

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las
hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo
de pozo", Ayacucho 2012.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR:

Bach. POTOSINO HUASACCA, Judith Elisa

AYACUCHO – PERÚ

2015

DEDICATORIA

A mis hijos Jhadiel y Ariana, quienes
son la luz de mis ojos.

AGRADECIMIENTO

Especial agradecimiento a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y a los docentes que en ella laboran, por su invaluable apoyo académico y moral quienes son forjadores de nuevos profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, por facilitarme los medios necesarios para la realización de este trabajo de investigación y a sus docentes por sus enseñanzas y orientaciones durante mi formación profesional.

A mi asesor Dr. Q.F. Edwin Carlos Enciso Roca, por su constante asesoramiento y apoyo durante la realización de mi trabajo de investigación.

A los docentes de la E.F.P. de Farmacia y Bioquímica, Mg. Q.F. Enrique Aguilar Felices y Dr. Q.F. Tinco Jayo, Johnny Aldo.

A todas las personas que de una u otra manera han colaborado en la realización del presente trabajo.

ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo"	4
2.2.1. Clasificación taxonómica	4
2.2.2. Descripción botánica	5
2.3. Composición química	6
2.4. Farmacología renal	6
2.4.1. Fisiopatología renal	6
2.5. Diuréticos	7
2.5.1. Clasificación de los diuréticos	7
2.5.2. Furosemida	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1. Ubicación	11
3.2. Población y muestra	11
3.3. Métodos para la recolección de datos	12
3.4. Análisis estadístico	14
IV. RESULTADOS	15
V. DISCUSIÓN	23
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	31
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS	36

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico	16

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. (I)Filiceno, (II)Filicenol	6
Figura 2. Furosemida	8
Figura 3. Volumen de orina en función del tiempo del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho – 2012.	17
Figura 4. Volumen promedio final de orina por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho – 2012.	18
Figura 5. Excreción volumétrica urinaria expresada en porcentaje del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho – 2012.	19
Figura 6. Eficacia diurética expresada en porcentaje del extracto	20
Figura 7. Variación de peso en el ensayo de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr.	21

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de clasificación taxonómica	37
Anexo 2. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto hidroalcohólico.	38
Anexo 3. Volumen de orina de cobayos en función del tiempo por efecto de los tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr.	39
Anexo 4. Análisis de varianza del volumen total de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. Ayacucho - 2012	40
Anexo 5. Análisis de varianza del porcentaje de la excreción volumétrica urinaria del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. Ayacucho - 2012	41
Anexo 6. Análisis de varianza del porcentaje de eficacia diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. Ayacucho - 2012	42
Anexo 7. Prueba de Dunnett de la eficacia diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo", en función del tiempo y según el tratamiento. Ayacucho – 2012.	43
Anexo 8. Variación de peso en el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr.	44
Anexo 9. <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo"	45
Anexo 10. Planta de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo" en su habitat y la respectiva recolección.	46
Anexo 11. Coloración de la identificación de los metabolitos secundarios presentes del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo".	47
Anexo 12. Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr.	48
Anexo 13. Administración de los tratamientos a la unidad experimental. <i>Adiantum poirettii</i> Wikstr.	49

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 14. Se observa la colocación a la jaula de diuresis	50
Anexo 15. Matriz de consistencia	51

RESUMEN

Las plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional como diuréticos son muy útiles para el tratamiento de la hipertensión arterial, para prevenir eventos cardiovasculares y en casos de edemas. El presente trabajo se realizó con el propósito de determinar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo". El tipo de investigación fue experimental, desarrollado en los laboratorios de Farmacología, Farmacognosia y Toxicología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de abril a julio del 2013. La muestra fue recolectada en el distrito de Quinua, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 3300 msnm. Se preparó un extracto hidroalcohólico utilizando etanol al 80%, al extracto obtenido se le realizó el tamizaje fitoquímico para identificar los metabolitos secundarios. El efecto diurético se determinó utilizando el método de Naik *et al.*, en cobayos divididos en cinco grupos de cinco cada uno, el grupo I fue el control, el II recibió furosemida como fármaco de referencia y el III, IV y V grupo recibieron 100, 200 y 400 mg/kg del extracto respectivamente. Se calculó el porcentaje de excreción volumétrica urinaria y el porcentaje del efecto diurético que fueron 16,65%, 50,97%, 84,84% a las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg respectivamente ($p < 0,05$) las diferencias entre los tratamientos se evaluaron mediante el análisis de varianza y la Prueba de Dunnett. Los metabolitos secundarios presentes fueron fenoles, taninos, azúcares reductores, flavonoides, esteroides, triterpenos, saponinas, cardenólidos, lactonas, cumarinas, catequinas. Asimismo se determinó la toxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. No presentó ningún grado de toxicidad. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr presenta efecto diurético a la dosis ensayada.

Palabras clave. *Adiantum poiretii* Wikstr., extracto hidroalcohólico, eficacia diurética

I. INTRODUCCIÓN

Los diuréticos son medicamentos que aumentan la velocidad de flujo urinario y la excreción de sodio, que son utilizados para ajustar el volumen, la composición de los flujos corporales, y en una variedad de situaciones clínicas como enfermedades cardíacas congestivas, síndrome nefrótico, hipertensión y edemas en mujeres embarazadas. La mayoría de los fármacos diuréticos tiene efectos adversos como impotencia, fatiga y debilidad. Los diuréticos de origen natural incluyen a la cafeína presentes en el café, té y refrescos de cola; estas inhiben la reabsorción de sodio, los diuréticos al ser administrados eliminan sodio y potasio; que toda pérdida de potasio causa una búsqueda de diuréticos ahorradores de potasio; por lo tanto se busca un nuevo agente diurético que conserve la eficacia terapéutica.¹

Es evidente que en nuestro país los problemas de salud se han venido resolviendo con el empleo alternativo de plantas medicinales, práctica que se ha transmitido de generación en generación, continúan siendo un valioso arsenal de sustancias, ya sea en forma de medicamento vegetal o de materia prima para la industria farmacéutica. Muchas de estas plantas utilizadas popularmente con fines medicinales, no cuentan con estudios farmacológicos que validen las actividades terapéuticas atribuidas a las mismas, por lo que es importante realizar dichos estudios para poder contribuir con la población que las utiliza, dando a conocer su potencial terapéutico para que puedan ser utilizadas de forma adecuada y segura.

Los diuréticos constituyen un grupo indispensable de medicamentos que se usan para ajustar el volumen, la composición o ambos de los líquidos corporales en diversas situaciones clínicas. Son agentes que producen un incremento de la excreción urinaria de agua y de sodio, que actúa directamente a nivel renal. A pesar de los nuevos fármacos disponibles en la actualidad, el uso de los diuréticos todavía representa una excelente alternativa de tratamiento

antihipertensivo para prevenir eventos cardiovasculares en diversos grupos de pacientes y constituyen una de las clases más valiosas de medicamentos a elegir como terapia inicial de la hipertensión arterial esencial.²

Los diuréticos no actúan directamente sobre el agua, sino a través del sodio (diuréticos natriuréticos) o de la osmolaridad (diuréticos osmóticos) de acuerdo con ello, la finalidad principal de los diuréticos se dirige al tratamiento de los edemas.³

Los metabolitos secundarios de las plantas medicinales son responsables de algunas "propiedades curativas" que en la medicina tradicional se les atribuye, y constituyen un gran potencial de reserva inexplorada de gran utilidad al hombre y es así que ciertos metabolitos secundarios ejercen la actividad diurética, con la mayor eliminación del volumen de orina.

En la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, se han realizado muchos estudios de plantas con efecto diurético sin embargo, no existe al presente ningún estudio de *Adiantum poirettii* Wikstr. "culantrillo de pozo", en relación al efecto diurético.

Por todo lo expuesto, para la presente investigación farmacológica se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Evaluar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poirettii* Wikstr. "culantrillo de pozo".

Objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poirettii* Wikstr. "culantrillo de pozo" mediante tamizaje fitoquímico.
- Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poirettii* Wikstr. "culantrillo de pozo". con el estándar furosemida.
- Evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poirettii* Wikstr. "culantrillo de pozo" en ratones albinos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Las plantas medicinales que formaron la base de la atención de la salud desde los primeros tiempos de la humanidad, siguen utilizándose ampliamente, sin embargo, sólo una cantidad relativamente pequeña de especies de plantas se ha estudiado para sus posibles aplicaciones médicas. La investigación de nuevos y potenciales fármacos de origen vegetal es más exitosa hoy en día ya que fue demostrado que existe una significativa correlación entre los efectos farmacológicos de uso popular y su evidencia científica.

No se encuentra en la literatura científica reportes sobre el efecto diurético de esta planta; sin embargo, existen estudios químicos y farmacológicos de dicha especie y de sus congéneres llevados a cabo en varios países.

Tapwal *et al.*,⁴ evaluaron la potencia antifúngica *in vitro* de extractos vegetales contra cinco patógenos. Donde la inhibición máxima del crecimiento mycelial de 40,79% fue registrado por el extracto de la hoja de *Adiantum* contra *A. zinnia*, *Oxysporum* (32,38%), *A. solani* (23,81%) y el mínimo 10,57% contra *R. solani*.

Ghosh *et al.*,⁵ también reportaron la actividad antifúngica de los extractos acuosos y fenoles extraídos de gametofitos y esporofitos de *Adiantum capillus-veneris* L. y *Adiantum lunulatum* contra *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer*. Se encontró que *Adiantum capillus-veneris* fue un mejor agente antifúngico que *Adiantum lunulatum*.

Burneo,⁶ llevó a cabo el estudio de "determinación de contenido de compuestos fenólicos totales de doce especies vegetales nativas del sur del Ecuador" entre ellas *Adiantum poiretii* (culantrillo) donde concluyeron que *Adiantum poiretii* muestra una actividad antioxidante inferior al resto y los niveles de compuestos fenólicos moderados.

Por otro lado, existen estudios de la actividad diurética en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga con otras especies como:

Franco,⁷ realizó la evaluación de la actividad diurética de la *Krameria lappcea* "ratania", encontrando un mayor efecto diurético a una concentración de 400 mg/Kg.

Oriundo,⁸ realizó tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Foeniculum vulgare* "hinojo", obteniendo un mayor efecto diurético de 42,73% a una concentración de 250 mg/Kg.

