

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad diurética del extracto etanólico del fruto de
Passiflora mollissima (HBK) Bailey "tumbo" en *Cavia*
porcellus "cobayos", Ayacucho – 2016.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR EL:
Bach. CARBAJAL MENDIVIL, CHANEL

AYACUCHO - PERÚ

2016

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 0125 - 2016 - FCSA - UNSCH

Bach. Chanel Carbajal Mendivil

En la ciudad de Ayacucho, a los ocho días del mes de julio del dos mil dieciséis, a las once de la mañana, en el auditorio de la Biblioteca Central de la UNSCH, se reunieron los miembros del jurado de la tesis titulada. Actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" en *Cavia porcellus* "cobayos" Ayacucho – 2016; presentado por Chanel Carbajal Mendivil; el jurado estuvo presidido por el decano Emilio Ramírez Roca e integrado por el Dr. Edwin Enciso Roca, Mg. Maricela López Sierralta, Q.F. Juan Paniagua Segovia y Mg. Marco Aronés Jara, quien a su vez actúa como secretario docente.


Verificada la documentación respectiva se da inicio a la sustentación, con la exposición del sustentante. Concluida la exposición el presidente invita a los miembros del jurado a realizar las preguntas y las observaciones pertinentes.

Luego de esta etapa, el presidente invita al sustentante y público a abandonar el auditorio para que el jurado realice la evaluación.


Jurado calificador	Texto	Exposición	Rta. pregunta	Promedio
Maricela López Sierralta	17,0	17,0	17,0	17,0
Marco Aronés Jara	16,0	16,0	16,0	16,0
Edwin Enciso Roca	17,0	17,0	17,0	17,0
Juan Paniagua Segovia	17,0	17,0	17,0	17,0
			Promedio	17,0

De la evaluación realizada obtuvo una nota de diecisiete (17,0).


Siendo las doce cuarente y cinco de la tarde culminada el presente acto académico firmando al pie de la presente acta los miembros del jurado evaluador.



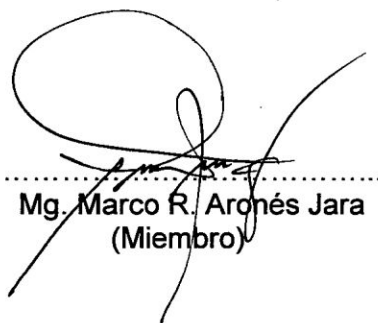
.....
Dr. Edwin Enciso Roca
(Asesor)



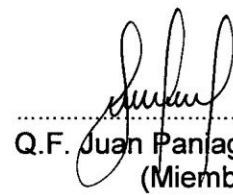
.....
Mg. Maricela Lopez Sierralta
(Miembro)



.....
Dr. Emilio Ramirez Roca
(Presidente)



.....
Mg. Marco R. Aronés Jara
(Miembro)



.....
Q.F. Juan Paniagua Segovia
(Miembro)

A mi madre querida Maximiliana Mendivil Gamboa, por todo el apoyo brindado en mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

Mi eterna gratitud a mi alma Mater, La Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela de Farmacia y Bioquímica y a los docentes que en ella laboran, los cuales contribuyeron en el aprendizaje y orientación de mi formación profesional.

A mi asesor Dr. Edwin Carlos Enciso Roca, por su valioso apoyo y colaboración en la culminación permanente del presente trabajo de investigación.

A todas las personas que colaboraron en la realización y culminación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE

	página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	03
2.1 Antecedentes	03
2.2 <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey	05
2.3 Metabolitos secundarios	07
2.4 Fisiología del aparato urinario	10
2.5 Diuréticos	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1 Lugar de ejecución	15
3.2 Materiales	15
3.3 Método de recolección de muestra	15
3.4 Preparación de la solución estándar	16
3.5 Preparación de la solución patrón	16
3.6 Determinación de la actividad diurética del extracto etanólico	16
3.7 Diseño de investigación	17
3.8 Análisis de datos	17
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES	31
VII. RECOMENDACIONES	33
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
IX. ANEXOS	39

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Composición nutricional de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo serrano" por 100 gr de porción comestible	7
Tabla 2	Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de fruto <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	20
Tabla 3	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey y Duncan de área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	25

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Núcleo básico de los flavonoides	8
Figura 2	Área bajo la curva mediante la regla del trapecio	17
Figura 3	Variación del volumen promedio de orina en función del tiempo de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	21
Figura 4	Variación del volumen de orina acumulada en función de los tratamientos del extracto etanólico del fruto <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016	22
Figura 5	Porcentaje de actividad diurética en función de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	23
Figura 6	Área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria en función de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	24

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Constancia de la clasificación taxonómica de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo".	40
Anexo 2	Flujograma de la obtención del extracto etanólico del fruto <i>Passiflora mollissima</i> Bailey (HBK) "tumbo".	41
Anexo 3	Esquema del análisis químico cualitativo en el extracto etanólico de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo".	42
Anexo 4	Planta de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho – 2016.	43
Anexo 5	Fruto representativa de la planta <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	44
Anexo 6	Maceración del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	45
Anexo 7	Filtración al vacío del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	46
Anexo 8	Extracto etanólico concentrado del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	47
Anexo 9	Resultado de los metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	48
Anexo 10	Etapas del pesado del animal de experimentación para la evaluación de la actividad diurética, Ayacucho - 2016.	49
Anexo 11	Administración de la dosis correspondiente a cada animal de experimentación, tomado al azar y dividido en cinco grupos de tratamiento, Ayacucho - 2016.	50
Anexo 12	Etapas de medición del volumen de orina excretada en cada tiempo, después de haber administrado las dosis correspondiente a cada animal de experimentación en sus correspondientes grupos, Ayacucho - 2016.	51
Anexo 13	Volumen de orina obtenido de cobayos utilizado en los diferentes tratamientos de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	52
Anexo 14	Valores descriptivos del área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	53
Anexo 15	Análisis de varianza del área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016	54
Anexo 16	Prueba de Dunnett t del área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.	55
Anexo 17	Matriz de consistencia.	56

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" en *Cavia porcellus* cobayos y se concretizó en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. La muestra fue recolectada en el distrito de Saurama, provincia de Vilcashuamán, Departamento de Ayacucho. Los metabolitos secundarios se identificaron según Miranda y Cuéllar. La actividad diurética se determinó utilizando el método de Naik y colaboradores en la que se empleó 25 cobayos machos distribuidos al azar en cinco grupos de cinco animales cada grupo. Al primero se administró solución salina 50 mL/kg, al segundo furosemida 20 mg/kg, al tercero, cuarto y quinto, 100, 200 y 400 mg/kg de muestra respectivamente. Luego de administrada las dosis correspondientes se colocaron en jaula de diuresis por un periodo de cuatro horas midiendo el volumen excretado en cada tiempo. Los metabolitos secundarios identificados fueron: flavonoides, alcaloides, fenoles, taninos y glicósidos. Se observó que los valores de porcentaje de actividad diurética a las dosis de 100 mg/kg es 47,4% 200 mg/kg, 101,1%, 400 mg/kg a 82,6%. El área bajo la curva de los niveles de excreción presentan una alta significancia con un nivel de confianza 95% ($p < 0,05$). En conclusión el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" a una de 200 mg/kg presenta mayor actividad diurética

Palabra clave: *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey, extracto etanólico, Actividad diurética

I. INTRODUCCIÓN

El ser humano desde su origen ha procurado su bienestar y en gran parte lo ha encontrado en la naturaleza.¹ En los últimos años un 80% de la población mundial ha recurrido a las plantas medicinales para tratar diversas enfermedades o afecciones, porque son accesibles y más baratos que los productos farmacéuticos.²

Se han identificado gran número de especies con actividad terapéutica y el Perú forma parte integral de la rica tradición de la cultura popular; donde el país por su ubicación geográfica, su gran biodiversidad de recursos naturales, que han demostrado su eficacia en el uso tradicional; sin embargo muchas de ellas a pesar de ser muy empleadas todavía no poseen el respaldo científico que avale su actividad desde la perspectiva biomédica, careciendo de información científica respecto a su actividad farmacológica y toxicológica.^{3,4} En la actualidad cientos de plantas medicinales están siendo analizadas y estudiadas para determinar sus efectos terapéuticos y queriendo precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, para de esta manera agrupar las plantas de efectos similares y conocer los principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades.^{5,6}

Los diuréticos son drogas de gran utilidad en la terapéutica actual, se utilizan en varias enfermedades cardiovasculares, principalmente la hipertensión arterial, afecciones renales como en el síndrome nefrótico, en las alteraciones hepáticas que presentan ascitis y otras que producen alteraciones en los compartimentos líquidos del organismo.⁷ La acción diurética puede ser causada por principales activos de naturaleza química muy variada. Frecuentemente, la presencia de varios de estos principios en la misma droga es la responsable de la acción diurética, aunque no está claro el grado de contribución de cada uno de ellos a la actividad diurética total de la droga. Los principales principio activos que

pueden intervenir en la acción diurética son aceites esenciales, flavonoides, saponinas y sales de potasio.⁸

El fruto de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H.Bailey "tumbo serrano" es una baya elipsoidal de 7 a 10 cm de largo, verde claro en proceso de desarrollo y completamente amarilla al madurar; pulpa carnosa, jugosa y semillas pequeñas de color negro, sabor suave, agradable, perfumado, ligeramente ácido y astringente, utilizado en la industria alimentaria en la preparación de sorbetes, licores, mermeladas, helados, jugos a partir de la pulpa congelada y saborizante para productos lácteos. Posee alto valor nutritivo, fundamentalmente vitamina A, C y enzimas.^{9, 10}

Sin embargo, hasta el presente no se han registrado estudios en el fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo serrano" sobre actividad diurético, por lo que este estudio aporta los primeros antecedentes de la mencionada actividad. Para lo cual nos planteamos los siguientes objetivos.

Objetivo General:

- Determinar la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" en *Cavia porcellus* "cobayos".

Objetivos Específico:

- Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo".
- Determinar el porcentaje del efecto diurético del fruto de extracto etanólico de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo".
- Comparar el efecto diurético del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey con el estándar de furosemida.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Montes y col.¹¹, demostraron la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto al 20% de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey "tumbo serrano" en el modelo experimental realizado presenta actividad antiinflamatoria al administrarse por vía tópica a la dosis de 500 y 1000 µg.

Alberto y col.¹², demostraron que el extracto acuoso de curuba tiene un alto potencial nutracéutico, debido al contenido de polifenoles, que inciden directamente en su capacidad para atrapar radicales especies reactivas de oxígeno igual a 28 297 mmol de Trolox/100 g.

