

## Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda

César Joe Valenzuela Huamán<sup>1\*</sup>, Nerio Gongora Amaut<sup>1</sup>, Marley Dueñas Aragón<sup>1</sup>, Lida Velázquez Rojas<sup>1</sup>, Alcides Ramos Calcina<sup>2</sup>, Nelly Melinda Valenzuela Huamán<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias de la Salud, Av. de La Cultura 773, Cusco 08000, Perú.

\*Correo electrónico: qfjoes@gmail.com

<sup>2</sup>Universidad Nacional del Altiplano Puno, Facultad de Ingeniería Estadística e Informática, Av. de La Cultura 773, Cusco 08000, Perú.

<sup>3</sup>Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Biología, Av. de La Cultura 773, Cusco 08000, Perú.

Recibido para evaluación: 10 de agosto de 2018

Aceptado para publicación: 14 de diciembre de 2018

### RESUMEN

Con el objetivo de demostrar el efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R&P mashua sobre los parámetros seminales y su toxicidad aguda en ratones albinos, se utilizó dos grupos experimentales y un grupo control. Los ratones fueron sacrificados, después de 7 días, luego de recibir los dos tipos de extractos, realizando posteriormente el conteo de espermatozoides utilizando la cámara y el método de Neubauer. Los extractos aplicados por vía intraperitoneal, afectaron la cantidad de espermatozoides en ratones, obteniendo: que el grupo que recibió el extracto clorofórmico presentó disminución del 79,9% en el número de espermatozoides y el grupo con diclorometano presentó disminución del 77,1%, ambos con respecto al grupo control.

*Palabras claves:* Extracto, parámetros seminales, espermatogénesis intraperitoneal, toxicidad aguda.

## SUMMARY

### Effect of dry chloroformic and dichloromethane extracts of *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua on seminal parameters and acute toxicity

With the goal of proving the effect of chloroformic and dichloromethane dry extracts from *Tropaeolum tuberosum* R&P mashua, on the seminal parameters and its acute toxicity in albino mice. It was used two experimental groups and a control group. The mice were sacrificed, after 7 days while they were receiving the two kinds of extracts, making after that a sperm count, using for that the Neubauer's method and camera. The extracts, applied intraperitoneally, affect the amount of sperm on mice, getting: The group that received the chloroform extract showed a 79.9% decrease in the number of spermatozoids and the group that received the dichloromethane extract showed a decrease of 77.1%, both with respect to the control group.

*Key words:* Extract, seminal parameters, spermatogenesis, intraperitoneal, acute toxicity.

## INTRODUCCIÓN

El *Tropaeolum tuberosum* R&P mashua es una planta nativa, usada por los antiguos peruanos en la alimentación. El padre Bernabé Cobo en sus escritos hace referencia a esta planta, señalando que “tiene la virtud esta raíz de reprimir el apetito venéreo” [1].

La espermatogénesis es el proceso de formación de los espermatozoides, gametos masculinos, que comienza con la división de las espermatogonias y finaliza con la formación de espermatozoides [2, 3]. En el ratón adulto este proceso tiene una duración de 34 a 35 días [4-6].

El *Tropaeolum tuberosum* R&P mashua actualmente, tiene importancia para satisfacer la alimentación de los habitantes en los Andes altos [7], pero su consumo no es solo por el alto valor nutricional que posee, sino también por los efectos que presenta sobre el ímpetu sexual [1]. La espermatogénesis es un proceso fisiológico fundamental en el varón, para dar lugar a la reproducción humana, su unidad funcional es el espermatozoide que contiene los gametos masculinos [7, 8].

Existen antecedentes históricos que indican que los ejércitos del inca se alimentaban de mashua, presuntamente para inhibir su ímpetu sexual, al reducir los niveles de testosterona, es decir, que tiene propiedades anafrodisiacas [1], actualmente los comuneros consumen este producto no sólo por su alto valor nutritivo sino, además, por el efecto

de inhibir la libido. Hasta el momento no se ha comprobado el efecto de la planta de *Tropaeolum tuberosum* R&P mashua sobre la espermatogénesis, ya que para la iniciación de este proceso es necesario la intervención de la hormona testosterona, edad, cambios fisiológicos [7, 9, 10].

El presente trabajo tiene como objetivo determinar científicamente el efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R&P mashua sobre la cantidad de espermatozoides en ratones albinos, y determinar la posible toxicidad aguda de esta especie vegetal en ratones albinos.