Manrique,⁹ realizó el efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizado de *Taraxacum officinale* "diente de león", presentando un mayor efecto diurético a una dosis de 800 mg/Kg.

González,¹⁰ realizó la evolución de la actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* "sillkay" en cobayos, obteniéndose un mayor efecto diurético de 54,8% a una concentración de 350 mg/Kg en planta seca y fresca.

Mayhua,¹¹ realizó la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua", encontrando mayor eficacia diurética a una concentración de 500 mg/Kg.

Prado,¹² realizó la evolución de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco", mostrando un efecto diurético de 70,46% a una dosis de 600 mg/Kg.

Coaquira,¹³ realizó actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calceolaria engleriana* Kranzlin Feddes Repert "wawillay", obteniendo una eficacia diurética de 89,5% a dosis de 350 mg/Kg.

Torres,¹⁴ realizó actividad diurética del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Urtica urens* L "ortiga común", mostrando una eficacia diurética de 89% a dosis de 300 mg/Kg. En todos estos trabajos se utilizó la metodología de Naik *et al.*, en cobayos y ratas utilizando la furosemida como patrón de comparación citado por Cotillo¹⁵.

2.2. *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo"

2.2.1. Clasificación taxonómica

División : Pteridophyta
Clase : Filicopsida
Orden : Polypodiales
Familia : Pteridaceae
Género : *Adiantum*

Especie : ***Adiantum poiretii* Wikstr.**

Nombre vulgar: "culantrillo de pozo"

Fuente: *Herbarium Huamangensis- 2012* (Anexo 1)

2.2.2. Descripción botánica

Es una planta terrestre, con rizoma rastrero, hojas de 35 a 45 cm de largo, con lámina ovada muy dividida en pequeños segmentos, con formas de abanicos y textura firme, los soros son pequeños, se ubican en los márgenes de los segmentos y están protegidos por una porción de tejido laminar enrollada sobre los soros. Se distingue porque en los soros maduros se encuentra un polvo amarillento que rodea los esporangios.¹⁶

2.2.3. Observaciones para el reconocimiento de la especie

Esta especie se reconoce con facilidad porque se caracteriza por tener unos bordes divididos en pequeños lóbulos triangulares, en cuya parte inferior se desarrollan las esporas. Alcanza de 10 a 40 cm de altura. Botánicamente se trata de un helecho. El tallo es subterráneo y hace las veces de raíz (como es todo los helechos). Vive en cualquier rincón con poca luz y mucha agua, como las paredes de los pozos, las fuentes y las grutas.

2.2.4. Distribución y hábitat

Es originaria de América. Se encuentra en la sierra, entre los 1 000 y 2 500 msnm. Se distribuye en toda la zona andina del Perú.¹⁷

2.2.5. Fenología

Fértil entre mayo y setiembre.

2.2.6. Estado de conservación

Es una planta que crece en la sierra del Perú, crece en abundancia en los departamentos de la Libertad y Cajamarca.

2.2.7. Propiedades y usos medicinales

Usado para tratamiento de afecciones de la sangre en general.¹⁸ En Ecuador también es usado para la circulación, inflamación y gripe,¹⁹ las hojas son usados para el dolor estomacal, diarrea e infecciones.²⁰ En la ejecución de proyectos de biodiversidad en Cajamarca se realizaron estudios de la especie *Adiantum sp.* "culantrillo", donde en estudios toxicológicos en ratas se observó muy buena tolerancia sin ningún efecto toxico considerable a dosis de 2,000 mg/Kg. Se puede administrar cuatro veces al día utilizando 15 a 20 gramos en un litro de agua también reportaron la presencia de taninos, flavonoides y compuestos fenólicos que permite buena actividad cicatrizante e incluso contra hemorragias

internas o úlceras del estómago. Así mismo, sirve para lavar heridas abiertas de la piel o las mucosas vaginales pues disminuye la inflamación gracias a la presencia de flavonoides (quercetina). Los flavonoides le dan propiedades antibacterianas, contra alergias de piel, dermatitis y eritemas. También disminuye los dolores del estómago por indigestión y actúa contra las úlceras.²¹

2.3. Composición química

Sobre la composición química del género *Adiantum*, se han realizado diversos estudios, identificando algunos compuestos químicos.

Bresciani *et al.* 2003, en estudios realizados sobre la descripción fitoquímica presentes en *A. Cuneatum*, se han identificado filiceno y filicenol (Fig 1) los cuales han mostrado una actividad analgésica potente, por lo que se justifica el uso popular de esta planta.²²

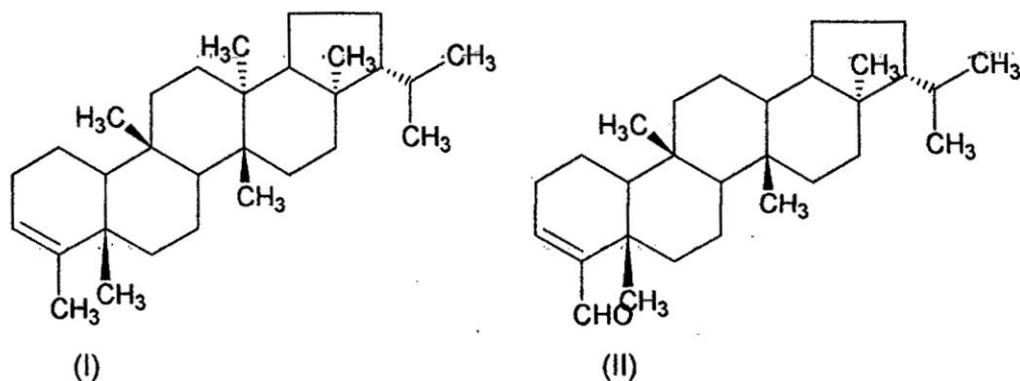


Figura 1. (I) Filiceno,

(II) Filicenol²²

Verani estudio las partes aéreas (hojas y tallos) de *Adiantum cuneatum* aislando el filiceno, filicenol, adiantol e isoadiantona.²³

Reportaron estudios de la presencia de metabolitos secundarios de la parte aérea del género *Adiantum tralictroides* obteniendo las sustancias β -sitosterol, adiantona, isoadiantona, psoraleno.²⁴

2.4. Farmacología renal

2.4.1. Fisiopatología renal

Los riñones mantienen el volumen y la composición de los líquidos corporales dentro de los límites estrechos, estos órganos han sido programados para llevar a cabo el ajuste fino de la concentración de los electrolitos y otras sustancias presentes en los compartimientos del líquido extracelular e intracelular, de modo que sean apropiados para mantener la función corporal normal. Los riñones llevan a cabo sus funciones reguladoras a través de los procesos de filtración, reabsorción, secreción y metabolismo. Estas funciones también gobiernan la

excreción de los fármacos. Las dos entidades fisiopatológicas fundamentales que requieren drogas de acción predominantemente renal están representadas por el edema, incluyendo el de las nefropatías y diabetes insípida con su extraordinaria poliuria. Los fármacos que actúan predominantemente sobre el riñón se denominan renotrópicos y comprenden dos grupos: a) Los diuréticos, que modifican favorablemente el edema; b) Los antidiuréticos, con acción beneficiosa en la diabetes insípida.²⁵

2.5. Diuréticos

Los diuréticos son fármacos que estimulan la excreción renal de agua y electrolitos, modulan los sistemas de transporte iónico renal. La principal indicación terapéutica de estos fármacos, son en caso de insuficiencia cardíaca congestiva, la ascitis hepática, el síndrome nefrótico, etc. Debido a una reabsorción anormal de cloruro de sodio en el riñón con la consiguiente retención de agua, se produce edema.²⁶ Los diuréticos también incrementan la tasa de excreción del sodio (natriuresis) y de un anión acompañante, por lo general de cloro. En el organismo él es el principal determinante del volumen de líquido extracelular, casi todas las aplicaciones clínicas de los diuréticos se dirigen a reducir dicho volumen, al disminuir el contenido corporal total de cloruro de sodio.²⁷

2.5.1. Clasificación de los diuréticos

Se clasifican según el mecanismo de acción de la siguiente forma:

- **Diuréticos osmóticos:** Inhiben la reabsorción de agua y solutos aumenta la osmolaridad del líquido tubular, actúa en los túbulos proximales.
- **Diuréticos de asa:** Inhiben el cotransporte de Na-K-Cl en la membrana luminal, actúa en la rama ascendente gruesa del asa de Henle.
- **Diuréticos tiazídicos:** Inhiben el cotransporte de Na-Cl en la membrana luminal, su lugar de acción es la primera región de los túbulos distales.
- **Inhibidores competitivos de la aldosterona:** Inhiben la acción de la aldosterona en los receptores tubulares, reducen la reabsorción de Na⁺ y también la secreción de K⁺.
- **Inhibidores de la anhidrasa carbónica:** Inhiben la secreción de H⁺ y la reabsorción de HCO₃⁻ que reduce la reabsorción de Na⁺, actúa a nivel de los túbulos colectores.