Inocente y col.¹³, realizaron que los compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano. Ha mostrado un mayor factor de protección solar (SPF) relacionado con la cantidad de compuestos fenólicos presentes, lo cual justifica su inclusión en productos fotoprotectores. La crema gel denota valores de factores de protección solar (FPS) de $11,754 \pm 0,241$.

En estudios realizados de la actividad diurética de extracto hidroalcohólico de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas. Se pudo comprobar el efecto diurético del extracto acuoso y etanólico de *Phrygilanthus acutifolius*. Los extractos de acuoso de 200 mg/kg y alcohólico de 200 mg/kg demostró tener mayor poder natriurético respecto a las otras dosis estudiadas. Al compararlo con la furosemida se observó que la excreción de potasio en orina disminuyó lo que sugirió una acción diurética.¹⁴

En estudios realizados de la actividad quimiopreventiva de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba larga) contra cáncer colorrectal; refieren que la curuba contiene compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides, presenta capacidad antioxidante, y reduce la formación de Focos de Criptas Aberrantes en el modelo in vivo.¹⁵

En estudios realizados en algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante se evidenció la presencia de sustancias antioxidantes en los frutos y en los sustratos provenientes de las hojas de algunas especies del género *Passiflora*. Específicamente se encontraron valores significativos para los frutos de granadilla silvestre y para las hojas de gulupa. Han demostrado que posee una elevada capacidad antioxidante y reductora al compararse con otros frutos tropicales.¹⁶

En la investigación de la actividad diurética del producto natural Noni-C *Morinda citrifolia* en un modelo experimental en ratas se mostró actividad diurética a dosis de 200 y 400 mg/kg por vía oral.¹⁷

Las revisiones bibliográficas y los antecedentes registrados, justifican el desarrollo del presente trabajo de investigación. Considerando que no existen estudios que demuestren la actividad diurética del *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, pero existen estudios realizados en otras especies propias de la región que resultaron poseer muy buena actividad diurética, que a continuación citamos:

Según Salazar,¹⁸ en su trabajo de tesis denominado evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capulí" en cobayos, demostró que la mayor actividad diurética es notoria de 100 y 200 mg/kg con un 75,45 y 58,01% de excreción volumétrica urinaria respectivamente.

Según Ramos,¹⁹ al evaluar la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro", se llegó a concluir que las concentraciones con mayor actividad diurética son con las dosis 200 y 400 mg/kg con una eficacia de 22,0 y 104,4% en cobayos.

Según Mayhua,²⁰ en el estudio, actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua", se demostró que tiene una buena eficacia a la concentración de 500 mg/kg.

Según Prado,²¹ al evaluar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco", se ha demostrado que el mejor efecto diurético se manifiesta a las dosis de 600 mg/kg con una eficacia de 70,46%.

Poma,²² realizó la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Rosmarinus officinalis* L. "romero" encontrando que la dosis mejor actividad

diurética es de 200 mg/kg con mejor excreción volumétrica urinaria de 183,60% en relación a la furosemida que fue de 144,76%.

2.2 *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey

2.2.1 Clasificación taxonómica

La determinación botánica se realizó según el sistema de clasificación de Croquist. A. 1988, en el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de San Cristóbal de Huamanga.

Clasificación sistemática de la especie:

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub clase	: Dilleniidae
Orden	: Violales
Familia	: Passifloraceae
Género	: <i>Passiflora</i>
Especie	: <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey.
Nombre Vulgar	: "tumbo"

Fuente: Herbarium Huamangensis, 2015 (anexo 01)

2.2.2 Características morfológicas

Es una planta enredadera y originaria de las zonas andinas de América del sur; distribuida principalmente en las zonas frías. En el Perú, las zonas de producción se ubican entre 1800 a 3300 metros sobre nivel de mar de preferencia en la sierra, requiere clima con temporadas altamente húmedas y secas.¹¹

Raíz: Las raíces de la curuba son fibrosas, ramificadas y poco profundas, su raíz principal presenta poco desarrollo, las raíces secundarias por lo general alcanzan profundidades de 40 a 60 cm.²³

Tallo: El tallo que presentan las plantas de curuba es herbáceo, semileñoso, cilíndrico, pubescente, estriado, de color desde amarillo verdoso hasta café oscuro, dependiendo de la especie, por ser una planta trepadora posee zarcillos ubicados en las axilas de las hojas, los cuales le sirven para sujetarse, adherirse y trepar por los elementos que se encuentran a su alrededor, esto hace necesario el establecimiento de estructuras de soporte en este caso tutorados, los tallos poseen nudos, los cuales se encuentran ubicados en toda la estructura de la planta cada 8 ó 12 centímetros, sobre el tallo principal crecen ramas, las cuales persisten durante todo el ciclo de vida de la planta.²³

Hojas: las hojas de la curuba son alternas, presentan dos formas, trilobuladas o enteras, pubescentes o glabras, ovadas u oblongas, de bordes aserrados, su textura va de coriáceas a membranosas; el tamaño puede variar de pequeñas a grandes; su longitud va de 7 a 10 cm de largo y de 6 a 12 cm de ancho el envés es tomentoso y el haz es veloso.²³

Flores: La flor presenta una bráctea cilíndrica de color verde, veloso por fuera y con tres lóbulos. El cáliz es tubuloso, glabro exteriormente, de unos 8 cm de longitud, blanquísimo por dentro y verde exteriormente, la porción libre es oblonga, verde, con los bordes rojizos y una línea saliente en el envés que termina debajo del ápice de un pequeño filamento, Los pétalos son rojos, oblongos, con el ápice obtuso, cinco estambres soldados en casi toda su longitud, anteras oblongas, cremas, con polen amarillo, ovario verde, oblongo, tomentoso, tres estilos amarillos crema y tres estigmas verdes.²⁴

Fruto: El fruto es una baya de color crema o amarillento en la madurez, suave al tacto, oblongo y la pulpa que rodea la semilla es un tanto acidula y de color salmón.²⁵

Semilla: La semilla es lenticelada, de color oscuro, de forma aplanada, con testa gruesa y está rodeada por un arilo de color salmón, de consistencia gelatinosa.²⁵

2.2.3 Importancia económica y valor nutricional

El consumo y exportación de *Passiflora mollissima* (HBK). Bailey "tumbo serrano" es muy pequeño, debido a problemas agronómicos resulta imposible su comercialización al exterior como fruta fresca, siendo indispensable procesamiento a pulpa congelada.²⁶

En la industria el fruto se usa para preparar sorbetes, licores, mermeladas, helados, jugos a partir de la pulpa congelada, para saborizar productos lácteos. Su importancia radica en sus características de aroma y sabor: suaves, tenues y delicados, que le otorga amplias posibilidades de fruta exótica en los mercados.²⁷

2.2.4. Usos tradicionales

Hipnótico, calmante contra el insomnio, antiespasmódico, cálculos renales, hipotensor, refrescante y febrífugo.²⁷

2.2.5 Estudio biológico

El extracto etanólico del fruto al 20% de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" en el modelo experimental realizado presenta actividad antiinflamatoria

y presentes metabolitos secundarios como: flavonoides, fenoles alcaloides, taninos y glicósidos¹¹

Estos estudios también han demostrado que tiene actividad antioxidante está relacionada con la presencia de compuestos fenólicos, entre los que destacan los flavonoides, además presenta actividad quimiopreventiva^{12, 15}

Tabla 1. Composición nutricional de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo serrano” por 100 gr de porción comestible²⁶

composición	Unidades	<i>Passiflora mollissima</i>
Agua	G	82,1
Energía	Kcal	64,0
Proteínas	G	1,2
Grasa	G	0,5
Carbohidratos	G	15,4
Fibra	Mg	3,6
Calcio	Mg	8,0
Fósforo	Mg	34,0
Hierro	Mg	0,6
Retinol	Mcg	159,0
Tiamina	Mg	0,02
Riboflavina	Mg	0,11
Niacina	Mg	4,56
Ácido Ascórbico	Mg	66,7

2.3 Metabolitos secundarios.

La acción diurética puede ser causada por principios activos de naturaleza química muy variada, frecuentemente; La presencia de varios de estos principios en la misma droga son las responsables de la acción diurética, aunque no está claro el grado de contribución de cada uno de ellos a la actividad diurética total de la droga. Los principales activos que pueden intervenir en la acción diurética son aceites esenciales, flavonoides, saponinas y sales de potasio.

En cuanto a su mecanismo de acción, parece ser que alguno aceites esenciales, saponósidos y flavonoides podrían actuar a nivel glomerular, provocando un aumento de la circulación renal e incrementando así la tasa de filtración glomerular y la formación de orina primaria. Sin embargo, las sales de potasio podrían producir un efecto diurético gracias a un proceso osmótico.⁸

2.3.1 Flavonoides

Son grupos de metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Hasta el momento se han descrito más de 800 moléculas, si bien se siguen identificando nuevas estructuras.²⁸ son compuestos fenólicos, en su mayoría pigmentos responsables de la coloración de numerosas flores y de algunos frutos, se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal.²⁹

Desde el punto de vista químico, los flavonoides son fenoles de tipo diarilpropano unido, la mayoría, a una cadena de azúcar; están constituida por un anillo bencénico condensado (o sus derivados) sustituidas en posición 2(3) por un radical fenilo.³⁰

En 1936 Ruszyak y Szent- Gyorgi fueron los primeros en poner de manifiesto sus efectos beneficiosos sobre la normalización de la permeabilidad vascular alterada.³¹ sin embargo el termino flavonoide no se introdujo hasta 1952 por Geissman y Hinreir, desde entonces se les han atribuido un amplio número de actividades farmacológicas que aparentemente no guardan relación entre sí, de las que cabe destacar sus propiedades diuréticas, antiespasmódica, antiinflamatorias, antibacterianos ,antivirales, hepatoprotectores, antiulcerosos, estrógenos, antioxidantes y antineoplásicos, entre otros.³²

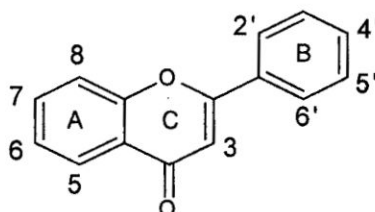


Figura 1. Núcleo básico de los flavonoides³⁰

2.3.2 Taninos

Son conocidos por sus propiedades curtientes y astringentes, usados tradicionalmente en la industria del cuero y en terapéutica como cicatrizante en uso externo y antidiarreico. El termino tanino fue introducido por según en 1796 para designar a ciertas sustancias presentes en extracto vegetales capaces de combinarse con la piel, evitando, su putrefacción y convirtiéndola en cuero. Sus propiedades astringentes están ligadas por su capacidad de unirse a proteínas de la piel y de las mucosas, provocando una especie y protejan las capas subyacentes de ahí su empleo como cicatrizante y en el tratamiento de quemaduras.³⁰

Los taninos se clasifican en dos grupos grandes: los taninos hidrosolubles, que al tratar con cloruro férrico (FeCl_3) da una coloración azul; y los taninos condensados que da una coloración verde con el cloruro férrico (FeCl_3).³³

2.3.3 Alcaloides

Estas sustancias, a pesar de ser estudiadas como grupo, no presentan homogeneidad desde el punto de vista químico, bioquímico o fisiológico.

