincia de Chimborazo, entre 1800 a 3200 msnm.

- Punto de recolección
- Latitud: -1.608561
- Longitud: -78.650589
- Altitud: 2713 msnm

2.2. Identificación botánica

La muestra de la *Passiflora tripartita*, fue identificada en el herbario de la Universidad Católica de Quito, en donde reposan sus muestras y colección.

2.3. Lugar de identificación

El presente trabajo de investigación se llevará a cabo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia en los Laboratorios de Productos Naturales, Química Instrumental y tecnología farmacéutica.

2.4. Materiales, equipos y Reactivos.

Materiales de laboratorio

- | | |
|-------------------------|----------------------|
| ➤ Adhesivos | ➤ Embudo simple |
| ➤ Balón esmerilado | ➤ Equipos de reflujo |
| ➤ Balones aforados | ➤ Espátula |
| ➤ Cápsulas de porcelana | ➤ Gradilla |
| ➤ Crisoles | ➤ Kitasato |
| ➤ Embaces ámbar | ➤ micro pipetas |
| ➤ Embudo de buchner | ➤ Papel aluminio |

- Papel de empaque
- Papel filtro
- Parafilm
- Pera de succión
- Percolador
- Pinzas para espátula
- Pipetas volumétricas
- Peseta
- Placa de sílice gel
- Probetas
- Reverbero
- Termómetro
- Tripote
- Tubos de ensayo
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación
- Vidrio reloj

Equipos

- Balanza analítica
- Bomba de vacío
- Cabina extractora de gases
- Cámara fotográfica y de video
- Computadora
- Desecador
- Espectrofotómetro

Reactivos

Tamizaje fotoquímico

- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Lieberman Buchard
- Reactivo para Catequinas
- Reactivo para resinas
- Reactivo de Fehling
- Reactivo de FeCl₃
- Reactivo de Borntrager
- Reactivo de Shinoda
- Reactivo de Antocianidinas
- Cloruro férrico
- Magnesio metálico
- Cloruro de sodio (polvo)

Cromatografía en capa fina

- Placas de Sílice
- Acetato de etilo 100%
- Ácido acético glacial
- Ácido fórmico
- Agua bidestilada

- Metanol
- Cloruro de Aluminio

Extracción y cuantificación de fenoles y flavonoides totales (espectro UV)

- Etanol 80%
- Agua bidestilada
- Nitrito de Sodio 5%
- Tricloruro de aluminio 10%
- Hidróxido de sodio 1M
- Soluciones de Quercetina

2.5. Procesamiento de la planta

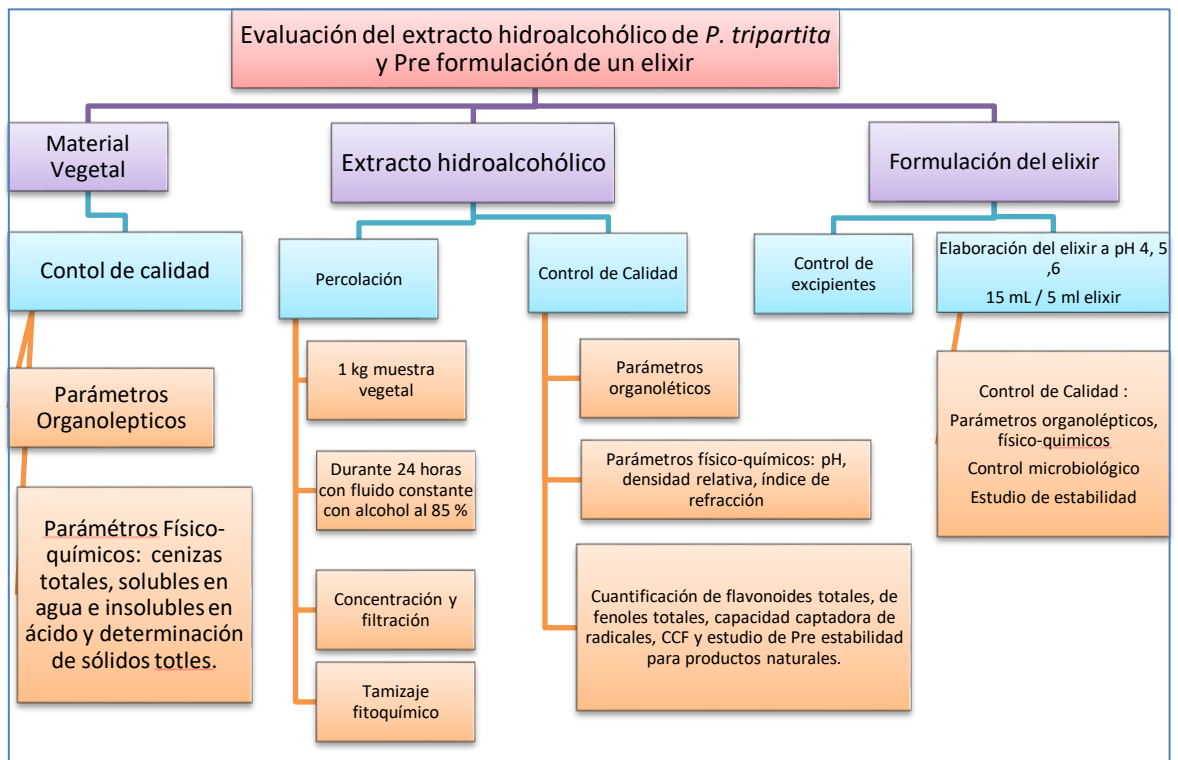


Figura 1-2: Esquema de la metodología

Elaborado por: CHARCO, Maritza, 2017

2.5.1. Secado y molienda

La planta fresca (hojas) es secada en estufa de aire circular a una temperatura menor a 45 °C, protegida de la luz y libre de humedad, cuando la planta tiene una humedad menor al 12% se procede a moler con un tamaño de particular menor a los 5 mm, seguidamente se procede al proceso de percolación.

2.5.2. Tamizaje fotoquímico

El tamizaje fotoquímico se realizó a través de reacciones químicas de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados, destinadas a determinar la presencia de metabolitos secundarios en el vegetal, siguiendo procedimientos según (Guerra, 2011,p. 21)

2.5.3. Obtención del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*.

La preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de taxo (*Passiflora tripartita*), pero la obtención de un extracto se logra separar las sustancias biológicamente activas de los materiales inertes o inactivos de una planta, a partir del uso de un disolvente y proceso de extracción adecuadas, donde se obtienen dos componentes

- La solución extraída en un disolvente (el extracto) y
- el residuo (el bagazo).

Para obtener un extracto hidroalcohólico al 80% de *Passiflora tripartita* se realiza:

- elección del método de extracción y técnica validada
- se calcula el rendimiento de planta para obtener una cantidad establecida de extracto, La cantidad de planta necesaria para la formulación fue de 1 kg de planta, ya que se requiere 8.9 ml de extracto por cada 5 mL de jarabe.
- Se emplea la técnica de extracto fluido por percolación, en el cual se realiza una previa maceración de 24 horas,
- seguidamente dejar en proceso de percolación por 24 horas con fluido constante de alcohol al 80 %, en un volumen mayor a la cantidad de muestra.
- Una vez terminado el proceso de percolación, el residuo alcohólico se concentra en un rota vapor hasta obtener el volumen mínimo de extracto para posteriormente refrigerar por 24 horas y finalmente filtrar y guardar en embaces herméticos y protegidos de la luz.

2.6. Control de calidad

2.6.1. Control de calidad de la *Passiflora tripartita*.

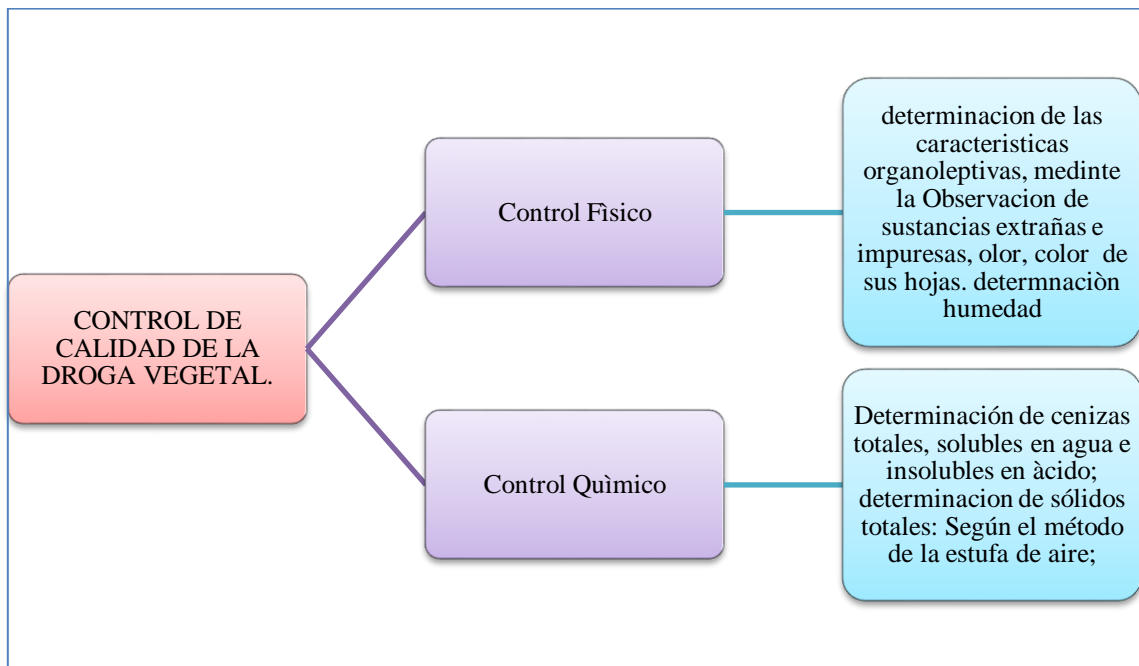


Figura 2-2: Metodología experimental para el control de calidad de la planta.

Elaborado por: CHARCO, Maritza, 2017

Todos los parámetros analizados en el extracto fluido fueron realizados siguiendo los procedimientos establecidos en las.(Corado, 2005, p.13-37)

2.6.1.1. Parámetros físicos.

Para determinar todos los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*, se empleó la metodología descrita según (Petry G, 2012, p. 67)

2.6.1.2. Parámetros químicos.

Todos los parámetros químicos de calidad se realizaron empleando la metodología enunciada y descrita en. (Corado, 2005, pp. 38-41)

2.6.2. Control de calidad del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*.

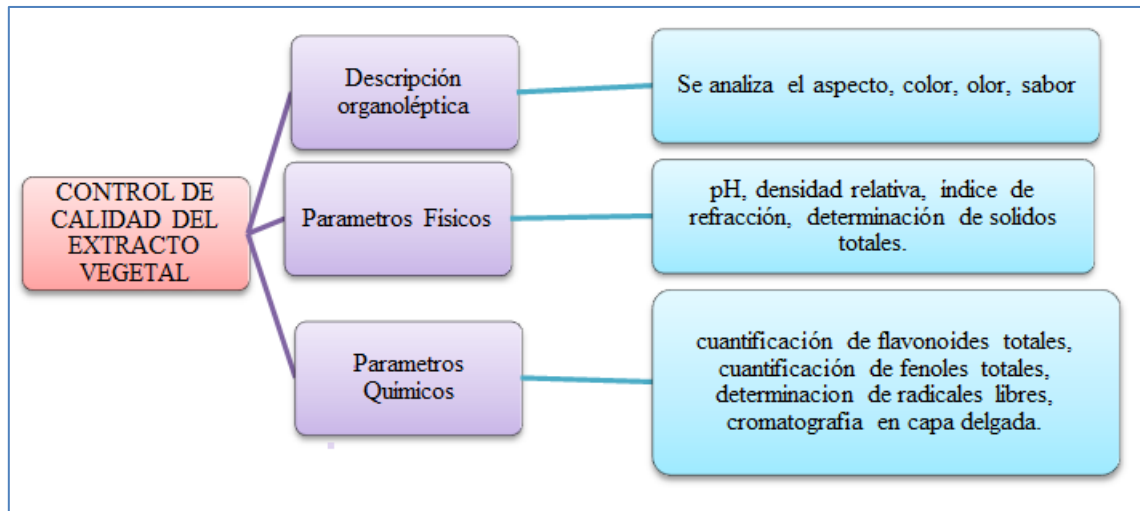


Figura 3-2: Metodología experimental para el control de calidad del extracto vegetal.

Elaborado por: CHARCO, Maritza, 2017

2.6.2.1. Descripción organoléptica

Los parámetros organolépticos como, olor, color, sabor y aspecto se analizaron de acuerdo a las especificaciones descritas en .(Ministerio De and Publica, 2006)

2.6.2.2. Parámetros Físicos

Para realizar los ensayos de pH, densidad relativa, sólidos totales e índice de refracción, se realizó de acuerdo a la metodología y referencia descrita en (Corado, 2005 , pp. 13-37)

2.6.2.3. Parámetros Químicos.

Identificación de flavonoides por cromatografía en capa Delgada.

Para identificar los diferentes flavonoides de extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*., se utiliza el método de cromatografía en capa delgada en el cual se requiere:

Soporte: silicagel GF 254

Fases móviles:

- Acetato de etilo (100)
- Ácido fórmico (11)
- Ácido acético (11)

- Agua (26)

Revelador: lámpara UV a 254 nm y 366 nm.

Procedimiento:

En una placa de sílica gel 60 F254 se colocó 10 µL de extracto hidroalcohólico de *Pasiflora tripartita*, y colocar sobre la placa a una distancia de 1.5 cm entre cada muestra, se ayuda con un capilar a 1cm por encima de la base de la placa, dejando secar completamente luego de cada aplicación.