- **Bloqueadores de los canales de sodio:** Bloquean el paso de Na^+ a los canales de Ca^{++} de la membrana luminal, reducen la reabsorción de Na^+ la secreción de K^+ .²⁸

2.5.2. Furosemida

Es un derivado del ácido antranílico, con una cadena lateral que contiene un anillo furano; su potencia y su eficacia diurética depende sus características.²⁸

a. Estructura química. Furosemida o ácido 4 - cloro - N - furfúril - 5 - sulfamiloantranílico, es un derivado, del ácido antranílico; el ácido etacrínico del ácido arilacético y la bumetanida del ácido 3-aminobenzoico.²⁹

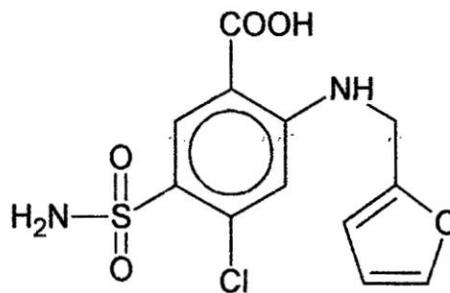


Figura 2: Furosemida²⁹.

b. Mecanismo de acción

Los diuréticos de asa inhiben el cotransporte de Na^+ , K^+ , Cl^- , en la rama ascendente gruesa del asa de Henle. Al inhibir este cotransportador los diuréticos de asa reducen la absorción de NaCl . La unión al cotransportador es reversible, de alta afinidad y ocurre sobre la superficie luminal de la membrana.²⁶

c. Farmacocinética

La acción diurética, resulta de la acción del fármaco en el túbulo renal, se absorbe bien por vía oral: la biodisponibilidad de la furosemida es del 50%, inicia su acción por vía oral a los 10-30 minutos y alcanzan su efecto máximo a los 20-40 minutos con una duración de 4-6 horas, por vía intravenosa el comienzo de la acción se aprecia en 2-5 minutos, pero esta ventaja es útil solo en circunstancias muy urgentes, como en el edema agudo del pulmón. Es dudoso que por vía intravenosa pueda conseguirse un efecto de mayor intensidad que el obtenido con dosis similares por vía oral, mientras que por vía intravenosa la ototoxicidad es más frecuente, por ello la vía oral es de elección. La eliminación de los diuréticos de asa es variable. Todos ellos son excretados parcialmente por la orina en forma activa y una parte son metabolizados.³⁰

d. Reacciones adversas

La mayoría de las reacciones derivan de la propia acción diurética y su incidencia y dependencia de la intensidad del tratamiento como; hipopotasemia, hipovolemia y la retracción del volumen extracelular, alteraciones del ritmo cardiaco y agravamiento de la toxicidad digitálica.³⁰

e. Indicaciones

Se emplea en todas las formas de edema cardíaca, asociada con insuficiencia cardíaca congestiva, que no desaparecen con un tratamiento con digitálicos, ascitis, cirrosis hepática y enfermedades renales; incluso el síndrome nefrótico se puede presentar en embarazadas, después del segundo trimestre la hipertensión pre o moderada y con coadyuvante a crisis hipertensiva hipervolemia de cualquier patología.²⁸

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacología, Toxicología y Farmacognosia, del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga durante los meses de abril del 2013 a julio del 2013.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Planta de *Adiantum poirettii* Wikstr. "culantrillo de pozo" que se recolectaron del distrito de Quinoa, a una altura de 3300 msnm, provincia de Huamanga, región de Ayacucho.

3.2.2. Muestra vegetal

Tres Kg de hojas y tallos de *Adiantum poirettii* Wikstr. "culantrillo de pozo" recolectadas por conveniencia en las horas de la mañana (09 h 00) (Anexo 10). Se seleccionaron por conveniencia las plantas con las hojas intactas; luego fueron lavados, secados en una habitación ventilada, sobre papel periódico aproximadamente por una semana, una parte fue enviada para su identificación al *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2.3. Animales de experimentación

25 cobayos *Cavia Porcellus* de la misma edad, sexo (machos) entre 550 +/- 50 g de peso, criados y alimentados en las mismas condiciones, adquiridos del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) Canaán – Ayacucho.

Para la prueba de toxicología se utilizaron 20 ratones (10 machos y 10 hembras), adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INSA) – Lima y llevados al Bioterio del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; los cuales estuvieron en adaptación durante siete días.

3.3. Métodos para la recolección de datos

3.3.1. Preparación del extracto hidroalcohólico

Se pesaron 400 g de muestra seca y molida, para macerarlo se colocó en frascos color ámbar al cual se le adicionó cuatro litros de alcohol de 80%; hasta que cubra a la muestra por un centímetro de diferencia. Se maceró la muestra por siete días agitándolo cada día constantemente para distribución homogénea.

3.3.2. Preparación de las concentraciones del extracto hidroalcohólico

Se filtró el extracto hidroalcohólico macerado, luego se llevó al equipo de rotavapor para su concentración obteniendo el extracto de consistencia semilíquida y finalmente se llevó a estufa a una temperatura de 40°C hasta obtener la sequedad del extracto. El extracto seco se almacenó en la refrigeradora hasta la preparación de una solución madre al 3% utilizando como vehículo agua destilada, seguidamente se preparó concentraciones de 100, 200 y 400 mg/kg de peso del animal.

3.3.3. Procedimiento para realizar el tamizaje fitoquímico

Se realizó las reacciones con pruebas de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico.³¹ (Anexo 11).

3.3.4. Determinación del efecto diurético

Fundamento: La metodología que se empleó para la determinación de la actividad diurética se basa en el método utilizado por Naik *et al.* y citado por Cotillo.¹⁵ Consiste en hidratar con solución salina fisiológica al 0,9% a una dosis de 50 ml/Kg por vía oral, luego deshidratar con la administración de la furosemida y del extracto hidroalcohólico a los animales en estudio, midiendo el volumen de orina excretado.

Fármaco de referencia

Dos tableta de Lasix ® (furosemida 40 mg), fabricado por Sanofi Aventis, N° de lote 253315, se diluyó en 50 ml de agua destilada y luego se administró 5,3 ml a cada animal, todo estos cálculos se realizaron de acuerdo al peso del animal.

Procedimiento experimental:

Se empleó 25 cobayos machos con un peso corporal entre 550 a 600 g.

- Se dejó en ayunas a los cobayos de 10 a 12 horas antes de realizar el experimento, sin privarlas de agua.
- Los cobayos fueron pesados y distribuidos aleatoriamente en cinco grupos de cinco animales cada grupo.

- Todos los animales fueron hidratados con solución salina fisiológica al 0,9% a una dosis de 50 ml/Kg por vía oral mediante sonda nasogástrica y se les colocó en la jaula de diuresis.
- Después de 20 minutos de la hidratación fueron pesados y se les administró el extracto hidroalcohólico y el control (furosemida). Luego se les colocó en la jaula de diuresis, después de una hora se recolectó la orina por un periodo de cuatro horas en una probeta graduada y registrándose el volumen correspondiente.

Para determinar el efecto, se procede a pesar a los animales inmediatamente después de haber concluido el experimento, y por diferencia de peso se calculará aproximadamente el volumen eliminado; asimismo, se medirá en una probeta el volumen de orina eliminado, para poder comparar el efecto producido.

3.3.6. Diseño experimental

Se formó cinco grupos de cinco cobayos cada uno distribuido aleatoriamente, los que fueron sometidos a los siguientes tratamientos:

- Grupo I: Tratado con solución de cloruro de sodio al 0,9%, a una dosis de 50 ml/Kg, blanco.
- Grupo II: Tratado con Furosemida a dosis de 20 mg/Kg de peso, control.
- Grupo III: Administrando con el extracto hidroalcohólico a dosis de 100 mg/Kg de peso.
- Grupo IV: Administrando con el extracto hidroalcohólico a dosis de 200 mg/Kg de peso.
- Grupo V: Administrando con el extracto hidroalcohólico a dosis de 400 mg/Kg de peso.

Con la orina colectada se calculó el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU) en porcentaje utilizando la siguiente formula:

$$\% \text{ EVU} = \frac{\text{Volumen de orina excretado}}{\text{Volumen de líquido administrado}} \times 100$$

Así mismo, se calculó la eficacia volumétrica urinaria en porcentaje utilizando la siguiente formula:

$$\% \text{ Eficacia} = \frac{\text{Vol. de orina del tto} - \text{Vol. de orina del blanco}}{\text{Vol. de orina del blanco}} \times 100$$

3.3.8. Determinación de toxicidad aguda por el método de dosis límite.

Para la determinación de la toxicidad aguda del extracto, se ha empleado diez ratones albinos (hembras) y diez ratones albinos (machos) de peso corporal que fluctúan entre 20 a 21 g; previamente puesto a la adaptación requerida.

- Los animales estuvieron en ayunas de tres a cuatro horas previo al experimento.
- La dosis del extracto de experimento ha sido administrada a una dosis única de 2000 mg/kg de peso corporal a cada animal por vía oral, usando la cánula orogástrica
- Se observó a los animales en prueba después de la administración de la dosis, con especial atención las primeras cuatro horas, periódicamente durante las primeras 24 h 00 y a continuación diariamente hasta un total de 14 días.

3.4. Análisis de datos.

Con los datos obtenidos del volumen de orina fueron expresadas como \pm media, desviación estándar de cada tratamiento, se calculó el porcentaje de excreción volumétrica urinaria y el porcentaje de eficacia diurética urinaria donde se representaron en forma de figuras, barras de tendencia de error. Asimismo se realizó las comparaciones múltiples de Dunnet con los valores del porcentaje de eficacia urinaria para determinar estadísticamente cuál de los tratamientos posee el mismo comportamiento farmacológico. Para el estudio se utilizó un nivel de significancia 95%.

Con los datos obtenidos en la evaluación de la toxicidad aguda (DL_{50}), se realizó el cuadro y el gráfico; calculando la media \pm desviación estándar de la variación de peso corporal de los ratones y se representó en barras de tendencia. Los resultados también fueron sometidos al Análisis de varianza factor simple; para lo cual se usó el software SPSS, versión 21,0; para evaluar las diferencias estadísticas al 95% de confianza.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho – 2012:

Metabolitos secundarios	Ensayo	Resultados	Observación
Fenoles y/o Taninos	Cloruro férrico	+++	Verde oscuro
Esteroides y/o Triterpenos	Lieberman	+	Rojo
Azúcares reductores	Benedict	++	Rojo ladrillo
Flavonoides	Shinoda	++	Rojo
Saponinas.	Espuma	++	Presenta espuma
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	+	Rojo
Catequinas	Na ₂ CO ₃ + Luz UV	++	Verde carmelita en el papel filtro a luz UV
Cardenólidos.	Kedde	++	Formación de un anillo violeta

Leyenda:

- (-) : Ausente
- (+) : Leve
- (++) : Poco
- (+++): Abundante

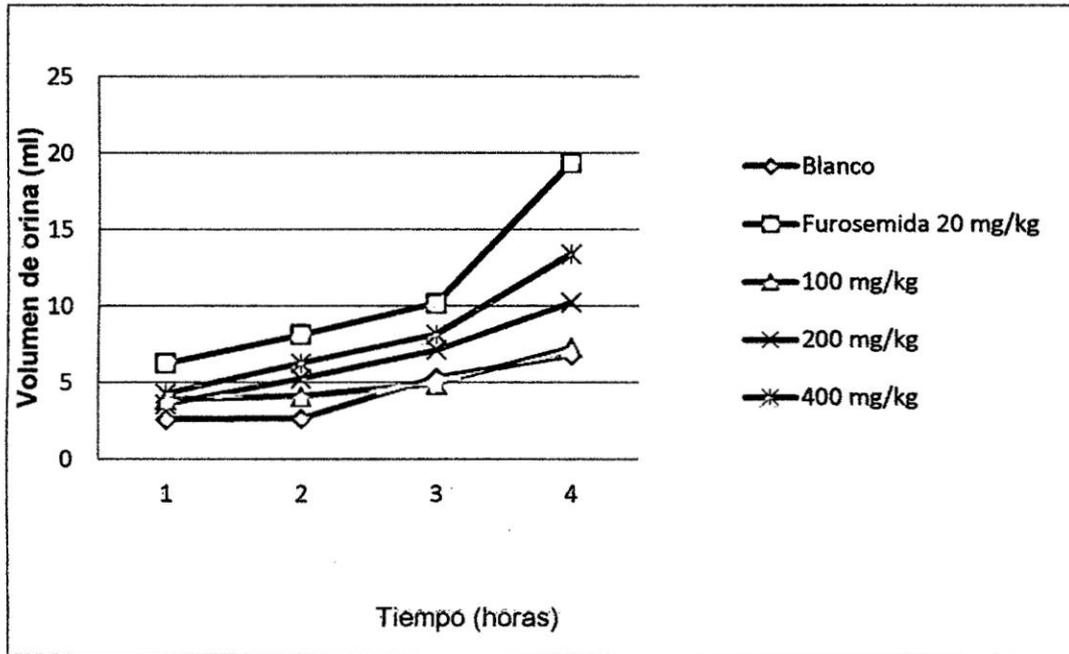


Figura 3. Volumen de orina en función del tiempo del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poirettii* Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho – 2012.

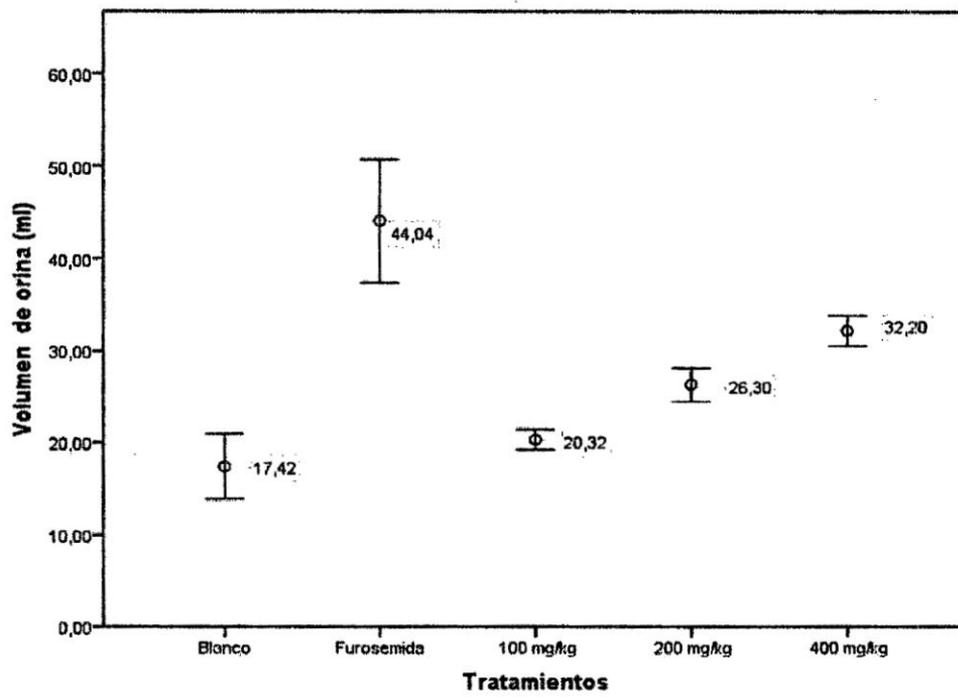


Figura 4. Volumen promedio final de orina por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho – 2012.

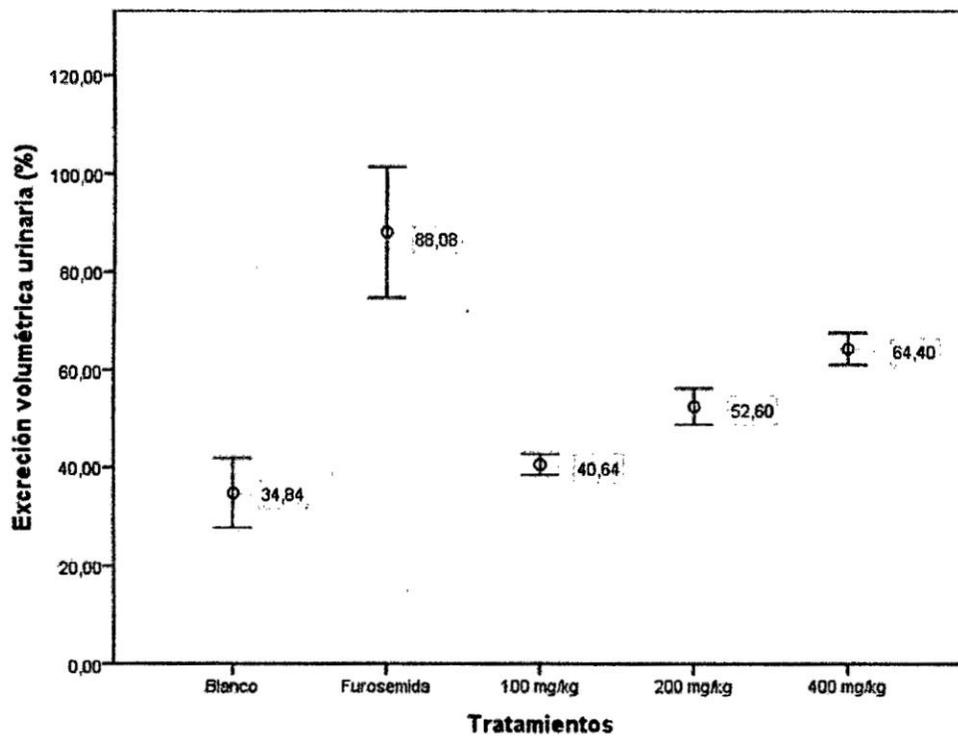


Figura 5. Excreción volumétrica urinaria expresada en porcentaje del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho – 2012.

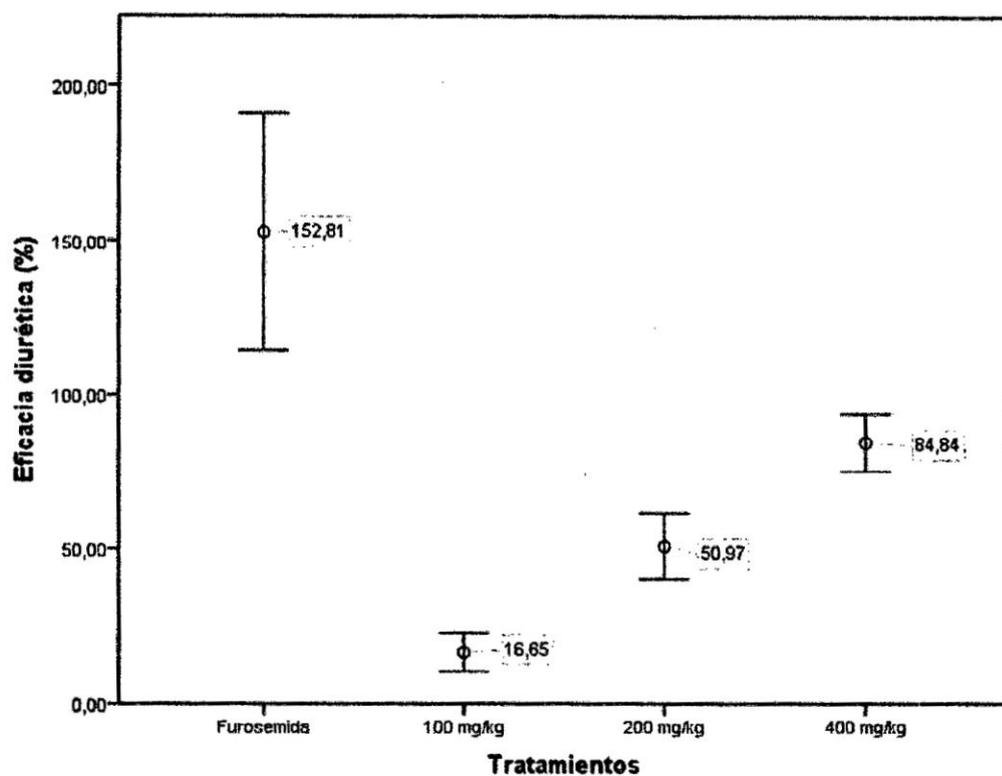


Figura 6. Eficacia diurética expresada en porcentaje del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo" Ayacucho – 2012.

