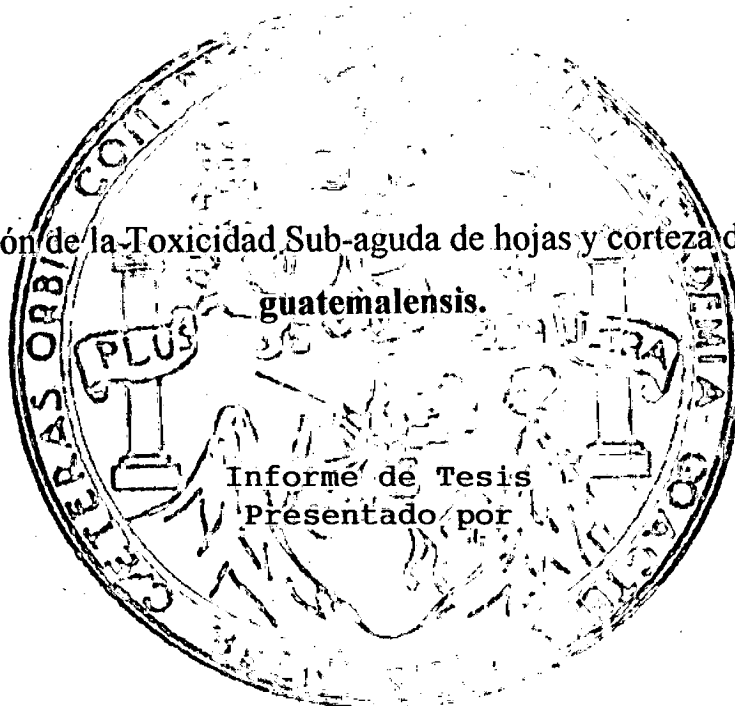


UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Evaluación de la Toxicidad Sub-aguda de hojas y corteza de *Croton*
guatemalensis.



Informe de Tesis
Presentado por

Roxanna Aracely Rivera Martínez

Para optar al Título de
Química Farmacéutica

Guatemala, octubre de 1996

CARLOS DE GUATEMALA
Centro

Dh
06
T(17/1)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO: LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR

SECRETARIO: LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA

VOCAL I: LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ

VOCAL II: LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN

VOCAL III: LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE

VOCAL IV: BR. ANA MARIA RODAS CARDONA

VOCAL V: BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DEDICATORIA

A DIOS:

Por ser mi guía y estar siempre a mi lado permitiéndome culminar mis estudios Universitarios.

A MIS PADRES :

Victor M. Rivera W y Aracely de Rivera por brindarme siempre su apoyo , cariño y sabiduría cuando más lo he necesitado.

A MI HERMANO:

Por haber compartido sus conocimiento y darme su apoyo

A MIS ABUELOS:

María de Jesús, Agustín Martínez, Elsa Woltke y Victor M. Rodríguez por su amor y cariño

A MI FAMILIA:

Por estar siempre a mi lado en cada momento.

A MIS AMIGOS:

Por haber compartido conmigo una de las etapas más importantes de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis amigos muy especialmente a : Carolina Anderson y familia, Alexander Custodio, Margarita Bolix, Sergio Rodas, Brenda Díaz, porque sin su ayuda no hubiera sido posible la realización del presente trabajo.

A la Licda. Beatriz Medinilla Aldana, por su colaboración y asesoría en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al Departamento de Análisis Aplicado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Al Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, especialmente a Anibal Ventura y Luis Alfonso Arévalo.

Al Departamento de Estadística especialmente a Lic. Jorge Luis de León.

A todas las secretarias de la Escuela de Farmacia y secretaría de la Facultad Ciencias Químicas y Farmacia, especialmente a Oly.

Al Departamento de Patología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Al Laboratorio de Química Hoechst, por su colaboración al proporcionar material para el desarrollo de los análisis efectuados.

INDICE

1.	RESUMEN.....	2
2.	INTRODUCCION.....	4
3.	ANTECEDENTES.....	5
4.	JUSTIFICACIONES.....	14
5.	OBJETIVOS.....	15
6.	HIPOTESIS.....	16
7.	MATERIAL Y METODOS.....	17
8.	RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS.....	23
9.	CONCLUSIONES.....	27
10.	RECOMENDACIONES.....	28
11.	BIBLIOGRAFIA.....	27
12.	ANEXO.....	30

1. RESUMEN

La planta *Croton guatemalensis* en investigaciones anteriores, ha mostrado efectividad en el tratamiento de malaria y diabetes.

Por el uso que se le ha dado a dicha planta se realizó el estudio de toxicidad sub-aguda utilizándose ratas albinas, a las cuales se les administró durante 20 días infusiones acuosas al 10 % de la planta, tanto de hojas como corteza. Las ratas se dividieron en dos grupos de 10 hembras y 10 machos, se utilizó 2 grupos control 5 hembras y 5 machos, a los cuales se les trató en forma similar a las ratas en estudio, realizando análisis de orina (proteína, bilirrubina, PH) y sangre (hematocrito y hemoglobina), lo cual se realizó antes de iniciar el tratamiento, cada 20 días y después de iniciado el estudio, hasta 60 días.

Al terminar los análisis bioquímicos se realizó un examen post-mortem, se evaluó el incremento de peso de los órganos, comparando todos los resultados con las ratas control y la planta investigada para determinar diferencias estadísticamente significativas y alguna anormalidad que pudiera haberse producido. Se mandaron algunos órganos para ser analizados a la Facultad de Veterinaria en el Departamento de Patología lo que demostró que ciertos quistes hepáticos fueron provocados por el parásito *Taenia taeniaeformis* por la ingesta de alimento contaminado por heces de gatos y no por la toxicidad de la planta.

Los resultados de los análisis realizados en sangre, orina y peso corporal no reportaron anormalidad funcional o conductual que pudiera decir que la planta presentará alguna toxicidad sub-aguda. En los exámenes post-mortem no se encontró ninguna anormalidad en cuanto a los órganos extraídos ni diferencia estadística significativa en los

1. RESUMEN

La planta *Croton guatemalensis* en investigaciones anteriores, ha mostrado efectividad en el tratamiento de malaria y diabetes.

Por el uso que se le ha dado a dicha planta se realizó el estudio de toxicidad sub-aguda utilizándose ratas albinas, a las cuales se les administró durante 20 días infusiones acuosas al 10 % de la planta, tanto de hojas como corteza. Las ratas se dividieron en dos grupos de 10 hembras y 10 machos, se utilizó 2 grupos control 5 hembras y 5 machos, a los cuales se les trató en forma similar a las ratas en estudio, realizando análisis de orina (proteína, bilirrubina, PH) y sangre (hematocrito y hemoglobina), lo cual se realizó antes de iniciar el tratamiento, cada 20 días y después de iniciado el estudio, hasta 60 días.

Al terminar los análisis bioquímicos se realizó un examen post-mortem, se evaluó el incremento de peso de los órganos, comparando todos los resultados con las ratas control y la planta investigada para determinar diferencias estadísticamente significativas y alguna anomalía que pudiera haberse producido. Se mandaron algunos órganos para ser analizados a la Facultad de Veterinaria en el Departamento de Patología lo que demostró que ciertos quistes hepáticos fueron provocados por el parásito *Taenia taeniaeformis* por la ingesta de alimento contaminado por heces de gatos y no por la toxicidad de la planta.

Los resultados de los análisis realizados en sangre, orina y peso corporal no reportaron anomalía funcional o conductual que pudiera decir que la planta presentará alguna toxicidad sub-aguda. En los exámenes post-mortem no se encontró ninguna anomalía en cuanto a los órganos extraídos ni diferencia estadística significativa en los

pesos de órganos, por lo que se concluyó que el tratamiento de hojas y corteza de **Croton guatemalensis**, no afectó fisiológicamente a las ratas.

2. INTRODUCCION

Croton guatemalensis (copalchi) es una planta tradicionalmente utilizada por la población guatemalteca, sobre todo del área rural, en el tratamiento de varias enfermedades, sobre todo de la malaria y diabetes, existiendo a la fecha informes científicos que validan su uso (1,2).

Así mismo, se han efectuado estudios de toxicidad aguda, utilizando dosis de hasta 15 g/kg de planta, no encontrándose efecto tóxico alguno (1). Posteriormente se evaluó la toxicidad de las hojas y corteza de la planta, administrando diariamente, durante una semana, 3 g. de extracto acuoso liofilizado/kg de peso. De igual manera, no se observó efecto tóxico aparente (2). Considerando que **Croton guatemalensis** se utiliza tradicionalmente a diario y por períodos prolongados, sobre todo para tratar la diabetes y paludismo, fue necesario establecer si en estas condiciones la planta era capaz de producir efectos tóxicos a largo plazo, y es por ello que el presente estudio evaluó la toxicidad subaguda de la misma.

El ensayo se efectuó en ratas albinas recién destetadas, a las cuales se les suministró “ad libitum” como única bebida extractos acuosos al 10% de corteza y hojas de la planta, durante 20 días, y se evaluó el grado de toxicidad en función de la presencia de anomalías anatómicas, funcionales o conductuales, durante 60 días después de iniciado el experimento.

3. ANTECEDENTES

2.1 GENERALIDADES:

Croton guatemalensis: planta perteneciente a la familia Euphorbiaceae (3).

Descripción botánica: Es un arbusto o árbol de 8 m. de altura, usualmente recubierto de escamas blanquecinas o cafés. Sus hojas son aromáticas, amargas, alternas, ovaladas o triangulares, de 7 a 15 cm. de largo, punteadas en el ápice, con forma de cuña o a veces indentadas en la base, verdes en la parte superior, escamosas, frecuentemente blanquecinas o plateadas en la parte inferior. Las flores son de color amarillo pálido, casi sin peciolo, pequeñas, con pétalos lanceolado-ovales y 15 estambres. La cápsula de la semilla es casi redonda, de 8 mm. de largo, densamente escamosa (4).