La placa se introduce inmediatamente en la cuba cromatográfica hasta que el solvente recorrió las 3/4 partes de la misma, se retiró, se dejó secar a temperatura ambiente, Para finalizar la placa se reveló con AlCl₃ y se observó en la lámpara UV a 365nm de longitud de onda para medir lo R_f y anotar los resultados.

Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría.

La cuantificación de flavonoides se determinaron por un método colorimétrico empleando cloruro de aluminio a 510 nm, según el método empleado en la tesis doctoral de (Lorente M.D. 2006, pp 15-19)

Los resultados se expresan como quercetina a partir de una curva de calibración obtenida en el rango de 1 a 7 µg/mL, Para las mediciones se empleó una espectrofotometría 510nm.

Los cálculos correspondientes se realizaron de acuerdo a la ecuación matemática la concentración de la muestra expresada como quercetina.

$$\text{Conc. del Extracto} = \text{Conc. Equivalente de Quercetina} \times \text{Factor mat. de dilución.}$$

Cuantificación de fenoles totales por espectrofotometría

Para este ensayo Se empleó el método de Folin Ciocalteu, descrita en la metodología según (Khanbabae K., Ree T. Tannins: classification and definition. Nat Prod Rep Soc Chem. 2001; 18:641-649). Los resultados se expresaron como ácido tánico a partir de una curva de calibración obtenida para este compuesto, en el rango 0.4 a 1.4 µg/mL.

Capacidad captadora de radicales libres in vitro. Método DPPH*

El efecto de eliminación del radical DPPH* se evaluó siguiendo el procedimiento descrito por Öztürk y colaboradores, con ligeras modificaciones.

El estándar o patrón se realizó con ácido gálico a concentraciones de 10-20-40-60-80 y 100 ppm, la solución de DPPH* se obtuvo a partir de la mezcla de 5,9mg del radical DPPH* + 250mL de metanol al 98%, las muestras preparó a partir del extracto etanólico blando de *Campyloneurumamphostenona* una concentración de 1000ppm.

Procedimiento:

- Tomar 100 μ L de la muestra (extracto etanólico blando de *Campyloneurumamphostenonde* 1000ppm) o de la solución estándar y mezclar con 3,9mL de DPPH* en metanol (60 μ m).Realizar una curva de calibración con el patrón
- Agitar la mezcla con la ayuda de un vórtex y dejar en reposo protegido de la luz durante una hora.
- Transcurrido el tiempo establecido medir la absorbancia a una λ de 515nm en el siguiente orden: a) Metanol (para encerar el equipo), b) Muestra de DPPH*, c) Blanco (3,9mL Metanol+ 100 μ L solvente del extracto), d) Patrón (estándares de ácido gálico), e) Muestra de *Campyloneurumamphostenonde* 1000ppm.
- Expresar los resultados comoconcentración inhibitoria media (μ g/mL) y porcentaje de Actividad Captadora de Radicales Libres.(Öztürk et al., 2010b: pp. 31-38)

2.7. Pre-estabilidad del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*.

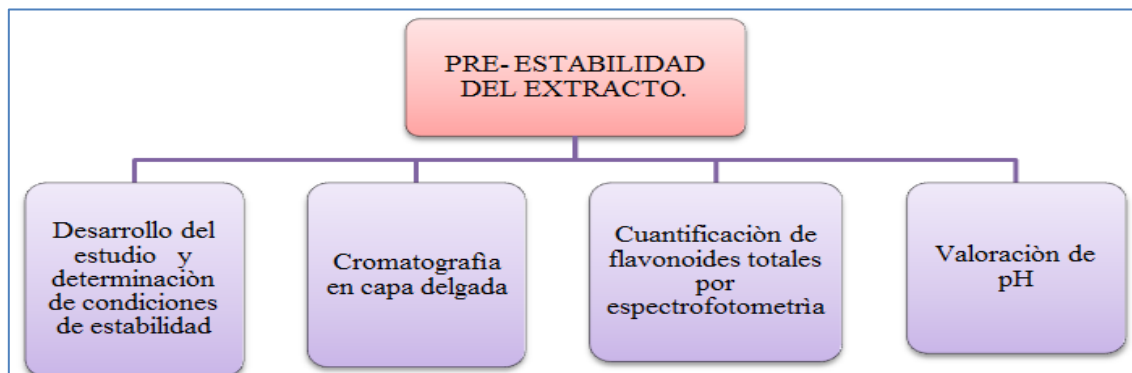


Figura 4-2: Metodología experimental de la estabilidad del extracto.

Elaborado por: CHARCO, Maritza, 2017

2.7.1. Desarrollo del estudio

Los estudios degradativos se realizan con el fin de conocer los principales procesos que pueden afectar al producto de interés. Forman parte de los estudios de preformulación y advierten al tecnólogo sobre riesgos en la estabilidad química. De este modo, puede procederse a estudios de

formulación que incluyan excipientes que eviten la degradación del principio activo y se cuenta con una mejor orientación para los estudios de estabilidad.

El ensayo de estabilidad para el extracto se basa en técnicas empleadas para fitofármacos según bibliografía, en la cual se procede de la siguiente forma:

Preparación de las muestras

Colocar un volumen de 20mL de extracto puro y llevar a un volumen de 100mL con alcohol a 85%, seguidamente colocar en 5 envases de vidrio de color ámbar 10mL de la solución preparada, para realizar las siguientes condiciones de degradación:

- Degradación oxidativa: Tomar 10 mL de extracto y adicionarle 10 mL de peróxido de hidrógeno 30 %.
- Hidrólisis alcalina: Tomar 10 mL de extracto y adicionarle 10 mL de disolución de hidróxido de sodio 20 %.
- Hidrólisis ácida: Tomar 10 mL de extracto y adicionarle 10 mL de disolución de ácido clorhídrico 20 %.
- Efecto de la luz: Tomar 10 mL de extracto y colocar en un recipiente de vidrio transparente. Exponer a la luz natural durante el día y mantener bajo luz de neón durante la noche.

Una vez preparadas las muestras se coloca en una estufa a $80\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Y Mantener durante 7 días, además el lugar debe ser libre de humedad y protegido de la luz solar. Extraer porciones en los tiempos: 0, 3, 5 y 7 días y realizar la CCD.

2.7.2. Cromatografía en capa delgada:

Soporte: sílica gel GF 254

Fases móviles:

- Acetato de etilo (100)
- Ácido fórmico (11)
- Ácido acético (11)
- Agua (26)

Revelador: lámpara UV a 254 nm y 366 nm.

Procedimiento:

En una placa de Sílica gel 60 F254 se colocó 20 µL de cada una de las muestras tomadas en los diferentes días a una distancia de 1.5 cm entre cada muestra, se ayuda con un capilar a 1cm por encima de la base de la placa, dejando secar completamente luego de cada aplicación.

La placa fue introducida inmediatamente en la cuba cromatográfica hasta que el solvente recorrió las 3/4 partes de la misma, se retiró, se dejó secar a temperatura ambiente para después revelar con AlCl₃ y se observó en la lámpara UV a 365nm de longitud de onda. Finalmente se registran los resultados midiendo los Rf.

2.7.3. Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría.

La cuantificación de flavonoides totales se realiza en los días establecidos en la técnica de estabilidad día 0, 3, 5, y 7, y para el desarrollo de esta metodología según el método empleado en la tesis doctoral de (Lorente M.D. 2006, pp 56-58) Finalmente se registró las absorbancias y se calculó la concentración de flavonoides en mEqq/mL.

2.7.4. Valoración de pH.

Siendo el pH un factor determinante en la degradación de flavonoides se ha tomado en cuenta para este ensayo, para lo cual se realiza de acuerdo a la metodología y referencia descrita (Alvaro E; Guerra C. 2005 p 29)

2.8. Preformulación de jarabe con extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.



Figura 5-2: metodología experimental para la preformulación de jarabe.

Elaborado por: CHARCO Maritza, 2017

Preformulación

Previo a la elaboración de las formulaciones finales se elaboraron tres pruebas pilotos, las cuales incluyen todo el proceso de percolación, filtración, cuantificación, concentración, la medición de volumen, cuantificación de alcaloides y flavonoides en el concentrado, además de cálculos de la cantidad de extracto de *Passiflora tripartita* que se necesitaban para cada preformulación. De esta forma se busca que la concentración teórica de alcaloides y flavonoides del jarabe fuese equivalente a la concentración de alcaloides y flavonoides de la tintura de la que proviene el extracto concentrado de *Passiflora tripartita* utilizado en las siguientes preformulaciones.

Preformulación de jarabe de extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita* a pH 4, 5 y componentes y cantidades:

Tabla 1-2: formulación del jarabe, cantidades de los componentes y pH.

COMPONENTES	pH 4	pH 5	pH6
P.A	65mL	65mL	65mL
SACAROSA 65% (Disolución en el extracto)	41.16 mL	41.16 mL	41.16 MI
PROPILENGLICOL 10%	10ml	10ml	10ml
NIPAGIN	0,05 g	0,05 g	0,05 g
NIPASOL	0,022g	0,022g	0,022g
CITRATO DE Na	0,16g	0,16g	0,16g
ACIDO CITRICO	0,1g	0,048g	0,005g
AC ASCORBICO	0,150g	0,048g	0,005g
COLOR	II	II	II
OLOR	II	II	II
AGUA CSP	100ml	100ml	100ml

Elaborado por: CHARCO Maritza, 2017

Procedimiento jarabe en frio.

En un vaso de precipitación de 250 mL, se agregó 41.16mL de extracto + azúcar 65g = (A) mezclar y agitar con ayuda de un agitador mecánica hasta la disolución completa del azúcar, seguidamente agregar 23.83mL del extracto sobrante. En vaso de precipitación colocar un volumen de 10 mL de agua destilada colocar y seguidamente añadir las sustancias del buffer = (B) mezclar y agitar hasta su completa disolución, seguidamente se agregó 10 mL de propilenglicol en un vaso de precipitación + conservantes =(C) agitar y disolver hasta su completa disolución.

Se mezcla las dos soluciones y se agita hasta tener una mezcla homogénea, a toda esta solución se añade la solución Buffer y se agregan los 15 mL de agua restante para completar el volumen de 100 mL. Finalmente mezclar, filtrar y envasar en frascos ámbar de vidrio.

2.8.1. Control de calidad

2.8.1.1. Control de calidad de los excipientes utilizados en las preformulaciones de jarabe de extracto hidroalcohólico de *Pasiflora tripartita*.

Tabla N 2-2: lista de excipientes utilizados para la elaboración de jarabe de *Pasiflora tripartita*.

EXCIPIENTES	ADQUISICIÓN	PROVEEDOR
Sacarosa	Valdez S.A	Valdez S.A
Propilenglicol	Lab. Neo Fármaco	Quibeco
Metilparabeno	Lab. Neo Fármaco	Resiquim S.A
Propilparabeno	Lab. Neo Fármaco	Resiquim S.A
Ácido cítrico	Lab. Neo Fármaco	Resiquim S.A
Ácido ascórbico	Lab. Neo Fármaco	Resiquim S.A
Citrato de sodio	Lab. Neo Fármaco	Quibeco

Elaborado por: CHARCO Maritza, 2017

Los certificados del análisis de calidad de cada materia prima se encuentran en el anexo N° H, I, J, K, L Y M. Sin embargo para cumplir con el protocolo de elaboración de fármacos se realizó todos los parámetros menores a cada uno de los excipientes utilizados en la formulación de jarabe según técnicas descritas en la (Raymond C Rowe, 2009, pp 267-269), (Española, Farmacopea Oficial, 1956 pP. 165-169), (USP 31, 2009 pp. 1256- 1259)

2.8.1.2. Control de calidad de las preformulaciones de jarabe de extracto hidroalcohólico de *Pasiflora tripartita*.

Para este ensayo se realiza las mismas técnicas para las 3 formulaciones, sin anexar técnicas individuales.

2.8.1.2.1. Características organolépticas

Para valorar las características organolépticas de las diferentes formulaciones se empleó los ensayos descritos en;(Real Farmacopea Española; 2009, p 1283).

2.8.1.2.2. *Parámetros físicos y químicos*

Todos los Parámetros físicos como pH, control volumen y densidad relativa se empleó los ensayos descritos en;(Real Farmacopea Española; 2009, p 1283).

2.8.1.2.3. *Parámetros químicos.*

Cuantificación de flavonoides por espectrofotometría de las diferentes reformulaciones

La cuantificación de flavonoides se determinaron por un método colorimétrico empleando cloruro de aluminio a 510 nm, según el método empleado en la tesis doctoral de (Lorente M.D. 2006, pp 132-137)

Los resultados se expresan como quercetina a partir de una curva de calibración obtenida en el rango de 1 a 7 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Para las mediciones se empleó un espectrofotometría 510nm. Los cálculos correspondientes se realizaron de acuerdo a la ecuación matemática la concentración de la muestra expresada como quercetina

Conc. del Extracto = Conc. Equivalente de Quercetina x Factor mat. de dilución.