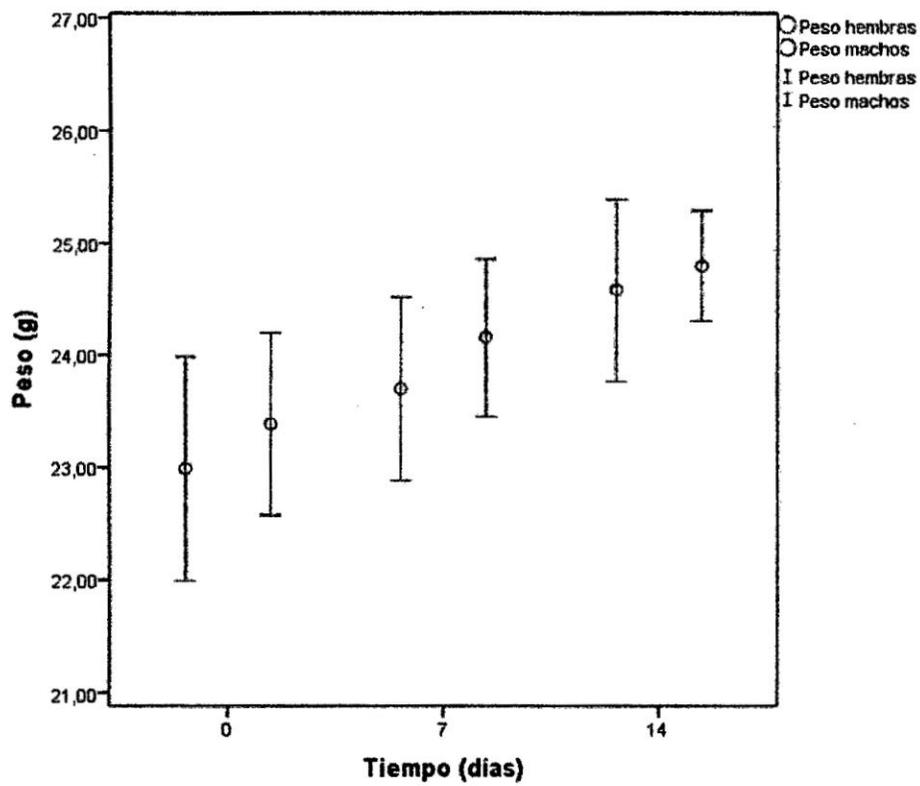


Figura 7. Variación de peso en el ensayo de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho – 2012.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr “culantrillo de pozo”. Es necesario mencionar que el aporte científico que se ha obtenido como resultado del presente estudio dará a la población mayor seguridad en el uso de esta especie vegetal como medicina tradicional o folklórica y así mismo queda abierta la posibilidad para la industria de las plantas medicinales de establecer su composición química y elaborar una presentación farmacéutica que garantice su uso terapéutico.

Al analizar los resultados del tamizaje fitoquímico, los metabolitos secundarios presentes en el extracto se determinaron utilizando pruebas específicas de coloración y precipitación; donde se encontró la presencia de fenoles, taninos, azúcares reductores, flavonoides, esteroides y triterpenos, saponinas, cardenólidos, lactonas y cumarinas, catequinas (Tabla 1).

Todos los metabolitos analizados se encuentran en abundante y poca cantidad debido a que el extracto hidroalcohólico, arrastra metabolitos secundarios mediana y fuertemente polares.

En estudios realizados de *Adiantum poiretii* Wikstr. “culantrillo de pozo”. Se ha reportado estudio de metabolitos secundarios tales como taninos, flavonoides, y compuestos fenólicos derivados del catecol,²¹ también reportaron la presencia de saponinas, mucílagos, taninos, flavonoides, terpenoides, esteroide, carotenoides, azúcares reductores, resinas, sales minerales de Na,P,K,Ca, Si, vitaminas C y K.¹⁸

En la Figura 4, el análisis de varianza del volumen total de orina por efecto de las tres dosis de extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. “culantrillo de pozo” y furosemida probados en cobayos, indicó que existen diferencias estadísticas altamente significativas entre los volúmenes totales de orina registrados. Esto significa que los cobayos expresaron

importante respuesta diurética a los tratamientos con los extractos y furosemida. De acuerdo a los volúmenes promedio, se concluye que la furosemida permite obtenerse un volumen total de orina que se diferencia con alta significación respecto a los extractos, es decir tiene mucha mayor acción diurética. Sin embargo, la dosis 400 mg/Kg también tuvo acción altamente significativa respecto a la dosis de 200 y 100 mg/Kg, bastante parecida a la furosemida. La dosis 100 mg/Kg es semejante al blanco y no se diferencian significativamente.

En general, existe la tendencia de que al aumentar la dosis de extracto, también aumenta el volumen de orina producido por los cobayos; de este modo se establece una correlación directa, positiva y significativa entre dosis de extracto y volumen de orina producido pues la furosemida actúa a nivel del segmento grueso de la rama ascendente del asa de Henle, bloqueando a la proteína cotransportadora de $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ e impidiendo el transporte de estos iones a través de la membrana, como consecuencia se produce una eliminación de, Na^+ , K^+ y Cl^- , al mismo tiempo de Ca^{++} , Mg^{++} y bicarbonato,³²

Al comparar con otros autores que realizaron trabajos de actividad diurética en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga como Pérez,³³ y Luna,³⁴ quienes reportaron la diuresis con furosemida, valores de 16 y 19,2 ml de orina respectivamente, resultados semejantes con el presente trabajo alcanzando una diuresis de 15,96 ml los cuales confirman que la furosemida es un diurético eficaz. Por ello, los diuréticos son agentes empleados para tratar la hipertensión, insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal, síndrome nefrótico y cirrosis,³⁰ principalmente se usan en el tratamiento de los edemas,³⁵ su efecto antihipertensivo ejerce a través del aumento de la excreción renal de sodio y agua, esto se traduce en una disminución del volumen plasmático y de la carga cardíaca, los más utilizados son las tiazidas. En la insuficiencia cardíaca se produce retención de sodio y agua debido a la combinación de la reducción de flujo sanguíneo a nivel renal, aumento de la secreción de la hormona antidiurética y renina que conlleva un aumento de secreción de angiotensina y aldosterona. Los diuréticos disminuyen la retención de sodio y agua, aunque también se ha postulado que pueden tener efectos vasodilatadores, la furosemida es el más utilizado en la insuficiencia cardíaca más severa.³⁶

En la Figura 5, el análisis de variancia para la excreción volumétrica urinaria por efecto de tres dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum*

poirettii Wikstr, furosemida y el blanco probados en cobayos, indicó que los porcentajes de orina provocados por los diferentes tratamientos expresan altas diferencias estadísticas significativas. Estos resultados comprueban la alta significación estadística en los volúmenes de orina, es decir que en los cobayos la acción de la furosemida y los extractos provocan altos porcentajes de excreción urinaria en los cobayos tratados. De igual modo que en los volúmenes totales de orina, los productos utilizados incrementan la diuresis porcentual en los cobayos, sobre todo con la furosemida y a las dosis de 400 mg/Kg y 200 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de *Adiantum poirettii* Wikstr. Esto significa que de los 50 ml de volumen ingerido por los cuyes, la furosemida provoca una excreción urinaria de 88,08%, altamente significativa respecto a los extractos, mientras que con 400 mg/Kg y 200 mg/Kg de extracto hidroalcohólico se logra solamente una capacidad de excreción de 64,4 y 52,6%, valores que también son diferentes estadísticamente.

En este análisis se comprueba que la furosemida es más efectiva en la diuresis, pero también de manera importante la dosis de 400 mg/Kg de extracto hidroalcohólico, pero con menor eficacia significativa que la furosemida.

En la Figura 6, se muestra el porcentaje de eficacia diurética por efecto de los tratamientos, siendo la furosemida como estándar que representó el 100% del efecto diurético, mientras que los extractos de 100; 200 y 400 mg/kg con un efecto a 16,65%; 50,97% y 84,84% respectivamente, las dos últimas representarían solamente la mitad de la eficacia diurética de la furosemida y son cuantitativamente similares, la de 400 mg/kg presentó una moderada actividad diurética frente al estándar, y es dosis dependiente, debido a que la excreción de orina y efecto diurético de los grupos tratados a la dosis de 100 mg/kg fue más baja que cuando se trataron con la dosis de 400 mg/kg como se muestra más arriba.

El análisis de varianza es un método que sirve para comparar más de dos medias, mediante este análisis de eficacia diurética por efecto de los tratamientos (Anexo 6), se observó que hay una diferencia significativa entre los tratamientos, para especificar esta diferencia se concurre a la prueba de Dunnett (Anexo 7).

Lo importante de estos resultados radica en que el extracto de *Adiantum poirettii* Wikstr, un vegetal silvestre exprese una gran capacidad diurética en los cobayos tratados, con un valor tan importante como el que se logra con un producto

refinado farmacológicamente, la furosemida. Aunque la furosemida supere con alta diferencia estadística a las dosis de extracto de *Adiantum poiretii* Wikstr, el mérito radica en que a la dosis alta se logra una aceptable acción diurética.

Al comparar los resultados del efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo", con otras investigaciones que han evaluado el mismo efecto diurético de especies diferentes de plantas realizados por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga como: en *Foeniculum vulgare* "hinojo", *Bidens pilosa* "sillkau", *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" quienes reportaron 42,73%, 54,8% y 70,46% de eficacia diurética respectivamente; todos estos trabajos se realizaron siguiendo el mismo método y así también como del material biológico utilizado en el presente trabajo realizado. Con los resultados obtenidos se puede deducir que el presente trabajo supero los valores de eficacia diurética con 84,84 %.

En la Figura 7, Se realizó la determinación de toxicidad aguda (DL₅₀) en ratones hembras y machos administrando el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr "culantrillo de pozo" El extracto de "culantrillo de pozo" a dosis de 2,000 mg/kg fue bien tolerado por los animales; no hubo muertes registradas después de la administración oral y durante el periodo de observación; lo cual solo se manifestó mediante el aumento del peso corporal. Por lo tanto en el resultado de la toxicidad aguda de *Adiantum poiretii* Wikstr "culantrillo de pozo" no presentó ningún signo de toxicidad hasta un nivel 2,000 mg/kg.

Según Delgado³⁷ señala la ubicación natural de la especie, *Adiantum poiretii* Wikstr: Ancash, Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Junín y La libertad y no refiere la región Ayacucho. La identificación taxonómica de la especie no coincide con la identificación realizada por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga ya que se identificó como: *Adiantum poiretii* Wikstr.