Al *Tropaeolum tuberosum* R&P mashua se le atribuyen propiedades medicinales como: diurético, antiinflamatorio de la próstata, inhibidor de la libido en varones. Esta especie vegetal es usada en la medicina tradicional para el tratamiento de dolencias genitourinarias, anemia y desordenes urinarios utilizándose básicamente bajo la forma de decocción del tubérculo [11, 12].

## MATERIAL Y MÉTODOS

Con el objetivo de evaluar y determinar el efecto sobre la espermatogénesis en ratones albinos se realizó un estudio experimental con grupos para cada extracto seco clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R&P mashua. Es un diseño con preprueba y un grupo control. Para la toxicidad aguda se realizó un estudio experimental, pues los animales de experimentación fueron seleccionados aleatoriamente, de series cronológicas con múltiples grupos y un diseño con grupo control y sin preprueba.

La investigación del efecto sobre la espermatogénesis y toxicidad aguda son experimentales cuenta con un grupo control y los animales de experimentación se asignaron al azar. Se siguió para el conteo de los espermatozoides la técnica de conteo de glóbulos blancos [13, 14].

## ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos de cada uno de los indicadores sobre la espermatogénesis medidos para la evaluación y comparación del efecto entre los extractos, fueron procesados mediante el paquete estadístico SPSS. 21,0 (*Statistical Package for Social Science*). Se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Así mismo, posterior al ANOVA, se realizó la prueba de comparaciones múltiples de medias, propuesta por Duncan, con el fin de detectar entre cuales grupos se ubican las diferencias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Determinación del porcentaje de humedad

Para la determinación el porcentaje de humedad se utilizó el siguiente método gravimétrico que consiste en la diferencia de pesos.

$$\%H = \frac{M1-M2}{M1} \times 100$$

**Dónde:** % H = porcentaje de humedad.

M1 = peso de muestra fresca.

M2 = peso de muestra seca

**Tabla 1.** Resultados del porcentaje de humedad de la especie vegetal *Tropaeolum Tuberosum R & P* mashua.

Especie vegetal	<i>Tropaeolum Tuberosum R &amp; P</i> mashua		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Peso de muestra fresca (g)	10 g	10 g	10 g
Peso de muestra seca (g)	1,49 g	1,51 g	1,50 g
Porcentaje de humedad (%)	85,1%	84,9%	85%
Promedio % de humedad	85%		

### Análisis, interpretación y discusión

Se analizaron tres muestras de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum R & P* mashua, obteniéndose respectivamente, 85,1 %, 84,9% y 85% de porcentaje de humedad para cada muestra, luego se calculó el porcentaje de humedad promedio para las tres muestras, este valor fue del 85% de humedad.

Según A. Guerra [15] reporta el porcentaje de humedad de este tubérculo fue de 84,5%, mostrando similitud entre ambos estudios.

El valor de 85% de humedad indica que los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum R & P* mashua presentan un alto contenido de agua, por lo cual se debe señalar que el secado de la muestra debe realizarse cuidadosamente, trozando la muestra en pequeños fragmentos para que estos puedan liberar con mayor facilidad su contenido de agua, esto para evitar que proliferen formas de vida externas (hongos), ya que estos pueden alterar los metabolitos de la muestra vegetal.

### Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

$$%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

**Dónde:** %E = porcentaje de rendimiento

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

**Tabla 2.** Resultados del porcentaje de rendimiento de la extracción de con los solventes de cloroformo y diclorometano de especie vegetal mashua.

	Ext. clorofórmico	Ext. de diclorometano
Peso inicial de muestra molida (g)	200 g	184 g
Peso final del extracto seco (g)	16 g	15,5 g
Porcentaje de extracción (%)	8 %	8,42 %

### Análisis, interpretación y discusión

Donde el extracto de diclorometano presentó un porcentaje ligeramente mayor de rendimiento en comparación con el extracto clorofórmico, esto podría deberse al uso de solventes de diferente polaridad, puesto que el diclorometano es más polar que el cloroformo, estas observaciones nos indican que al usar solventes más polares se pueden obtener mayores porcentajes de rendimiento.

### Pruebas de solubilidad

Las pruebas de solubilidad se realizaron utilizando diferentes solventes de polaridad decreciente; obteniéndose los resultados consignados en la tabla 3.

### Análisis, interpretación y discusión

Se utilizó el modelo P. Hurtado empleando una escala de solubilidad del solvente más polar al solvente más apolar [16, 17].