Origen y distribución: es originaria de matorrales, ya sea húmedos o secos, y bosques abiertos desde el sur de México hasta Honduras (4). Crece a 1800 m. sobre el nivel del mar o menos. Es cultivada como cerco o rompevientos en plantaciones de café. En Guatemala se le encuentra en el Petén, Alta y Baja Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Santa Rosa, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quiché y Quetzaltenango (3)

Usos medicinales: Se usa la corteza como remedio para la fiebre intermitente, es usada para el tratamiento de inflamaciones y para baños para aliviar dolores reumáticos (4). La decocción de las hojas y corteza se usa en Guatemala contra el paludismo, para lo cual se acostumbra tomar dos vasos al día (4,5). En base a estudios preliminares ambas partes de la planta poseen actividad antimalárica, ya que al administrar diariamente, durante una semana el extracto acuoso liofilizado de la planta a ratones albinas infectados con *Plasmodium berghei* a dosis de 750 mg/Kg, por vía oral, se produce una supresión de la parasitemia del 62

al 73 %. Asimismo, se evaluó la toxicidad de la planta, en ratones infectados con *P. berghei* y tratados con extractos acuosos liofilizados de hojas y corteza, a dosis de 3g/Kg diariamente, por vía oral, durante siete días. Se manifestaron efectos tóxicos aparentes (6). Por otro lado en el año de 1994 se realizó el tamizaje fitoquímico de la planta, mediante cromatografía en capa fina, detectándose en las hojas y corteza de principios amargos y flavonoides (17). Aunque no se logró detectar la presencia de alcaloides en la corteza, a pesar de describirse en la literatura el alcaloide copalchoidina (4). También se realizó la evaluación farmacológica *in vivo* de los extractos metanólicos, encontrándose valores promedio de supresión de parasitemia bastante cercanos: 62% para las hojas y 65% para la corteza. La planta indican que las fracciones dicloroméτανicas de hojas y corteza de *Croton guatemalensis* poseen potente acción inhibitoria sobre las cepas de *Plasmodium falciparum* Nf-54 (sensible a la cloroquina) y K1 (multi-resistente a los antimaláricos comunes), ya que indujeron significativas reducciones en la parasitemia, en comparación con los controles negativos. Por otro lado, Grijalva encontró que la infusión acuosa de la corteza posee acción hipoglicémica al ser administrada en ratones, por vía oral (1). Al evaluar la toxicidad aguda de la planta a dosis de 1, 3, 9 y 15g/kg de planta no se observó ningún efecto tóxico (1).

2.2 ASPECTOS DINAMICOS DE LA TOXICOLOGIA PREDICTIVA

El objetivo de un programa de pruebas de toxicidad es la predicción del destino biológico de las sustancias a base de las constantes fisicoquímicas, la predicción de la función alterada de las células o sistemas orgánicos a base de las reacciones con macromoléculas, la predicción de las consecuencias irreversibles de cambios reversibles, la predicción de las consecuencias de variables cuantificables seleccionadas en prueba, la predicción de los efectos

alojados en condiciones apropiadas, sean expuestos a dosis graduadas de la sustancia química de prueba.

Por regla general, al grupo control se le administra el vehículo de dosificación o un tratamiento simulado. Luego del tratamiento, los animales son observados detenidamente, a fin de determinar los signos de toxicidad. Los animales tratados y control se someten a análisis de laboratorio, que permitan medir los efectos biológicos. Se llevan registros detallados de cada animal. Al finalizar la prueba, todos los animales, incluidos los testigos, se someten a un examen patológico (7,8).

2.3 ALOJAMIENTO. DIETA Y EXAMEN CLINICO DE LOS ANIMALES DE PRUEBA

Los animales deben ser sanos, genéticamente estables e identificados adecuadamente en cuanto a la fuente de las colonias. Los animales testigo y tratados deben ser de la misma especie, amplitud de peso, y provenir de la misma fuente. Los animales se deben distribuir aleatoriamente entre las jaulas y los regímenes de tratamiento se deben aplicar aleatoriamente. A los roedores se les debe dar libre acceso al alimento y agua. Los animales deben satisfacer todas sus necesidades nutricionales y estar libres de impurezas químicas tóxicas que pudieran influir en el resultado de la prueba. La condición nutricional puede afectar la naturaleza de las respuestas tóxicas. Para la mayor parte de los estudios subagudos deben contar con dieta de calidad reconocida en el comercio, para evitar que los componentes nutrientes y no nutrientes de la dieta puedan alterarse fácilmente.

Idealmente, cada animal experimental se debe considerar como un paciente individual. Se deben palpar cuidadosamente las estructuras externas e internas, tomando nota de cualquier masa de tejidos(7,8).

2.4 PRUEBAS DE TOXICIDAD SUBAGUDA Y CRONICA

2.4.1 PRINCIPIOS BASICOS

La prueba de toxicidad subaguda, en general involucra la exposición diaria o frecuente al compuesto durante un lapso de hasta 90 días aproximadamente. Se puede estudiar la latencia de desarrollo del efecto en relación con la dosis, la relación de las concentraciones sanguíneas y tisulares del compuesto con el desarrollo de los efectos.

Las pruebas de toxicidad aguda y subaguda tienen valor limitado para pronosticar los efectos tóxicos crónicos debido a los siguiente: 1o.) las sustancias químicas pueden producir diferentes respuestas tóxicas cuando se administran reiteradamente durante un período de tiempo; y 2o.) durante el proceso de envejecimiento, factores tales como la sensibilidad tisular alterada, el cambio de la capacidad metabólica y fisiológica y la morbilidad espontánea pueden influir en el grado y naturaleza de las respuestas tóxicas (7,8).

2.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

En los estudios subagudos, si el compuesto ha demostrado ser tóxico para el hombre y si se dispone de suficiente información toxicológica y metabólica, suele ser posible seleccionar una especie apropiada a base de estos datos.

Es tradicional elegir la rata y el perro para las pruebas de toxicidad subaguda, debido a su disponibilidad y al gran caudal de información básica a su respecto. Cuando se utilizan ratas, la prueba se debe iniciar inmediatamente después del destete, de modo que se puedan

realizar observaciones durante el período de más rápido crecimiento. Se deben incluir por lo menos 10 animales de cada sexo en cada grupo de dosis, y el experimento debe continuar durante el 10 % del lapso de vida de los animales, o sea, alrededor de tres meses.

Se debe incluir un número suficiente de animales en la prueba a fin de garantizar que se cuente con un diseño estadísticamente válido. En base a la incidencia prevista de efectos crónicos, se puede calcular el número de animales que deben emplearse (7,8).

2.6 SELECCION DE DOSIS

La orientación relativa a la selección de dosis para los estudios subagudos se puede obtener de los resultados de los estudios agudos y los estudios de altas dosis repetidas (7,8).

2.7 METODO DE ADMINISTRACION

La vía de administración en los estudios subagudos y crónicos debiera ser aquella por la cual es probable que el hombre esté expuesto. La incorporación de la sustancia química de prueba en la dieta o el agua potable es un medio apropiado de administración; se ha de poner cuidado en asegurar la estabilidad de la sustancia química en el medio de dosificación. La concentración de la sustancia química de prueba en la dieta debiera determinarse periódicamente, a fin de mantener la dispersión uniforme y facilitar la cuantificación de las dosis alcanzadas. En los estudios con roedores el compuesto se puede administrar en la dieta como fracción de la dieta total, o bien una cantidad suficiente de la sustancia química se puede añadir a la dieta a fin de llegar a los niveles de dosis predeterminados (7,8). Si no se observan

efectos tóxicos a dosis de 10% en la dieta, no vale la pena emplear niveles mayores. Debe incluirse siempre en el experimento un grupo control con dieta no tratada (8).

2.8 PRUEBAS BIOQUIMICAS DE LA FUNCION ORGANICA

Se deben realizar estudios de la función orgánica antes de iniciar la prueba, tres y 10 días después del comienzo del tratamiento, a intervalos de 30 días a partir de entonces, durante toda su duración y al terminar. Las pruebas descritas en relación con los estudios crónicos se aplican también a los estudios subagudos.

La evaluación del sistema urinario debe comenzar con un análisis de orina. En periodos de uno a tres meses se deben obtener muestras de orina recientes de los animales de prueba, que se examinarán a fin de determinar la presencia de sangre oculta, glucosa, proteínas y bilirrubina, utilizando procedimientos de diagnóstico sencillos (7,8).

2.9 MEDICIONES FISIOLÓGICAS

En los estudios subagudos suele ser posible detectar los fenómenos patológicos consiguientes mediante la aplicación de pruebas de la función fisiológica. Los cambios del peso corporal constituyen una indicación sensitiva del estado general de salud de los animales de prueba. Una pérdida rápida de peso corporal puede indicar el comienzo de la intoxicación o la enfermedad (7,8).

2.10 ESTUDIOS METABOLICOS

Los estudios subagudos dan una excelente oportunidad para realizar investigaciones metabólicas en condiciones de exposición repetida que pueden alterar la naturaleza de los metabolitos y la tasa de transformación metabólica del compuesto de prueba.

Se pueden tomar muestras de orina y heces, y examinarlas para determinar la presencia de metabolitos; realizando sacrificios seriados a intervalos de tres semanas, se puede evaluar la cinética de acumulación del compuesto en distintos compartimientos corporales (7,8).

2.11 INFORMACION HEMATOLOGICA

En los estudios subagudos de roedores se deben realizar exámenes hematológicos de subgrupos de animales seleccionados aleatoriamente antes de la iniciación de la prueba, a intervalos de 30 días y en todos los animales al terminar el experimento. Los animales de prueba que no son roedores se deben examinar a intervalos similares.

La evaluación hematológica de los animales experimentales se ve facilitada por el hecho de que es relativamente sencillo efectuar muestreos repetidos y de que se necesitan pequeñas cantidades de sangre: además se pueden estudiar sistemas unicelulares para obtener información sobre la producción, destrucción, defectos y disfunción celulares.

Es obligatorio efectuar una evaluación morfológica de los eritrocitos. Se debe cuantificar el número de leucocitos circulantes, efectuando un conteo diferencial y una evaluación morfológica.

Para evaluar la función hemostática será necesario evaluar las plaquetas, los sistemas de coagulación y la fibrinólisis. En los exámenes sistemáticos se incluyen recuento de

plaquetas, retracción de coágulos, tiempo de protombina en una fase y tiempo de tromboplastina parcial activada (7,8).

2.12 EXAMEN POST MORTEM

En todas las evaluaciones de toxicidad los animales deben ser sometidos a necropsia macroscópica a fondo, llevándose registros detallados de cada uno. Las muestras de todos los órganos y estructuras de apoyo se deben conservar para el examen histopatológico.

El peso de los órganos puede servir como índice de la toxicidad. La disminución de los pesos absolutos de los órganos en animales tratados puede ser meramente reflejo de un menor peso corporal, y el cálculo de las relaciones entre el peso de los órganos y el cuerpo puede realzar la utilidad de los datos (7,8).

2.13 TESTIGOS

Al evaluar la toxicidad subaguda y crónica, se debe prestar especial atención a los animales testigos. La calidad de los datos obtenidos de los testigos tiene una importante influencia en la interpretación de los resultados de los animales tratados. Salvo por el tratamiento con la sustancia química de prueba, estos animales se deben manipular de forma idéntica a los sujetos experimentales, y todas las mediciones realizadas en los animales tratados se deben realizar en los testigos con el mismo grado de precisión y frecuencia.