Existe evidencia teórica que *Adiantum poiretii* Wikstr "culantrillo de pozo". Tiene propiedades medicinales tales como actividad diurética¹⁷ y actividad antioxidante.³⁸

El efecto diurético se le atribuye a la presencia de varios principios activos, aunque no está claro el grado de contribución de cada uno de ellos, en cuanto a su mecanismo de acción, los saponósidos y flavonoides podrían actuar a nivel glomerular más que a nivel tubular, provocando un aumento de la circulación

renal e incrementando así de la tasa de filtración glomerular y formación de orina.³⁹

Los flavonoides son sustancias que representan a uno de los más importantes grupos de compuestos con actividad farmacológica y poseen una alta reactividad química que se manifiesta por sus efectos sobre diferentes sistemas biológicos; muchas de esas propiedades son atribuidas a los flavonoides como: antimicrobiana y diurética.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo" presenta efecto diurético siendo mayor a dosis de 400 mg/kg de peso.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico fueron fenoles y/o taninos, esteroides y/o triterpenos, saponinas, azúcares reductores, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, catequinas y cardenólidos.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo", presenta menor efecto diurético que la furosemida.
4. El extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo", no mostró toxicidad a la dosis de 2,000 mg/kg.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el estudio del presente trabajo de investigación, determinando y cuantificando específicamente cuál de los principios activos contiene *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo" y cuál es el responsable de la eficacia diurética y otros estudios farmacológicos diferentes al investigado.
2. Realizar el estudio de electrolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo".
3. Proseguir con investigaciones farmacológicas de recursos propios del departamento, con la finalidad de encontrar plantas medicinales con principios activos eficaces en el tratamiento de diversas patologías.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vanamala U, Elumamai A, Chinna M, Shaik A. An Updated Review on Diuretic Plants: International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives [revista en internet]. 2014 [Acceso 25 de octubre 2014]; 3(1):29-31. Disponible en: <http://ijpba.info/ijpba/index.php/ijpba/article/viewFile/531/357> y An Updated Review on Diuretic Plants 2012 pdf.
2. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Victoria M, Monteagudo E, et al. Actividad diurética de una decocción de *Costus pictus* D. Don. Rev. Cubana de Plantas Medicinales [revista en internet]. 2010 [Acceso 4 de marzo de 2014]; 15(2):3-12. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol_15_2_10/pla02210.pdf.
3. Flórez J, Armiño J. Fármacos diuréticos. En: Farmacología Humana. 5ª ed. Madrid: Elsevier Masson; 2008. p. 931-943.
4. Tapwal A, Garg S, Khare P, Rawat A. In vitro antifungal potency of plant extracts against five phytopathogens. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2011 [Acceso 10 de octubre 2014]; 54(6):1093-1098. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151689132011000600003&script=sci_arttext&tlng=pt
5. Ghosh P, Mukhopadhyay R, Gupta K. Antifungal Activity of the Crude Extracts and Extracted phenols from Gametophytes and Sporophytes of two species of *Adiantum*. 2005 [Acceso 12 de octubre de 2014]; 50(4):272-283. Disponible en: <http://tai2.ntu.edu.tw/Taiwania/pdf/tai.2005.50.4.272.pdf>
6. Burneo Z. Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de los extractos totales de doce especies vegetales nativas del sur de Ecuador. [Tesis]. Loja. Universidad técnica particular de Loja. 2009.
7. Franco VH. Evaluación de la actividad diurética de *Krameria lappaceae* "ratanía" en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2003.
8. Oriundo SH. Tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz del *Foeniculum vulgare* "hinojo" en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2003.
9. Manrique JP. Efecto Diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizado de *Taraxacum officinale* "diente de león". [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2005.
10. González V. Evaluación de la actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* "sillkáu" en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2012.
11. Mayhua HY. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2008.
12. Prado N. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2005.
13. Coaquira BH. Actividad Diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Calceolaria engeliana* Kranzlin Feddes Repert. "wawillay" en cobayos. [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2008.
14. Torres MN. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Urtica urens* L. "ortiga común". [Tesis]. Ayacucho. UNSCH; 2012.
15. Cotillo P. Métodos Farmacológicos en la investigación de los Productos Naturales: Lima – Perú: Jarmad; 1990.
16. Jimenez J. Los helechos del corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, Guatemala. 1ª ed. Guatemala: INBio; 2010.
17. Vasquez N. Plantas Medicinales del Norte del Perú; 2010.

18. Torre L, Alarcon D, Kvist L, Salazr J. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador; 2008.
19. Cerón C. Plantas Medicinales de los Andes Ecuatorianos. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. Ecuador; 2006.
20. Ansalori R, Wilches F, Orellana A, Peñaherrera E, Tobar V, De Witte P. Estudio Preliminar sobre Plantas Medicinales Utilizadas en Algunas comunidades de las Provincias de Azuay, Cañar y Loja para Afecciones del Aparato Gastrointestinal. [Revista en internet]. 2010 [acceso 7 de agosto 2014]; 1:89-97. Disponible en [www.file:///C:/Users/usuario/Downloads/40-56-1-SM%20\(24\).pdf](http://www.file:///C:/Users/usuario/Downloads/40-56-1-SM%20(24).pdf).
21. La Diversidad Biológica en Cajamarca. Plantas medicinales [en línea]. Cajamarca: Printed in Perú; 2012. [acceso 7 de agosto 2014]; 208-119. Disponible en: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/La%20Diversidad%20Biologica%20en%20Cajamarca%20\(3\).pdf](http://www.file:///C:/Users/Usuario/Downloads/La%20Diversidad%20Biologica%20en%20Cajamarca%20(3).pdf)
22. Bresciani L, Priebea J, Yunes R, Magro J, Monache F, et al. Pharmacological and phytochemical evaluation of *Adiantum cuanetum* growing in Brazil. 2003. [Acceso 26 de Octubre de 2014]; 58c:191-194. Disponible en: <http://zaturforsch.com/ac/v58c/s58c0191.pdf>.
23. Verani LF. Análise Qualitativa e Quantitativa de Metabolitos Secundarios e Propiedades Farmacológicas de Quatro Espécies de Plantas Mediciniais da Flora Catarinense. [Tesis]. Brazil; 2003.
24. Erazo S, García R, Méndez F, Latorre I, Negrete R. Metabolitos secundarios en *Adiantum trilitroides* willd. [revista en internet]. 1991. [Acceso 3 de agosto de 2014]; 22(1):5-6 Disponible en: http://www.captura.uchile.cl/bitstream/handle/2250/12611/Erazo_1991.pdf?sequence=1
25. Guyton A. Tratado de Fisiología Médica. 10^o ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2001.
26. Joaquín del Río. Farmacología básica. 3^a ed. España: Síntesis, S.A.; 2003.
27. Goodman Gilman A. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9^o ed. Editorial McGraw-Hill – Interamericana; México; 1996.
28. Litter M. Tratado de Farmacología Experimental y Clínica. Argentina. El ateneo. Buenos Aires – Argentina; 1996.
29. Remington G. Farmacia. Tomo II. 20^{va} ed. Buenos Aires – Argentina; 2003.
30. Flórez J. Farmacología Humana. 4^a ed. España: Masson S.A; 2003.
31. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad; La Habana, Cuba; 2000.
32. Carrasco M, Ayuso F. fundamentos básicos de anestesia y reanimación en medicina de urgencias, emergencias y catástrofes. Vol.3. España: Arán; 2007.
33. Pérez T. Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de los tallos de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. "kimsa-cuchu", [tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2012.
34. Luna H. Estudio comparativo del efecto diurético de la furosemida en cobayos (*Cavia porcellus*) y ratas (*Rattus norvegicus*). [tesis pregrado]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 1999.
35. Eaton D, Pooler J. Fisiología Renal de Vándér. 6^a ed. México: Editorial McGraw Hill Interamericana; 2006.
36. Durán M. Farmacología para fisioterapeutas. Argentina: medica Panamericana; 2008.
37. Delgado HS. Tratado de Etnomedicina Peruana 1. 1a ed. Lima; Perú; 2013.

38. Catálogo de Plantas útiles comercializadas en la ciudad de Ibarra. Imbaquingo A. Plantas de uso Medicinal, culinario y cultural, usadas en la ciudad de Ibarra. Ecuador, [Acceso 6 de Agosto de 2014]; 7. Disponible en:
<http://es.scribd.com/doc/99515625/Catalogo-plantas-utiles-ibarra>
39. Pérez M, Morón F. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. Revista latinoamericana de hipertensión, [Revista en internet]. 2011 [acceso 17 de Mayo de 2013]; 6(2). 35-40. Disponible en www.revistahipertension.com/rh_6_2_2011/h3.pdf.

ANEXOS

Anexo 1

Certificado de clasificación taxonómica.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Judith Elisa, POTOSINO HUASACCA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior, y es como sigue:

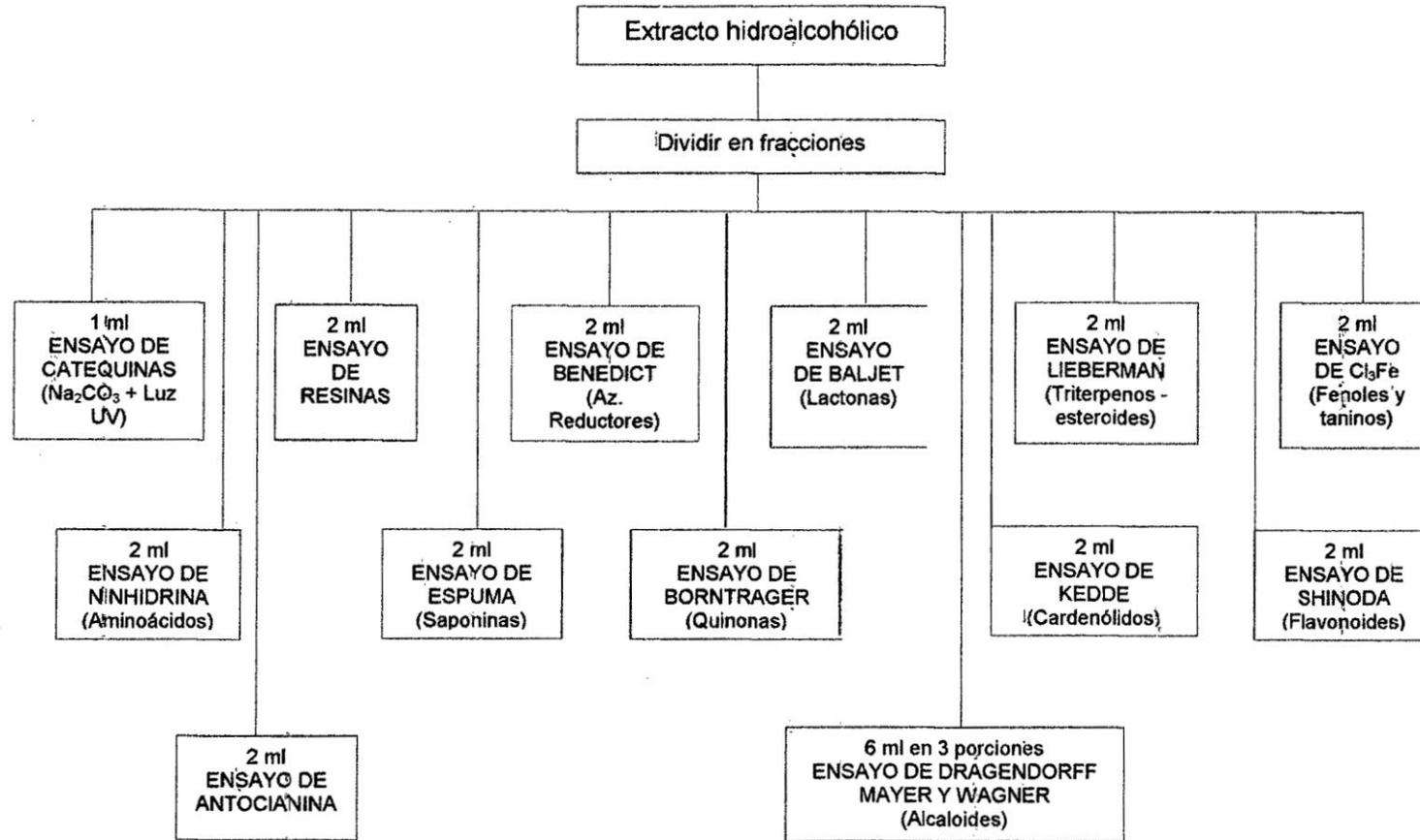
DIVISIÓN	:	PTERIDOPHYTA
CLASE	:	FILICOPSIDA
ORDEN	:	POLYPODIALES
FAMILIA	:	PTERIDACEAE
GENERO	:	Adiantum
ESPECIE	:	<i>Adiantum poiretii</i> Wikstr..
N.V.	:	"culantrillo de pozo", "helecho"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 30 de Octubre del 2012