Podemos definirlos como compuestos orgánicos que contienen uno o más átomos de nitrógeno, generalmente en un anillo heterocíclico, de naturaleza básica y con actividad farmacológica.

La palabra alcaloide fue utilizada por primera vez por W. Meissner para designar algunos compuestos activos que se encontraban en los vegetales y que poseían carácter básico.

Winterstein y Trier definieron los alcaloides, en un sentido amplio, como compuestos básicos, nitrogenados, de origen vegetal o animal.

El amplio espectro de actividades biológicas descritas para los alcaloides puede ser relacionado con su variedad estructural. Debido a su amargor y toxicidad actúan como repelentes de herbívoros. Algunas especies son tóxicas para el hombre, como la belladona, pero sirve como alimento para algunos animales con un sistema enzimático que les permite hidrolizar la atropina en productos desprovistos de toxicidad. Presentan una amplia gama de actividades biológicas noscapina (antitusivo), teobromina y teofilina (diuréticos).³⁴

También los alcaloides actúan en los otros sistemas como antiespasmódicos, antitusivos, diuréticos, sedantes, antiinflamatorios.³⁵

2.3.4 Glicósidos

Los glicósidos son metabolitos vegetales de gran importancia. Su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glicósidos de particular interés: saponinas, glicósidos cardiacos y glicósidos cianogénicos. Una cuarta familia, los glucosinolatos, se incluyen en este grupo debido a su estructura similar a los glicósidos.

Las saponinas, se encuentran como glicósidos esteroideos, glicósidos esteroideos alcaloides o bien glicósidos triterpenos. Son por tanto triterpenoides o esteroides que contienen una o más moléculas de azúcar en su estructura. Se pueden presentar como agliconas, es decir, sin el azúcar (el terpeno sin el

azúcar, por ejemplo), en cuyo caso se denominan saponinas. La adición de un grupo hidrofílico (azúcar) a un terpenoide hidrofóbico da lugar a las propiedades surfactantes o detergentes similares al jabón que presentan las saponinas. Los glicósidos cardiacos o cardenólidos son semejantes a las saponinas esteroideas, tienen también propiedades detergentes, pero su estructura contiene una. Se encuentran de forma natural en forma de glicósidos o de agliconas. Quizá el más conocido sea la digitoxina o su análogo digoxina, aislada de *Digitalis purpurea* y utilizada como medicamento en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva.

Los glicósidos cianogénicos son compuestos nitrogenados, que no son tóxicos por sí mismos pero se degradan cuando la planta es aplastada liberando sustancias volátiles tóxicas como cianuro de hidrógeno (HCN). Un ejemplo es la amigdalina, que se encuentra en las semillas de almendra, albaricoque, cereza o melocotón.

Los glicósidos cianogénicos normalmente no se degradan cuando la planta está intacta. Tienen un papel protector en algunas especies frente a herbívoros. El cianuro de hidrógeno es una toxina de acción rápida que inhibe metaloproteínas como la citocromo oxidasa, enzima clave en la respiración mitocondrial. Sin embargo, algunos herbívoros llegan a adaptarse a alimentarse de plantas cianogénicas y tolerar más altas dosis de HCN.³⁶

2.4 Fisiología del aparato urinario

Los riñones son avanzadas máquinas de reprocesamiento, cada día los riñones de una persona procesan aproximadamente 180 litros de sangre para eliminar alrededor de dos litros de productos de desecho y agua en exceso.

A los riñones les compete la mayor parte de la actividad del aparato urinario. Los otros son vías de peso y lugares de almacenamiento. Las funciones de los riñones son las siguientes: regulan del volumen de líquido extracelular, regulación de la osmolaridad, mantenimiento del balance iónico, regulación de pH, excreciones de sustancia endógena y exógena entre ellos está la eliminación de los fármacos y producción de hormonas.³⁷

2.5 Diuréticos

Los diuréticos constituyen drogas que actúan sobre el riñón y son capaces de provocar un aumento del volumen de la orina excretada. Pero el propósito de los diuréticos en el edema no es simplemente aumentar el volumen de la orina sino promover la excreción de sodio. Ya que el agua le sigue pasivamente la

acción osmótica, al igual que el cloruro con respecto al sodio que también lo hace pasivamente; además, se ha descrito el papel esencial de la retención de sodio en todos los tipos de edema. Por lo tanto, los diuréticos, para ser activos u útiles deben ser saluréticos eliminadores de cloruro de sodio o mejor dicho natriuréticos excretorios de sodio.

Los diuréticos provocan:

- a) En primer lugar una excreción iónica, principalmente de sodio, que se extrae del líquido extracelular
- b) En segundo lugar una eliminación de agua, que también procede del líquido extracelular, desapareciendo el edema.
- c) Se procede extracelular aumento de la diuresis y pérdida de peso.

Los diuréticos actúan sobre el riñón; ejerciendo sus efectos por aumento de la filtración glomerular o por disminución de la reabsorción tubular.³⁸

2.5.1 Principales clases de diuréticos

La clasificación se realiza según la eficacia diurética, con el sitio de acción y con la estructura química:

a) Diuréticos de máxima eficacia

Actúan en los segmentos diluyentes; pues su curva dosis respuesta es más amplia. Son los más natriuréticos, disminuyen el aclaramiento y la reabsorción del agua libre, porque ellos ejercen su acción principal en la rama ascendente gruesa del asa de Henle en toda su extensión, y es así que se les denomina también diuréticos del "asa".

Los más importante son: los derivados del ácido antranílico, furosemida, el derivado de la metanilamina, bumetanida y el derivado del ácido fenoxiacético y el ácido etacrínico.³⁹

b) Diuréticos de mediana eficacia

Actúan en la porción final del segmento diluyente cortical y en el primer segmento del túbulo distal ; son menos natriuréticos que las anteriores, que disminuye el aclaramiento de agua libre, también conocidos como diuréticos tiazídicos y los que pertenecen a este grupo son:

- Tiazidas de grupo A: benzotiadiazina, clorotiazida.
- Tiazidas de grupo B: hidroclorotiazida
- Tiazidas de grupo C: bendroflumetiazida.
- Tiazidas de grupo D: ciclotiazida.
- Derivados de la isoindolina: clortalidona.

- Quinazolinas: metolazona.³⁹

c) Diuréticos de ligera eficacia

Aquí encontramos a los inhibidores de la anhidrasa carbónica, que aumenta el aclaramiento de agua libre. Su acción es predominante en el túbulo proximal y los diuréticos osmóticos son muy pocos natriúreticos, pero son capaces de eliminarse agua, su sitio de acción es variable.³⁹

2.5.2. Furosemida

Químicamente, la furosemida es un derivado del ácido antranílico, posee un núcleo bencenosulfanilo halogenado adyacente en forma semejante a las tiazidas. Deriva de un anillo aromático fundamental corresponde al ácido antranílico, con una cadena lateral que contiene un anillo furano, su potencia y eficacia diurética depende de todas estas características; utilizado en el tratamiento del edema asociado, insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis y enfermedad renal, incluyendo el síndrome nefrótico. También se utiliza en el tratamiento de la hipertensión ligera o moderada.⁴⁰

Sobre el mecanismo de acción, la furosemida actúa directamente sobre el riñón aumentando el volumen urinario y eliminación de sodio. No modifican sensiblemente la filtración glomerular y producen sus efectos por disminución de la reabsorción tubular de agua y electrolitos en la rama ascendente gruesa de Henle.

La furosemida aumenta la excreción de cloruro de sodio por disminución de reabsorción tubular, mientras que la eliminación de agua y por consiguiente el aumento de volumen urinario (diuresis) producido es secundario a la excreción de electrolitos, pues a nivel de los túbulos renales el agua es retenido por acción osmótica y es eliminado concomitantemente con la sal.⁴¹

Respecto a la farmacodinamia, la furosemida se administra por vía oral e intravenosa, produce una copiosa diuresis en los animales y en el hombre normal o con edema. Por lo tanto el volumen plasmático disminuye con hemoconcentración, aumenta la concentración de las proteínas plasmáticas y por lo tanto, la presión coloidosmótica, que origina el pasaje de líquido desde el compartimento intersticial a la sangre y la consiguiente desaparición del edema. Su acción es rápida por vía oral y el efecto comienza de 30 a 90 minutos, alcanzando una máxima intensidad de 90 minutos a 120 minutos de vida media, persistiendo durante 4-6 horas; por vía intravenosa el efecto diurético

comienza a los 5 -10 minutos, alcanzando su máxima intensidad después de 30 a 60 minutos y persistiendo durante unas dos horas.

Respecto a la farmacocinética, la furosemida se absorbe en gastrointestinal con rapidez y pasan así a la sangre, con un nivel plasmático máximo a los 90 minutos de la ingestión alrededor de 650 mg/ml, se eliminan por secreción tubular, así como por filtración glomerular. Por tanto, es función de la concentración que alcanza en la luz tubular. Tiene una curva de dosis respuesta empinada y del tiempo necesario para hacer llegar el diurético hasta su sitio de acción rápida. Se absorben bien por vía oral; la biodisponibilidad de la furosemida es del 50%, inician su acción por vía oral, a los 10 a 30 minutos y alcanzan el efecto máximo a los 20-40 minutos, con una duración de 4-6 horas. Se unen intensamente a las proteínas plasmáticas (>95%), por lo que son filtrados en el glomérulo en escasa cantidad; en cambio, son segregados por transporte activo en el túbulo proximal. La eliminación de la furosemida a las seis horas en un 80%, lo cual son excretados parcialmente por orina en forma activa y en parte, son también metabolizados. La furosemida sufre glucoronidación, con posible acumulación en caso de uremia.⁴²

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Farmacognosia y Cinética y Control de Calidad de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante el mes de febrero del 2016.

3.2 Materiales

3.2.1 Población.- Planta de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” que fueron recolectados en el distrito de Saurama, provincia de Vilcashuamán departamento de Ayacucho situado a 3500 msnm.

3.2.2 Muestra.- 5 kilogramos de frutos de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” que se recolectó en el mes de febrero de 2016 en el distrito de Saurama, provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho.

3.2.3 Material biológico.- Constituido por 25 cobayos machos adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), con un peso 400-500 gramos de peso, con una edad aproximadamente de dos meses, criados y alimentados en las mismas condiciones.