El experimento se debe diseñar de modo tal que se puedan alcanzar razonablemente los objetivos. La utilidad primaria de la determinación de la dosis letal media es tener alguna idea de la magnitud de la dosis tóxica aguda. Esta información incluye lo relativo a saber si la muerte es inmediata o si la recuperación de una dosis casi letal es rápida o completa, o rápida

y completa, o si la causa de muerte es necrosis con insuficiencia respiratoria, edema pulmonar o necrosis hepática.

El objetivo primario de los estudios de toxicidad subaguda y crónica es determinar la naturaleza y gravedad de los efectos tóxicos y el nivel de dosis "sin efecto adverso observado". Estos datos se pueden utilizar para determinar niveles aceptables de exposición en el hombre (7,8).

4. JUSTIFICACIONES

Croton guatemalensis es una planta nativa que se ha usado tradicionalmente en Guatemala por mucho tiempo, principalmente en el área rural, por sus propiedades medicinales.

Aunque ya se ha detectado la presencia de un alcaloide denominado "copalchoidina" a nivel de corteza (4), hasta hoy no se le ha podido correlacionar con ninguna de las actividades farmacológicas que se atribuyen a la planta. A pesar del desconocimiento existente en cuanto a sus componentes activos, *Croton guatemalensis* es comúnmente empleada en Guatemala para el tratamiento de varias enfermedades (2). Grijalva confirmó su actividad antidiabética (1) y Medinilla su acción antimalárica (2). Ambas investigadoras coinciden en cuanto a que la administración de dosis elevadas de la planta no inducen efecto tóxico aparente (2,6). Sin embargo, considerando que al utilizar la planta para tratamiento de diabetes y malaria se requiere del uso frecuente y prolongado de la misma, es necesario evaluar los posibles efectos tóxicos inducidos por el consumo de la planta en estas condiciones. Por otro lado, el presente trabajo resulta ser especialmente importante, ya que pretende iniciar los estudios sobre toxicidad sub-aguda de plantas guatemaltecas.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL:

Iniciar en Guatemala los estudios sobre toxicidad subaguda de plantas que tradicionalmente son utilizadas en forma frecuente y por períodos prolongados.

5.2 ESPECIFICO:

5.2.1. Evaluar la toxicidad sub-aguda de las hojas y corteza de **Croton guatemalensis** (copalchi).

5.2.2. Determinar las anomalías de tipo anatómico, funcional o conductual, inducidas por el uso frecuente y prolongado de las infusiones acuosas de **Croton guatemalensis**.

6. HIPOTESIS

La administración oral "ad libitum" de infusiones acuosas al 10 % ,como única bebida, tanto de hojas como corteza de **Croton guatemalensis** diariamente, durante 20 días, es capaz de producir efecto tóxico acumulativo en ratas. Dicho efecto se manifiesta a través de por lo menos una anomalía anatómica, funcional o conductual.

7. MATERIALES Y METODOS

6.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

6.1. 1.- Corteza y hojas de **Croton guatemalensis** (copalchi)

6.1. 2.- 25 ratas albinas machos y 25 hembras.

6.2 MEDIOS

6.2.1 RECURSOS HUMANOS

- **Autora de la Tesis: Roxanna Aracely Rivera Martínez.**
- **Asesora: Licda. Beatriz Medinilla**

6.2.2 RECURSOS MATERIALES:

- Jaulas plásticas, cajas metabólicas
- Alimento para animales
- Bibliografía consultada
- Tiras reactivas y reactivos para análisis de sangre y orina.
- Identificación botánica de la especie por personal del herbario de la Facultad de Agronomía.

6.3 PROCEDIMIENTO

6.3.1 Recolección de la planta, secado natural y molienda de las hojas y corteza.

6.3.2 Preparación de la infusión acuosa al 10 %:

Pesar 10 gramos de material vegetal desecado y pulverizado, añadir 100 ml. de agua hirviendo. Dejar reposar durante 30 minutos y luego filtrar.

Para evaluar la toxicidad de la planta en estudio y determinar qué órganos son afectados por éstas, se utilizó grupos de 20 ratas de ambos sexos. Se incluyó también un grupo control, constituido por 5 ratas machos y 5 hembras. Los animales utilizados fueron de la misma especie, camada y peso. Antes de comenzar el experimento se determinó el estado de salud de los mismos (7).

Durante el estudio las ratas fueron alojadas en jaulas plásticas, y se les abasteció de alimento y bebida *ad libitum* (7).

Las ratas experimentales recibieron como única bebida el extracto acuoso de la planta al 10%, mientras que las controles solamente agua. La administración se efectuó diariamente, durante 20 días. Posteriormente se les proporcionó a todos los animales comida y agua *ad libitum*, hasta 60 días después de iniciado el experimento.

6.3.3 Pruebas bioquímicas de la función orgánica:

Durante el estudio de toxicidad subaguda, antes de iniciar la prueba, y cada 20 días a partir del día en que se inició el tratamiento, se colectó muestras de orina, que fueron examinadas a fin de determinar la presencia de sangre (hemoglobina), glucosa, proteínas y bilirrubina. En caso que se obtuvieron resultados positivos se efectuaron análisis cuantitativos (7,8), lo que en la práctica no fue necesario.

6.3.4 Condiciones Fisiológicas:

Se llevó un registro semanal del peso corporal de todos los animales (7,8).

6.3.5 Información Hematológica:

Se realizaron exámenes hematológicos de los animales a los 20, 40 y 60 días después de haber iniciado el tratamiento. Por medio de los exámenes hematológicos, se determinó:

Hematocrito

Fundamento: En 1959, Setnikar y O. Telcou ensayaron un método utilizando tubos de hematocrito, el cual consiste en comprobar la acción de las soluciones sobre los eritrocitos, determinando la influencia de las mismas sobre el volumen globular. Se mide la proporción relativa de hematíes y plasma por el clásico método de centrifugación suave, empleando el tubo de hematocrito, de amplio uso en los laboratorios clínicos.

Procedimiento: Tomar 10 gotas de una solución al 0.9 % de cloruro de sodio en un beacker pequeño, en otro beacker hacer lo mismo con la muestra problema. Agregar a cada uno de los beackers 5 gotas de sangre desfibrinada. Inmediatamente, cargar en tubos de microhematocrito (tubos capilares), e incubar a 25 grados centígrados durante 45 minutos. Tomar los tubos con

las soluciones incubadas y centrifugar a 3000 rpm durante 10 minutos. Al cabo de ese tiempo leer el volumen globular (9).

Concentración de hemoglobina :

Fundamento: La hemoglobina es transformada en cianometahemoglobina mediante la adición de ferrocianuro de potasio y cianuro de sodio. La densidad del color producido es directamente proporcional a la cantidad de hemoglobina presente.

Método: Diluir 20 mm (0.02 ml.) de sangre con 5.0 ml. de ferrocianuro de potasio. Después de 10 minutos, medir la densidad de la solución a 540 nanómetros en espectrofotómetro, utilizando un blanco con agua. El nivel de hemoglobina se obtiene interpolando en una curva de calibración preparada con la ayuda de patrones.

Reactivo (ferrocianuro de potasio): Disolver 2.0 g. de bicarbonato de Sodio, 50 mg. de cianuro de potasio y 200 g. de ferrocianuro de potasio en agua destilada y aforar a un litro con agua destilada. El reactivo existe ya preparado en el comercio (10).

Morfología de los eritrocitos: Se preparó frotis sanguíneos a partir de la cola de los animales. Los frotis se secaron y tiñeron con el reactivo de Wright. Se observó la morfología de los eritrocitos al microscopio, con objetivo de inmersión.

6.3.6 Examen post-mortem:

Los animales fueron sometidos a necropsia macroscópica a fondo, llevándose registros detallados de condición y peso de órganos (hígado, riñones y páncreas), presencia de edema, tumores, hemorragias, inflamación, necrosis o alargamiento de riñones e hígado.(7,8).

6.3.7 Animales Control:

Se prestó especial atención a los animales control, ya que la calidad de los datos obtenidos de los controles tiene una importante influencia en la interpretación de los resultados de los animales tratados (13).

Salvo por el tratamiento con los extractos de las plantas a estudiar, los animales control se manipularon de forma idéntica a los sujetos experimentales, y todas las mediciones realizadas en los animales tratados se realizaron en los controles, con el mismo grado de precisión y frecuencia (7).

6.3.8 Método Estadístico: Análisis de Pendientes

Comparación de la curva de crecimiento de un grupo experimental contra uno control respecto a sus pendientes por medio de una "t" de pendientes.

8. RESULTADOS Y DISCUSION

Previamente a la realización del presente estudio se evaluó el estado general de salud de los animales a utilizar, para lo cual se efectuaron análisis de orina (glucosa, proteínas, hemoglobina y bilirrubina), y sangre(hematocrito y hemoglobina). Los valores obtenidos se encontraron dentro del rango normal (hematocrito 42- 52 % ; hemoglobina 15-20 g/ dl) . (14).

Se les observó diariamente durante los 60 días del experimento, en busca de algún cambio anatómico o conductual que diera indicio de toxicidad inducida por la planta, lo cual no pudo detectarse en ningún caso. Asimismo se evaluó el incremento de peso corporal, en comparación con el grupo control. Los resultados fueron analizados mediante regresión lineal y la prueba de "t de pendientes", realizando un análisis de paralelismo.

Las tablas 1,2,3 y 4, (págs. 33 -36) resumen el registro de peso corporal a los 0, 20, 40 y 60 días para los grupos de ratas en experimentación tratadas con infusiones de hojas y corteza de *Croton guatemalensis* al 10 %, en relación con el grupo control. En base a estos datos se realizó un análisis de regresión lineal , con el objeto de calcular los valores de la pendiente, así como las ordenadas en el origen.

La tabla 5 (pág. 37) muestra los valores obtenidos a partir de los grupos control y experimentales. El análisis de regresión lineal , permitió establecer a un nivel de significancia de 0.0001, que si existe diferencia estadísticamente significativa entre los distintos grupos, indicando que si existe relación lineal en ambos grupos. En cuanto al analisis de "t de pendientes"(análisis de paralelismo) se puede observar en la tabla 6 pág. 37, cómo los valores de " t pendientes" en comparación con la "t teórica" nos indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales y los control, como puede

observarse en las graficas (1, 2, 3, 4 de la págs.38-41) ya que estos se comportaron de manera similar.