2.8.1.2.4. *Parámetros microbiológicos*

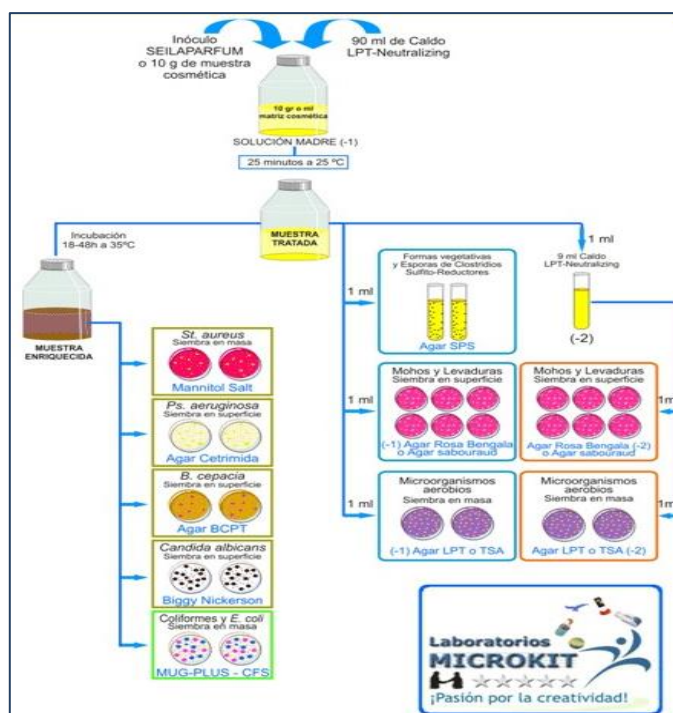


Figura 6-2: Control microbiológico

Fuente: (Vargas.M; 2009, p 87)

Los parámetros microbiológicos correspondientes al control de calidad del jarabe se realizaron de acuerdo a las técnicas estipuladas en; (Arlvarez, M; & Boquete, 1991, p, 176), (Vargas.M; 2009, p 87) En las cuales se tomó en cuenta los ensayos para bacterias aeróbicas mesófila, coliformes totales, coliformes fecales, Hongos y Levaduras.

2.8.2. Estabilidad acelerada del jarabe de *Passiflora tripartita*.

Desarrollo del estudio para estabilidad acelerada

Para el desarrollo de este estudio se ha tomado en cuenta ensayos bibliográficos de estabilidad para fitomedicamentos, por lo cual se utiliza como factor variante la temperatura. A cada una de las muestras de ensayo a sus diferentes pH se sometió a una temperatura de 45 °C, por un tiempo corto de 30 días. Al terminar este periodo de tiempo a cada una de las muestras de ensayo se sometieron a pruebas básicas de control para determinar su variación de componentes y estimar un tiempo de vida útil del fitomedicamento.

Características organolépticas

Una vez terminado el tiempo estimado de estabilidad se analizaron las siguientes características organolépticas como el color, sabor y olor de cada una de las muestras de ensayo de acuerdo a las técnicas descritas en;(Real Farmacopea Española.1954, p 1262.)

Determinación de pH

Para valorara el pH de las diferentes formulaciones se empleó los ensayos descritos en (Alvaro E, 2005 pág 29),(USP 30, 2007 p 1289).

Control volumen.

Para determinar el volumen descrito en cada uno de los envases de jarabe sometidos a estabilidad empleó los ensayos descritos en; (USP 30, 2007 p 1290).

Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría.

La cuantificación de flavonoides totales para el desarrollo de esta metodología se empleó la técnica descrita anteriormente, en el ensayo utilizado para el extracto hidroalcohólico, respetando las condiciones, reactivos, cantidad de muestra y longitud de onda de lectura. Finalmente se registró las absorbancias y se calculó la concentración de flavonoides en mEqq/mL.

2.9. Análisis estadístico

Se realiza un análisis individual de cada uno de los ensayos realizados, se aplica un análisis estadístico de diferencias significativas de los resultados obtenidos, aplicando un test estadístico ANOVA, para determinar si hay diferencia significativa en los ensayos de estabilidad empleados.

El test Anova se realiza para un análisis de varianza con datos agrupados, planteando hipótesis y determinar si cumple o no estas hipótesis planteadas. Posteriormente se emplea un post estadístico Tunkey B, para comparaciones múltiples y así poder determinar grupos iguales o diferentes con respecto a la estabilidad realizada.

CAPITULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Control de calidad

Se exponen a continuación los datos experimentales y los resultados obtenidos del control de calidad de la droga cruda, extracto fluido de *Passiflora tripartita*, jarabe y respectivo análisis de estabilidad del extracto y del producto final.

3.1.1. Control de calidad de la materia prima

Tabla 1-3: Resultados del Control de calidad de hojas secas de *Passiflora tripartita*.

PARAMETROS	HOJA DE TAXO (<i>Passiflora tripartita</i>)	ESPECIFICACION ES (NRSP)
Contenido de humedad (%)	8%	8 – 14 %
Contenido de cenizas totales (%)	9,94%	Hasta 12 %
Contenido de cenizas solubles en agua (%)	g6.57%	Hasta 7 %
Contenido de cenizas insolubles en ácido Clorhídrico	3, 2%	Hasta 5 %

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Fuente: Norma Ramal del Ministerio de Salud Publica 1992, p 123

Los ensayos de la droga cruda se realizaron según, Normas Ramales NRSP-309, (1992), para determinar la calidad de la droga vegetal seca y ser usadas en diversos ensayos fitoquímicos cualitativos y cuantitativos, con el propósito de garantizar la eficacia e inocuidad de fitomedicamentos, por lo que es un importante parámetro de análisis por ser la materia prima de mayor importancia. Los resultados del control de calidad, se compararon con lo especificado según, (Norma ecuatoriana de Fitoterápicos; 2002, p 298) (OMS 1998). Los resultados se muestran en muestran en la Tabla 1-3.

Humedad: los resultados reflejan un 8% de humedad, el valor se encuentra dentro del rango, lo que indica que se dio un adecuado proceso de secado y almacenamiento, esto evidencia que a

ese porcentaje de humedad no se producirá proliferación de microorganismos debido a que la cantidad de agua es muy baja. (Fernández, 2016, p 164)(Muñoz et al., 2010; p57) (OMS, 2007).

Cenizas totales: Los resultados obtenidos en ceniza para *P. tripartita* fue $9.94 \pm 0.036\%$, que al comparar con bibliografía se encuentran dentro del rango indicado por la norma ecuatoriana de Fitoterápicos y la OMS, además indica que la droga vegetal tiene un mínimo de impurezas o sustancias extrañas (tierra), demostró también que se realizó un adecuado manejo y lavado durante el proceso de recolección. (Guerra, 2011; p 52) (PH. EUR.2005; p 87) (WHO. F, 2007;p 23)

Cenizas insolubles en ácido y solubles en agua: Los resultados revelan los siguientes valores: cenizas solubles en agua $6,57 \pm 0.031\%$ siendo el límite máximo que indica la bibliografía de hasta 7%, y para cenizas insolubles en ácido clorhídrico $3.20 \pm 0.025\%$, en bibliografía determina que el límite es 5%; al analizar los resultados y comparar con bibliografía se determina que se encuentran dentro de los rangos establecido (Guerra, 2011; p 64) (WHO. F, 2007; P 33) (Amarthy M. 2011; p 52).

El control de calidad nos permite garantizar la inocuidad y seguridad de la droga cruda, en base a los resultados que se encuentran dentro de los parámetros establecidos y se acepta a la droga cruda como materia prima óptima para su utilización en los ensayos posteriores.

3.1.2. Control de calidad del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*.

3.1.2.1. Determinación de los parámetros organolépticos

Tabla 2-3: Resultados del Control de calidad de hojas y flores secas de *P. tripartita*.

PARAMETROS	RESULTADO
Olor	Floral
Color	Café oscuro
Sabor	Amargo
Aspecto	Líquido transparente

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Se debe indicar que los parámetros organolépticos de la tabla N 2-3, de calidad del extracto fluido no tienen estándares de referencia con los cuales se los puede comparar, ya que estos extractos tienen sus propios valores y características dependiendo de cada especie analizada y de las partes de la planta. Por lo que se compara con tesis realizadas por (Riofrío Basantes, 2009) (Fernández, 2016; p 66) la cual determina que el extracto de *P. tripartita* presenta características

como: líquido en su aspecto, de color café oscuro, sabor amargo y olor floral. (Itidel *et al.*, 2013 Pàg 54)

3.1.2.2. Determinación de parámetros físicos químicos

Tabla 3-3: Resultados de los parámetros físico Químicos del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

PARAMETROS	RESULTADO
PH	4.9
Índice de refracción	1.3728
Densidad relativa (g/mL)	0.9958 g/mL
Solidos totales (%)	1.92%

Realizado por: CHARCO, Maritza. 2017

En el control físico químico del extracto de las hojas de Taxo (*P. tripartita*), el resultado de pH es de 4,9 lo que indican pH ácido, el medio ácido favorece la ausencia de crecimiento microbiano, además la bibliografía indica que a pH 4-5 existe una estabilidad de flavonoides ya que sus hidroxilos no reaccionan frente a otros compuestos. (Jorge Ringulet; Sonia Viña, 2013 Pàg 34)(Itidel *et al.*, 2013 Pàg 23)

El índice de refracción es de 1.3728, es un indicativo la pureza de del extracto y que no presenta mezclas de otras sustancias diferentes de la droga vegetal. (Itidel *et al.*, 2013 Pàg 25)

La densidad relativa obtenida es de 0.99 g/mL, demostrando que el extracto de Taxo (*Passiflora tripartita*) es menos denso que el agua por tener un valor menor a 1g/ mL, según bibliografía es un índice representativo de la «composición» del extracto, además de ser un indicativo de solidos disueltos. (He *et al.*, 2016 pp 5-6)

El total de residuos sólidos filtrables (sales y residuos orgánicos). Esto demuestra que la cantidad de materia orgánica y sales que se encuentran disueltos en un determinado solvente, teniendo así un valor de 1,92% de solidos totales en nuestra muestra. (Tapia-torres *et al.*, 2014 p 67)

3.1.2.3. Tamizaje fitoquímico

Tabla 4-3: Tamizaje Fitoquímico de extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*

ENSAYO	METABOLITO	EX. ETÉREO	EX. ALCÓHOLICO	EX. ACUOSO

Sudan	Aceites y grasas	++		
Dragendorff	Alcaloides	-	+	+
Wagner	Alcaloides	-	-	+
Mayer	Alcaloides	-	-	+
Baljet	Lactonas y Cumarinas	+	++	
Liberan – buchard	Triterpenos y/o esteroides	++	++	
Catequinas	Catequinas		+	
Resinas	Resinas		-	
Fehling	Azúcares reductores		+	+
Espuma	Saponina		-	+
FeCl ₃	Taninos		+++ Coloración verde intensa	+++ Coloración verde intensa
Bortrager	Quinonas		-	
Shinoda	Flavonoides		+++ Coloración roja	++ Coloración Amarilla
Antocianidinas	Flavonoides		+	
Mucilagos	Mucilagos			-
Principios amargas	Principios amargas			+

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Interpretación de la Tabla:

(-) Negativo

(+) Baja evidencia.

(++) Evidencia.

(+++) Alta evidencia.

El tamizaje fitoquímico identifica los principales grupos de constituyentes químicos presentes en la planta y de esa manera estimar si el compuesto a estudiar es representativo en la planta, para el proceso de extracción del activo correspondiente.

De acuerdo a los resultados de la tabla 4-3 se determinó en *P.tripartita* , la presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos y azúcares, siendo metabolitos secundarios con potencial farmacológico alcaloides y flavonoides que según estudios tiene propiedades ansiolíticas. (Sollozo, Camarena and López, 2011 Pàg 4)(Riofrío Basantes, 2009 Pàgs 98,99).

Además diversos estudios demuestran que la familia de *Passifloraceas* tiene diversas propiedades terapéuticas, sin embargo el extracto de *P. tripartita* dio positivo a los ensayos para flavonoides y alcaloides atribuyendo la actividad sedante a la presencia de dichos compuestos según; Marroquín M., Osorio C. (2006); pp 23-25, Acosta F. et al, (2002), la investigación fitoquímica de *P. tripartita*, *P.edulis* y otras especies según (Fernández, 2016) (Alvaro G,Corado, 2005, pp 67-71), reveló que este género contienen fenoles, compuestos cianogénicos y glicosidos flavonicos, además estudios de esta familia de Pasifloracea revelan la presencia de flavonoides como crisina) y alcaloides como harmano, los mismos que se estima son los responsables de la actividad ansiolítica atribuida a las diferentes especies de plantas de la familia Passifloracea, sin embargo de ha demostrado que el conjunto de metabolitos ejercen un equilibrio en acción farmacológica es por ello que no se especifica el compuesto responsable de dicha actividad. (Andressa C. Gazola, 2015; pp 133-135)

3.1.2.4. Cromatografía en capa fina

Para la determinación de flavonoides por cromatografía en capa fina se utilizó un sistema de solventes formado por: acetato de etilo- ácido fórmico- ácido acético –agua (100:11:11:26), una fase móvil de sílica gel y como revelador una solución de óxido de aluminio.

Este sistema de solventes permite diferenciar los componentes presentes en el extracto en función de la polaridad y su afinidad por la fase móvil, logrando así una óptima separación de compuestos, además se evidencia la aparición de manchas claras y definidas en la placa cromatográfica, que al calcular los Rf se identifican con facilidad los diferentes compuestos.