3.3 Método de recolección de muestra

3.3.1 Recolección de la muestra.

Se seleccionó los frutos de *Passiflora mollissima* HBK Bailey “tumbo”. La muestra recolectada se envolvió en papel kraft y luego se embolsó en cajas de cartón con su respectivo rótulo.¹¹

3.3.2 Preparación del extracto

Se procedió lavado del fruto, posteriormente se retiró el epicarpio con mucho cuidado. Para obtener el jugo, se exprime la pulpa y pasa al colador para separarlo de las semillas. En un frasco de vidrio ámbar se agregó 200 ml del jugo obtenido y 800 mL de alcohol de 96° (extracto al 20% v/v) y procedió

macerar por 5 días, con agitación periódica para optimizar la extracción de los metabolitos primarios y secundarios a temperatura ambiente.

Luego se procede el filtrado al vacío en un embudo Buchner. Utilizando papel filtro enseguida se lleva la muestra a la estufa a una temperatura de 40 °C hasta obtener una consistencia blanda, que fue almacenado y conservado en un frasco ámbar en refrigeración hasta el momento de uso en los diferentes ensayos.

3.3.3 Identificación de los metabolitos secundarios

Las reacciones de identificación se realizarán siguiendo la metodología propuesta por Miranda y Cuéllar.⁴³

3.4 Preparación de la solución estándar

Se preparó el fármaco patrón (control referencia) de furosemida tableta de 40 mg (genérico GENFAR) a dosis de 20 mg/kg.

3.5 Preparación de la solución de muestra

Se pesó y disolvió cinco gramos de la muestra del extracto concentrado con agua destilada se enrazó en una fiola de 100 mL, obteniéndose una concentración al 5%.

3.6 Determinación de la actividad diurética del extracto etanólico.

La metodología empleada para la determinación de la actividad diurética se basó en el método utilizado Naik y col y aplicado en la cátedra de farmacología, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.^{44, 45}

Procedimiento experimental.

- Se utilizó 25 cobayos del mismo sexo y edad con un peso corporal entre 400-500 gramos. Los mismos que fueron mantenidos en ayunas por 18 horas antes de la prueba, sin ser privadas de agua.
- Se formaron cinco grupos de cinco animales cada grupo que fueron pesados e hidratados con cloruro de sodio 0,9% por vía oral a través de una sonda nasogástrica, en una dosis de 50 mL/kg de peso corporal.
- Los cobayos tratados fueron puestos en la jaula de diuresis.
- Después de 20 minutos de la hidratación se les administró por vía oral: cloruro de sodio al 0,9% como control; el extracto etanólico a 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg, referencia: furosemida a 20 mg/kg.
- Después de 30 minutos se recolectó la orina seguidamente cada hora por un periodo de cuatro horas en una probeta graduada y se registró el volumen correspondiente.

Para determinar el porcentaje de la actividad diurética (%AD), se utilizó la siguiente formula:

$$\% AD = \frac{\text{volumen de orina excretada}}{\text{vol. de orina del diurético estándar}} \times 100$$

Luego se calculó el área bajo la curva del volumen de orina en función del tiempo por el método del trapecio:

Regla del Trapecio; consiste en aproximar el área bajo la curva $f(x)$ en el intervalo $[a,b]$ que contiene los datos, mediante el área del trapecio rectángulo determinado por los puntos $(a,0)$, $(b,0)$, $(a, f(a))$ y $(b, f(b))$, tal y como muestra la figura:

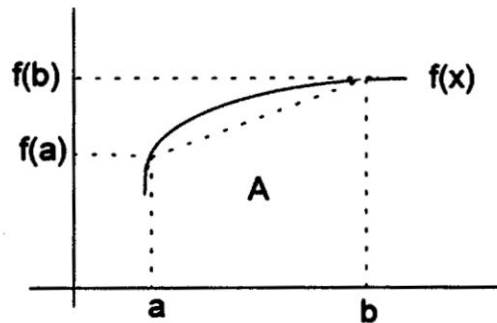


Figura 2. Área bajo la curva mediante la regla del trapecio.

El área del trapecio es la semisuma de las bases multiplicadas por la altura. En este caso será:

$$A = \frac{1}{2}(f(a) + f(b)) \cdot (b - a)$$

3.7 Tipo de investigación

Experimental – puro.

3.8 Diseño de investigación

El diseño de investigación es experimental de tipo experimento puro⁴⁶

G ₁ cobayos	X ₁	O _{extracto}
G ₂ cobayos	X ₂	O _{extracto}
G ₃ cobayos	X ₃	O _{extracto}
G ₄ cobayos	Z _{st}	O _{referencia}
G ₅ cobayos	B	O _{control}

Dónde:

B = Control

Z_{st} = Estándar

G = Grupo

O = Observación (volumen de orina)

X = Extracto

3.9 Análisis de datos

El área bajo la curva del volumen de orina en función del tiempo se determinó con la hoja de cálculo Microsoft Excel.

Por ser variables cuantitativas de razón; se realizó las siguientes pruebas: el análisis de varianza (ANOVA) al 95% de nivel de confianza. La significación estadística entre los grupos se evaluó por el Método Tukey, Dunnett y Duncan. Para determinar dichas pruebas se utilizó el paquete estadístico SPSS 22 (PASW Statistics).

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	observaciones
Flavonoides	Shinoda	+++	Fase amilica de color amarillo
Fenoles y/o Taninos	Cloruro férrico	+++	Verde azulado
Glicósidos	Vainillín sulfúrico	++	Color violáceo
	Dragendorff	++	Formación de precipitado
Alcaloides	Mayer	+	Formación de precipitado
	Wagner	+	Formación de precipitado

Leyenda:

(+++) : Abundante

(++) : Moderado

(+) : Escaso

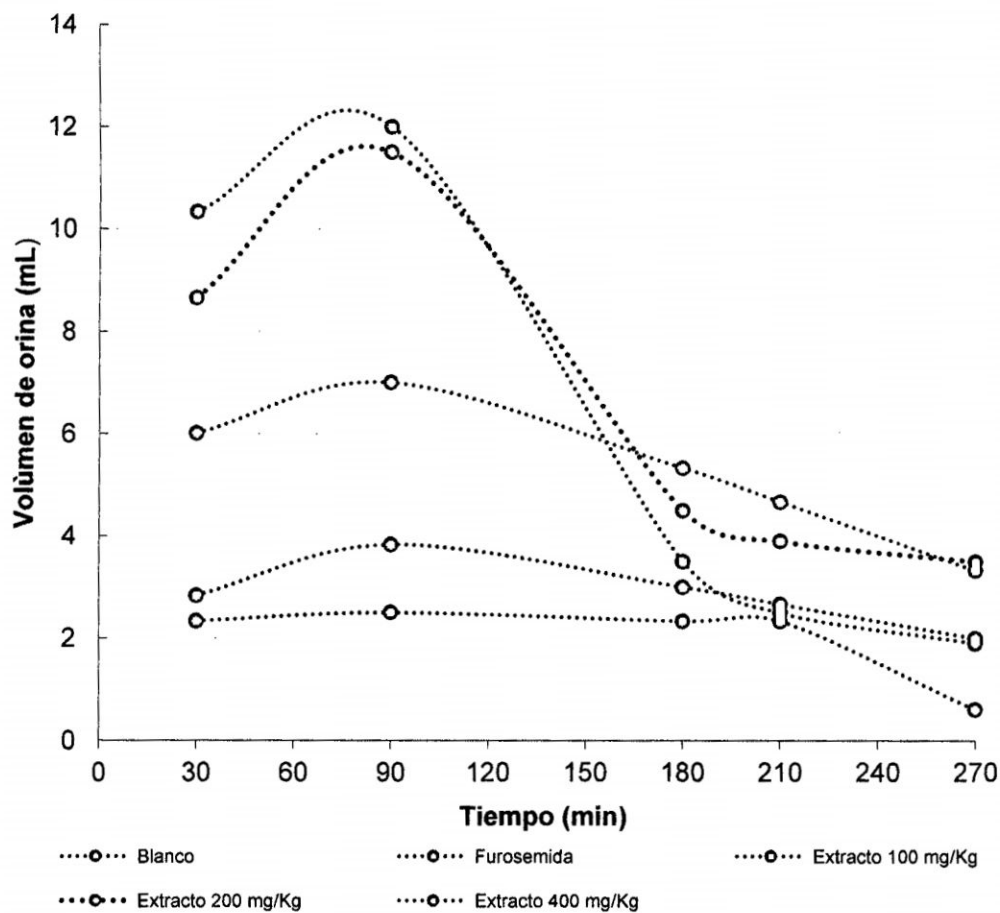


Figura 3. Variación del volumen promedio de orina en función del tiempo de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

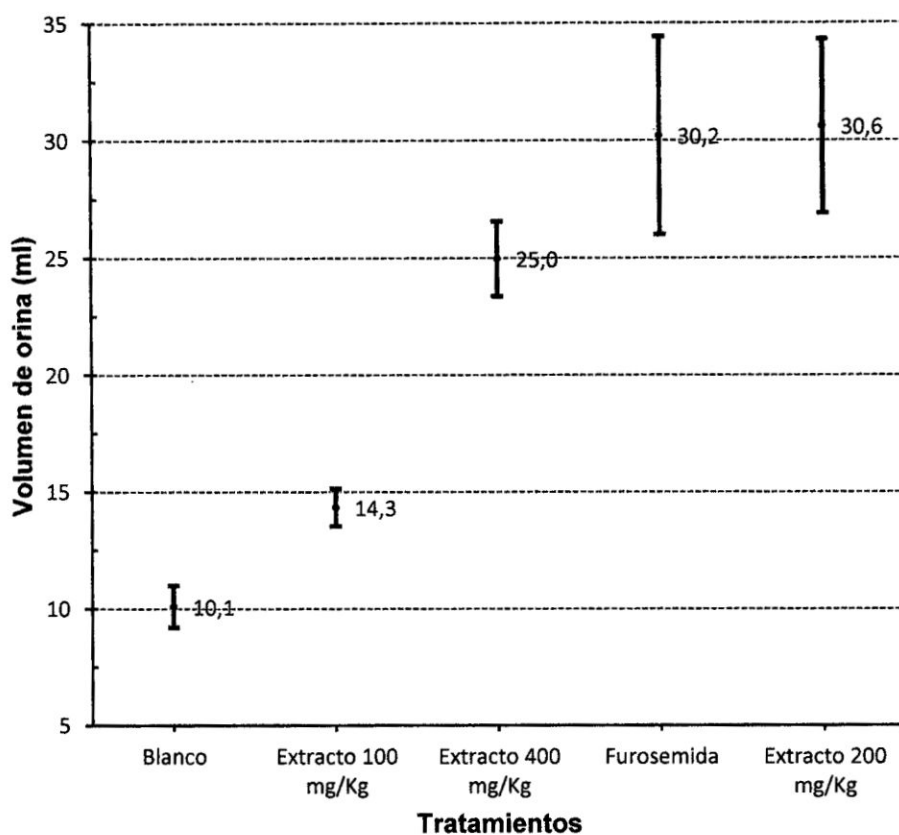


Figura 4. Variación de volumen de orina acumulada en función de los tratamientos del extracto etanólico del fruto *Passiflora mollisima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho – 2016.