Mostrando los siguientes resultados de solubilidad de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua, se utilizaron solventes de polaridad decreciente que permitieron deducir la presencia de los grupos de metabolitos secundarios en los extractos. El extracto clorofórmico es soluble en solventes apolares, debido a que el cloroformo es de naturaleza altamente apolar, por ende, este extracto será más soluble en solventes de su misma o similar naturaleza (hexano, benceno, éter etílico, cloroformo y diclorometano), poco soluble en solventes polares (metanol y etanol) e insoluble en agua.

**Tabla 3.** Pruebas de solubilidad de los extractos clorofórmicos y diclorometano de la especie vegetal mashua.

Solventes	Extracto clorofórmico	Extracto de diclorometano
Agua destilada	----	----
Metanol	+----	+---
Etanol 70%	+----	+---
Etanol 90 %	+----	+---
Acetato de etilo	++--	++--
Acetona	++--	++++
Diclorometano	+++-	++++
Cloroformo	++++	+++-
Éter etílico	++++	+++-
Benceno	++++	+++-
Hexano	+++-	++--

Nota lectura de solubilidad:

++++: totalmente soluble

+++ -: parcialmente soluble

++ -: poco soluble

+ -: muy poco soluble

----: insoluble.

Así mismo, el extracto de diclorometano es soluble en solventes apolares, debido a que el diclorometano es de naturaleza apolar, aunque menos que el cloroformo, por lo cual dicho extracto será más soluble en solventes de su misma o similar naturaleza (acetona, diclorometano, cloroformo y éter etílico) y poco soluble en solventes polares (metanol y etanol) e insoluble en agua destilada.

### Análisis fitoquímico cualitativo

En la determinación de metabolitos secundarios realizados en los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua se obtuvieron los resultados que a continuación se presentan en la tabla 4.

### Análisis, interpretación y discusión

En el análisis fitoquímico del extracto seco clorofórmico de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua se determinó la presencia de abundantes triterpenoides y esteroides, moderada cantidad de: compuestos fenólicos, azúcares reductores, glucósidos, antraquinonas y naftoquinonas.

**Tabla 4.** Análisis fitoquímico cualitativo de los metabolitos secundarios de los extractos clorofórmico y de diclorometano de la especie vegetal de mashua.

Metabolito secundario	Reactivo	Extracto clorofórmico	Extracto de diclorometano
<b>Azúcares Reductores y Glucósidos</b>	Benedict	++-	+++
<b>Aminoácidos</b>	Ninhidrina	++-	+++
<b>Comp. Fenólicos</b>	Cloruro férrico	++-	++-
<b>Flavonoides</b>	Shinoda Amoniaco	++-	++-
<b>Taninos</b>	Gelatina-sal	---	---
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff Mayer	---	---
<b>Saponinas</b>	Afrosimétrico	---	---
<b>Triterpenoides y Esteroides</b>	Lieberman-Burchard	+++	+++
<b>Antraquinonas-Naftoquinonas</b>	Borntrager	++-	++-

Nota lectura de metabolitos secundarios:

+++ : abundante cantidad

++ - : moderada cantidad

+ - - : escasa cantidad

- - - : ausencia.

Por otro lado, en el extracto seco de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua se determinó la presencia abundante de triterpenoides y esteroides, azúcares reductores y aminoácidos en abundante cantidad y en moderada cantidad se encontraron compuestos fenólicos, flavonoides, antraquinonas y naftoquinonas.

Además, otros estudios de referencia como el del Instituto de Investigación Agropecuaria de Ecuador señalan que el *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua tiene en su composición abundantes compuestos fenólicos, flavonoides, terpenos y aminoácidos, los cuales se encuentran en el análisis fitoquímico [18]; cabe resaltar que el análisis que se realizó en el trabajo de investigación, no muestra abundancia a diferencia de lo que refieren los estudios ya realizados, esto podría deberse a que los extractos son bastante apolares y los metabolitos son más solubles en solventes polares.

#### Del efecto sobre los parámetros seminales

Luego del tratamiento de los grupos experimentales con los extractos secos mashua, por un período de siete días, se realizó el recuento de espermatozoides. Los resultados se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5.** Cuantificación de espermatozoides ratón por ratón de los tres grupos: control, extracto clorofórmico y extracto de diclorometano.