- Las tablas 7,8,9, 10, págs 42-45 presentan los resultados de los exámenes de sangre y orina. Puede observarse que las ratas tratadas tanto con infusiones de hojas como corteza de **Croton guatemalensis** muestran valores normales de hematocrito y hemoglobina. (rango obtenido de hematocrito 40- 55 % , rango obtenido de hemoglobina 15 -21 g/dl) comparados con los rango del grupo control. (hematocrito 41-56 %; hemoglobina 15-20 g/ dl)

Se detectó proteinuria en el las ratas control, así como en las experimentales. Esto puede explicarse tomando en cuenta que la membrana glomerular sana impide la pérdida de proteínas de tamaño mayor, y se filtran proteínas de tamaño molecular más pequeño (como es la albúmina), por lo que la proteinuria puede ser principalmente albuminuria (15) ;lo cual no significa que hubiera alguna anormalidad en los animales.

Los valores de pH que se obtuvieron en la orina de todos los animales de experimentación al igual que los controles se mantuvieron en un rango de 6 a 9 , por lo que no se encontró ninguna diferencia. (ver tablas 7,8,9,10; págs 42-45)

En muy pocos casos se presentó bilirribinuria, tanto en los animales de experimentación como en los controles, pero no en cantidades altas como para ser indicio de algún problema. No hubo presencia de glucosa y sangre en orina.

- En cuanto al análisis post- mortem al realizar el análisis de "t de student", con un nivel de error de 5 % entre los pesos promedio no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el peso de los hígados ($t= 0.9860$, $X=8.7$) , páncreas ($t= 0.0007$, $X=1.45$) y riñones ($t=0.0121$, $X=2.15$) extraídos a las ratas macho tratadas con la infusión acuosa de hojas

de *Croton guatemalensis* y los correspondiente al al grupo control $X= 8.9, 2.6, 2.15$ respectivamente (tabla 11, pags 46). De igual manera el grupo de ratas hembra tratadas con la misma infusión no mostró diferencia estadísticamente significativa en cuanto a los pesos promedio de del hígado, páncreas y riñones ($t= 0.1624, t= 0.5828, t= 0.8973$; $X= 8.7, X= 1.45, X= 1.85$) comparados con el grupo control $X= 11.1, 1.85, 1.9$ respectivamente (tabla 12, pags.47).

Lo mismo ocurre con las ratas tratadas con la infusión acuosa de corteza *Croton guatemalensis* . No se encontró diferencia significativa en cuanto al peso hígado, riñones y páncreas de las ratas macho ($t= 0.0593, t= 0.6190, t= 0.0001$; $X= 11.4, 1.55, 2.7$) comparados con el grupo control $X = 8.9, 2.6, 2.15$ respectivamente (tabla No.13, pag. 48). Tampoco existe diferencia significativa de los órganos extraídos a las ratas hembras ($X = 1.5, t= 0.4426$, para páncreas , $X= 9, t= 0.0657$ para hígado; $X= 1.75 t=0.0001$ para riñones), y el grupo control. $X = 1.85, 11.1, 1.9$ respectivamente (tabla 14, pag. 49).

Por otro lado, al realizar las necropsias se encontró que el 5% de ratas pertenecientes al grupo de experimentación y el 10% del grupo control presentaron quistes a nivel del hígados, lo cuales fueron analizados por el personal del Departamento de patología, de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de San Carlos . Dicho análisis permitió establecer que dichos quistes no eran patológicos, sino que eran debidos al parásito *Taenia taeniaformis*, causado probablemente por la ingesta de alimento contaminado con heces de gato.

9. CONCLUSION

- La administración oral **ad libitum** de infusiones acuosas al 10%, como única bebida, tanto de hojas como corteza de **Croton guatemalensis** diariamente, durante 20 días, no produjo efecto tóxico acumulativo en ratas, ya que no pudo detectarse ninguna anomalía anatómica, funcional o conductual, aún 60 días después de iniciado el experimento.

10.RECOMENDACIONES

10.1 Continuar evaluando la toxicidad sub-aguda de plantas medicinales que son utilizadas diariamente y por largo tiempo por la población guatemalteca, para que se tenga una mayor seguridad el uso de las mismas.

10.2 Controlar la calidad del alimento que consumen los animales que se utilizan para experimentación, ya que ésta puede interferir en los resultados de las investigaciones realizadas.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Grijalva E Contribución al estudio farmacológico de *Croton guatemalensis* (copalchi) como hipoglucemiante. Guatemala :Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1990. 58p. .
2. Medinilla B. Plantas Guatemaltecas muestran valor potencial como agentes antipalúdicos, Universidad Organo divulgativo de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Noviembre 1993. (p.3)
3. Standley PC. Flora of Guatemala, USA: Field Museum of Natural History. Vols. 6-7-12, 1970 (p. 72-275).
4. Morton J. Atlas Of Medicinal Plants Of Middle America, Bahamas to Yucatan. Illinois: C.C. Thomas Springfield, 1981 (pp. 436).
5. Castañeda J, De García G. Aspectos de la Medicina Popular en el área rural de Guatemala Indígena. 1978. Vol. XIII (3-4) (p.434-445).
6. Medinilla B. Evaluación Farmacológica y Toxicológica "in vivo" de algunas plantas comunmente empleadas en Guatemala contra la Malaria. Guatemala:DIGI. 1992. (pp. 22-27).
7. OPS. Principios y Métodos para evaluar la toxicidad de las sustancias químicas parte I. Publicación Científica. No. 402México, D.F.: Servicio de Publicaciones y Documentación de la OPS/OMS, 1980. 287 p. (p.74-77, 89- 91, 95-108).
8. Strik J. Lecture Notes Ecotoxicology.International Institute for Hydraulic and Environmental Engineering. The Netherlands.1986. (p. 40-41).

9. Instructivo de Farmacotecnia Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Química y Farmacia. (p. 115).
10. Linch M. Métodos Laboratorio México D.F.: Ed. Interamericana. 2 De. vol.1. 1988. (p. 752-56).
11. Rojas U. Elementos de Botánica General. Guatemala: Tipografía Nacional. VOL. 2-3 1936. (P. 610 - 611, 810, 811)
12. Gola G, Negri G. Caoelleti C. Tratado de Botánica, 2 ed. Font-Quer. Barcelona: Labor 1975 (P. 913-917-947).
13. Aguilar J. Relaciones de unos aspectos de la flora útil de Guatemala. Amigos del Bosque. Guatemala: 1966. 383 p.
14. Kelly WR, Diagnóstico Clínico Veterinario. 3 De. México, D.F. Continental 1980 (p.p. 260, 263-64)
15. Coffin, Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria, 3ed., México, D.F., 1977. (p. 128, 130, 142, 146, 147, 169, 170, 182).
16. De León, J. Manual de Estadística, Instituto de Investigación; Química y Biológica (IIQB), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala.
17. Medinilla, B y Y. Echeverría. 1995. Tamizaje fitoquímico y evaluación farmacología *in vivo* de extractos alcohólicos de plantas comunmente utilizadas en Guatemala contra la malaria. Informe final de investigación DIGI. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias químicas y farmacia. Guatemala. 43 p.

18. Medinilla B. y Y Hernández. 1996. Fraccionamiento fitoquímico bioguiado de algunas plantas comunmente usadas en Guatemala contra la malaria. Informe final de investigación . DIGI. Universidad San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias químicas y farmacia. Guatemala. 35 p

12. ANEXOS

Tabla 1: Peso corporal (g) de las ratas hembras tratadas con infusión acuosa al 10% de hojas de **Croton guatemalensis**.

Tabla 2: Peso corporal (g) de las ratas machos tratadas con infusión acuosa al 10% de hojas de **Croton guatemalensis**.

Tabla 3: Peso corporal (g) de las ratas hembras tratadas con infusión acuosa al 10% de corteza de **Croton guatemalensis**.

Tabla 4: Peso corporal (g) de las ratas macho tratadas con infusión acuosa al 10% de corteza de **Croton guatemalensis**.

Tabla 5: Análisis estadístico de regresión lineal de las ratas tratadas con infusión acuosa al 10% de hoja y corteza de **Croton guatemalensis**.

Tabla 6 : Análisis estadístico de " t pendiente" (análisis paralelismo) de las ratas tratadas con infusión acusosa al 10 % de hoja y corteza de **Croton guatemalensis**.

Tabla 7: Análisis de orina y sangre de ratas macho tratadas con infusión acuosa al 10% de hojas de **C. guatemalensis**.

Tabla 8: Análisis de orina y sangre de ratas hembras tratadas con infusión acuosa al 10% de hojas de **C. guatemalensis**.

Tabla 9: Análisis de orina y sangre de ratas machos tratadas con infusión acuosa al 10% de corteza de **C. guatemlensis**.

Tabla 10: Análisis de orina y sangre de las ratas macho tratadas con infusión acuosa al 10% de hojas de **C. guatemalensis**.

Tabla 11: Exámen post-mortem: hojas de **Croton guatemalensis** (machos)

Tabla 12: Exámen post-mortem: hojas de **Croton guatemalensis** (hembras)

Tabla 13: Exámen post-mortem :corteza de **Croton guatemalensis** (machos)

Tabla 14.: Exámen post- mortem : corteza de **croton guatemalensis** (hembras)

Gráfica 1: Curva de regresión del incremento de peso corporal : hojas de **C. guatemalensis** (hembras)

Gráfica 2: Curva de regresión del incremento de peso corporal : hojas de **C. guatemalensis** (machos)

Gráfica 3: Curva de regresión lineal del incremento de peso corporal : corteza de **C. guatemalensis** (hembras)

Gráfica 4: Curva de regresión lineal del incremento de peso corporal: corteza de **C. guatemalensis** (machos)

Cálculos estadísticos

Curva de Hemoglobina.

Clasificación botánica de **Croton guatemalensis**.

TABLA 1. Peso corporal (g) de las ratas hembras tratadas con infusión acuosa de hojas de *Croton guatemalensis* 0, 20, 40 y 60 días en relación con los controles

Rata Hembras No.	Inicio peso (g)	20 dias peso (g)	40 dias peso (g)	60 dias peso (g)
1	105	130	165	199
2	112	141	177	210
3	100	133	163	198
4	101	145	170	215
5	114	132	160	104
6	112	130	155	194
7	110	147	179	210
8	107	142	169	220
9	109	139	167	207
10	112	146	165	203

X 108.5 138 165 201
 S 4.94974747 11.3137085 10.34443256 2.82842712

Control Hembras No.	Inicio Peso(g)	20 dias Peso(g)	40 dias Peso(g)	60 dias Peso(g)
1	112	137	167	207
2	105	136	155	195
3	110	132	164	198
4	114	142	177	209
5	110	138	167	201
6	110	139	168	202
7	104	131	162	201
8	112	140	167	198
9	110	143	165	207
10	107	145	170	205

X 109.5 141 168.5 206
 S 1.76776695 5.656854249 2.121320344 1.41421356

TABLA 2. Peso corporal(g) de las ratas macho tratadas con infusión acuosa de hojas de *Croton guatemalensis* al 10% a los 0, 20, 40 y 60 días, en relación con los controles.