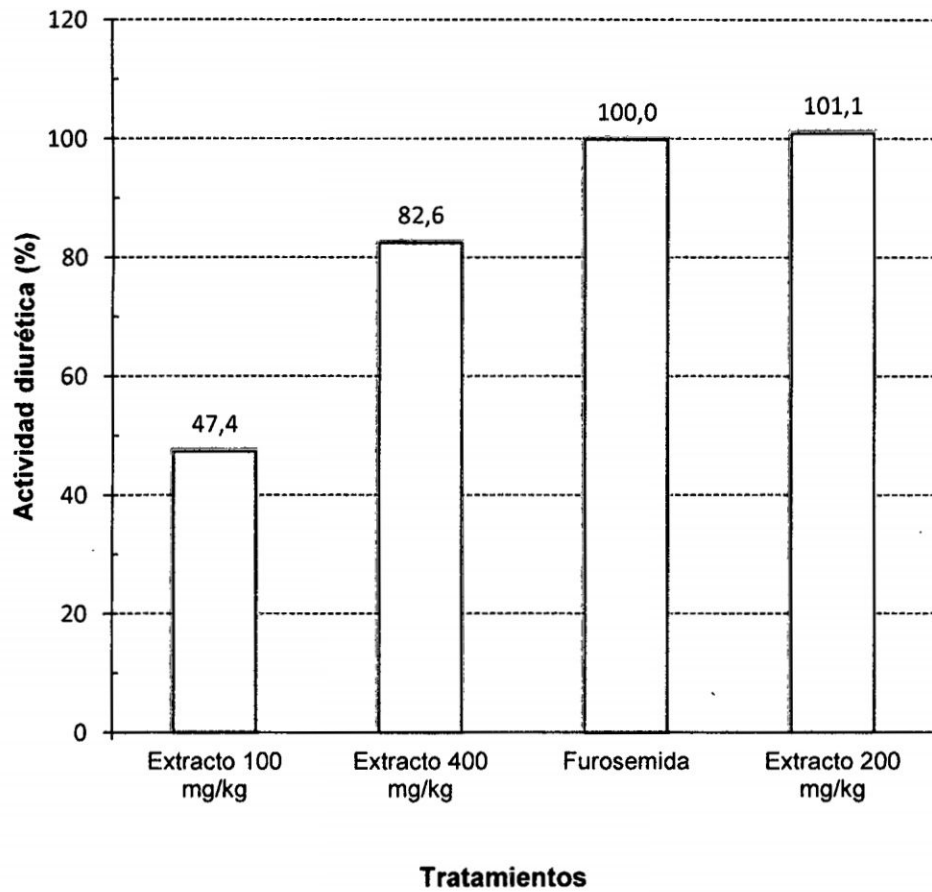


Figura 5. Porcentaje de actividad diurética en función de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

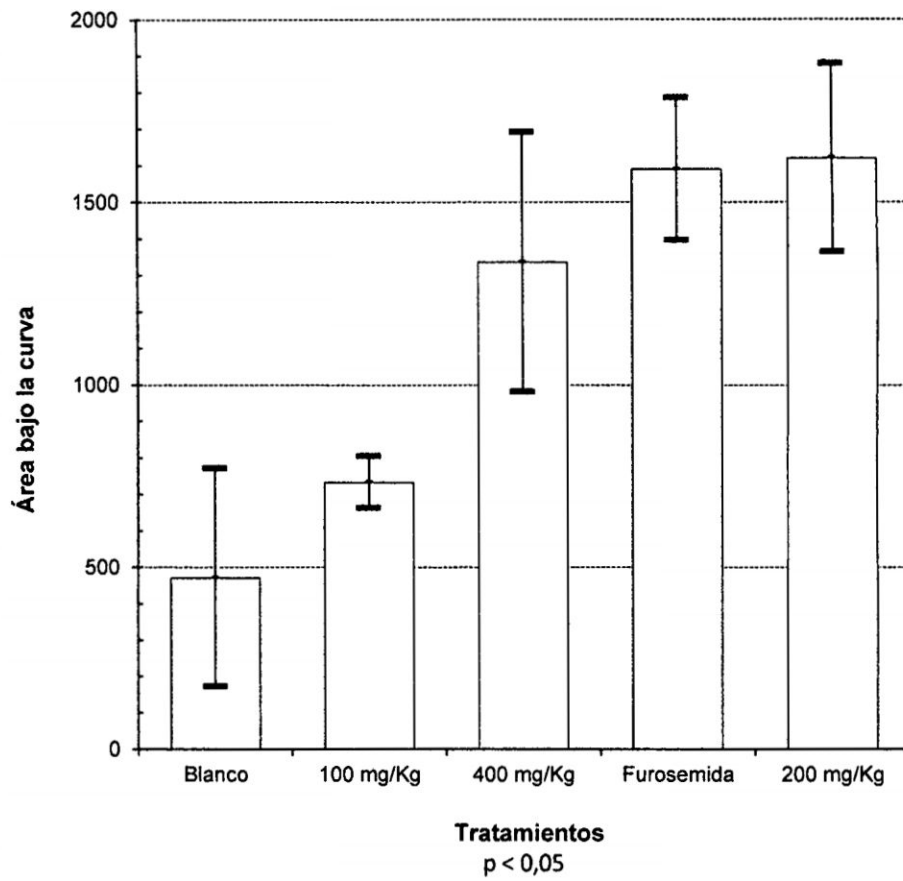


Figura 6. Área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria en función de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

Tabla 3. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey y Duncan del área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

Test	Factor	N	Sub conjuntos homogéneos			
			1	2	3	4
Tukey HSD	Blanco	3	470,5			
	100 mg/Kg	3	732,5			
	400 mg/Kg	3		1335,3		
	Furosemida	3		1589,5	1589,5	
	200 mg/Kg	3			1620,0	
	Sig.		,065	,075	,996	
Duncan	Blanco	3	470,5			
	100 mg/Kg	3		732,5		
	400 mg/Kg	3			1335,3	
	Furosemida	3				1589,5
	200 mg/Kg	3				1620,0
	Sig.		1,000	1,000	1,000	,724

V. DISCUSIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades. Durante mucho tiempo los fármacos naturales y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso del que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de especies vegetales con propiedades medicinales y se ampliara la investigación acerca de los productos que de ella se extraen.⁴⁷

Para la obtención del extracto etanólico se siguió la metodología según Miranda y Cuellar, en donde la concentración de principios activos es óptima, facilitándose la dosificación de los mismos; respaldado con esta información, se llegó extraer el metabolito de la planta en estudio con etanol al 96°.

En la tabla 2; se observa los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (kunth) L.H.Bailey "tumbo serrano", como los flavonoides, glicósidos, fenoles y/o taninos, dichos resultados se contrastan con los estudios realizados en la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (kunth) L.H.Bailey "tumbo serrano" y su uso como activo biológico en industria cosmética,¹¹ al realizar el tamizaje fitoquímico hay presencia fenoles, taninos, flavonoides, alcaloides glicósidos y carbohidratos, algunos metabolitos que son responsables del efecto diurético. Así mismo otra investigación evaluación de la actividad quimiopreventiva de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba larga) contra cáncer colorrectal,¹⁵ refuerza la presencia de estos metabolitos, pues contiene compuestos fenólicos y flavonoides.

Uno de los metabolitos responsables de la actividad diurética son los flavonoides, sustancias que afectan la permeabilidad de la membrana celular, al tiempo que inhiben a la fosfatasa renal, todo ello complementando por el efecto vasoprotector capilartropo que mejora la circulación a nivel de todo el organismo. Además representa 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 estas propiedades son atribuidas a los flavonoides como antimicrobiana, antialérgica, antivírica, cicatrizante, antiagregante plaquetario y hepatotóxicos y diuréticos.^{6, 48}

Los taninos y polifenoles comprenden un grupo de sustancias complejas localizadas en las hojas, frutos y corteza de la planta. Tienen propiedades farmacológicas: antioxidantes, antidiarreicas y cicatrizantes las cuales se adhieren con facilidad en la absorción de la piel, además los polifenoles tienen propiedades diuréticas que han sido comprobados en la experimentación.^{49, 50}

Para la determinación de la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", se utilizó el método descrito por Naik y colaboradores, siendo este un método adecuado y económico para la realización de este tipo de investigaciones; demostrándose que existe una respuesta diurética significativa en todos los niveles de dosis ensayadas 100, 200 y 400 mg/kg de peso, siendo superiores al compararlos con control (NaCl 0,9%) y casi al nivel de los grupos control positivo furosemida⁴⁴. Se hace uso de la furosemida como referencia en el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta su farmacocinética; por su buena absorción por vía oral y/o parenteral, ya que es un fármaco de máxima eficacia produciendo así una buena diuresis⁴².