Grupos de Ratonos	Ratón 1	Ratón 2	Ratón 3	Ratón 4	Ratón 5	Promedio
Control	36,6 x 10 <sup>6</sup>	37 x 10 <sup>6</sup>	37 x 10 <sup>6</sup>	35,4 x 10 <sup>6</sup>	37 x 10 <sup>6</sup>	36,6 x 10 <sup>6</sup>
Extracto Clorofórmico	7,8 x 10 <sup>6</sup>	7,8 x 10 <sup>6</sup>	8,0 x 10 <sup>6</sup>	7,6 x 10 <sup>6</sup>	7,4 x 10 <sup>6</sup>	7,72 x 10 <sup>6</sup>
Extracto de Diclorometano	8,0 x 10 <sup>6</sup>	8,4 x 10 <sup>6</sup>	8,2 x 10 <sup>6</sup>	8,2 x 10 <sup>6</sup>	8,4 x 10 <sup>6</sup>	8,24 x 10 <sup>6</sup>

Nota: cuantificación y el promedio por grupo de los ratones después del tratamiento.

### Análisis, interpretación y discusión

En el análisis cuantitativo de los espermatozoides podemos decir que en el grupo que fue tratado con el extracto seco clorofórmico de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua se produjo una disminución del 79,9% en el conteo de espermatozoides con respecto al grupo control.

De otro lado, el grupo que fue tratado con el extracto seco de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua tuvo una disminución del 77,1% en el conteo de espermatozoides con respecto al grupo control.

La mayor disminución de espermatozoides fue la del grupo tratado con el extracto seco clorofórmico en el que se observa una disminución del 79,9%, en cambio, el grupo tratado con el extracto seco de diclorometano presentó una disminución del 71,1% (respecto al grupo de control).

Así, es importante mencionar que los triterpenoides y esteroides comparten mucho de su estructura química ya que provienen de la misma ruta biosintética, estos forman parte de la porción lipídica insaponificable, y se extraen con disolventes halogenados habituales [19-21].

Es necesario en este punto revisar otros estudios relacionados con el tema de esta investigación. Por ejemplo, los estudios realizados por Uttam Kumar Das y colaboradores [22-25], en ratas, indican que los niveles bajos de testosterona en plasma inhiben las actividades de las enzimas esteroideas genitales, con lo que se produce la disminución del número de espermatozoides. En el caso de la presente investigación los triterpenoides y esteroides al ser de naturaleza esterooidal y precursores de hormonas, podrían afectar la actividad de las enzimas que se mencionan en el estudio.

Estudios reportados por J. Pino y R. Alvis (2009) [26, 27] en su trabajo de investigación *Efecto de Brugmansia arborea (L.) Lagerheim (Solanacea) en el sistema reproductor*

*masculino de ratón* muestran resultados después del tratamiento de  $5,440 \times 10^6 \pm 3,164 \times 10^6$ , datos similares a los encontrados en el estudio con extractos secos clorofórmico y de diclorometano de especie vegetal *tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) *mashua*. Ambos mostraron disminución de los espermatozoides después de los tratamientos.

Además, algunos de los esteroides presentes en los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P *mashua*, podrían presentar una estructura similar a la de la testosterona, con lo cual podrían disminuir los niveles de gonadotropina, y así disminuir el conteo de espermatozoides

### Del examen de espermatograma

Luego del tratamiento de los grupos experimentales con los extractos *mashua*, se realizó un espermatograma, la muestra que se utilizó para este examen fue el homogeneizado obtenido a partir de las colas de los epidídimos de los ratones pertenecientes a cada grupo de experimentación, estos resultados se muestran a continuación.

El examen macroscópico se realizó con el método de conteo de la cámara de Neubauer, siguiendo el protocolo de conteo de glóbulos rojos. Homogenizando las colas de epidídimo de los ratones [25].

**Tabla 6.** Examen macroscópico de la solución de los epidídimos de los ratones, de los tres grupos de estudio control, extracto clorofórmico y extracto de diclorometano de la especie vegetal *mashua*.

Grupos de ratones	Color	Turbidez	pH
Control	Ligeramente blanco	Escasa	7,1
Extracto clorofórmico	Ligeramente blanco	Escasa	7,1
Extracto de diclorometano	Ligeramente blanco	Escasa	7,1

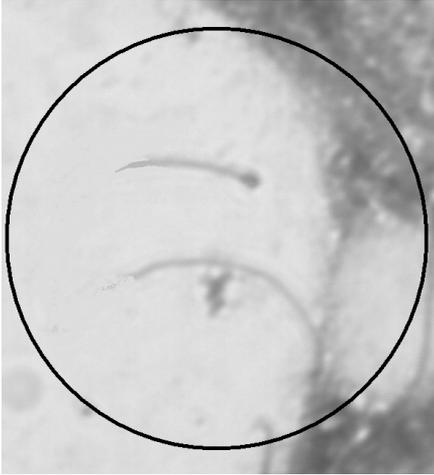
Nota: exámenes realizados en los espermatograma.