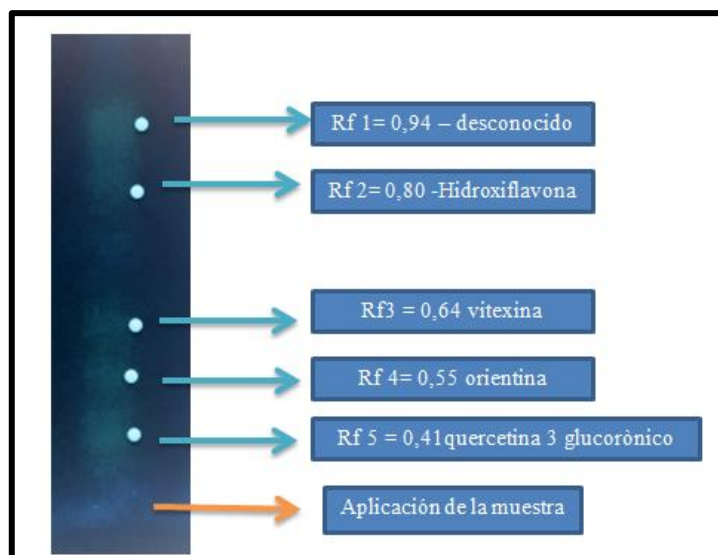


Figura N 1-3: Cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Como se observa en la gráfica N° 1-3 de la cromatografía del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*, los valores de Rf indicados de flavonoides según Wagner y se compararon con los resultados obtenidos, observando la aproximan con los estándares de: quercetina 3 glucorónico (0,41) orientina (0.57), vitexina (0.64), hidroxiflavona (0.80), y un compuesto desconocido según bibliografía con un Rf de (0.94). (Shanmugama, S. et al., 2016; pp 43-51) (Adriana SFSJ, 2015; p 54)

De los diferentes compuestos determinados por cromatografía en capa delgada, se atribuye a la vitexina como la más importante que según fuentes bibliográficas (Cartaya and Reynaldo, 2001; pp 94-101) indica que el glucósido vitexina corresponde al 8-C-D-glucopiranosido de apigenina y el análogo de la crisina es la apigenina, es así que se ha determinado que el flavonoide vitexina es de tipo flavona al que se atribuye la actividad ansiolítica por tener una estructura química estable en el medio ácido. (He et al., 2016 Pàg 75)

Los diferentes compuestos presentes en la cromatografía en capa delgada son afines al sistema de solventes por ser compuestos de tipo flavona y flavonoles, gran porcentaje de estos compuestos y sus derivados son muy solubles en agua por tener grupos hidroxilos en su estructura., pero al combinarse los flavonoides con ácidos orgánicos forman sales lo que permite mantener compuestos flavonicos estables en pH ácidos por su estructura glicosilada. (Martinez, A, 2005 p 98) (Cartaya and Reynaldo, 2001, p 58)

La actividad terapéutica se basa en la estructura del hidroxilo, es por ello que se requiere mantener compuestos flavónicos en forma de sal y glicosilados para cumplir su actividad determinada. (Cartaya and Reynaldo, 2001, p 87)

3.1.2.5. Cuantificación de principios activos

FLAVONOIDES

Tabla 5-3: Determinación de la concentración de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

PARAMETRO	EXTRACTO
Flavonoides totales (mg Quercetina)	23,56 mgQ/mL extracto

Realizado por: CHARCO Maritza. 2017

La tabla N° 5-3. Indica que hay una concentración de flavonoides totales de 23,56 mgQ/mL, y al calcular la dosis efectiva in vivo de acuerdo a los trabajos de investigación anteriores realizados en la ESPOCH, se determina que de dosis efectiva en ratas (*mus musculus*) fue de 200ppm de extracto que corresponde a 22.78mgQE/mL. A la dosis establecida en animales de experimentación se calcula la nueva dosis para humanos a la cual se multiplica por un factor 0,60y tenemos que la dosis efectiva de acuerdo a la concentración de flavonoides presentes en la planta mencionada es de 9mL de extracto concentrado por cada 5mL de jarabe a una concentración de 23,56 mgQ/mL.+/- 0.5 mgQ/mL (Fu et al., 2016).

Además se utilizó como estándar de referencia la Quercetina a diferentes concentraciones para obtener una curva de calibración, la misma que presentó la siguiente ecuación de la recta y = 0.0009x+00066, R² = 0.999, la gráfica de la curva se aprecian en el anexo N° H

FENOLES

Tabla 6-3: Determinación de la concentración de fenoles totales (mg de Ácido Gálico) en el extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

PARAMETRO	EXTRACTO
Fenoles totales (mg Ácido Gálico)	102,4 mgEAG/mL extracto

Realizado por: CHARCO, Maritza. 2017

Para la cuantificación de fenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, se determinó que el extracto de *P. tripartita* tiene una cantidad de $102,40 \pm 9.623$ de fenoles expresados como mg de ácido gálico / por gramos de muestra seca (mgEAG/g), esto determina que tiene una alta concentración de fenoles a la cual se atribuye la actividad farmacológica como antiinflamatorios, sedante, relajante entre otras (Argueta et al., 1994, p 36). Adicionalmente (Campagna et al. 2012, p 134) reportan propiedades antidiarreicas y antisépticas asociándolas a fenoles, lo que representa que los fenoles en conjunto con diversos metabolitos como flavonoides, taninos, alcaloides etc. cumplen un papel importante en el tratamiento de este tipo de trastornos. (Rover and Brown, 2013).

Se debe indicar que la extracción de fenoles depende principalmente al número de grupos -OH presentes en los compuestos fenólicos que favorecen su solubilidad en agua y por lo tanto su extracción (Vermeris y Nicholson, 2008, p 243), Se sabe que los fenoles al tener más de un grupo -OH cooperan en la solubilidad en agua, lo que favorece a la formulación de diversas formas farmacéuticas, (Wang, A, et al., 2007) (Farsi y Lee, 2008, pp 235-236).

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD CAPTADORA DE RADICALES LIBRES

Tabla 7-3: .- Determinación de la capacidad captadora de radicales libres mediante método de DPPH en el extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

	EXTRACTO	ÁCIDO GÁLICO
IC50(ug/mL)	25.11 ug/ml	43.79+- 0.157

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

La actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, los resultados obtenidos por este método se reportan como IC50 que es la concentración inhibitoria media, es decir, la concentración de compuestos antioxidantes que es capaz de inhibir el 50 % del radical DPPH.

El ensayo DPPH indicó que el potencial antioxidante de *P. tripartita* es alto, ya que el extracto presenta una prometedora actividad en este ensayo con valores de $25,11 \pm 4.923$, mientras que para el ácido gálico fue 43.79 ± 0.157 . Con los resultados obtenidos en fenoles y flavonoides se determina que el extracto presenta un IC50 bajo, que reflejará una actividad antioxidante alta comparada con el IC50 del ácido gálico, ya que de acuerdo a bibliografía los fenoles junto con flavonoides constituyen principales grupos que actúan como antioxidante, además se sabe que

es mayor las cantidades de fenoles totales y flavonoides la capacidad de captación de radicales es mejor. (Itidel et al., 2013 p 174-176)(Enciso and Arroyo, 2011 p 233).

3.2. Control de calidad del jarabe

El control de calidad de producto terminado tiene como finalidad determinar que la forma farmacéutica elaborada cumpla con los atributos de calidad previamente establecidos por la Farmacopea Europa, de esta manera se busca conseguir que el medicamento cumpla el objetivo para el cual fue diseñado (calidad, seguridad y eficacia).

Características organolépticas

Tabla 8-3: Características organolépticas del jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

Parámetros	Resultados
Color	Café oscuro
Olor	Chocolate
Sabor	Chocolate

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Los resultados de la tabla N° 8-3, indica las características organolépticas que presenta la formulación de jarabe, a la cual se añadió un sabor de chocolate y al analizar se determina que presentan un olor y sabor agradable debido a la mezcla de aromas de los excipientes y extracto, sin embargo mantiene un sabor picante por el alto contenido de taninos, pero el sabor de chocolate ayuda a enmascarar gran parte de su sabor desagradable dando un sabor aceptable en una escala 7/10. No existe la presencia de grumos y tiene una buena untuosidad al tacto.

Control físico y químico del jarabe

Tabla 9-3: Control físico Químico del jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

Parámetros	Resultados
PH	5,01
Control volumen	50 +- 2 mL
Cuantificación de flavonoides totales	22,68 meqQ/mL

Realizado por: CHARCO, Maritza, 2017

Determinación de pH.

Los resultados expresados en la tabla N° 9-3, nos indica que el pH del jarabe con el extracto está dentro de los límites permitidos según la USP 30, esto indica que el buffer empleado en cada una de las formulaciones no presenta reacción frente a los excipientes, así como también es un medio aceptado para no generar reacciones adversas en su administración a nivel estomacal. (Ministerio De and Publica, 2006). (USP 31, 2009, p 1386)

Control de volumen

Tabla 10-3: Control físico Químico del jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

CONTROL VOLUMEN DE LAS FORMULACIONES	
JARABE	VOLUMEN
FORMULA 1 pH 4	49,5
FORMULA 2 pH 5	49,5
FORMULA 3 pH 6	49,5

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

De acuerdo a los resultados expuestos en la tabla N° 10-3, determinamos que las formulaciones cumplen con el volumen estimado en la etiqueta, ya que se envaso en frascos de 50mL+-0.5mL. de esta manera se establece que cumple con las características de volumen en su llenado según la USP31.

Tabla 11-3: Determinación de la concentración de flavonoides (mg de Quercetina) en el jarabe de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

PARAMETRO	JARABE	EXTRACTO
Flavonoides totales (mg Quercetina) Formulación pH4	22.24 mgQ/mL extracto	23,56 mgQ/mL extracto
Flavonoides totales (mg Quercetina) Formulación pH5	22,48 mgQ/mL extracto	
Flavonoides totales (mg Quercetina) Formulación pH4	21,38 mgQ/mL extracto	

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Los resultados de la tabla N° 11-3, indican la concentración de flavonoides totales presentes en las diferentes formulaciones de jarabe, al comparar con la concentración del extracto puro se

aprecia una disminución de la concentración de flavonoides del jarabe, esto se debe a los excipientes, que al combinar con el extracto aumenta su acidez generando un medio no idóneo para mantener estables a dichos compuestos, sin embargo se aprecia que la formulación de pH5 conserva la dosis efectiva determinada. (Riofrío Basantes, 2009, p 68) .(Raymond C Rowe, 2009, p 186)

3.3. Control de calidad de los excipientes

En el proceso de formulación de una determinada forma Farmacéutica el laboratorio de Control de Calidad, mediante la utilización de técnicas analíticas validadas, debe certificar la calidad de todos los fármacos y excipientes luego que éstos llegan a la bodega de materias prima, al cumplir con este parámetro el laboratorio de Control de Calidad podrá certificar la seguridad, calidad y efectividad de una sustancia determinada, la cual entonces y sólo entonces puede ser utilizada en los diferentes procesos de producción.(Barreto. J; et al, 2003, p 287).

Metilparabeno sódico

Tabla 12-3: control de calidad de los excipientes de metilparabeno, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Cristales incoloros o polvo cristalino blanco, libre de partículas extrañas	Cumple
Solubilidad	Soluble en agua caliente, alcohol, éter	Cumple
Acidez	No más de 0.001 de NaOHmL es requerido	Cumple
Punto de fusión	125°C – 128°C	Cumple
Residuo de ignición	No mas 0.05%	Certificado de análisis de laboratorio adquirido.

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

De acuerdo al cuadro N° 12-3, nos indica que el metilparabeno sódico cumple con el control de calidad según la metodología de la (USP)

Propilparabeno sódico

Tabla 13-3: control de calidad de los excipientes, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Cristales incoloros o polvo cristalino blanco, libre de partículas extrañas	Cumple
Solubilidad	Soluble en agua caliente, alcohol.	Cumple
Ph	Entre 4-5	Cumple
Punto de fusión	95°C – 98°C	Cumple
Residuo de ignición	No más 0.05%	Certificado de análisis de laboratorio adquirido.

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

De acuerdo al cuadro N° 12-3, nos indica que el propilparabeno sódico cumple con el control de calidad según la metodología de la. (USP 31, 2009, p 2961)

Citrato de sodio

Tabla 14-3: control de calidad de los excipientes, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Cristales incoloros o polvo cristalino blanco, libre de partículas extrañas	Cumple
Solubilidad	Soluble en agua	Cumple
Ph	Entre 8-8,7	Cumple
Punto de fusión	95°C – 98°C	Cumple
Residuo de ignición	No más 0.05%	Certificado de análisis de laboratorio adquirido.

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

De acuerdo al cuadro N° 14-3, nos indica que el citrato de sodio cumple con el control de calidad según la metodología de la. (USP 31, 2009, p 2694)

Ácido cítrico

Tabla 15-3: control de calidad de los excipientes, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	Cristales o polvo translúcidos, incoloros, inodoro, fuerte sabor ácido	Cumple
Solubilidad	Muy soluble en alcohol y agua, soluble en éter.	Cumple
pH	Entre 4-5	Cumple
Punto de fusión	153°C	Cumple
Residuo de ignición	No más 0.05%	Certificado de análisis de laboratorio adquirido.

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

De acuerdo al cuadro N° 15-3, nos indica que el ácido cítrico cumple con el control de calidad según la metodología de (USP 31, 2009, p 2798)

Ácido ascórbico

Tabla 16-3: control de calidad de los excipientes, para la preformulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

Tipo de análisis	Especificación	Resultado
Descripción	es un cristal incoloro, inodoro, sólido, soluble en agua, con un sabor ácido	Cumple
Solubilidad	Muy soluble en agua.	Cumple
pH	Entre 3-4	Cumple
Punto de fusión	192°C	Cumple
Residuo de ignición	No más 0.05%	Certificado de análisis de laboratorio adquirido.

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

De acuerdo al cuadro N° 16-3, nos indica que el ácido ascórbico cumple con el control de calidad según la metodología de (USP 31, 2009 pp2753).

3.4. Estabilidad

3.4.1. Estabilidad del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*

Cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* en diferentes condiciones.