En la figura 3, se observa la variación del volumen de orina en función del tiempo del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", donde podemos contemplar la similitud de la variación del volumen de orina en función del tiempo del extracto a 200 mg/kg con la furosemida y en menor medida los demás tratamientos. Estudios realizados presentan las mismas variaciones del volumen de orina en función del tiempo como de la especie *Salvia scutellarioides*, observándose los mismos comportamientos en la variación del volumen de orina en función del tiempo mostrados en una curva característica de los efectos diuréticos.⁵¹ Otro estudio de la evaluación de efecto de diurético del extracto de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg., muestra características variaciones del volumen de orina en función del tiempo y los metabolitos encontrados son similares a la planta en estudio como los flavonoides y alcaloides. Los cuales nos indicarían que dichos compuestos son

responsables del efecto diurético ya sea actuando individualmente o mediante un sinergismo.⁵²

En la figura 4, observamos variación de volumen de orina acumulada en función de los tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", donde podemos evidenciar que el volumen promedio de orina acumulado por el extracto etanólico a 200 mg/kg es 30,60 mL, seguido por la furosemida con un volumen de excreción de 30,20 mL, luego extracto etanólico a 100 mg/kg con 14,30 mL, el extracto etanólico a 400 mg/kg con 25,00 mL y por último el blanco un volumen de 10,10 mL, donde se puede revelar que la variación del volumen de orina acumulada del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" a una concentración de 200 mg/kg presenta un volumen superior incluso al grupo de la furosemida; demostrándose así mayor actividad diurética a la concentración mencionada. Otras investigaciones refuerzan el efecto diurético a una concentración de 200 mg/kg como el estudio de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Rosmarinus officinalis* L. "Romero", a una dosis de 200 mg/kg presenta un volumen de excreción promedio de 42,33 mL.²² Así mismo en la investigación de la actividad diurética del producto natural *Noni-C Morinda citrifolia*, evidenciamos que a una dosis de 200 y 400 mg/kg mostraron un mayor volumen de excreción urinaria con valores de 30,12 y 34,23 mL respectivamente.¹⁷

En la figura 5, observamos el porcentaje de la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", donde percibimos a una dosis de 100 mg/kg presenta un 47,37% de actividad diurética, a 200 mg/kg un 101,1% y a 400 mg/kg un 82,60%, reafirmando nuevamente que a una dosis de 200 mg/kg del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" presenta mayor actividad diurética. Contrastando nuestros resultados podemos afirmar que el porcentaje de la actividad diurética tiene un mismo comportamiento en comparación con otros estudios, como la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro", a una dosis de 200 y 400 mg/kg tiene un porcentaje de actividad diurética de 22,0 y 101,2%.¹⁹ Otro estudio de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Rosmarinus officinalis* L. "romero" a una dosis de 200 mg/kg presenta un 101,08% de actividad diuretica.²²

Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS versión 22; el análisis de varianza de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho – 2016, presentan un valor de significancia igual a cero ($p=1,77 \times 10^{-7}$) como muestra el Anexo N° 15, es decir que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%. Seguidamente se realizó las comparaciones múltiples de las medias de los tratamientos con la prueba de Tukey HSD, la Tabla 03 muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado de parecido existente entre sus medias: así el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" a una concentración de 200 mg/kg no difiere significativamente con la furosemida clasificados en el subconjunto 3, es decir tienen el mismo comportamiento, pero difiere con los demás tratamientos. Utilizando otra prueba el Duncan similarmente muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado de parecido existente entre sus medias: así el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" a una concentración de 200 mg/kg no difiere significativamente con la furosemida clasificados en el subconjunto 4, es decir tienen el mismo comportamiento, pero difiere con los demás tratamientos. Todos estos resultados nos conducen a afirmar que el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" a una concentración de 200 mg/kg tienen mayor efecto diurético con respecto a la furosemida como muestra la Tabla 03.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" presenta actividad diurética.
2. El extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" presenta: taninos, flavonoides, alcaloides y glicósidos.
3. El porcentaje de efecto diurético del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" presenta 101,1% a 200 mg/kg y 82,6% a 400 mg/kg.
4. El extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" presenta efecto diurético estadísticamente similar a la furosemida a 200 y 400 mg/kg.

VII. RECOMENDACIONES

- Elucidar y aislar los principios activos responsables de la actividad farmacológica encontrados en el extracto etanólico de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", para su mejor estudio y posible desarrollo de tecnología de una farmacéutica.
- Complementar estudios para determinar otras actividades relacionadas a la actividad diurética, que pueden ser útiles a la población con la planta en estudio.
- Profundizar los estudios fitoterapéuticos y difundir del efecto de la planta hacia la población para su mejor aprovechamiento

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cortez G, Macedo J, Hernández AM, Arteaga A, Espinoza G, Rodríguez J. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. [Revista en internet] 2005 [acceso 20 de febrero 2016]; Rev.Biomed.15:123136, disponible:<http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb041527.pdf>.
2. UICN- OMS- WWF. Directrices sobre conservación de plantas medicinales. Organización Mundial de la Salud (OMS). [sede web]. Gland, Suiza. 1993. Disponible en: http://www.urosario.edu.co/urosario_files/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf.
3. Rengifo, E. Las ramas floridas del bosque. Instituto de investigaciones de la amazonia peruana. Iquitos, 2007.
4. Mostacero J, Mejía F. Taxonomía de las fanerogamas útiles del Perú. Perú. 2002 (1): 523-524.
5. Brack, A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Centro Bartolomé de las Casas, Cuzco, 1999.
6. Lock, O. Investigación Fitoquímica: método en el estudio de productos naturales. 2ª edición. Editorial Fondo. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima -Perú, 1994.
7. Katzung, B. Farmacología básica y clínica. 7ª edición. Editorial el Manual Moderno S.A.Mexico, 1999.
8. López, M. Fitoterapia: plantas medicinales con acción diurética. [sede web]. 2016.[acceso 25 febrero del 2016]. Disponible en:<http://www.doymafarma.com>
9. Perea M, Fischer G, Miranda D. Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas tropicales. Bogotá, Colombia. 2010.
10. Becerra D. Efecto del origen del material vegetal y la edad sobre la capacidad morfo genética de dos especies de *Passiflora* (*Passiflora mollissima* H.B.K. Bailey y *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 2003.
11. Montes E, Churampi L. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *passiflora mollissima* (kunth) l.h.bailey "tumbo serrano" y su uso como activo biológico en industria cosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima; 2015.
12. Alberto B, Zapata K. Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). Plant. Med.2012; 17(4).
13. Inocente M, Tomas G. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK). Per. Quím. Ing. Quím.2017; 17(02):27-33.
14. Habib N, Daud A, Sánchez A. Efecto diurético de extractos acuosos y alcohólicos de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas. Revista Cubana Plant Med.2005; 10(4): 7-9.
15. Carolina C, Maldonado M, Amparo L, Alberto B. Propiedades quimiopreventivas de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba larga) contra cáncer colorrectal. Rev. cubana Plant. Med.2015; 20(1).
16. Carvajal L, Turbay S, Rojano B, Álvarez L, Restrepo S, Álvarez J, Bonilla K, Ochoa C, Sánchez N. Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2011; 16(4).
17. Martínez S, Jiménez M, Río S, Pérez J, Maceira A, Morales Z, Ángeles M. Evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) en un modelo experimental en ratas. [Revista Cubana Plant Med].2012; 17(4),

- [Acceso 03 de noviembre del 2015]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962012000400014&script>.
18. Salazar, A. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *physalis peruviana* L." capulí" en cobayos, [tesis pregrado].Ayacucho-Peru.2012.
 19. Ramos, G. Evaluación de la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro". [tesis pregrado].Ayacucho-Peru.2010.
 20. Mayhua, H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas. [tesis pregrado].Ayacucho-Peru.2008.
 21. Prado, N. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" en cobayos. [tesis pregrado].Ayacucho-Peru.2008.
 22. Poma, H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Rosmarinus officinalis* L. "romero"en *cavia porcellus* "cobayo". [tesis pregrado].Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.Ayacucho-2012.
 23. Bernal J, Díaz C. Tecnología para el cultivo de la curuba. Rionegro Antioquia: edit. Corpoica, Colombia; 2005.
 24. Reina C. Manejo Post cosecha y evaluación de la calidad de curuba *passiflora mollissima* que se comercializa en la ciudad de Neiva. Neiva: Universidad Sur Colombiana; 1995.
 25. Ocampo, A. cultivo de curuba larga (*passiflora mollissima*) en el departamento de Antioquia, y su manejo agronómico en la vereda yarumal del municipio de sonsón; 2014.
 26. Reyes M, Gómez I, Espinoza C, Bravo F, Ganoza L. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Instituto Nacional de Salud. 8° Edición. Lima. 2009: 28.
 27. Becerra, D. Efecto del origen del material vegetal y la edad sobre la capacidad morfogenética de dos especies de *Passiflora* (*Passiflora mollissima* H.B.K. Bailey y *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 2003.
 28. Hodek P, Trefil P, Stiborova M. Flavonoids- Ptent and versatile biologically active conpuonds interacting witch cytochromers P450.Chmico-Biological interactions 2002;139:1-21.
 29. Bruneton, J. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. Editorial Acribia S.a. España, 1991.
 30. Villar del Fresno, M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis .Madrid-España, 1999.
 31. Bruneton, J. Flavonoides. En: farmacognosia. Fitoquímica plantas medicinales.2ª edición. Editorial Acribia S.A. España ,2001.
 32. De Wield A, golde PHM, Hart H Ch. Blessing of the grape. European journal of international Medicine 2001; 12:484-489.España, 2017.
 33. Kuklinski, C.Farmacognosia.1ª edición. editorial omega. España; 2000.
 34. Debenedetti S, Wilson E. Farmacognosia Clases Teóricas y Presentaciones Generalidad de Alcaloides. Universidad de Belgrano. Buenos Aires-Argentina; 2014.
 35. Martínez C, Cano A, plantas medicinales con alcaloides en la provincia de Jaén. Instituto de estudios Giennenses, 2009.
 36. Àvalos A, Perèz E. Metabolismo secundario de plantas. Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid; 2009.

37. Trabajos médicos. Fisiología del aparato urinario (fisiología y función renal). Publicado 03 de agosto del 2011. Disponible en: <http://trabajosmedicos.blogspot.com/2011fisiologia-del-aparato-urinario.html>.
38. Velásquez, L. Farmacología y su proyección a la clínica. Editorial medica Oteo. Madrid –España, 1993.
39. Flórez, J. farmacología Humana.4ª ed. Editorial Masson. España, 1998.
40. Remington, G. Farmacia tomo II. 20ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires- Argentina, 2003.
41. Litter, M. Tratado de Farmacología experimentales y clínica. Argentina: Ateneo; 1996.
42. Alvarado, J. Apuntes de Farmacología.3ª ed. Perú: Apuntes médicos del Perú; 2008.
43. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad la Habana, cuba, 2000.
44. Cotillo, P. Tratado de Farmacología en la investigación de los productos naturales.lima - Perú: Jarmed; 1990.
45. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Marrero E. Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética. Revista cubana de investigaciones biomédicas.2011; 30(3):332-344.
46. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación 3ra Edición. Editorial McGraw – Hill. Interamericana. México; 2006.
47. García A, Rojas C. Actividad antimicrobiana in vitro de *Pseudelephantopus spiralis* (Lessing) Cronquis y *Alternanthera halimifolia* (Lamarck) Standley Pittie – IMET. [tesis pregrado]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, 2011.
48. Pérez M, Morón F. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. Revista Latinoamericana de Hipertensión.2011; 6(2).
49. Evans, W. Farmacognosia.15ªedicion. Editorial Masson S. A. Madrid – España; 1991.
50. Naranjo, A. "evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* l.). Escuela superior politécnica de Chimborazo; 2013.
51. Hernán J, Palacios M, Gutiérrez O. Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas. Revista INS Biomédica 2006; 26:145-9.
52. Salazar, M. estudios etnobotánicas de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg. en una comunidad del Municipio de Zempoala, Hidalgo y evaluación de efecto de diurético en rata. [tesis pregrado].universidad Autónoma Estado de Hidalgo, 2015.
53. Noriega, A. Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las plantas medicinales *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradisi* (toronja) y *Citrus aurantifolia*. . [tesis pregrado]. Universidad de San Carlos de Guatemala, 2015.