### Análisis, interpretación y discusión

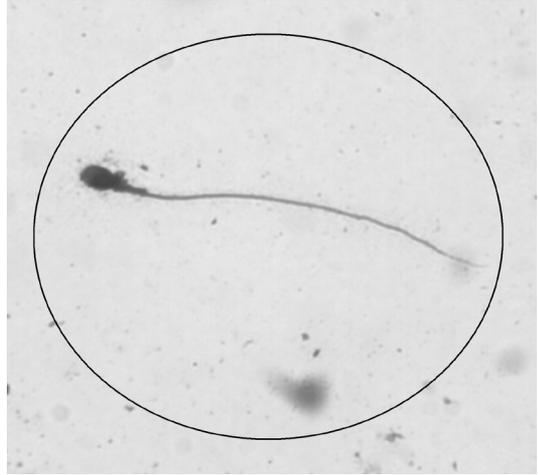
En el examen macroscópico, realizado en el homogeneizado de las colas de los epidídimos para cada grupo de experimentación, podemos apreciar que no existe mayor diferencia entre los grupos experimentales y el grupo control, este hecho podría deberse a que se trabajó con los homogeneizados, los cuales fueron preparados en 0,5 mL de solución fisiológica, esta tiene un pH de 7, por lo tanto al añadir las colas de los epidídimos y homogeneizarlas el pH de la solución fisiológica no se altera de manera significativa.

Respecto al color y la turbidez de las muestras, todas presentaron un color ligeramente blanco y una escasa turbidez, esto también podría deberse a que se trabajaron en medio de solución fisiológica, utilizándose para cada muestra la misma cantidad de esta

solución. Por lo tanto, el grupo control y los grupos experimentales no presentan mayores diferencias macroscópicas.



**Figura 1.** Espermatozoide de ratón.  
Laboratorio de Oficina Criminalística  
Cusco Policía Nacional del Perú.  
Fuente: elaboración propia.



**Figura 2.** Espermatozoide humano.  
Laboratorio de Oficina Criminalística Cusco, Poli-  
cía Nacional del Perú.  
Fuente: elaboración propia.

**Tabla 7.** Examen microscópico de los espermatozoides de los ratones mostrados en los grupos de control, extracto clorofórmico y extracto de diclorometano de la especie vegetal mashua.

Grupos de ratones	Movilidad	Morfología
Control	Nula	Normal
Extracto clorofórmico	Nula	Normal
Extracto de diclorometano	Nula	Normal

Nota: observación de los espermatozoides en los laboratorios de la policía Nacional del Perú, Cusco.

### Análisis, interpretación y discusión

Podemos apreciar que en los dos grupos experimentales al igual que en el grupo control la movilidad de los espermatozoides es nula, esto podría deberse al proceso del homogeneizado durante el cual se trabajó a una temperatura ambiente, sin tomar en cuenta la temperatura corporal de los ratones. Así mismo, cabe mencionar que para realizar la observación microscópica se realizó previamente una tinción con cristal violeta [28-31], este colorante podría haber fijado los espermatozoides en la lámina porta objetos, evitando su normal movilidad.

En conclusión, al observar la morfología de los espermatozoides en los dos grupos experimentales no se observaron formas anormales en comparación a la morfología observada en el grupo control.

En la figura 2 observamos un espermatozoide de ratón y en la figura 3 observamos un espermatozoide humano, comparando ambas figuras podemos apreciar que la morfología de los espermatozoides de los ratones no difiere de la de los seres humanos, salvo en el tamaño que según la bibliografía en los ratones es de 8 micras y en el ser humano de 45 micras, esta diferencia de tamaño hace que en el espermatozoide humano se pueda apreciar y diferenciar con mucha claridad las partes de un espermatozoide (cabeza, cuello y cola).

### Análisis estadístico

#### *Tomando en cuenta como factor al grupo control*

**Tabla 8.** Cuantificación de espermatozoides de los grupos control, extracto clorofórmico y extracto de diclorometano de mashua.