Rata Machos No.	Inicio peso (g)	20 días peso (g)	40 días peso (g)	60 días peso (g)
1	104	124	152	180
2	101	119	140	190
3	100	126	146	194
4	105	122	142	186
5	114	134	164	199
6	112	132	155	209
7	115	130	150	200
8	118	134	152	205
9	112	133	155	194
10	100	127	149	195

X 102 125.5 150.5 187.5
 S 2.82842712 2.121320344 2.121320344 10.6066017

Control Machos No.	Inicio Peso(g)	20 días Peso(g)	40 días Peso(g)	60 días Peso(g)
1	112	137	167	205
2	108	131	156	195
3	105	133	170	197
4	107	136	165	193
5	113	133	168	203
6	109	134	166	200
7	106	127	155	199
8	110	130	175	212
9	111	149	163	201
10	101	135	159	198

X 106.5 136 163 201.5
 S 7.77817459 1.414213562 5.656854249 4.94974747

TABLA 3: Peso corporal(g) de las ratas hembra tratadas con infusiones acuosas de corteza de *Croton guatemalensis* al 10%, a los 0, 20,40 y 60 días, en relación con los controles.

Rata Hembra No.	inicio peso (g)	20 días peso (g)	40 días peso (g)	60 días peso (g)
1	103	123	167	215
2	101	120	161	201
3	110	135	156	198
4	101	122	152	195
5	100	120	150	194
6	102	126	155	209
7	101	124	163	209
8	100	130	150	205
9	107	128	144	191
10	102	127	149	195

X 102.5 125 158 205
 S 3.26768692 2.828427125 12.72792206 7.95543141

Control Hembra No.	Inicio Peso(g)	20 días Peso(g)	40 días Peso(g)	60 días Peso(g)
1	112	137	167	207
2	105	136	155	195
3	110	132	164	198
4	114	142	177	209
5	110	138	167	201
6	110	139	168	202
7	104	131	162	201
8	112	104	167	198
9	110	143	165	207
10	107	145	170	205

X 109.5 141 168.5 206
 S 3.53553391 5.656854249 2.121320344 1.41421356

TABLA 4: Peso corporal(g) de las ratas macho tratadas con infusiones acuosas de corteza de *Croton guatemalensis* al 10%, a los 0, 20, 40 y 60 días, en relación con los controles.

Rata Macho No.	inicio peso (g)	20 días peso (g)	40 días peso (g)	60 días peso (g)
1	100	139	168	207
2	103	130	155	196
3	107	124	164	199
4	102	127	167	207
5	101	145	175	204
6	110	151	173	211
7	101	131	166	201
8	100	130	168	210
9	112	142	169	203
10	105	124	164	195

X 102.5 131.5 166 201
 S 3.53553391 9.357706272 5.466056877 8.48528137

Control Macho No.	Inicio Peso (g)	20 días Peso (g)	40 días Peso (g)	60 días Peso (g)
1	112	137	167	205
2	108	131	158	195
3	105	133	170	197
4	107	136	161	193
5	113	133	168	203
6	109	134	166	200
7	106	127	155	199
8	110	130	175	212
9	111	149	163	201
10	101	135	159	198

X 106.5 136 163 201.5
 S 7.77817459 5.89255651 5.656854249 4.94974747

TABLA No.8.1 Análisis de regresión lineal comparativo del incremento de peso corporal de ratas tratados con infusiones de hojas y corteza de *Croton guatemalensis*

GRUPO	Bo	B1	P
Hojas hembras	108.64	1.46	0.0001
Hojas hembras control	108.06	1.533	0.0001
Hojas machos	103.10	1.41	0.0001
Hojas machos control	105.92	1.53	0.0001
Corteza hembras	97.32	1.62	0.0001
Corteza hembras control	106.62	1.55	0.0001
Corteza machos	102.62	1.65	0.0001
Corteza machos control	105.90	1.53	0.0001

Bo = ordenada origen

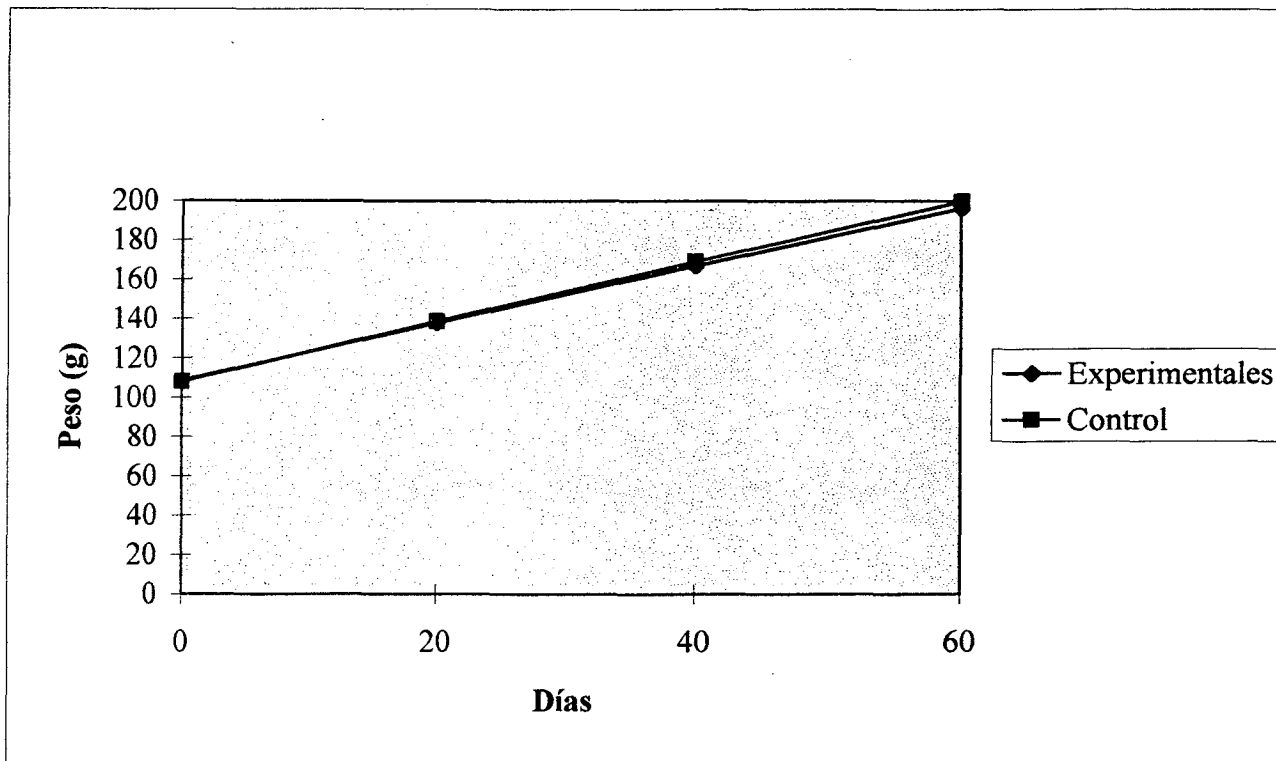
B1 = pendiente

p= nivel de significancia

Tabla No. 8.2 Análisis de la "t pendiente" de las infusiones de hojas y corteza de *Croton guatemalensis*

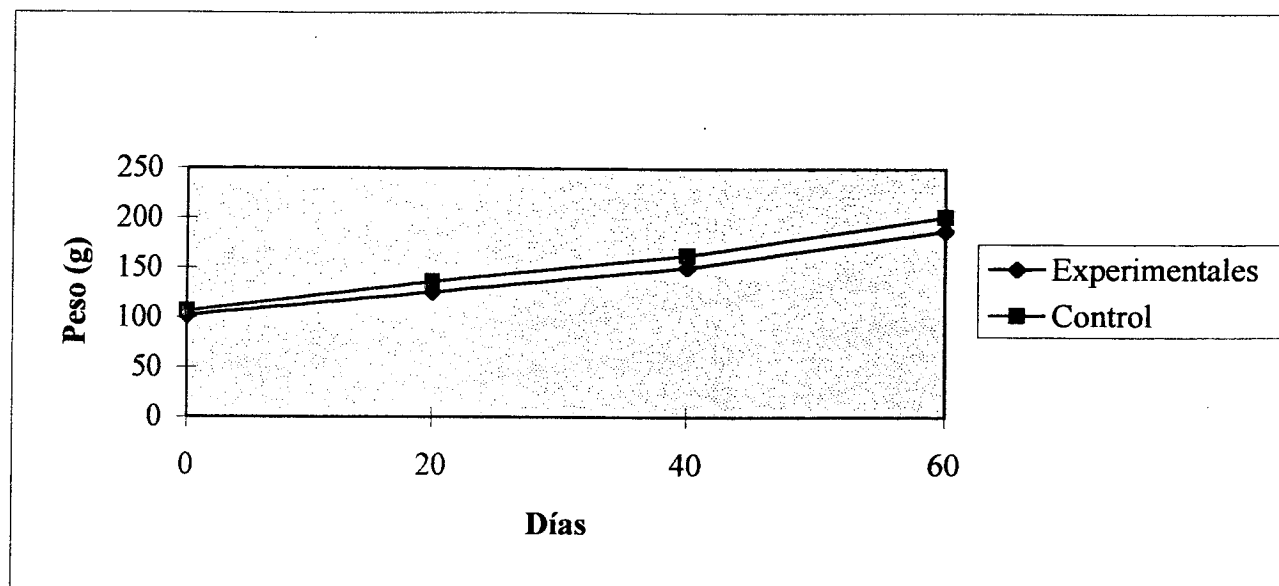
GRUPO	" t pendiente"	"t teórico"
Hojas hembras	0.046	2
Hojas machos	0.237	2
Corteza hembras	0.112	2
Corteza Machos	0.300	2