IX. ANEXOS

Anexo 1

Constancia de la clasificación taxonómica de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo".



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, el, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Chanel, CARBAJAL MENDIVIL, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal.

Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue :

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	DILLENIIDAE
ORDEN	:	VIOLALES
FAMILIA	:	PASSIFLORACEAE
GENERO	:	Passiflora
ESPECIE	:	<i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey.
N.V.	:	"tumbo"

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

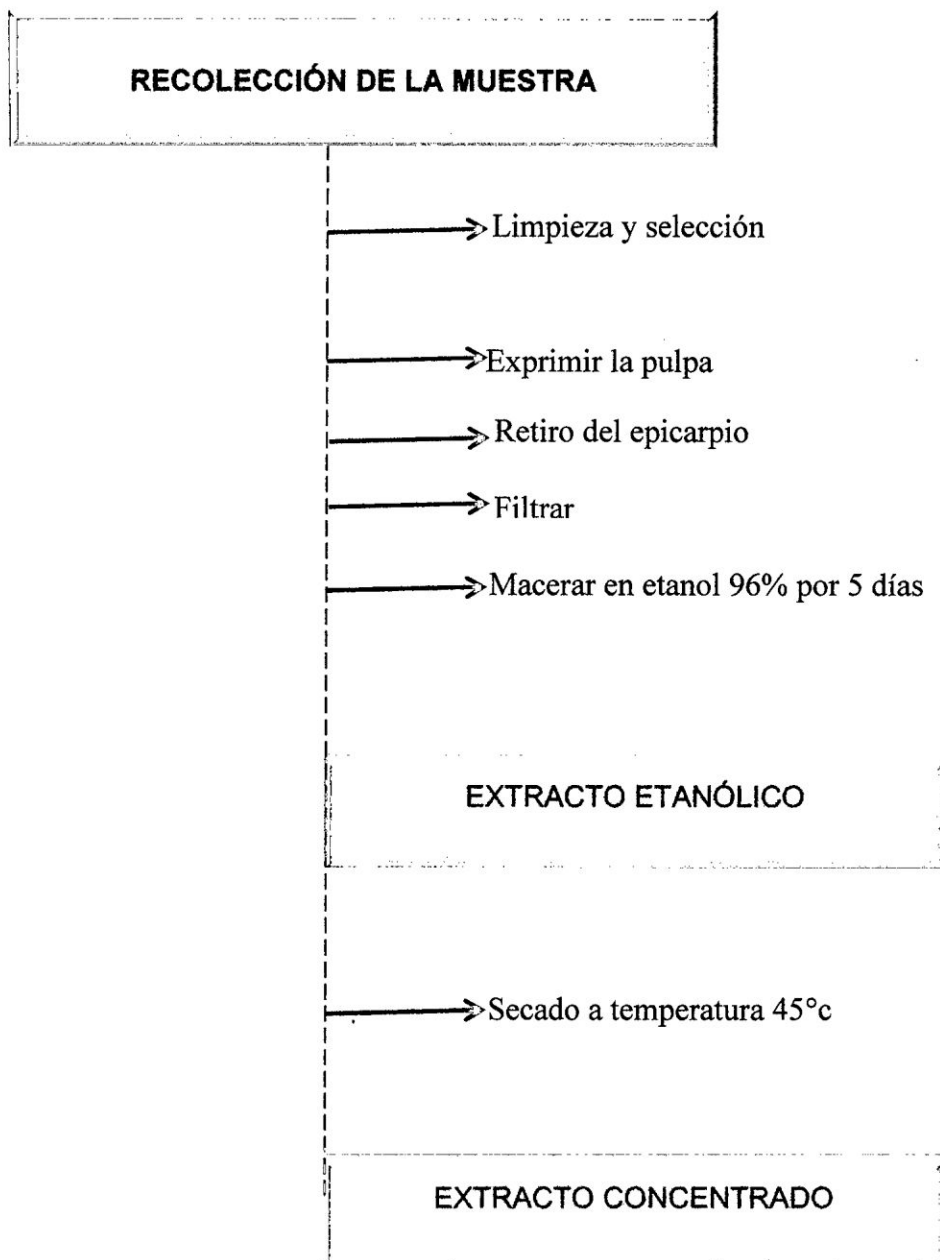
Ayacucho, 13 de Diciembre del 2015.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Bla. Laura Aucastino V. Jefe
JEFE

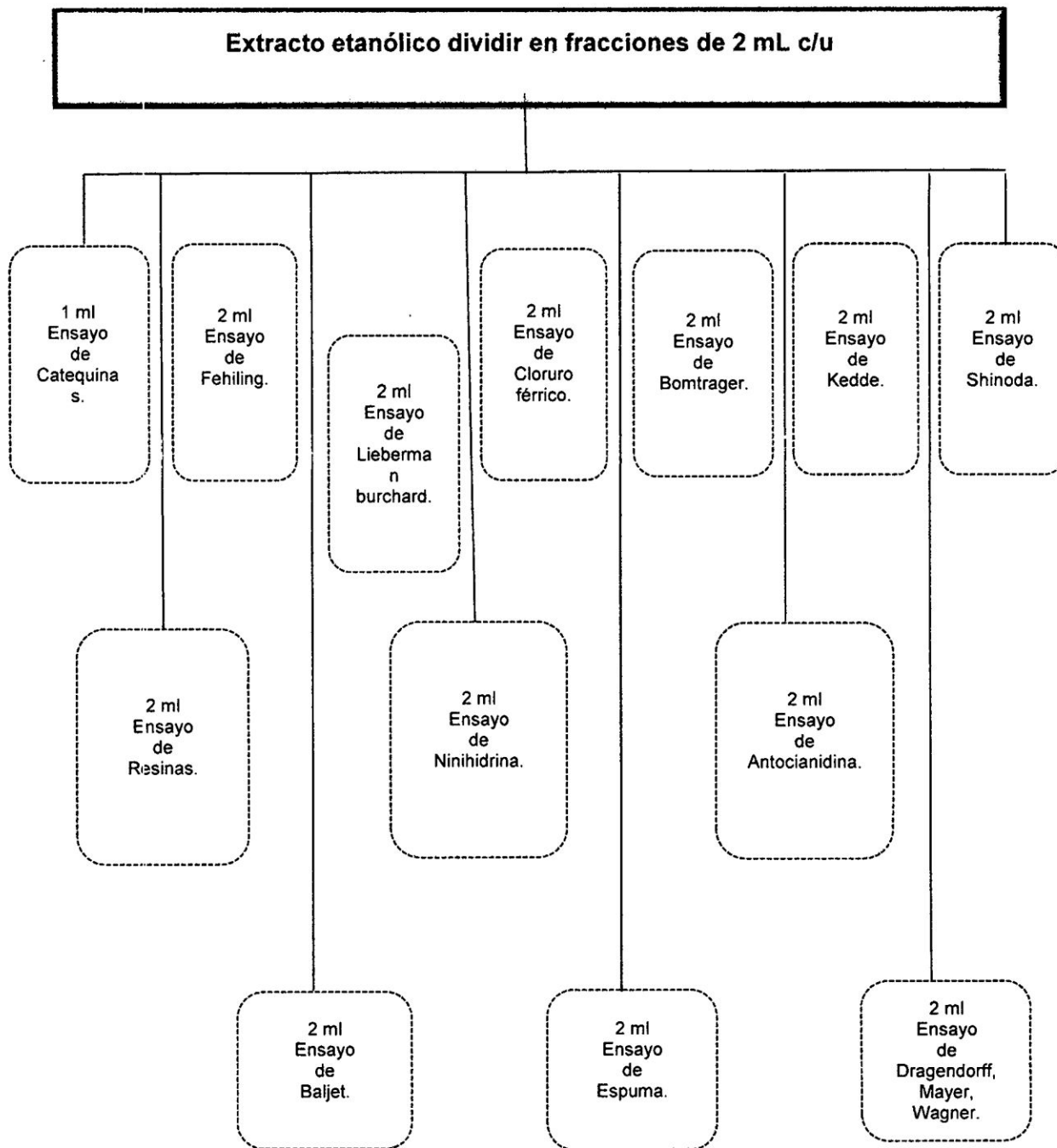
Anexo 2

Flujograma de la obtención del extracto etanólico del fruto *passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo".



Anexo 3

Esquema del análisis químico cualitativo en el extracto etanólico de *passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo".



Anexo 4

Planta de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.



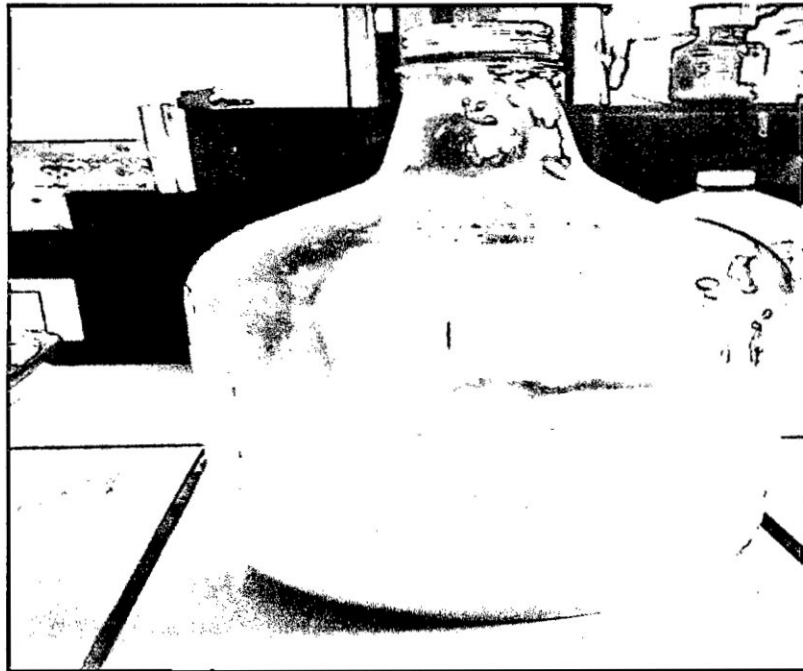
Anexo 5

Fruto representativo de la *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo",
Ayacucho - 2016.



Anexo 6

Maceración del extracto etanólico, del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK)
Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.