Anexo 2

Esquema de las reacciones a realizar en el extracto hidroalcohólico (Miranda M, 2000).



Anexo 3

Volumen de orina de cobayos en función del tiempo por efecto de los tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. Ayacucho – 2012.

Volumen promedio de orina (ml).

Tiempo (horas.)	Blanco	Furosemida	Extracto hidroalcohólico de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo"			
			20 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg	400 mg/kg
1	2,6	6,28	3,9	3,6	4,3	
2	2,66	8,16	4,14	5,28	6,3	
3	5,36	10,2	4,94	7,16	8,18	
4	6,8	19,4	7,32	10,26	13,42	

Anexo 4

Análisis de varianza del volumen total de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo", furosemida y un blanco; en cobayos. Ayacucho – 2012.

Análisis de varianza del Volumen total de orina.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2243,574	4	560,893	67,566	,000
Intra-grupos	166,028	20	8,301		
Total	2409,602	24			

Anexo 5

Análisis de varianza del porcentaje de la excreción volumétrica urinaria del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo", furosemida y un blanco; en cobayos. Ayacucho – 2012.

Análisis de varianza de la excreción volumétrica urinaria.

	ANOVA				
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	8974,294	4	2243,574	67,566	,000
Intra-grupos	664,112	20	33,206		
Total	9638,406	24			

Anexo 6

Análisis de varianza del porcentaje de la eficacia diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo", furosemida y un blanco. Ayacucho – 2012.

Análisis de varianza de eficacia diurética.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	50633,919	3	16877,973	61,235	,000
Intra-grupos	4410,047	16	275,628		
Total	55043,966	19			

Anexo 7

Comparación de medias mediante la prueba de Dunnett del porcentaje de eficacia diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo", en función del tiempo y según el tratamiento. Ayacucho – 2012.

Comparaciones múltiples

Eficacia t de Dunnett (bilateral)						
Extractos	Control	Diferencia de medias	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100 mg/Kg	Furosemida	-136,16400	10,50006	,000	-163,3837	-108,9443
200 mg/Kg	Furosemida	-101,83800	10,50006	,000	-129,0577	-74,6183
400 mg/Kg	Furosemida	-67,97200	10,50006	,000	-95,1917	-40,7523

La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05

Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos

Anexo 8

Variación de peso en el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo" a una dosis de 2000 mg/Kg. Ayacucho – 2012.

ANOVA

Peso Hembras	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	12,689	2	6,344	4,210	,026
Intra-grupos	40,685	27	1,507		
Total	53,374	29			
Peso Machos					
Inter-grupos	9,969	2	4,984	5,477	,010
Intra-grupos	24,573	27	,910		
Total	34,542	29			

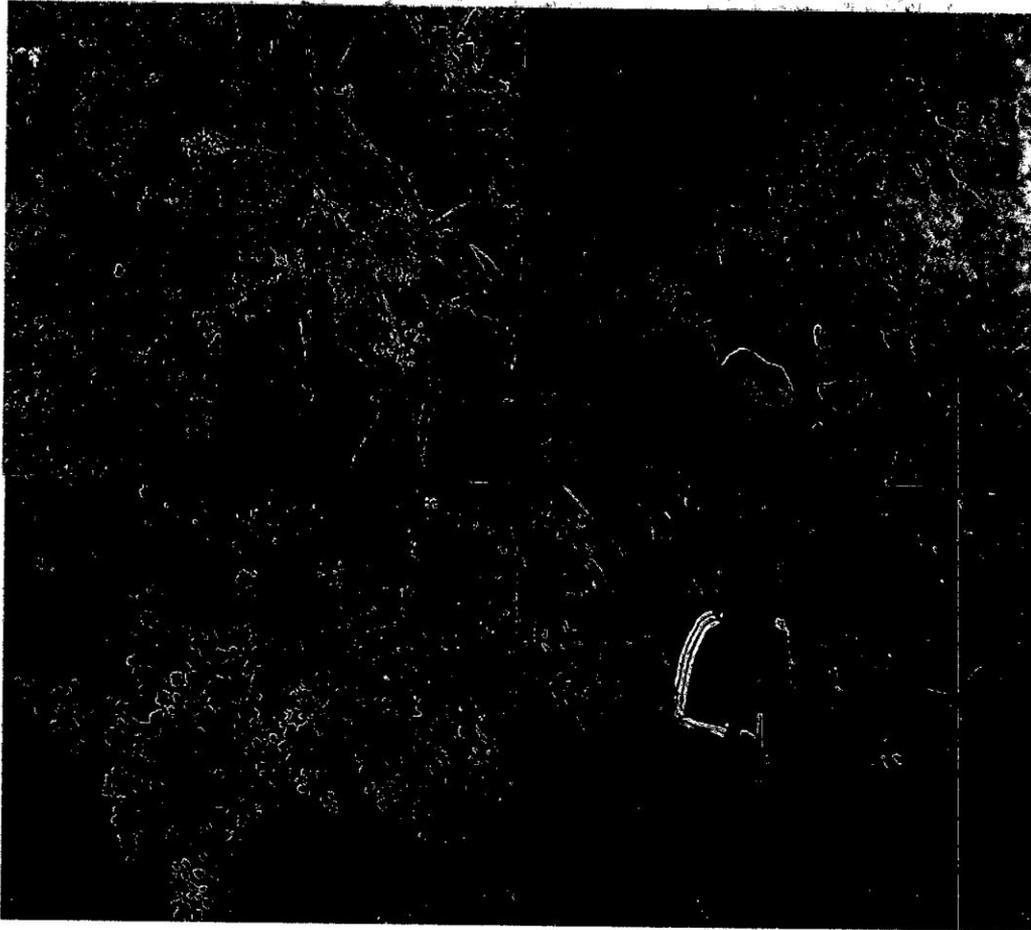
Anexo 9

Adiantum poiretii Wikstr. "culantrillo de pozo"



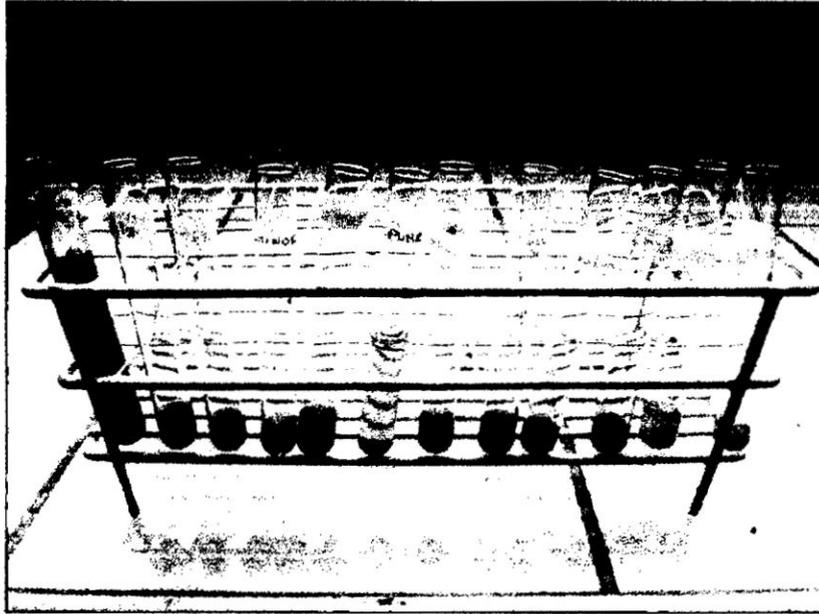
Anexo 10

Planta de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo" en su habitat y la respectiva recolección.



Anexo 11

Coloración de la identificación de los metabolitos secundarios presentes del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo".



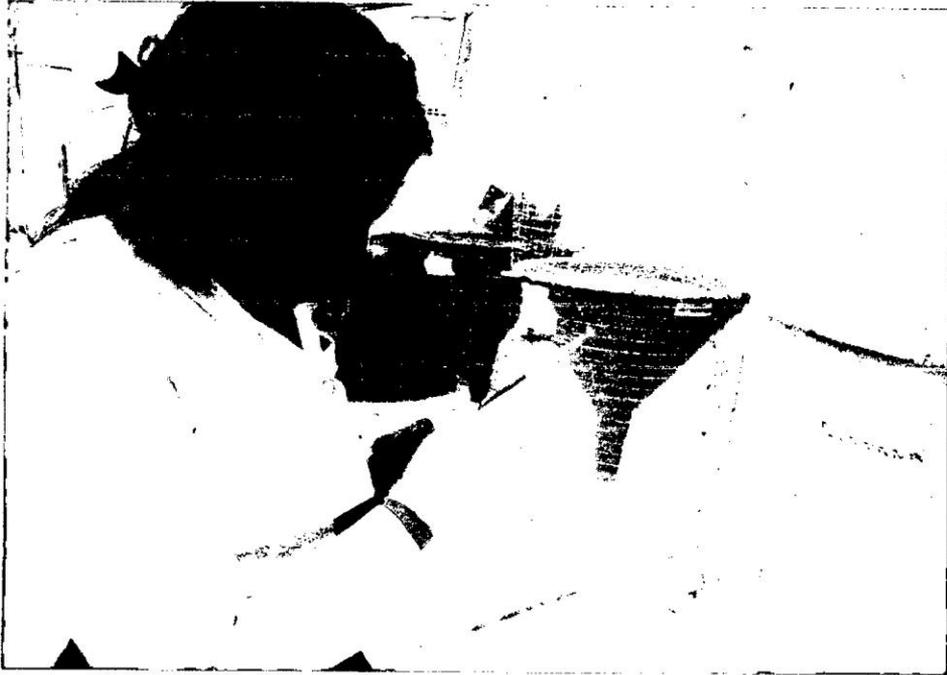
Anexo 12

Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. "culantrillo de pozo".