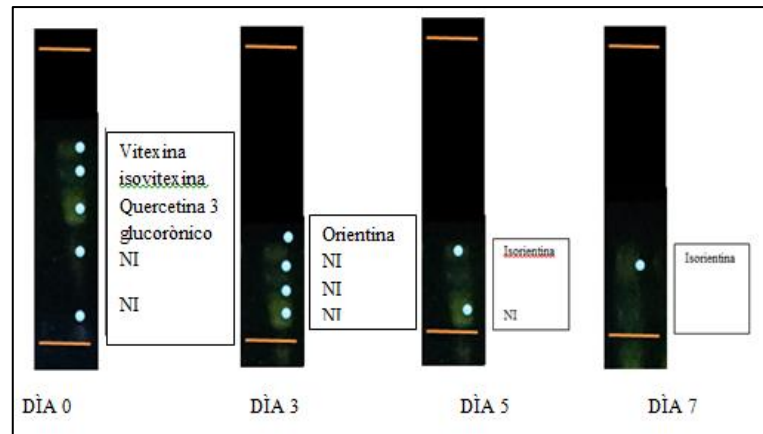


Figura N 2-3: cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* en Medio oxidativo

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

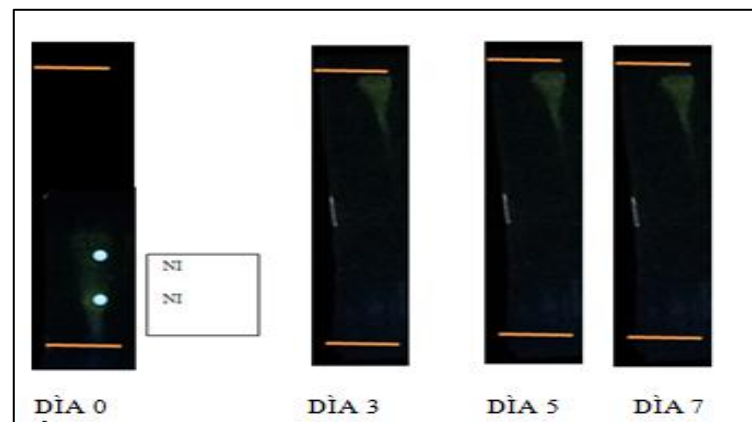


Figura N 3-3: cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* en Medio alcalino

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

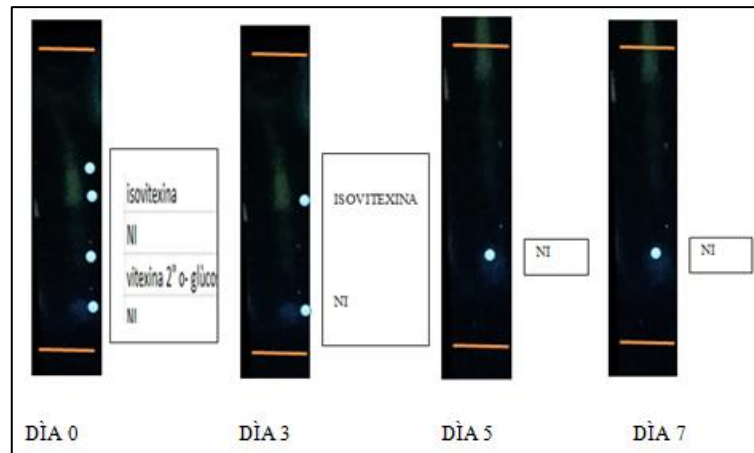


Figura N 4-3: cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* en Medio ácido

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

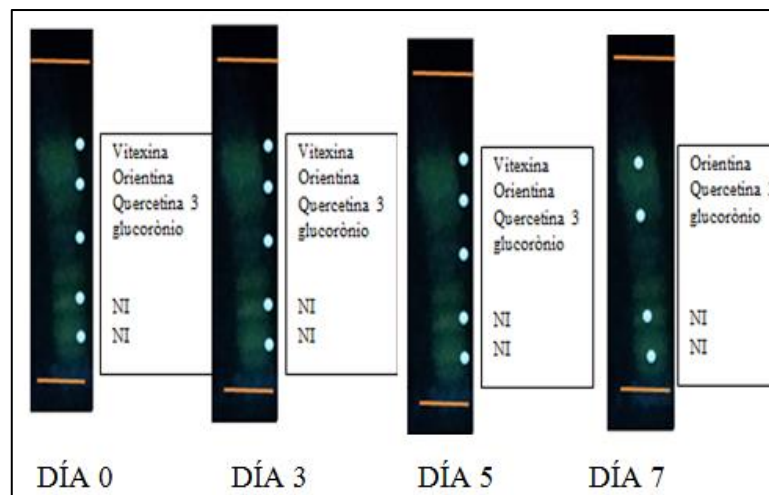


Figura N 5-3: cromatografía en capa fina de la estabilidad del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* en Medio de luz natural

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

En las diferentes cromatografías realizadas al extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* durante el ensayo de estabilidad forzada, evidenció diferentes compuestos identificados.

- En la figura N°2-3 en el medio oxidativo al calcular diferentes RF de las muestras se identifica diversos flavonoides como la vitexina, isovitexina, quercetina 3- glucorónico y orientina. Se conoce que el principal flavonoide de acción farmacológica con efecto ansiolítico es la vitexina, que al transcurrir los días y en condiciones extremas (temperatura elevada, medios ácidos, básico y oxidativos, luz solar) se ve afectada su estructura principal generado así flavonoides más estables como derivados de quercetina y vitexina, siendo estos los principales

metabolitos responsables de la actividad farmacológica, además se aprecia que a medida que transcurre el tiempo dichos compuestos se degradan de forma acelerada.(Enciso and Arroyo, 2011, pp 241-154).

La degradación de los flavonoides en condiciones extremas se debe a diversas reacciones químicas que sufre el grupo hidroxilo con el NaOH, lo que genera que las flavonas sea inestables en medios oxidativos extremos,(Fu et al., 2016)

- La Figura N° 3-3 en la cromatografía del medio alcalino, se evidencia que los compuesto flavonicos sufren una degradación inmediata por lo que no se aprecia ningún compuesto especifico, esto se debe a que las condiciones extremas del medio alcalino por tener un exceso de grupos hidroxilos hace que los compuestos flavonicos adquieran una forma básica lo que les hace insolubles en medios acuosos y alcohólicos. (Martinez, 2005, p 86)

- La Figura N° 4-3 en la cromatografía en medio acido donde su pH es menor a 2, se evidencia que los RF calculados corresponden a los derivados de la vitexina, y por ser la vitexina análogo de la crisina tiene actividad terapéutica ansiolítica, sin embargo al comparar con los compuestos de la cromatografía inicial del extracto, se evidencia una degradación por completo de la mayoría de los compuestos del extracto inicial, pero al pasar el tiempo en condiciones acidas extremas la vitexina sufre una degradación en su estructura que al final del ensayo no se identifica compuestos flavonicos, esto se puede deber a que los grupos hidroxilos de la vitexina se ven saturados por el HCl lo que genera reacciones en los dobles enlaces del anillo pirano, cambiando así la estructura del compuesto. (Martinez, 2005, pp 87-93)(Cartaya and Reynaldo, 2001, pp 183-191).

- La Figura N° 5-3 de la cromatografía de flavonoides en el medio de luz natural por 7 días, al calcular los diferentes RF identificados y comprar con bibliografía determina que corresponde a los compuestos de vitexina, quercetina 3-glucorónico y orientina, los tres compuestos flavonicos coinciden con la cromatografía inicial, sin embargo se evidencia que al día 7 la vitexina se presenta en la cromatografía, pero los compuestos como quercetina y orientina se presenta en las cromatografías realizadas de los 7 días, la degradación de vitexina frente a la luz se debe a que es una flavona muy sensible al igual que la quercetina y la orientina pero su inestabilidad frente a la radiación de luz solar intensa, se debe a que en su estructura tiene solamente 2 compuestos hidroxilos, lo que le hace más inestable por generar reacciones de hidroxilación, (Cartaya and Reynaldo, 2001, pp 281-193)(Itidel et al., 2013, pp 143-152)

Cuantificación de flavonoides totales y determinación del pH en el extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* en diferentes condiciones de estabilidad

Tabla 17-3: Determinación de la concentración de flavonoides (mg de Quercetina) en el jarabe de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*.

CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>Passiflora tripartita</i>				
Extracto	Día 0	Día 3	Día 5	Día 7
Oxidativo	12,335	8,370	7,269	3,084
Alcalino	4,185	3,084	16,520	0,441
Ácido	14,758	6,167	6,388	4,405
Luz	24,229	23,568	21,586	20,484

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Tabla N 18-3: test de pos- hoc HSD Tunkey al 95% de la concentración de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico del *P.tripartita* durante 7 días de estudio de estabilidad.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: pH

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	413,211 ^a	26	15,893	8928,511	,000
Intersección	1026,596	1	1026,596	576739,093	,000
Condiciones_extremas_del_extracto	,000	0	.	.	.
Día	,015	1	,015	8,491	,033
Absorbancia	,010	10	,001	,550	,803
Condiciones_extremas_del_extracto * Día	,000	0	.	.	.
Condiciones_extremas_del_extracto * Absorbancia	,000	0	.	.	.
Día * Absorbancia	,000	0	.	.	.
Condiciones_extremas_del_extracto * Día * Absorbancia	,000	0	.	.	.
Error	,009	5	,002		
Total	1446,526	32			
Total corregida	413,220	31			

a. R cuadrado = 1,000 (R cuadrado corregida = 0,9999)

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Como se puede observar en el test de Tunkey de la tabla N° 18-3 los resultados obtenidos estadísticamente indica que al combinar las condiciones extremas con los días de ensayo, si producen cambios significativos en la concentración de flavonoides.

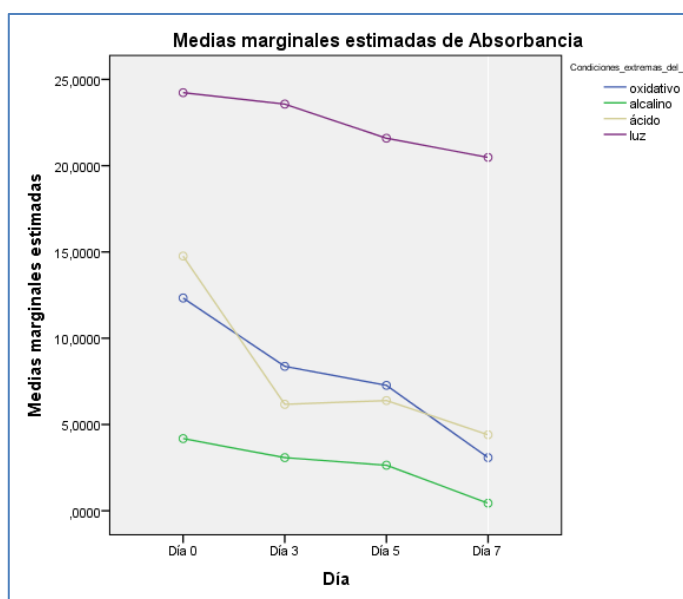


Figura N 6-3: Efecto de las condiciones extremas en la concentración de flavonoides en una estabilidad de 7 días.

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

En este gráfico se observa que la concentración de flavonoides varía de acuerdo a las condiciones extremas, además se evidencia que a medida que transcurre el tiempo existe una disminución de flavonoides totales.

Los resultados al ser comparados con las cromatografías de estabilidad del extracto de la *P.tripartita* se determina que en condiciones de luz natural se conservan mayor cantidad de flavonoides. Es así que de acuerdo a la hipótesis nula se rechaza H_0 y se acepta H_1 ya que las condiciones extremas afectan a la concentración de flavonoides y solamente en condiciones de luz natural los flavonoides se conservan tanto en la cromatografía como en la cuantificación por espectrofotometría.

Tabla 19-3: Determinación de pH del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*.

pH del extracto hidroalcohólico de <i>Passiflora tripartita</i>				
EXTRACTO	DÍA 0	DÍA 3	DÍA 5	DÍA 7
OX	5,69	5,57	4,04	4,01
AL	10,03	11,54	11,95	12,00
AC	2,10	2,02	1,45	1,00
LUZ	5,01	4,91	4,85	4,79

Realizado por: CHARCO, Maritza. 2017

Tabla N 20-3: test de pos- hoc HSD Tukey al 95% de pH en el extracto hidroacohòlico de *P.tripartita* durante los 7 días de estudio de estabilidad.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Absorbancia

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2007,026 ^a	28	71,680	729,315	,000
Intersección	3296,955	1	3296,955	33545,413	,000
Condiciones_extremas_del_extracto	,000	0	.	.	.
Día	2,614	1	2,614	26,593	,014
pH	1,848	13	,142	1,446	,427
Condiciones_extremas_del_extracto * Día	,000	0	.	.	.
Condiciones_extremas_del_extracto * pH	,000	0	.	.	.
Día * pH	,000	0	.	.	.
Condiciones_extremas_del_extracto * Día * pH	,000	0	.	.	.
Error	,295	3	,098		
Total	5328,039	32			
Total corregida	2007,321	31			

a. R cuadrado = 1,000 (R cuadrado corregida = ,998)

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Como se puede observar en el test de Tukey de la tabla N° 20-3 los resultados obtenidos estadísticamente indica que al combinar las condiciones extremas y el tiempo de ensayo, si producen cambios significativos en el pH, ya que se evidencia una disminución de pH en el medio ácido, y un aumento d pH en el medio alcalino.

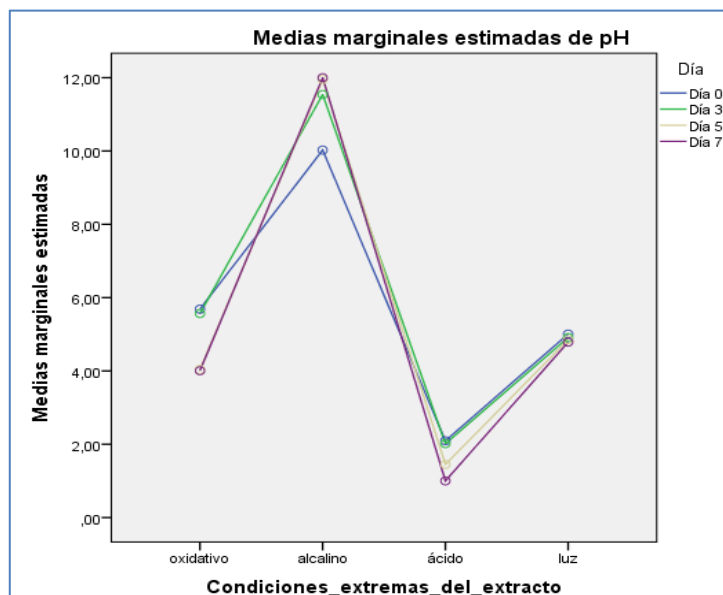


Figura N 7-3: Efecto de las condiciones extremas en la variación de pH en una estabilidad de 7 días.