Grupos de ratones	Control	Extracto clorofórmico	Extracto de diclorometano
Ratón 1	36,6 x 106	7,8 x 106	8,0 x 106
Ratón 2	37,0 x 106	7,8 x 106	8,4 x 106
Ratón 3	37,0 x 106	8,0 x 106	8,2 x 106
Ratón 4	35,4 x 106	7,6 x 106	8,2 x 106
Ratón 5	37,0 x 106	7,4 x 106	8,4 x 106
Promedio	36,6 x 106	7,72 x 106	8,24 x 106

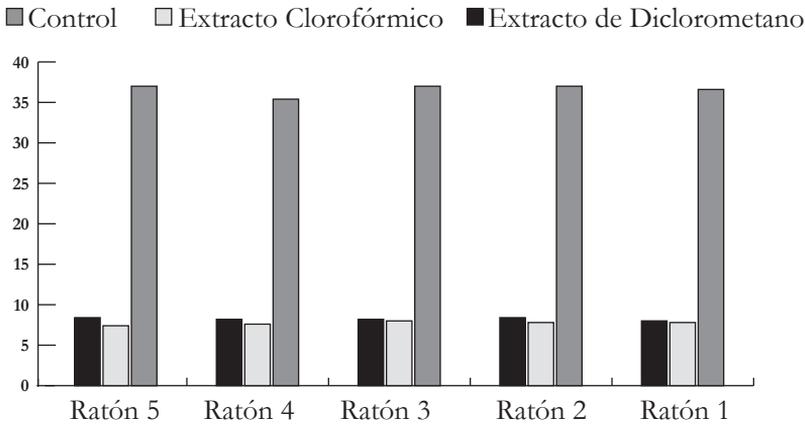
**Tabla 9.** Cuantificación de espermatozoides divididos entre 106 para el análisis estadístico.

Grupos de ratones	Control	Extracto clorofórmico	Extracto de diclorometano
Ratón 1	36,6	7,8	8
Ratón 2	37	7,8	8,4
Ratón 3	37	8	8,2
Ratón 4	35,4	7,6	8,2
Ratón 5	37	7,4	8,4

**Tabla 10.** Análisis de estadísticas básicas de los grupos de ratones: control, extracto clorofórmico y extracto de diclorometano de la especie vegetal mashua.

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Control	5	183	36,6	0,48
Extracto clorofórmico	5	38,6	7,72	0,052
Extracto de diclorometano	5	41,2	8,24	0,028

## Cuantificación de Espermatozoides



**Figura 3.** Cuantificaciones de espermatozoides de los ratones de los grupos de extractos (clorofórmico y de diclorometano) y el grupo control.

**Tabla 11.** Análisis de varianza de todos los tres grupos estudiados.

F.V.	S.C.	G.L.	CME	Fc	P	Ft
Entre grupos	2731,024	2	1365,512	7315,24286	3,0297E-19	3,88529383
dentro de los grupos	2,24	12	0,186666667			
Total	2733,264	14				

Promedio general = 17,52

$$\text{C.V. (\%)} = 1,07$$

Nos indica que únicamente el 1,07% de los datos no son representados por la media general, de esto se puede concluir que los datos son altamente confiables.

**i) Decisión**

Como  $p < \alpha$ , entonces se rechaza  $H_0$ .

**ii) Conclusión**

Como  $p = 0,000000 < 0,01$  (1%), entonces se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ), y aceptamos la hipótesis alterna lo que podemos decir que existe una diferencia altamente significativa entre los dos tipos de extractos y el grupo control aplicados a los ratones.

### De la toxicidad aguda

Al realizar la prueba de toxicidad aguda con los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua se obtuvieron los resultados consignados en la tabla 12.

Teniendo como referencia a Loomis y otros autores [32, 33] para la determinación de la toxicidad aguda por vía oral en ratones albinos sometidos a dosis crecientes de extracto seco de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua, según el criterio de Williams se comprobó que el extracto es prácticamente atóxico hasta la dosis de 16.000 mg/kg de peso, de lo cual se deduce que la dosis letal media está por encima de esta medida, dosis que por ser muy elevada no se llega a administrar a una persona con peso promedio de 70 kg. [10, 20]

El comportamiento de los ratones al administrarles las dosis correspondientes se observan en la tabla 12, donde se evidenció signos de estimulación los mismos que se aprecian por periodos cortos a partir de la dosis de 10.000 mg/kg; con dosis a partir de 16.000 mg/kg se observó disminución de la actividad motora los cuales también desaparecían al cabo de un tiempo. Al cabo de una semana de observación, los animales evidenciaron sus funciones vitales sin ningún tipo de alteración lo que comprueba que el extracto seco de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P mashua aplicado por vía oral es atóxico.