HEMBRAS TRATADAS CON HOJAS DE CROTON GUATEMALENSIS



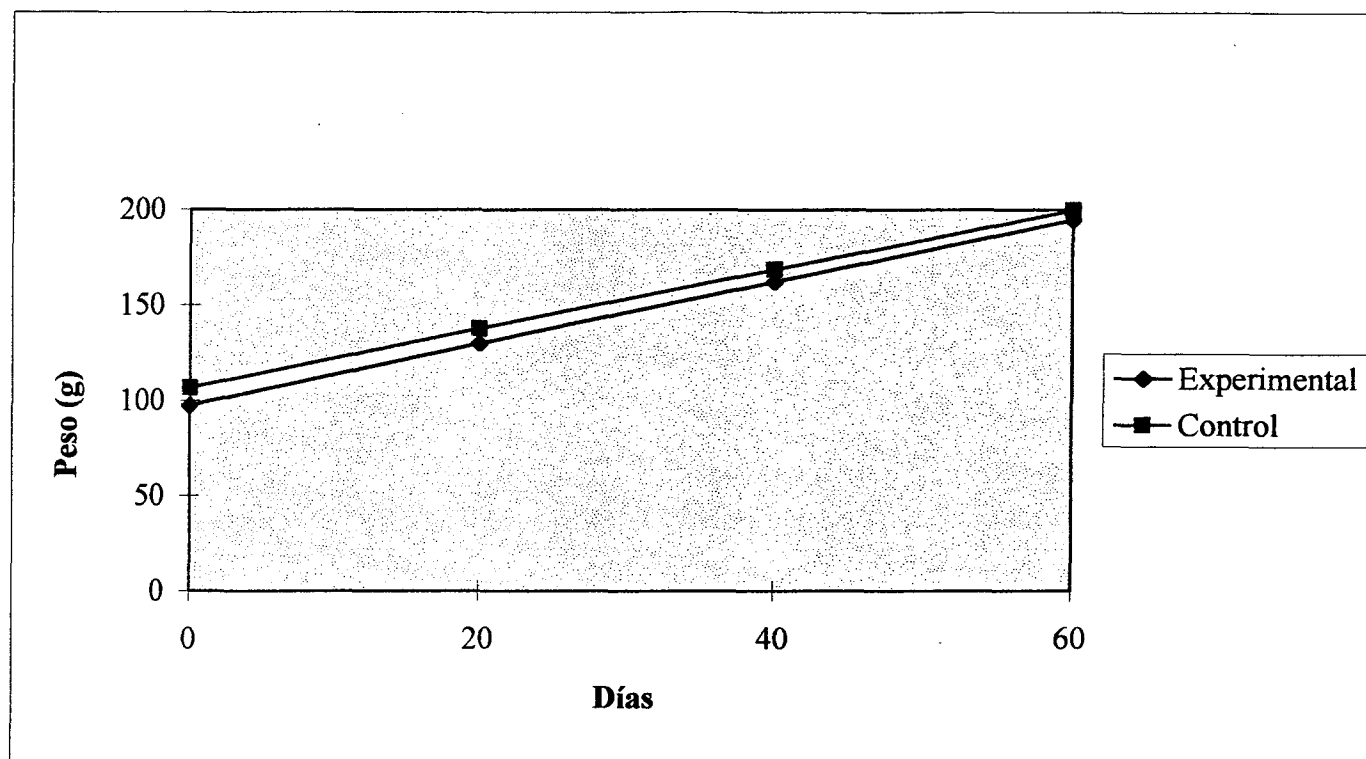
Gráfica No. 1 Curva de regresión lineal del incremento de peso corporal de las ratas tratadas con infusión acuosa al 10% en comparación con el grupo control.

MACHOS TRATADOS CON HOJAS DE CROTON GUATEMALENSIS



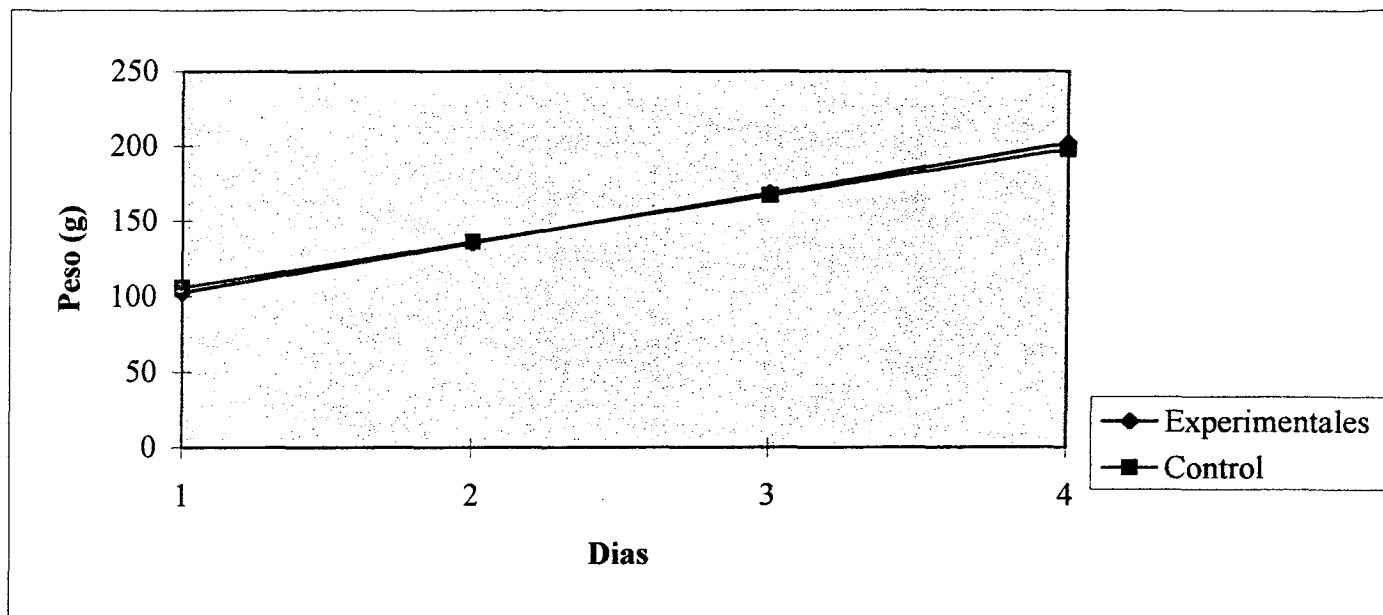
Gráfica No. 2 Curva de regresión lineal del incremento de peso corporal de las ratas tratadas con infusión acuosa al 10 % en comparación del grupo control.

HEMBRAS TRATADAS CON CORTEZA DE CROTON GUATEMALENSIS



Gráfica No. 3 Curva de regresión lineal del incremento de peso corporal de las ratas tratadas con infusión acuosa al 10% en comparación con el grupo control.

MACHOS TRATADOS CON CORTEZA DE CROTON GUATEMALENSIS



Gráfica No. 4 Curva de regresión lineal del incremento de peso corporal de las ratas tratadas con infusión acuosa al 10% en comparación con el grupo control.

TABLA 7. Resultados de los Análisis de orina (proteínas, bilirrubina, sangre, pH) y sangre (hematocrito y hemoglobina), efectuados en las ratas macho tratadas con infusiones acuosas de hojas de *Croton guatemalensis* al 10 %, a los 0, 20, 40 y 60 días de iniciado el experimento, en relación con los controles.

No.	INICIO							20 DIAS							40 DIAS							60 DIAS						
	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat. %	hemog. (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	hemog. (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	Hemog (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	hemog(g/dl)
1	30	(+)	(-)	(-)	7	51	16	100	(-)	(-)	(-)	6	49	16	30	(-)	(-)	(-)	8	50	21	30	(-)	(-)	(-)	7	45	16
2	30	(-)	(-)	(-)	8	48	18	30	(-)	(-)	(-)	9	50	18	30	(-)	(-)	(-)	6	48	18	30	(-)	(-)	(-)	8	50	18
3	30	(-)	(-)	(-)	7	52	19	30	(-)	(-)	(-)	9	50	16	30	(-)	(-)	(-)	8	49	17	100	(-)	(-)	(-)	9	48	18
4	30	(-)	(-)	(-)	9	53	19	30	(-)	(-)	(-)	8	50	16	30	(-)	(-)	(-)	7	49	17	30	(-)	(-)	(-)	6	55	21
5	30	(-)	(-)	(-)	8	50	20	30	(+)	(-)	(-)	7	44	15	30	(-)	(-)	(-)	6	47	20	30	(-)	(-)	(-)	7	55	20
6	30	(-)	(-)	(-)	6	53	19	30	(+)	(-)	(-)	8	54	15	30	(-)	(-)	(-)	7	48	20	30	(-)	(-)	(-)	8	48	20
7	30	(-)	(-)	(-)	6	51	16	30	(+)	(-)	(-)	8	55	18	30	(-)	(-)	(-)	8	46	19	30	(-)	(-)	(-)	6	46	21
8	30	(-)	(-)	(-)	9	49	15	30	(+)	(-)	(-)	8	46	17	30	(-)	(-)	(-)	9	50	18	100	(-)	(-)	(-)	7	51	20
9	30	(-)	(-)	(-)	9	48	18	30	(-)	(-)	(-)	9	55	18	30	(-)	(-)	(-)	6	44	15	30	(-)	(-)	(-)	8	47	15
10	30	(-)	(-)	(-)	9	42	15	30	(-)	(-)	(-)	8	49	16	30	(-)	(-)	(-)	7	46	19	30	(-)	(-)	(-)	9	49	20
Control Macho No.																												
1	30	(-)	(-)	(-)	7	50	18	(-)	(-)	(-)	(-)	8	48	17	100	(-)	(-)	(-)	7	50	21	30	(-)	(-)	(-)	7	53	17
2	30	(-)	(-)	(-)	7	48	17	30	(-)	(-)	(-)	7	45	15	30	(-)	(-)	(-)	7	47	18	100	(-)	(-)	(-)	8	53	17
3	30	(-)	(-)	(-)	8	45	16	(-)	(-)	(-)	(-)	6	47	17	(-)	(-)	(-)	(-)	9	50	19	30	(-)	(-)	(-)	8	55	17
4	30	(-)	(-)	(-)	8	47	17	30	(-)	(-)	(-)	8	51	19	100	(-)	(-)	(-)	8	47	17	(-)	(-)	(-)	(-)	6	50	16
5	30	(-)	(-)	(-)	7	52	20	30	(-)	(-)	(-)	7	50	18	30	(-)	(-)	(-)	7	48	16	(-)	(-)	(-)	(-)	7	48	16

TABLA 8. Resultados de los Análisis de orina (proteínas, bilirrubina, sangre, pH) y Sangre (hematocrito y hemoglobina) efectuados a las ratas hembra tratadas con infusión acuosa de hojas de *Croton guatemalensis* al 10% a los 0, 20, 40 y 60 días de iniciado el experimento, en relación con los controles.