Realizado por: Charco M. 2017

En la gráfica N° 7-3, se observa que las condiciones extremas utilizadas para el ensayo de estabilidad, modifica el pH en el extracto, al igual que la concentración de flavonoides, sin embargo se aprecia en la gráfica que a un pH entre 4 y 5 existe mayor concentración de flavonoides, además al comprar con bibliografía sabemos que los flavonoide de tipo flavona son más estables en este pH, se asume entonces que es debido a su formación de sales en este pH lo que genera una mejor estabilidad y refleja mayor concentración de flavonoide en este medio ácido.

3.4.2. Estabilidad del jarabe en condiciones de temperatura elevada (45°C)

Tabla 21-3 Cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría de jarabe.

Concentración de flavonoides de las formulaciones de jarabe				
JARABE	Día 0	Día 7	Día 15	Día 30
FORMULA 1 pH 4	22,247	19,383	17,841	14,537
FORMULA 2 pH 5	22,687	22,467	22,467	22,247
FORMULA 3 pH 6	21,586	18,943	16,960	13,656

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Tabla N 22-3: test de pos- hoc HSD Tukey al 95% de la concentración de flavonoides totales en las formulaciones de jarabe durante los 30 días de estudio de estabilidad.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: pH					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	16,419 ^a	16	1,026	9,446	,003
Intersección	505,827	1	505,827	4656,330	,000
Absorbancia	,135	13	,010	,095	1,000
Formulaciones	4,871	2	2,435	22,419	,001
Absorbancia * Formulaciones	,000	1	,000	,000	1,000
Error	,760	7	,109		
Total	610,896	24			
Total corregida	17,179	23			

a. R cuadrado = ,996 (R cuadrado corregida = ,9985)

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Como se puede observar en el test de Tukey de la gráfica N° 8-3 los resultados obtenidos estadísticamente indica que las diferentes formulaciones de jarabe en el transcurso de los 30 días si producen cambios significativos en la concentración de flavonoides

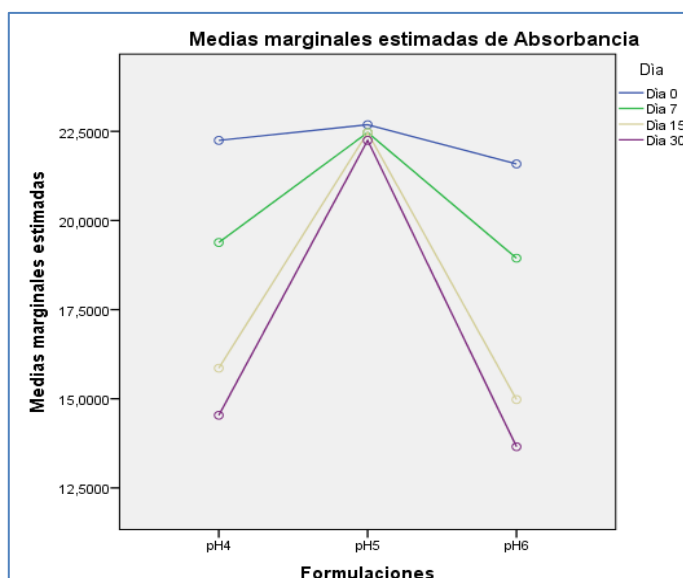


Figura N 8-3: Efecto de las condiciones extremas en la concentración de flavonoides en una estabilidad de 7 días.

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

En el gráfico N° 8-3 se observa que la concentración de flavonoides varía de en las diferentes formulaciones de jarabe, además se evidencia que a medida que transcurre el tiempo existe una disminución de flavonoides totales, es así que se compara con la concentración de flavonoides totales del extracto puro y existe semejanza en su variación de concentración de compuestos

flavonicos al igual que una disminución medida que transcurre el tiempo en un ambiente de luz natural.

Los resultados obtenidos en las diferentes formulaciones de jarabe al ser comparados con las cromatografías de estabilidad del extracto de la *P.tripartita* se determina que la concentración de flavonoides es mayor a un pH 5. Determinado así que la formulación a pH 5 evidencia mayor % de flavonoides y es más estable durante el tiempo de estudio ya que no existe una disminución significativa de la concentración de flavonoides, lo que favorecería su acción farmacológica.

Es así que de acuerdo a la hipótesis nula se rechaza Ho y se acepta H1 ya que la concentración de flavonoides en las diferentes formulaciones se ven afectadas a medida que transcurre el tiempo a una temperatura elevada.

Tabla 23-3: Determinación de pH del jarabe

pH de estabilidad de las formulaciones de jarabe				
JARABE	Día 0	Día 7	Día 15	Día 30
FORMULA 1 pH 4	4,02	4,00	3,99	3,98
FORMULA 2 pH 5	5,05	5,04	5,04	4,53
FORMULA 3 pH 6	6,02	6,02	6,01	6,01

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Tabla N 24-3: test de pos- hoc HSD Tunkey al 95% de pH en las diferentes formulaciones de jarabe a base del extraacto hidroacohòlico de *P.tripartita* durante 30 días de estudio de estabilidad.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Absorbancia					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	279,053 ^a	18	15,503	199,716	,000
Intersección	8426,786	1	8426,786	108557,761	,000
Formulaciones	,000	0	.	.	.
Día	21,159	3	7,053	90,861	,000
pH	,485	6	,081	1,042	,492
Formulaciones * Día	,000	0	.	.	.
Formulaciones * pH	,000	0	.	.	.
Día * pH	,000	1	,000	,000	1,000
Formulaciones * Día * pH	,000	0	.	.	.
Error	,388	5	,078		
Total	9177,205	24			
Total corregida	279,442	23			

a. R cuadrado = ,999 (R cuadrado corregida = ,994)

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Como se puede observar en el test de Tukey de la gráfica N° 24-3 los resultados obtenidos estadísticamente indican que el tiempo no genera cambios significativos en el pH, pero si se evidencia diferencia significativa al combinar las diferentes formulaciones a diferentes pH en el transcurso del tiempo de ensayo. Se estima que esta diferencia en el pH genera diferencia significativa en la concentración de flavonoides de las formulaciones.

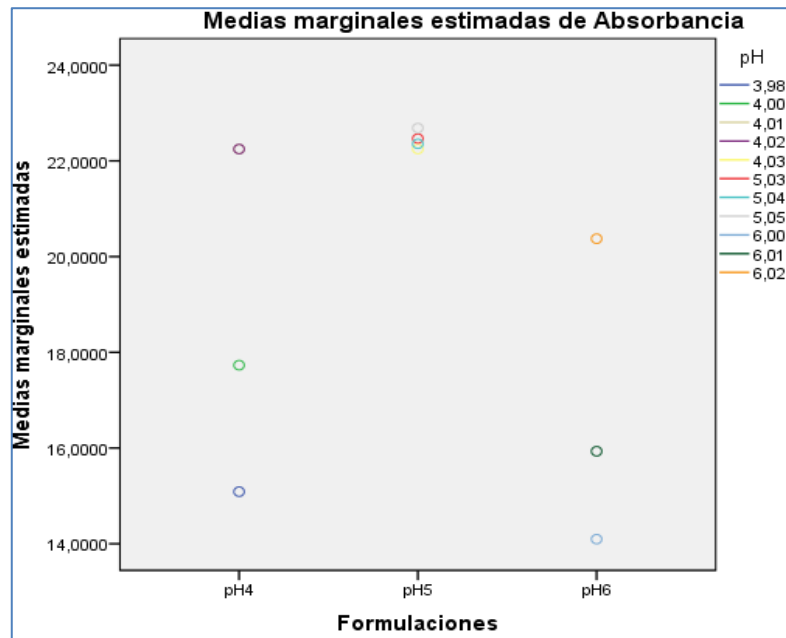


Figura N 9-3: Efecto de La variación de pH en una estabilidad de 30 días.

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

En la figura N° 9-3 se evidencia mayor concentración de flavonoides y presenta mejor estabilidad la formulación 2 a un pH 5, sin embargo en la formulación 1 a un pH 4 conserva la concentración del activo pero en el transcurso del tiempo y a una temperatura mayor a los 45°C existe una pérdida de flavonoides disminuyendo su %, mientras tanto la formulación 3 a pH 6 en función del tiempo y la temperatura tiende a disminuir su % de flavonoides y su pH Se inclina a la neutralidad.

Los resultados al ser comparados con bibliografía y con la cromatografía del extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* fluido determina que los compuestos flavonicos son más estables en medios ácidos, presentando mayor concentración de flavonoides a un pH 5, sin embargo el tiempo y la temperatura puede afectar la estabilidad del activo.

Es así que de acuerdo a la hipótesis nula se acepta H_0 y se acepta H_1 ya que el tiempo y la temperatura no afectan significativamente a la concentración de flavonoides pero si se ve afectada en medios muy ácidos y básicos

3.4.3. Control microbiológico

Tabla 18-3: Determinación microbiológica del jarabe de extracto de *P. tripartita*.

ENSAYO	JARABE	VALOR ACEPTABLE (USP 28)
Coliformes totales	Ausencia	< 10 UFC
Coliformes fecales	Ausencia	Ausencia
Recuento de microorganismos aerobios mesofilos	8 UFC	< 10 UFC
Hogos y levaduras	Ausencia	< 100UFC

Realizado por: CHARCO Maritza, 2017

Los parámetros estudiados en esta tabla nos indican:

- Aerobios mesófilos totales: es un parámetro general indicativo de higiene.
- Coliformes totales y fecales: parámetro de contaminación fecal.
- Mohos y levaduras: parámetro indicativo de micotoxigenicidad potencial.

Los resultados del ensayo microbiológico ilustrados en la tabla N° 21-3, demuestra que la formulación de jarabe a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita var Jus*. Se encuentran dentro de los límites establecidos por la USP 30, ya que no se evidencia un desarrollo microbiológico abundante en ningún ensayo realizado, además se sabe que al no tener desarrollo microbiológico abundante indica que la formulación de jarabe cumple con los parámetros de calidad y seguridad. (USP 31, 2009)

Los resultados expresados indican un uso adecuado de los métodos de control microbiológico establecidos por la USP, y la ausencia de contaminación cruzada, determinando así la eficiencia de producción. (USP 31, 2009)(Maria, V, 2009, pp 115-122)

CONCLUSIONES

Según el control de calidad de la planta seca y el extracto fluido de la *P. tripartita*, se demostró que cumple con las características adecuadas para el proceso de elaboración farmacéutica, además que el extracto cumple con la concentración de activo necesaria para ser dosificado en una forma farmacéutica oral.

En la cuantificación de flavonoides (% Quercetina) en el extracto fluido de *P. tripartita* y en el jarabe, por espectrofotometría se obtuvieron concentraciones similares por lo que se concluye que estos compuestos no sufren degradación al combinarse con excipientes, sin embargo presenta mayor estabilidad al ser combinados con sales orgánicas.

El control de los excipientes utilizados en la formulación de jarabe se encuentra dentro de los parámetros establecidos por la USP 32, concluyendo así que todos los excipientes cumplen las características de calidad para la elaboración de los fitofármacos, además que las cantidades utilizados son permitidas por la OMS, de esta manera garantizamos seguridad en la utilización del producto terminado. Además el extracto hidroalcohólico empleado en la formulación no genera alteración con los excipientes.

Al estudio de estabilidad realizado al extracto hidroalcohólico de *P. tripartita*, se concluye que los flavonoides para su conservación y estabilidad dependen de un medio ácido a un pH de 4-5, además que los factores externos no influyen en su degradación, pero para su almacenamiento requiere envases que protejan de la luz ya que dichos compuestos suelen ser inestables en presencia de luz solar en tiempos prolongados y a temperaturas elevadas.

Concluido el estudio de estabilidad y realizado el análisis estadístico, el jarabe elaborado con mayor estabilidad es el que contiene un buffer de pH 5, componente de la fórmula 2, al mantener esta formulación presenta valores más altos del porcentaje de flavonoides totales y una mínima reducción de pH, presentando además calidad del producto terminado.

Tras la utilización de los métodos de control microbiológico establecidos por la USP XXVIII, para el recuento total de mesófilos aeróbicos, coliformes totales, coliformes fecales, levaduras y hongos, no se observa ningún tipo de crecimiento microbiológico en el producto terminado, es así que se concluye que las formulaciones han sido elaborados bajo un control estricto de calidad, se garantiza su inocuidad y seguridad de consumo, por tanto nos indica que es apto para el uso humano.

Se afirma la hipótesis planteada, ya que el jarabe elaborado a base de extracto hidroalcohólico de *P. tripartita* cumplió con las especificaciones establecidas por la USP 30, tanto en aspecto organoléptico, físico, químico y microbiológico, a condiciones normales y extremas, en un tiempo determinado.

RECOMENDACIONES

Realizar estudios de estabilidad acelerada a largo plazo de acuerdo a la farmacopea, ya que se obtendría datos más reales con relación a la estabilidad del producto.

Efectuar estudios clínicos para determinar si existe un cambio en la biodisponibilidad del fitofármaco.