**Tabla 12.** De la toxicidad aguda sometida por el extracto seco clorofórmico y de diclorometano en los ratones.

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de ratones	Número de ratones muertos	Observaciones
1	500	4	0	Estado aparentemente normal
2	1000	4	0	Hociqueos entre ratones luego estado aparentemente normal
3	3000	4	0	Hociqueos entre ratones luego estado aparentemente normal
4	5000	4	0	Dan giros y estado aparentemente normal
5	7000	4	0	Dan giros y estado aparentemente normal
6	10.000	4	0	Se rascan y actividad motora disminuida
7	15.000	4	0	Se rascan y actividad motora disminuida
8	20.000	4	0	Actividad motora disminuida

## CONCLUSIONES

Se determinó el efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P *mashua*, sobre los parámetros seminales los cuales disminuyen la producción de espermatozoides, y presentan movilidad nula en ratones albinos y se determinó la toxicidad aguda de los extractos secos siendo ambos atóxicos en ratones albinos, según el criterio de Williams.

Se obtuvieron los extractos secos clorofórmico y de diclorometano a partir de los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* R & P *mashua*.

Se realizaron las pruebas preliminares (porcentaje de humedad, porcentaje de rendimiento, solubilidad y estudio fitoquímico) de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P *mashua*, también se realizó exámenes de los parámetros seminales en la solución de los epidídimos de los ratones.

Finalmente, se concluye que la toxicidad aguda de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* R & P *mashua* en ratones albinos machos

es nula, considerándoseles atóxicos. Concluyéndose que la DL50 se encuentra por encima de la dosis de 20.000 mg/kg de peso corporal para ambos extractos, según el criterio de Williams.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

1. J. Soukup, "Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana", Editorial Salesiana, Lima, 1987, (4) pp. 49-96.
2. A. Caille, "Efecto de la osmolalidad sobre la habilidad fecundante del espermatozoide humano: un modelo de estudio *in vitro*", Universidad Nacional de Rosario, 2012, pp. 17-20.
3. A. Guyton, J. Hall, "Tratado de fisiología médica", Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, España, 2001, ed. 10, pp. 2444- 2480.
4. C. Sorbazo, O. Bustos, Acute effect of parathion on the seminiferous epithelium of immature mice, *Revista Chilena de Anatomía*, **18**(1), acta 61-68 (2000).
5. J. Pino y R. Alvis, Efecto de *Brugmansia arborea* (L.) Lagerheim (Solanacea) en el sistema reproductor masculino de ratón, *Revista Peruana de Biología*, **15**(2), 125-127 (2009).
6. U. Kumar, R. Maiti, D. Jana & D. Ghosh, Effect of Aqueous Extract of Leaf of *Aegle marmelos* on Testicular Activities in Rats, *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, **5**, 21-25 (2006).
7. W. Ganong, "Fisiología básica y clínica", Editorial El Manual Moderno, México, 1995, 15 ed., pp. 301-391.
8. R. Murray, P. Mayes, D. Granner y V. Roswell, "Bioquímica de Harper", Editorial El Manual Moderno, México, 1992, ed. 12, pp. 97-101.
9. R. Murray, P. Mayes, D. Granner y V. Roswell, "Bioquímica de Harper", Editorial El Manual Moderno, México, 1992, 12 ed., pp. 234-388.
10. F. Vásquez y D. Vásquez, Espermograma y su utilidad clínica, *Revista Científica Salud Uninorte*, **23**(2), 220-230 (2007).