Rata No.	INICIO							20 DIAS							40 DIAS							60 DIAS						
	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat. %	hemog. (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	hemog. (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	Hemog (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	hemog(g/dl)
1	30	(-)	(-)	(-)	7	48	16	(-)	(-)	(-)	(-)	6	52	17	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17	500	(-)	(-)	(-)	8	54	18
2	30	(-)	(-)	(-)	6	49	17	30	(+)	(-)	(-)	7	55	18	30	(-)	(-)	(-)	7	49	18	30	(-)	(-)	(-)	8	51	17
3	30	(-)	(-)	(-)	7	50	16	500	(-)	(-)	(-)	6	52	16	30	(-)	(-)	(-)	7	48	16	30	(-)	(-)	(-)	7	53	18
4	30	(-)	(-)	(-)	6	44	17	500	(-)	(-)	(-)	8	53	18	30	(-)	(-)	(-)	8	46	18	30	(-)	(-)	(-)	7	50	17
5	30	(-)	(-)	(-)	8	46	15	500	(-)	(-)	(-)	7	49	16	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17	30	(-)	(-)	(-)	8	49	18
6	30	(-)	(-)	(-)	7	48	18	30	(-)	(-)	(-)	6	53	18	30	(-)	(-)	(-)	6	52	15	30	(-)	(-)	(-)	6	47	19
7	30	(-)	(-)	(-)	7	49	16	30	(+)	(-)	(-)	7	53	18	30	(-)	(-)	(-)	7	53	18	(-)	(-)	(-)	(-)	7	47	18
8	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17	500	(-)	(-)	(-)	6	49	16	30	(-)	(-)	(-)	8	51	17	30	(-)	(-)	(-)	8	44	17
9	30	(-)	(-)	(-)	6	46	18	30	(-)	(-)	(-)	7	50	18	30	(-)	(-)	(-)	7	49	16	30	(-)	(-)	(-)	8	54	18
10	30	(-)	(-)	(-)	7	47	19	30	(-)	(-)	(-)	6	48	17	30	(-)	(-)	(-)	6	48	18	30	(-)	(-)	(-)	6	48	18
Control Hembra No																												
1	30	(-)	(-)	(-)	8	45	17	30	(-)	(-)	(-)	8	47	15	(-)	(-)	(-)	(-)	8	50	18	30	(-)	(-)	(-)	8	48	20
2	30	(-)	(-)	(-)	8	48	18	30	(-)	(-)	(-)	8	48	18	30	(-)	(-)	(-)	7	52	18	30	(-)	(-)	(-)	6	47	18
3	30	(+)	(-)	(-)	8	52	17	100	(-)	(-)	(-)	6	48	20	(-)	(-)	(-)	(-)	7	45	17	30	(-)	(-)	(-)	7	52	21
4	30	(-)	(-)	(-)	7	45	18	30	(-)	(-)	(-)	8	53	18	30	(+)	(-)	(-)	7	47	18	100	(-)	(-)	(-)	7	46	18
5	30	(-)	(-)	(-)	8	47	18	30	(-)	(-)	(-)	8	50	20	30	(-)	(-)	(-)	8	51	17	100	(-)	(-)	(-)	7	51	20
6	30	(-)	(-)	(-)	7	48	17	30	(-)	(-)	(-)	8	46	16	30	(-)	(-)	(-)	8	50	19	100	(-)	(-)	(-)	6	52	20
7	30	(-)	(-)	(-)	6	45	18	100	(-)	(-)	(-)	6	45	15	(-)	(-)	(-)	(-)	7	45	16	(-)	(-)	(-)	(-)	8	51	20
8	30	(-)	(-)	(-)	8	52	20	(-)	(-)	(-)	(-)	6	42	15	30	(-)	(-)	(-)	8	46	17	30	(-)	(-)	(-)	8	48	17
9	30	(-)	(-)	(-)	9	50	20	(-)	(-)	(-)	(-)	7	44	16	30	(-)	(-)	(-)	7	47	16	30	(-)	(-)	(-)	6	48	16
10	30	(-)	(-)	(-)	7	46	16	30	(-)	(-)	(-)	6	51	19	30	(-)	(-)	(-)	7	47	16	(-)	(-)	(-)	(-)	7	47	15

TABLA 9. Resultados de los Análisis de Orina (proteínas, bilirrubina, sangre, pH) y Sangre (hematocrito y hemoglobina) efectuados a las de ratas macho tratadas con infusión acuosa de corteza de **Croton guatemalensis** al 10% a los 0, 20, 40 y 60 días de iniciado el experimento, en relación con los controles.

Rata No.	INICIO							20 DIAS							40 DIAS							60 DIAS						
	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat. %	hemog. (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	hemog. (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	Hemog (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	hemog(g/dl)
1	30	(+)	(-)	(-)	8	54	20	100	(+)	(-)	(-)	8	5	17	30	(++)	(-)	(-)	9	48	17	100	(-)	(-)	(-)	6	50	17
2	30	(+)	(-)	(-)	8	48	16	100	(-)	(-)	(-)	8	49	16	30	(-)	(-)	(-)	8	46	15	30	(-)	(-)	(-)	7	48	16
3	30	(-)	(-)	(-)	8	52	18	30	(-)	(-)	(-)	8	49	16	500	(+)	(-)	(-)	9	48	17	30	(-)	(-)	(-)	6	50	17
4	30	(-)	(-)	(-)	6	47	15	100	(-)	(-)	(-)	9	50	17	100	(+)	(-)	(-)	9	48	17	30	(-)	(-)	(-)	5	53	21
5	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17	30	(-)	(-)	(-)	8	48	16	30	(-)	(-)	(-)	8	43	14	30	(-)	(-)	(-)	5	49	16
6	30	(-)	(-)	(-)	8	46	15	100	(-)	(-)	(-)	6	49	16	30	(-)	(-)	(-)	9	50	17	30	(-)	(-)	(-)	9	45	15
7	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17	100	(-)	(-)	(-)	6	45	15	30	(-)	(-)	(-)	9	50	17	30	(-)	(-)	(-)	9	52	17
8	30	(+)	(-)	(-)	7	55	18	100	(-)	(-)	(-)	7	48	16	30	(-)	(-)	(-)	9	50	17	100	(-)	(-)	(-)	8	47	15
9	30	(-)	(-)	(-)	8	57	19	100	(-)	(-)	(-)	8	46	16	30	(-)	(-)	(-)	7	49	16	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17
10	30	(-)	(-)	(-)	7	52	17	100	(-)	(-)	(-)	6	45	15	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17	30	(-)	(-)	(-)	9	45	16
Control Macho No.																												
1	30	(-)	(-)	(-)	7	50	18	(-)	(-)	(-)	(-)	8	48	17	100	(-)	(-)	(-)	7	50	21	30	(-)	(-)	(-)	7	53	17
2	30	(-)	(-)	(-)	7	48	17	30	(-)	(-)	(-)	7	45	15	30	(-)	(-)	(-)	7	47	18	100	(-)	(-)	(-)	8	53	17
3	30	(-)	(-)	(-)	8	45	16	(-)	(-)	(-)	(-)	6	47	17	(-)	(-)	(-)	(-)	9	50	19	30	(-)	(-)	(-)	8	55	17
4	30	(-)	(-)	(-)	8	47	17	30	(-)	(-)	(-)	8	51	19	100	(-)	(-)	(-)	8	47	17	(-)	(-)	(-)	(-)	6	50	16
5	30	(-)	(-)	(-)	7	52	20	30	(-)	(-)	(-)	7	50	18	30	(-)	(-)	(-)	7	48	16	(-)	(-)	(-)	(-)	7	48	16

TABLA 10. Resultados de los Análisis de Orina (proteínas, bilirrubina, sangre, pH) y Sangre (hematocrito y hemoglobina) efectuados en las ratas hembra tratadas con infusión acuosa de corteza de **Croton guatemalensis** al 10% a los 0, 20, 40 y 60 días de iniciado el experimento, en relación con los controles.

Rata No.	INICIO							20 DIAS							40 DIAS							60 DIAS						
	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat. %	hemog (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	hemog (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	Hemog (g/dl)	prot	bili	gluc	sang	pH	hemat %	hemog(g/dl)
1	30	(+)	(-)	(-)	8	40	13	100	(-)	(-)	(-)	5	48	20	30	(-)	(-)	(-)	7	45	16	30	(-)	(-)	(-)	6	46	15
2	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17	500	(+)	(-)	(-)	8	47	16	30	(-)	(-)	(-)	8	48	16	30	(-)	(-)	(-)	7	46	15
3	100	(-)	(-)	(-)	7	45	15	30	(+)	(-)	(-)	7	52	21	30	(-)	(-)	(-)	6	50	16	30	(-)	(-)	(-)	8	44	16
4	30	(-)	(-)	(-)	8	46	15	30	(-)	(-)	(-)	9	46	16	30	(-)	(-)	(-)	8	47	15	30	(-)	(-)	(-)	8	49	16
5	30	(-)	(-)	(-)	8	46	15	30	(-)	(-)	(-)	6	51	19	30	(-)	(-)	(-)	7	46	17	30	(-)	(-)	(-)	7	40	15
6	30	(-)	(-)	(-)	7	48	16	30	(-)	(-)	(-)	7	44	16	30	(-)	(-)	(-)	7	50	17	30	(-)	(-)	(-)	7	44	20
7	30	(-)	(-)	(-)	7	51	17	30	(-)	(-)	(-)	8	47	15	30	(-)	(-)	(-)	8	43	20	30	(-)	(-)	(-)	7	50	18
8	30	(-)	(-)	(-)	8	48	16	30	(-)	(-)	(-)	8	46	15	30	(-)	(-)	(-)	7	48	16	30	(-)	(-)	(-)	8	47	20
9	30	(-)	(-)	(-)	8	52	18	30	(-)	(-)	(-)	6	50	16	30	(-)	(-)	(-)	8	50	18	30	(-)	(-)	(-)	7	49	18
10	30	(-)	(-)	(-)	7	47	15	100	(-)	(-)	(-)	7	53	18	30	(-)	(-)	(-)	7	45	16	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17
Control Hembra No																												
1	30	(-)	(-)	(-)	7	48	16	30	(+)	(-)	(-)	8	48	18	100	(-)	(-)	(-)	6	42	18	100	(-)	(-)	(-)	7	48	20
2	30	(-)	(-)	(-)	8	42	18	100	(-)	(-)	(-)	6	47	17	30	(-)	(-)	(-)	7	48	17	30	(-)	(-)	(-)	8	50	19
3	30	(-)	(-)	(-)	8	46	17	30	(-)	(-)	(-)	7	50	20	30	(-)	(-)	(-)	8	50	17	(-)	(-)	(-)	(-)	6	49	18
4	30	(-)	(-)	(-)	7	53	18	30	(-)	(-)	(-)	8	46	19	30	(+)	(-)	(-)	9	47	19	30	(-)	(-)	(-)	7	47	17
5	30	(-)	(-)	(-)	6	50	19	30	(-)	(-)	(-)	8	50	16	30	(-)	(-)	(-)	6	49	20	30	(-)	(-)	(-)	8	53	19
6	30	(-)	(-)	(-)	7	48	17	30	(-)	(-)	(-)	8	46	16	30	(-)	(-)	(-)	8	50	19	100	(-)	(-)	(-)	6	52	20
7	30	(-)	(-)	(-)	6	45	18	100	(-)	(-)	(-)	6	45	15	(-)	(-)	(-)	(-)	7	45	16	(-)	(-)	(-)	(-)	8	51	20
8	30	(-)	(-)	(-)	8	52	20	(-)	(-)	(-)	(-)	6	42	15	30	(-)	(-)	(-)	8	46	17	30	(-)	(-)	(-)	8	48	17
9	30	(-)	(-)	(-)	9	50	20	(-)	(-)	(-)	(-)	7	44	16	30	(-)	(-)	(-)	7	47	16	30	(-)	(-)	(-)	6	48	16
10	30	(-)	(-)	(-)	7	46	16	30	(-)	(-)	(-)	6	51	19	30	(-)	(-)	(-)	7	47	16	(-)	(-)	(-)	(-)	7	47	15