El proceso de manufactura y estudio de cada uno de los componentes se debe realizar en un área oscura para no tener contacto directo de luz solar con el producto y los envases, ya que se ha demostrado que los flavonoides son sensibles a la presencia de luz solar.

Se recomienda realizar estudios de estabilidad del jarabe en diferentes tipos de envases, los cuales pueden ser frascos color ámbar de plástico y vidrio, con la finalidad de asegurar que el envase sea un factor determinante en su almacenamiento y estabilidad del producto elaborado.

Se recomienda la preparación de jarabes pilotos a concentraciones menores y mayores de extracto y de buffer, así como también la utilización de extractos secos y blandos.

BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA L; RODRIGUEZ,A.; LOTERO.** “Epidemiología de los trastornos de ansiedad y depresión de adolescentes en una población”. *Revista. Salud*, vol. 37, n°3 (2008), pp. 145-165.
- ADRIANA, A;** et al. ‘Efectos centrales comparativos del extracto de la hoja acuosa de dos poblaciones de *Passiflora edulis*’, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2015, Brasil pp. 499–505. Consulta: 10-01-2017, disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X15001209>.
- AGUILANDO, J.** Tecnología farmacéutica II. *scribd.com*. [En línea], 2009, (México). vol. 7, pp. 14-54. [Consulta: 25 Julio 2015.]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/191284531/Antologia-de-tecnologia-farmaceutica-II>.
- ALFRED; DARR.** Elementos de la Tecnología Farmacéutica. 2ª. ed. Madrid- España, 1982. pp. 89-123
- ALMA-ATA. 2012.** Conferencia Internacional sobre Atención Primaria de Salud,. [En línea], 2012 (3)8, pp. 354-378. [Consulta: 13 febrero 2017]. Disponible en: http://www.promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/promocion/1_declaracion_deALMA_ATA.pdf.
- ALVARO, G.** ‘Obtención , caracterización y evaluación de las propiedades físico- químicas de los extractos fluidos , blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio’, *Revista Colombiana de productos naturales*, 2005. Colombia, pp 162-194, consulta, 10-01-2017, disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0951_Q.pdf.
- ANDRESSA, C;** et al. ‘Implicación de la vía GABAérgicas en la actividad sedante de apigenina, el flavonoide principal de *Passiflora quadrangularis* pericarpio’, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, (2015), Brasil, pp. 158–163, consulta, 10-01-2017 disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X15000678>.
- ASADUJJAMAN, M.,**et al, ‘Potencial medicinal de *Passiflora foetida* extractos de plantas L.: actividades biológicas y farmacológicas’, *Journal of Integrative Medicine*, (2014),

España, pp 121–126. Consulta 11-01-2017, disponible en ;
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095496414600170>.

AUSSAVASHAI S., DONRUEDEE, P. S. AND IAN H. ‘La determinación cuantitativa de vitexina en *Passiflora foetida* Linn. hojas usando HPTLC’, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicina*, (2016), España, pp. 216–220. Consulta 11-01-2017. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169115002804>.

BARZAGA F., “Actividad expectorante de formulaciones a partir de *Plectranthus amboinicus* (Lour)”. *Spreng (orégano francés)*.vol. 2, n°4 (2009), pp.1028-4796.

BOND, S. et al. ‘Anxiety, depression and PTSD-related symptoms in spouses and close relatives of burn survivors: When the supporter needs to be supported’, *Burns Elsevier Ltd and International Society of Burns Injuries*, (2016). España pp. 1–10. Consulta 11-01-2017. Disponible en :<<http://doi:10.1016/j.burns/elsevier/depression/pii/A92077425>>

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’, *Journal of Ethnopharmacology*, (2016). Unid Estados, pp. 59–66.. Consulta 11-01-2017. Disponible en: <<http://jauisy/farmacologi/psifloraceas/pii10.1016/91771>>

CANALES; MEMBREÑO. Propuesta de tres preformulaciones de un jarabe antidiarreico a base de los extractos de hojas secas de *psidium guajava*, *Revista formulaciones magistrales* . vol. 4, n°6 (2009), pp. 324-328.

CANNA. 2015. Fundación CANNA. [En línea] 2015. <http://www.fundacion-canna.es/flavonoides>.

CAÑIGUERAL. “Plantas Medicinales y Fitoterapia”, *Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo*. [En línea], 2013, (España). 15 (5), pp. 43-76. [Consulta: 16 de Marzo de 2017]. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf.

CARVAJAL. Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad. *Plants and species* vol. 13, n° 4 (2009), (España). pp. 23-54.

CARTAYA, O; REYNALDO, I ‘Flavonoides: características químicas y aplicaciones’, *Cultivos Tropicales*, (2001), 22(2), pp. 5–14.

CEPEDA, M. *Control de calidad de comprimidos elaborados con extractos de alcachofa (Cynara scolymus) y Romero (Rosmarinus officinalis) para neo-fármacos.*(tesis pregrado).Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia .Riobamba- Ecuador. (2013). pp 34-94

CHISHOLM, D., et al. ‘Scaling-up treatment of depression and anxiety : a global’, *The Lancet Psychiatry*.(2014). Unid Estates, pp. 415–424. Consulta 14-01-2017. Disponible en: <http://www.psychiatry.br/pdf/rbpm/v16n4/a01v16n4.pdf>

CUESTA, R. “*Toxicología de los barbitúricos*”; segunda ed. Brasil, Caballero Martínez, (2013), pp 173-182

DOLD, M., et al. ‘Clinical characteristics and treatment outcomes of patients with major depressive disorder and comorbid anxiety disorder - results from a European multicenter study’, *Journal of Psychiatric Research. Elsevier Ltd*, (2017). España pp. 1–24. Consulta 12-03-2017. Disponible en:<[http://study/ doi: 10.1016/j.jpsychires.2017.02.020](http://study/doi:10.1016/j.jpsychires.2017.02.020).>

ELORZA, J.; MICÓ, Y. “Farmacos antidepresivos” *Salud Antidepresivos*. Vol. 14, n°4 (2004),pp. 19-20.

ENCISO, E. AND ARROYO, J. (2011) ‘Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas’, *An Fac med*,(2011), Chile. pp. 231–237.

ESTRADA, C.. *Tecnología Farmacéutica*. [blog]. [Consulta: 28 de noviembre 2016] Disponible: <http://farmacotecniafruto.blogspot.com/p/estudios-de-estabilidad-de-medicamentos.html>.

ESPINAL, M; et al, (2016) ‘*Impacto de las propiedades de pectina en la digestión de los lípidos en condiciones gastrointestinales simuladas: (comparación de los cítricos y plátano fruta de la pasión Passiflora tripartita . Var mollissima) pectinas*’, *Food Hydrocolloids*,(2016), pp. 329–342. (consultado 12-02-2017), disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15002532>.

EUGENIA. M VARGAS. F, “desarrollo de una preformulación para un medicamento con actividad analgésica, antipirética y antiinflamatoria. (En línea), 2009 universidad nacional autónoma de México.(consultado 24-03-2017). Disponible en: <http://avalon.cuautitlan2.unam.mx/biblioteca/tesis/270.pdf>.

FERNÁNDEZ, M. L. ‘Estudio Fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante in vitro de hojas y flores de *P. tripartita*’,(tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Riobamba Ecuador (2016), pp. 19–23.

FIGUEROA, L; BAVESTRELLO, M. “Estudios de las Passiflora”. *Salud Natural*. [En línea]. 2013, (España). 14 (3). pp. 36-56. [Consulta: 5 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.ohani.cl/hierbas.htm>.

FU, B. ‘The influence of light quality on the accumulation of flavonoids in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaves’, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*,(2016). Argentina, pp. 544–549.(consulta 21-02-2017). Disponible en: <http://www.journal.br/pdf/rbpm/v16n4/a01v16n4.pdf>

GEISON. M, et al ‘Aislamiento de C- Glicosilflavonoides con actividad inhibidora de la α -glucosidasa de *Passiflora bogotensis* Benth por cromatografía en contracorriente gradiente de alta velocidad’, *Elsevier*, (2015), Buenos Aires, pp. 105–110. (consulta 23-02-2017), disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1570023215001841>.

GUERRA, L. D. ‘Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de extractos de *Bryophyllum pinnata*.’ *Elsevier*,(2014) España, pp. 51–58.

GUTIÉRREZ, S ‘Medicinal plants for the treatment of nervous anxiety, and depression in Mexican Traditional Medicine’, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. España, (2015), 24(5), pp. 591–608. (Consulta 12-02-2017). Disponible en: <http://medicinal/pharmacognosy/A9138> 10.1016/j.b.

GUTSCHE, D; PASTO.J. “Fundamentos de química orgánica”. *Mundos de quimicamut*. Vol. 15, n° 4 (2000), (España), pp. 28-30 .

- HELLEM, T. L.** ‘A Review of Methamphetamine Dependence and Withdrawal Treatment: A Focus on Anxiety Outcomes’, *Journal of Substance Abuse Treatment. Elsevier* (2016); España, 71, pp. 16–22.
- HIDALGO, M.** Plantas Medicinales . *Métodos Extracción* . [En línea], 2009, (México) 19 (3), pp. 78-79. [Consulta: 28 Octubre de 2016.]. Disponible en: <http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/m%C3%A9todos-de-extracci%C3%B3n/>.
- HOSSEIN, A.** ‘Desarrollo de un proceso enzimático tratamiento previo y el filtro de recubrimiento se secuenció para aclarar jarabe de dátiles’, *Elsevier*,(2016) , Sevilla, pp. 193–204.(consulta 14-02-2017), disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308516301602>.
- ITIDEL, C., CHOKRI, M., MOHAMED, B. AND YOSR, Z.** ‘Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content variation among Tunisian natural populations of *Rhus tripartita* (Ucria) Grande and *Rhus pentaphylla* Desf.’, *Industrial Crops and Products*. Elsevier B.V., 51 (2015), pp. 171–177. doi: 10.1016/j.indcrop.2013.09.002.
- LEMA, M.** “Control de calidad de comprimidos elaborados con extractos de alcachofa (*cynara scolymus*) y romero (*rosmarinus officinalis*) para neo-fármacos”. (Tesis pregrado). Escuel Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador), 2013. p. 67
- LEPIDIUM, A.** (2009) ‘Extracto acuoso de *Lepidium meyenii* Walp y su papel como adaptógeno , en un modelo animal de resistencia física’. Holis Matias. (2009). pp. 181–185.
- LIU, J.** (2015) ‘GABA and 5-HT systems are implicated in the anxiolytic-like effect of spinosin in mice’, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. Elsevier Inc., 128, Madrid, (2015) pp. 41–49, (Consultado 15-03-2017), disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/579/57929946007.pdf>.
- LUMA, W, et al** (2016) ‘Estudio comparativo de *Passiflora* taxones hojas: II. Un perfil cromatográfico’, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. Elsevier . Zagarosa. (2017), pp. 40–49. (consultado 21-02-2017). Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X16301995>.

- MARÍN, C.** “Especies de Passifloras en zonas tropicales”. *Catálogo de Biodiversidad*. [En línea], 2015, (Brasil). 34 (5), pp. 157-161. [Consulta 20 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.biodiversidad.co/fichas/4958#nombres>.
- MARKES, R.** “Procedimiento de elaboracion de formas farmaceuticas” *Journal of process Pharmacop*. [En línea], 2015, (United State of América). 129 (4), pp. 459-465. [Consulta: 23 de noviembre de 2016] Disponible en: <http://cofcaceres.portalfarma.com/DocumentosDpto/CIM/PNT/FORMASFARMACEUTICAS/Elaboraci%C3%B3n%20y%20Control%20de%20Emulsiones.pdf>.
- MARTÍNEZ, A. 2011.** *Historia Pasifloras*. [En blogs]. [Consulta: 14 diciembre 2016]. Disponible en: <http://familiapassifloraceaecr.blogspot.com/>.
- MINISTERIO DE AND PUBLICA, S.** ‘Reglamento Y Control De Productos’(en línea), Ecuador, (2006), (Consultado 28-01-2017), disponible en: <http://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/07/Reglamento-y-Control-de-Porductos-Naturales-de-Uso-Medicinal-Decreto-Ejecutivo-1395.pdf>.
- MOWSHIS H.** “Ministerio de salud”, *UNIMED*. [En línea], 35 (5), pp. 35-78. [Consulta: 15 de febrero de 1017]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18840es/s18840es.pdf>.
- MÜLLER, S. et al.** “LC and UV determination of flavonoids from Passiflora alata medicinal extracts and leaves”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 37 n°2 (2005), (Unted State of Amecica) pp. 399–403.
- OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** “Medicina tradicional Informe de la Secretaría”, *56a Asamblea Mundial De La Salud*, (2003) pp. 1–5.
- OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.** “Estrategia de la oms sobre medicina tradicional”, (2013). PP. 36-488.
- PINDUISACA, E.** “Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante de la passiflora ligularis” (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Bioquímica y Farmacia. (Riobamba-Ecuador), 2016. P. 45.

PONTIGGIA, R. “Toxicología y seguridad de los alimentos”. [En línea] 2011.(Brasil). 28, (3), pp. 78-83. [Consulta: 13 febrero 2017]. Disponible en: http://www.ub.edu.ar/revistas_digitales/Ciencias/A2Num5/articulos.htm.

PROMESAS DE PASSIFLORAS. *Academia edu passiflora*. [blog] 2016 [Consulta en : 25 de febrero de 2017]. Disponible en: http://www.academia.edu/8718257/Promesas_de_las_pasifloras.

RIOFRÍO BASANTES, K. A. (2009) ‘Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de taxo (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) en ratones (*mus musculus*)’ (tesis pregrado), Escuela Superior Politecnica Dechimborazo, Facultad De Ciencias, Escuela De Bioquímica Y Farmacia. (2009). Riobamba Ecuador. pp. 1–172.