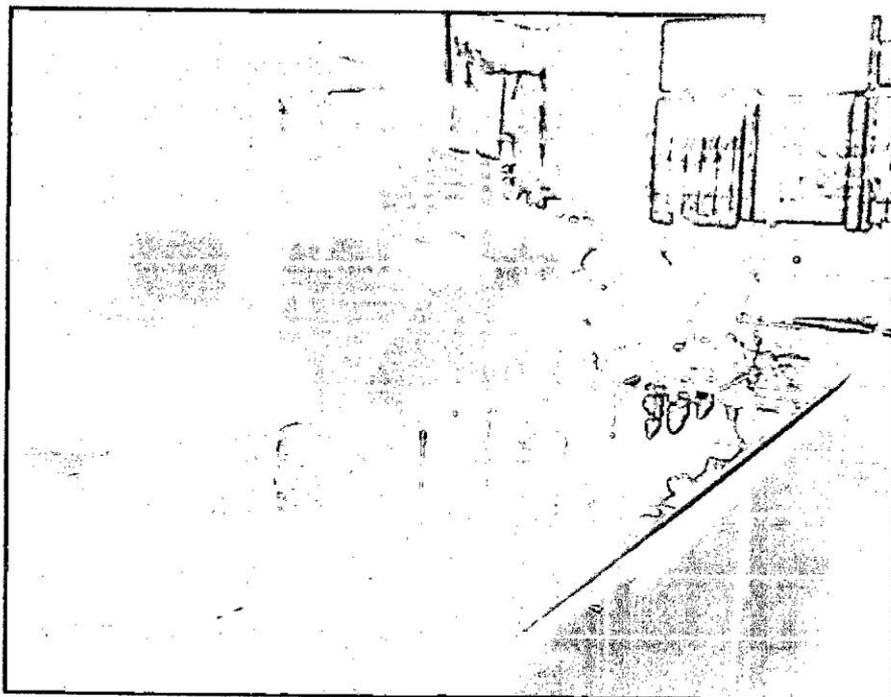
Anexo 13

Administración de los tratamientos a la unidad experimental. *Adiantum poiretii* Wikstr.
"culantrillo de pozo"



Anexo 14

Se observa la colocación a la jaula de diuresis.



Anexo 15

Tabla 9. Matriz de consistencia.

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	MARCO TEORICO	METODOLOGIA
<p>Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo". Ayacucho 2012.</p>	<p>¿Tendrá efecto diurético el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo"?</p>	<p>Objetivo general •Evaluar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. Objetivos específicos: -Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo" mediante tamizaje fitoquímico. -Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo" con la Furosemida. -Evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo" en ratones albinos.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico o de las hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo" posee efecto diurético.</p>	<p>Variable independiente •concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo". Indicadores Concentraciones: 100mg/Kg, 200mg/Kg 400mg/Kg</p> <p>Variable dependiente •Efecto diurético.</p> <p>Indicadores •Porcentaje de volumen de excreción urinaria</p>	<p><i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. La planta es un esporofito. Se diferencia en las raíces, rizomas y hojas. Planta terrestre, con rizoma rastrero, hojas de 35 a 45 cm de largo, con lamina ovada dividida en pequeños segmentos, con formas de abanicos y textura firme, los soros son pequeños, se ubican en los márgenes de los segmentos y están protegidos por una porción de tejido laminar enrollada sobre este. Usos y propiedades farmacológicas. Bronquitis, diurético, sudorífico, para tratar los cálculos biliares. Antecedentes Existen investigaciones químicas y farmacológicas, entre las que destacan la Actividad diurética de extractos <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo" Diuréticos. fármacos que actúan sobre los riñones aumentando el volumen urinario al reducir la reabsorción de sal y agua desde los túbulos Furosemida. Mecanismo de acción: actúan inhibiendo la reabsorción tubular del Na y Cl, en el segmento medular y cortical de la rama ascendente gruesa del asa de Henle.</p>	<p>Tipo de investigación: Básica experimental Población: Hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo" que crecen en el distrito de Quinua, Provincia de Huamanga, Región Ayacucho. Muestra: 3 Kg de hojas y tallos de <i>Adiantum poiretii</i> Wikstr. "culantrillo de pozo". Animales de experimentación: 25 cobayos <i>Cavia Porcellus</i>, machos de 550 +/- 50 g de peso, 20 ratones albinos 10 machos y 10 hembras. Determinación del efecto diurético. Los animales se dejaron en ayunas 12 h, sin privarlas de agua. Se administró por VO 50 ml/Kg de NaCl 0,9%. Después de 20 min de la hidratación se pesó y se administró el producto en estudio. Se recolectó la orina cada hora durante cuatro horas. Para determinar el efecto, se procedió a pesar los animales inmediatamente después de haberse producido la diuresis y por diferencia de peso se calculó el volumen perdido; se midió el volumen de orina eliminado, para poder comparar con el efecto producido con las sustancias diuréticas ya conocidas. Análisis estadístico Los resultados se representaron mediante cuadros y gráficos. Para efectos de la comparación de la acción diurética de la sustancia problema se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba Dunnet, con el objetivo de determinar las medias que difieren ($p < 0.05$), para lo cual nos apoyaremos del programa SPSS versión 21,0.</p>

Acta de Sustentación de Tesis

R.D.Nº 114 - 2015 UNSCH - FCB – D

Bach: Potosino Huasacca, Judith Elisa.

En la ciudad de Ayacucho, siendo las 6 de la tarde del día doce de junio del año dosmilquince, reunidos en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, los profesores **Mg. Jesús Javier Ñaccha Urbano**, **Dr. Edwin Carlos Enciso Roca**, y presididos por el **Dr. Jhonny Aldo Tinco Jayo** mediante memorando de encargo N° 010 – 2015 – JDA – FCB – UNSCH, como secretario docente el **Blgo. Elbert Hermoza Valdivia**, con la finalidad de recepcionar en acto público la sustentación de la Tesis **Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Adiantum poiretii* Wikstr. “culantrillo de pozo” Ayacucho 2012**, presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica **Potosino Huasacca, Judith Elisa** quien pretende optar el Título profesional de Químico Farmacéutica.

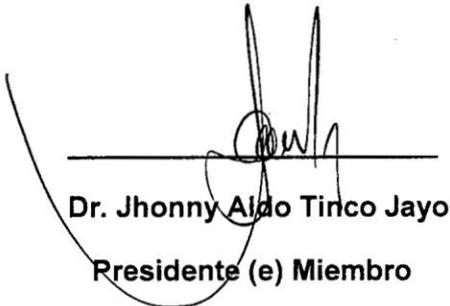
El Dr. Jhonny Aldo Tinco Jayo, una vez que fue constatada la documentación sustentaría para el acto y estando conforme, autoriza a la sustentante para que dé inicio a su exposición en un tiempo reglamentario no mayor a cuarenta y cinco minutos inmediatamente la sustentante inicia con su exposición agradeciendo a la Universidad, sus docente y la Facultad de Ciencias Biológicas.

Concluido la exposición del Tema, el presidente del jurado evaluador invita a los docentes para que puedan iniciar con las preguntas o aclaraciones que crean necesarias con la finalidad de evaluar a la Srta. Sustentante, a las mismas que da respuesta en forma clara y precisa. Finalizada la etapa de preguntas, el presidente del jurado, solicita a la sustentante y público en general para que puedan desocupar el ambiente en forma momentánea, con la finalidad de realizar la discusión y calificación respectiva de lo que se obtiene la calificación de:

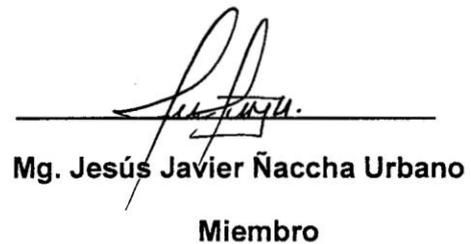
Miembro jurado	Exposición	Rta. Pregunta	Promedio
Dr. Jhonny Aldo Tinco Jayo	16	16	16
Dr. Edwin Carlos Enciso Roca	17	17	17
Mg. Jesús Javier Ñaccha Urbano	16	17	17
Promedio	17		

El resultado de la evaluación es la nota de Diecisiete (17) que es Aprobatoria, invitándose a la sustentante y público hagan su ingreso al auditorio, con la finalidad de dar a conocer el resultado en forma pública, y a continuación el presidente invita a la sustentante se acerque a la mesa, en la se encuentra el jurado para colocar la medalla de la Universidad, en reconocimiento como nueva profesional Químico Farmacéutica, e inmediatamente realizar la juramentación para el cumplimiento de su carrera profesional.

Concluimos la sustentación siendo las siete con veinte minutos de la noche, firmando al pie del presente dando fe del acto de sustentación.



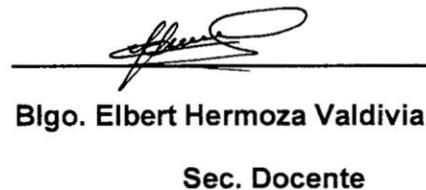
Dr. Jhonny Aldo Tinco Jayo
Presidente (e) Miembro



Mg. Jesús Javier Ñaccha Urbano
Miembro



Dr. Edwin Carlos Enciso Roca
Miembro- Asesor



Blgo. Elbert Hermoza Valdivia
Sec. Docente