11. A. Brack, Cronología de los cultivos y sus centros de origen en el Perú, URL: [http://www.peruecologico.com.pe/esp\\_cultivosincas\\_crono.htm](http://www.peruecologico.com.pe/esp_cultivosincas_crono.htm), consultado mayo de 2010.
12. A. Grau, R. Ortega, C. Nieto, Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 25. Mashua, URL: [https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/\\_migrated/uploads/tx\\_news/Mashua\\_\\_Tropaeolum\\_tuberosum\\_\\_Ru%C3%ADz\\_\\_amp\\_\\_Pav.\\_880.pdf](https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Mashua__Tropaeolum_tuberosum__Ru%C3%ADz__amp__Pav._880.pdf), consultado febrero 2010.
13. E. Dueñas, “Efecto in vitro de *Escherichia coli* uropatógena en la calidad espermática humana”, Tesis pregrado, Universidad Ricardo Palma, 2018, pp. 29- 30.
14. L. Rodríguez, B. Ambrosius y E. Fumuso, “Azoospermia, como causa de infertilidad en padriño”, Tesis pregrado, Universidad Nacional del centro de la provincia de Buenos Aires, 2018, pp. 24-25.
15. A. Guerra, “Estudio de la utilización de la harina de mashua (*tropaeolum tuberosum*) en la obtención del pan de molde”, Tesis pregrado, Universidad Tecnológica Equinoccial, 2014, pp. 13.
16. P. Hurtado, B. Jurado, E. Ramos, M. Calixto, Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de *juglans neotropica diels* (nogal peruano), *Revista Sociedad Química Perú*, **81**(3), 2015.
17. W. Cruz y J. Arroyo, Efecto del extracto etanólico de maca (*lepidium meyenii walp*) sobre los niveles de testosterona y el conteo de espermatozoides de ratones machos, *Revista Médica Panacea*, **2**(1), 2-6 (2012).
18. J. Bruneton, “Farmacognosia: fitoquímica plantas medicinales”, Editorial Acribia, España, 2001, ed. 2, pp. 455-772.
19. A. Villar, “Farmacognosia general” , Editorial Síntesis S, 3 ed. Zaragoza España 1999, pp. 71-72.
20. K. Thomas, A. Caxton, A. Elujoba and O. Oyelola, Effects of an aqueous extract of cotton seed (*Gossypium barbadense* Linn.) on adult male rats, *Advances in Contraception*, **7**, 353-362 (1991).
21. A. Salame, A. Castro, I. Salgado, E. Mendieta, J. Herrera y J. Ramírez, Evaluación estacional de la producción de esteroides sexuales en testículos del ratón de orejas oscuras (*Peromyscus melanotis, allen & chapman*, 1897) de diferentes clases de edad, *Acta Zoológica Mexicana*, **20**(2), 103-114 (2004).

22. U. Kumar, R. Maiti, D. Jana y D. Ghosh, Iraian Journal of Pharmacology & Therapeutics, by Razi Institute for Drug Research (RIDR), *IJPT* **5**,21-25 (2006).
23. J. Hardman, A. Goodman, “Las bases farmacológicas de la terapéutica”, Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, México, 1996, ed. 9, pp. 1739-1776.
24. M. Litter, “Farmacología: experimental y clínica”, Editorial El Ateneo, Argentina, 1990, ed. 5, pp. 45-52.
25. F. Vásquez y D. Vásquez, Espermograma y su utilidad clínica, *Revista Científica Salud Uninorte*, **23**(2), 220-230 (2007).
26. J. Pino y R. Alvis, Efecto de *Brugmansia arborea* (L.) Lagerheim (Solanacea) en el sistema reproductor masculino de ratón, *Revista Peruana de Biología*, **15**(2), 125- 127 (2009).
27. L. Acosta, V. Núñez, J. Vásquez, J. Pino y B. Shiga, Dosis única de ciclofosfamida disminuye la calidad espermática y el epitelio germinal masculino en ratones, *Revista Peruana de Biología*, **19**(2),193- 198 (2012).
28. M. Martínez, J. Betancourt, R. Ramírez, H. Barceló, R. Meneses, A. Lalnez, Evaluación toxicológica aguda de los extractos fluidos al 30 y 80% de *Cymbopogon citratus* (caña santa), *Revista Cubana Plantas Medicinales*, **5**(3) (2000).
29. W. Cruz, K. Luján y U. Miranda, Efectos del malathion sobre la espermatogénesis de ratones machos jóvenes de la cepa balb-C53, *Revista ECIPERU*, **1**(1), 17- 19 (2012).
30. O. Espinoza, H. Rodríguez, H. Kemble y C. Arriaza, Efecto del insecticida malathion sobre el epitelio germinativo de testículo de ratón Cf1, *Revista Asociación Interciencia Caracas*, **40**(8), 560-563 (2015).
31. J. Cuevas, R. García, R. Navarro, J. Jordán y J. Cuba, Efecto de la criptorquidia provocada sobre el parénquima de los testículos en ratones Balb/c, *Revista Panorama Cuba y Salud*, **8**(3), 21-25 (2013).
32. A. Loomis, “Fundamentos de toxicología”, 3 ed., Editorial Acribia, España, 2010, pp. 2-30.
33. C. Gisbert, A. Juan, “Medicina legal y toxicología”, Editorial Salvat S.A., España, 1995, ed. 4, pp. 919-929.

## CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

C.J. Valenzuela-Huamán, N. Góngora-Amaut, M. Dueñas-Aragón, L. Velázquez-Rojas, A. Ramos-Calquina, N.M. Valenzuela-Huamán, Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) *mashua* sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **48**(1), 94-111 (2019).