ROVER, M. R. AND BROWN, R. C. ‘Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin-Ciocalteu method’, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. Elsevier B.V. (2013), 104, pp. 366–371.

SARAVANA, S, et al, ‘Efectos de la luteolina y quercetina 3-β- D glucósido identificados a partir de *Passiflora subpeltata* hojas contra el acetaminofeno hepatotoxicidad inducida en ratas’, *Biomedicina y Farmacoterapia*, (2016), pp. 1278–1285. (Consultado 12-03-2017), disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332216306941>.

SOLLOZO, M. I; CAMARENA, E. AND LÓPEZ, C. (2011) ‘Medicina tradicional : estudios preclínicos de plantas con propiedades ansiolíticas’, *Www.Medigraphics.Org.Mx*, VI(2), (2011), pp. 78–84.

SHARAPIN, N. “Elaboración de fitofármacos”. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. n°V 45 (2001), (Colombia) p. 189.

SHYEMATH, D. “Fitoterapia”. *Salud por las Plantas Medicinales*, vol.33, n°3 (2008), (United State of America), pp. 345-349.

TOLEDO, A. Agronomo global. flor de la pasión usos medicinales, interacciones, efectos secundarios, dosis”. *Fitomedicina*. [en línea], Lima-Perú: Isabel, 2010. [Consulta: 23 enero 2017]. Disponible en: <http://es.hicow.com/flor-de-lapasi%C3%B3n/ansiol%C3%A>.

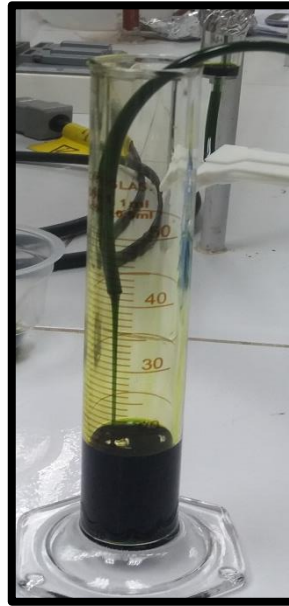
TORRES, B., et al 'Evaluación de la toxicidad aguda de extractos de plantas medicinales por un método alternativo, (2007), ed 2. Pp. 73-92.

VARGAS L. "Desarrollo de una preformulación para un medicamento con actividad analgesica, antipiretica y antiinflamatoria" Suma Formulaciones magistrales. (México), n° 234 (2009), (méxico). pp. 45-49.

ZUCOLOTTI. S., et al 'Perfiles químicos de la preparación tradicional de cuatro especies de pasifloras de América del Sur mediante técnicas cromatográficas y electroforéticas capilares', *Brazilian Journal of Pharmacognosy.*,(2016) pp. 451–458. (consultado 27-01-2017), disponible en: www.elsevier.com/locate/bjp.

ANEXOS

ANEXO A: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO FLUIDO DE *P. tripartita*.



ANEXO B: DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN *P. tripartita*.



ANEXO C: DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES *P. tripartita*.



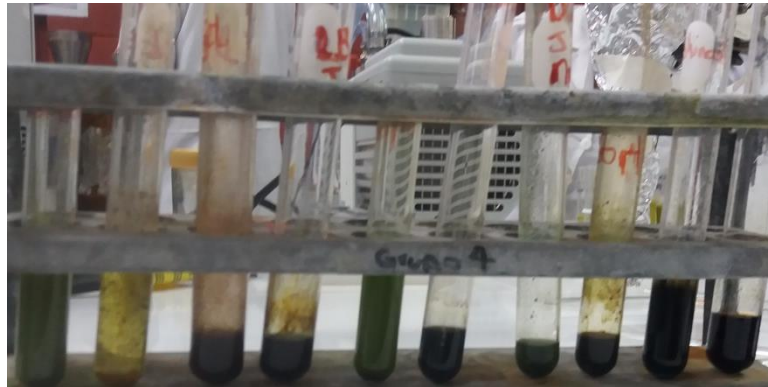
ANEXO D: CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *P. tripartita*.



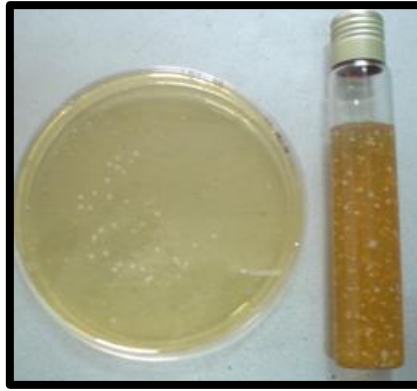
ANEXO E: DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD Y pH DE LOS EXTRACTOS



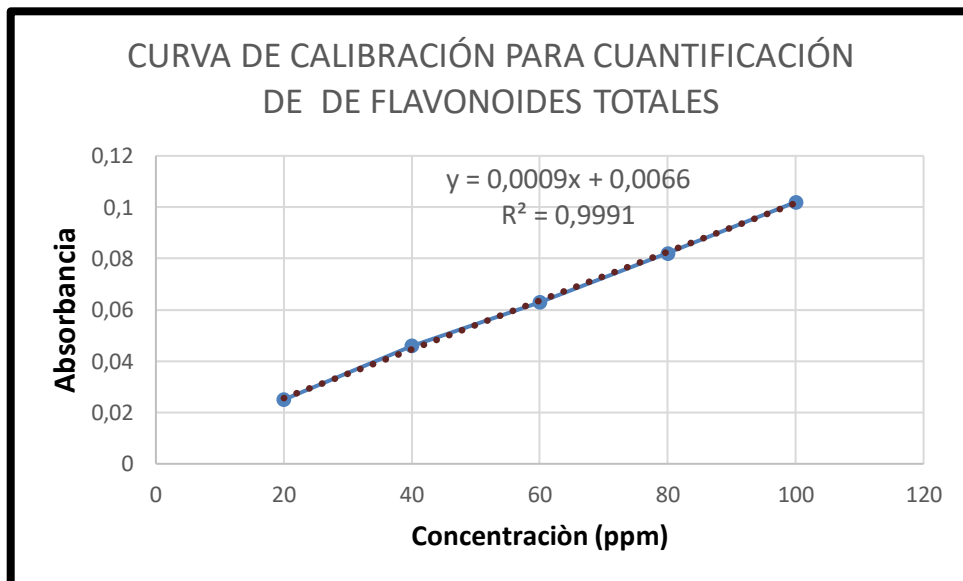
ANEXO F: TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE *P. tripartita*.



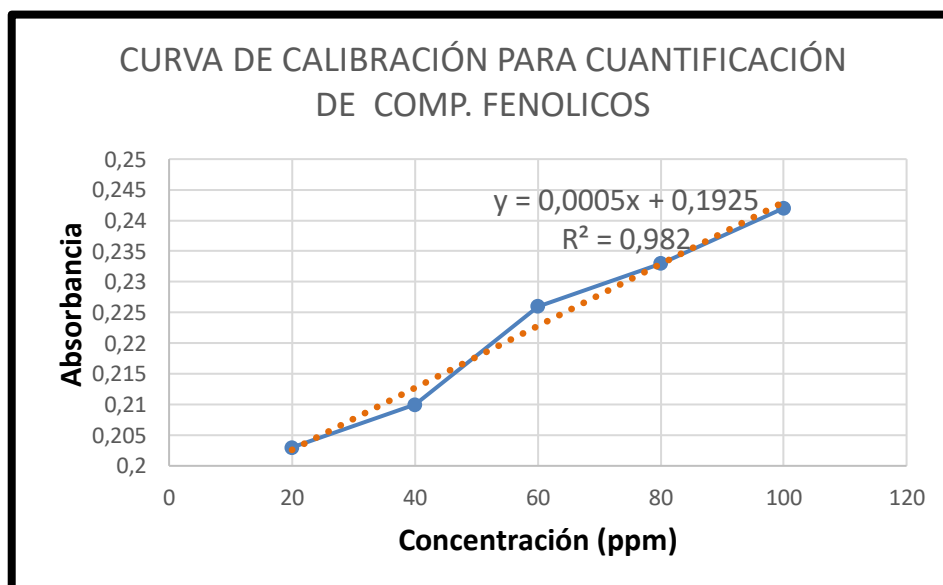
ANEXO G: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS



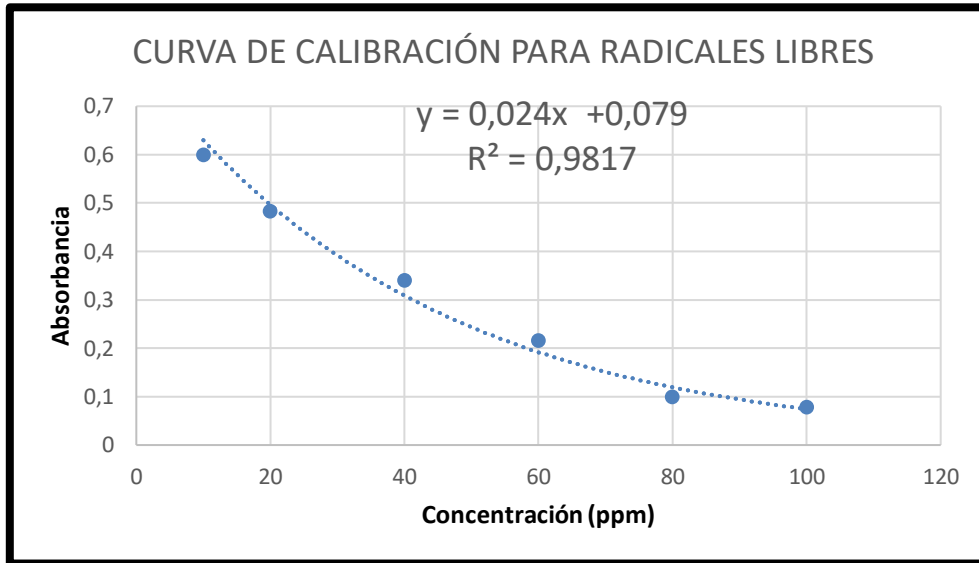
ANEXO H: CURVA DE CALIBRACIÓN DE RUTINA PARA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60 Y 100 ppm.



ANEXO I: CURVA DE CALIBRACIÓN DE RUTINA PARA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60 Y 100 ppm.



ANEXO J: CURVA DE CALIBRACIÓN DE RUTINA PARA RADICALES LIBRES EN CONCENTRACIONES DE 10, 20, 40, 60, 80 Y 100 ppm.



ANEXO K: ELABORACIÓN DE JARFABE DE *P. tripartita*.



ANEXO L: CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE EXCIPIENTES

VALDEZ.S.A

Ficha de datos de seguridad

Conforme al Reglamento (CE) no 1907/2006 (REACH)

Modificado por 2015/830/UE

D(+)-sacarosa $\geq 99,5$ %, RNase/DNase free

Número de artículo: 9097

Versión: 2.0 es

Reemplaza la versión de: 24.02.2016

Versión: (1.2)



SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

Información sobre propiedades físicas y químicas básicas Aspecto

Aspecto

Estado físico	sólido (polvo cristalino)
Color	blanco
Olor	inodoro
Umbral olfativo	No existen datos disponibles

Otros parámetros físicos y químicos

pH (valor)	7 (100 g/l, 20 °C)
Punto de fusión/punto de congelación	169 - 170 °C a 1.013 hPa
Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	Esta información no está disponible.
Punto de inflamación	no es aplicable
Tasa de evaporación	no existen datos disponibles
Inflamabilidad (sólido, gas)	No inflamable
<u>Límites de explosividad</u>	
• límite inferior de explosividad (LIE)	esta información no está disponible
• límite superior de explosividad (LSE)	esta información no está disponible
Límites de explosividad de nubes de polvo	estas informaciones no están disponibles
Presión de vapor	Esta información no está disponible.
Densidad	Esta información no está disponible.
Densidad de vapor	Esta información no está disponible.
Densidad aparente	800 - 950 kg/m ³

Ficha de datos de seguridad

Nombre del Producto: ACIDO CITRICO

Fecha de Revisión: Marzo 2014. Revisión N°3

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

Apariencia:	Granulado
Color:	Blanco
Forma:	Sólido
Olor:	Inodoro
Claridad:	No disponible
Estado Físico:	Sólido
pH:	2.1 conc: 0.1M (solución)
Punto de fusión:	No disponible
Punto de congelación:	No disponible
Punto de ebullición:	No disponible
Punto de inflamación:	No disponible
Velocidad de evaporación:	No disponible
Limites de inflamabilidad en aire, Inferior, % por volumen	No disponible
Limites de inflamabilidad en aire, Superior, % por volumen	No disponible
presión de vapor:	No disponible
Densidad de vapor:	No disponible
Peso específico:	1.542
Densidad relativa:	1.542 g/cm ³
Solubilidad:	Soluble en agua
Coeficiente octanol/H ₂ O:	-1.72 a 20°C
Temperatura de auto ignición:	1010 °C (1850 °F)
Temperatura de descomposición:	No disponible
Peso molecular:	192.13 g/mol



Ficha de datos de seguridad

Nombre del Producto: METIL PARABENO

Fecha de Revisión: 15/06/2001

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

Apariencia:	Cristales incoloros o polvo cristalino blanco. Inodoro o olor débil característico, sabor ligeramente ardiente.
Gravedad Específica (Agua=1):	N.A.
Punto de Ebullición (°C):	270-280
Punto de Fusión (°C):	125 - 128
Densidad Relativa del Vapor (Aire=1):	N.A.
Presión de Vapor (mm Hg):	0.5 / 113°C
Viscosidad (cp):	N.A.
pH:	5.8
Solubilidad:	Soluble en acetona, alcohol, éter. Ligeramente soluble en agua, benceno, tetracloruro de carbono.