TABLA 11. Examen post-mortem: Peso (g) dde los órganos aislados de las ratas macho tratadas con infusiones acuosas de hojas de *Croton guatemalensis* al 10%, en relación con los controles.

Rata Macho No.	higado Peso (g)	pancreas Peso (g)	riñones Peso (g)
1	10.2	1.7	2.2
2	10.2	1.6	2.1
3	10.5	1.6	2.0
4	10.5	1.8	2.1
5	9.0	1.8	2.7
6	6.5	1.5	2.4
7	8.0	1.4	2.6
8	7.0	1.5	2.1
9	7.0	1.4	2.0
10	7.2	1.2	2.1

X 8.7 1.45 2.15
 S 2.121320344 0.353553391 0.07071068

Control Macho No.	Hígado Peso (g)	Páncreas Peso(g)	Riñones Peso (g)
1	9.5	2.5	2.1
2	9.1	1.7	2.5
3	9.6	2.8	3.0
4	8.6	2.1	2.5
5	8.0	1.5	2.3
6	7.5	2.2	2.4
7	8.3	1.7	1.9
8	9.1	1.9	2.6
9	8.2	2.9	2.2
10	8.3	2.7	2.2

X 8.9 2.6 2.15
 S 0.848528137 0.141421356 0.07071068

X= Media S= Desviación estándar

TABLA 12. Examen post-mortem: Peso (g) de los órganos aislados de las ratas hembra tratadas con infusión acuosa de hojas de *Croton guatemalensis* al 10%, en relación con los controles.

Rata hembra No.	higado Peso (g)	páncreas Peso (g)	riñones Peso (g)
1	10.2	1.7	1.8
2	10.2	1.6	2.2
3	10.5	1.6	2.5
4	9.0	1.8	2.3
5	6.5	1.5	1.8
6	8.0	1.5	1.7
7	7.0	1.4	2.0
8	7.0	1.5	1.9
9	7.0	1.4	2.1
10	7.2	1.2	1.9

X 8.7 1.45 1.85
 S 2.121320344 0.353553391 0.25298221

Control Hembra No.	Hígado peso (g)	Páncreas Peso (g)	Riñones Peso (g)
1	11.6	2.0	2.0
2	8.8	2.3	1.8
3	10.4	1.4	1.6
4	11.4	1.7	2.0
5	11.2	1.8	2.5
6	10.6	1.8	1.9
7	11.1	2.0	2.2
8	9.9	1.5	2.0
9	10.7	1.8	1.5
10	10.6	1.7	1.8

X 11.1 1.85 1.9
 S 0.707106781 0.212132034 0.28693786

X= Media S= Desviación estándar

TABLA 13. Examen post-mortem: Peso(g) de los órganos aislados de las ratas machos. tratadas con infusión de corteza de *Croton guatemalensis* al 10 % en relación con los controles.

Rata Macho No.	Hígado Peso (g)	pancreas Peso (g)	riñones Peso (g)
1	13.0	1.1	3.0
2	11.2	1.3	2.1
3	12.4	1.0	2.6
4	12.9	0.9	2.7
5	8.9	0.9	1.9
6	7.0	1.0	1.7
7	8.1	1.0	2.0
8	8.4	1.5	2.2
9	9.3	1.5	2.3
10	9.7	2.0	2.4

X 11.4 1.55 2.7
 S 2.333452378 0.636396103 0.42426407

Control Macho No.	Hígado Peso (g)	Páncreas Peso (g)	Riñones Peso (g)
1	9.5	2.5	2.1
2	9.1	1.7	2.5
3	9.6	2.8	3.0
4	8.6	2.1	2.5
5	8.0	1.5	2.3
6	7.5	2.2	2.4
7	8.3	1.7	1.9
8	9.1	1.9	2.6
9	8.2	2.9	2.2
10	8.3	2.7	2.2

X 8.9 2.6 2.15
 S 0.848528137 0.141421356 0.07071068

X= Media S= Desviación estándar

TABLA 14. Examen post-mortem: Peso corporal(g) de los órganos aislados de las ratas hembra tratadas con infusiones acuosas de corteza de *Croton guatemalensis* al 10% en relación con los controles

Rata Hembra No.	hígado Peso (g)	páncreas Peso (g)	riñones Peso (g)
1	8.5	1.5	1.6
2	8.5	1.5	1.7
3	7.4	2.0	1.6
4	9.5	1.8	2.0
5	8.0	1.5	1.8
6	8.0	1.2	1.8
7	9.5	1.8	1.5
8	6.2	2.0	1.6
9	7.4	2.2	1.7
10	6.5	1.5	1.9

x 9.0 1.5 1.75
 S 1.414213562 1.234564545 0.21213203

Control hembra No.	Hígado Peso (g)	Páncreas Peso (g)	Riñones Peso (g)
1	11.6	2.0	2.0
2	8.8	2.3	1.8
3	10.4	1.4	1.6
4	11.4	1.7	2.0
5	11.2	1.8	2.5
6	10.6	1.8	1.9
7	11.1	2.0	2.2
8	9.9	1.5	2.0
9	10.7	1.8	1.5
10	10.6	1.7	1.8

X 11.1 1.85 1.9
 S 0.707106781 0.212132034 0.14142136

X = Media S = Desviación estándar

CURVA DE HEMOGLOBINA:

- HEMATOCRITO : 25 determinaciones : $X = 54$

- DILUCIONES:

1:2 = 1 ml de sangre/ 1 ml de solución salina

1:4 = 0.5 ml de sangre / 1.5 ml. de solución salina

2:3 = 1 ml. de sangre/ 0.5 ml. de solución salina

-HEMOGLOBINA DIRECTA ($54/3 = 18$ g/dl):

Solución madre : 5 ml del reactivo de Drabkin + 20 ul de sangre.

A partir de la solución anterior se hacen las diluciones: 1:2, 1:4, 2/3. Se realizaron cinco determinaciones (absorbancias) para cada dilución y se tomaron únicamente las medias las cuales se muestran a continuación:

Dilucion Transmittancia (%) Absorbancia Concentración

hemo.dir.	6.00	1.2243	18g/dl
2:3	26.00	0.5850	12g/dl
1:2	31.33	0.5039	9g/dl
1:4	62.00	0.2076	4.5g/dl

- Regresión lineal

$$a = -0.1726$$

$$b = 0.0738$$

$$r = 0.9786$$

$$y = a + bx$$

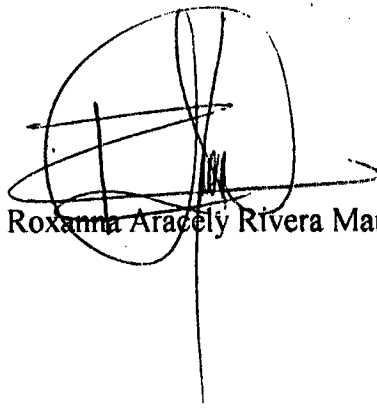
$$y = 0.0738x - 0.1726$$

* Donde x= a la concentración de hemoglobina, y= a las absorbancias dichas concnentraciones.

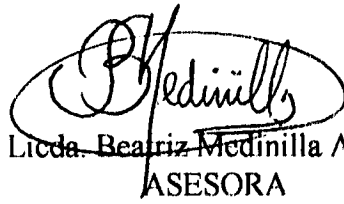
valores de x	valores de y corregidos
18	1.1550
12	0.7130
9	0.4916
4.5	0.1595

CLASIFICACION BOTANICA

Reino	Vegetal
Tipo	Fanerógamas
Sub-tipo	Angiospermas
Clase	Dicotiledoneas
Sub-clase	Dialepétalas, superovarias
Orden	Euforbidas, Euforbiales
Familia	Euforbiaceae
Género	Croton
Especie	guatemalensis
Nombre común	: copalchí, zicche (3,11,12)



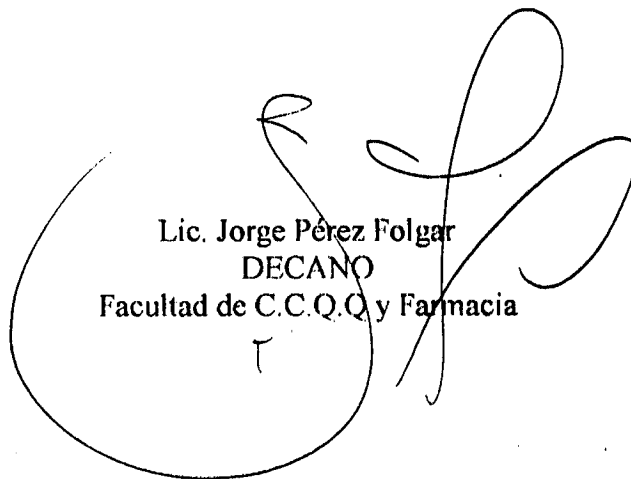
Br. Roxanna Aracely Rivera Martinez



Licda. Beatriz Medinilla Aldana
ASESORA



Licda. Beatriz Batres de Jimenez
DIRECTORA. ESCUELA QUIMICA FARMACEUTICA



Lic. Jorge Pérez Folgar
DECANO
Facultad de C.C.Q.Q y Farmacia