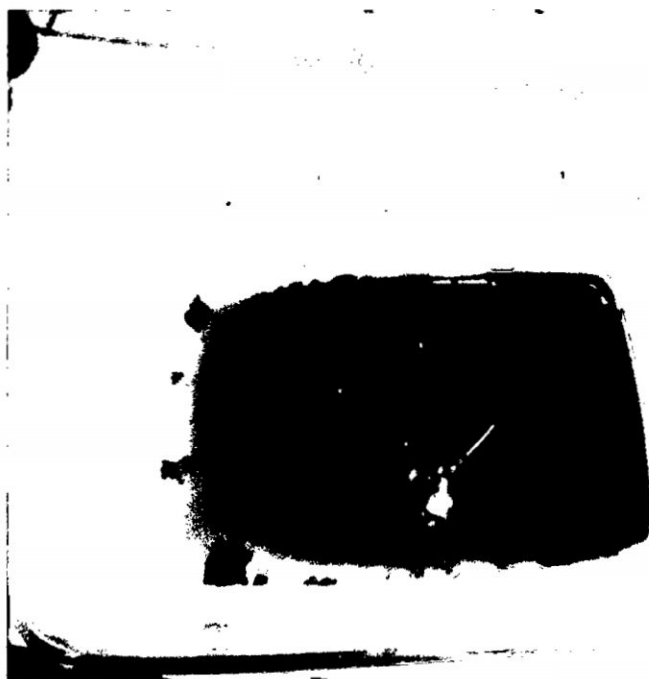
Anexo 7

Filtración al vacío del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima*
(HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.



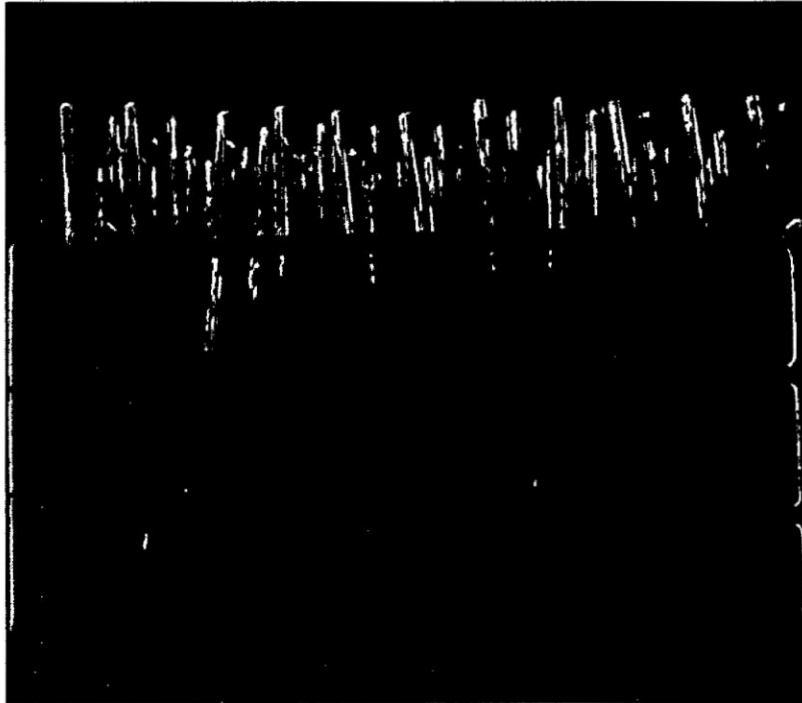
Anexo 8

Extracto etanólico concentrado del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey
"tumbo", Ayacucho - 2016.



Anexo 9

Resultado de los metabolitos secundarios identificados en el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.



Anexo 10

Etapas del pesado del animal de experimentación para la evaluación de la actividad diurética, Ayacucho - 2016.



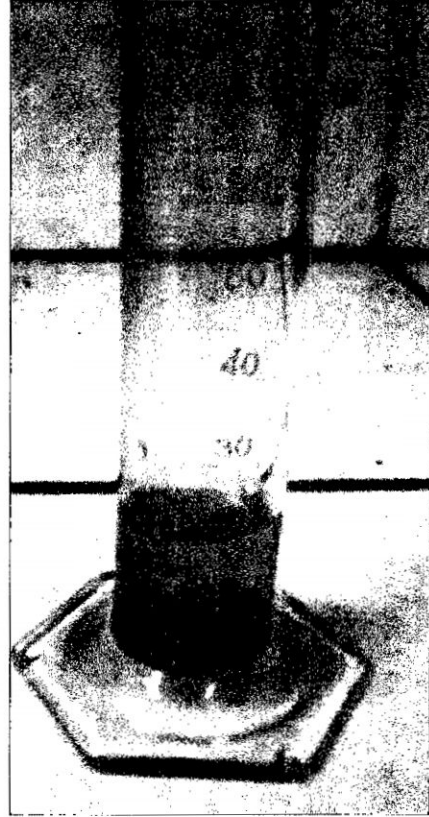
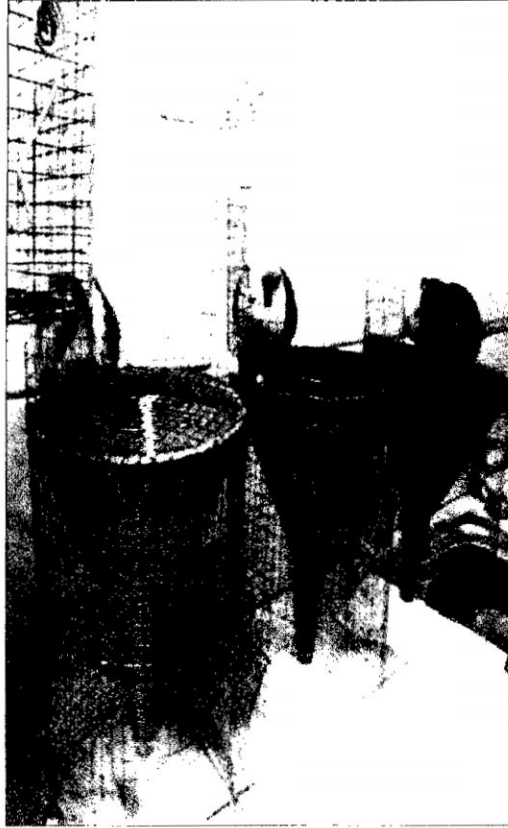
Anexo 11

Administración de la dosis correspondiente a cada animal de experimentación, tomado al azar y dividido en cinco grupos de tratamiento, Ayacucho - 2016.



Anexo 12

Etapa de medición del volumen de orina excretada en cada tiempo, después de haber administrado las dosis correspondiente a cada animal de experimentación en sus correspondientes grupos, Ayacucho - 2016.



Anexo 13

Volumen de orina obtenido de cobayos utilizado en los diferentes tratamientos de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

Tiempo (min.)	Valores de volumen de orina(ml)				
	Furosemida 20 mg/kg	Blanco NaCl 0,9%(mL)	Extracto etanólico del fruto		
			Extracto 100 mg/Kg	Extracto 200 mg/Kg	Extracto 400 mg/Kg
30	10,3	2,3	2,8	8,7	6,0
90	12,0	2,5	3,8	11,4	7,0
180	3,5	2,3	3,0	4,2	5,3
210	2,5	2,3	2,7	3,2	4,7
270	1,9	0,6	2,0	3,1	3,3

Anexo 14

Valores descriptivos del área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	3	470,5	120,6	69,6	170,9	770,1	331,5	547,5
Furosemida	3	1589,5	78,2	45,2	1395,2	1783,8	1515,0	1671,0
100 mg/Kg	3	732,5	28,4	16,4	662,0	803,0	712,5	765,0
200 mg/Kg	3	1620,0	103,5	59,8	1362,8	1877,2	1515,0	1722,0
400 mg/Kg	3	1335,3	143,2	82,7	979,6	1691,0	1170,0	1418,5
Total	15	1149,6	489,8	126,5	878,3	1420,8	331,5	1722,0

Anexo 15

Análisis de varianza del área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

	Suma de cuadrados	g.l.	Media de cuadrados	F	Sig.
Entre grupos	3253302,8	4	813325,7	77,17	$1,77 \times 10^{-7}$
En grupos	105389,2	10	10538,9		
Total	3358691,9	14			

Anexo 16

Prueba de Dunnett t del área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

Condición	(I) Factor	(J) Factor	Diferencia de medias	Error estándar	Sig.
	Furosemida	Blanco	1119,00000	83,82091	$1,85 \times 10^{-7}$
Dunnett t	100 mg/Kg	Blanco	262,00000	83,82091	$1,7 \times 10^{-2}$
(>control)a	200 mg/Kg	Blanco	1149,50000	83,82091	$1,41 \times 10^{-7}$
	400 mg/Kg	Blanco	864,83333	83,82091	$2,10 \times 10^{-6}$

Anexo 18: Matriz de consistencia.
TÍTULO: Actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" en Cavia porcellus "cobayos" Ayacucho – 2016.
PERSONAL INVESTIGADOR: Chanel Carbajal Mendivil

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVO	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLE INDEPENDIENTE	DISEÑO METODOLÓGICO
Actividad diurética del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo" en Cavia porcellus "cobayos" Ayacucho – 2016.	¿Tendrá efecto diurético del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo" en cobayos?	Objetivos Generales <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo" en Cavia porcellus "cobayos" • Objetivos específicos • Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo". • Determinar el porcentaje de efecto diurético del extracto etanólico de fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo". • Comparar el efecto diurético del extracto etanólico de fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey con estándar de furosemida. 	La <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo" Es una planta originaria de las zonas andinas de América del sur, distribuida principalmente en las zonas frías. En el Perú las zonas de producción se ubican entre 1800 a 3300 m.s.n.m. de preferencia en la sierra, requiere clima con temporadas altamente húmedas y secas. Los diuréticos son fármacos que tienen una acción farmacológica la regulación de los líquidos corporales así también de otras enfermedades como la hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca aguda y crónica. Los diuréticos se utilizan sobre todo para reducir el volumen del líquido extracelular, especialmente en las enfermedades asociadas a edema la pérdida de sodio reduce fundamentalmente el volumen del líquido extracelular.	El extracto del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo" presenta actividad diurética en cavia porcellus "cobayos"	VARIABLE INDEPENDIENTE <ul style="list-style-type: none"> • Concentraciones de extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo" • Indicadores. • Concentraciones en 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg del extracto etanólico del fruto de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo". • Variable dependiente • Actividad Diurética. • Indicador. • Volumen de la Orina (ml). 	DISEÑO METODOLÓGICO Tipo de investigación: Experimental - puro Población <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo" del distrito Saurama provincia de Vilcashuamán. Muestra 5 kilogramos de frutos de <i>Passiflora mollissima</i> (HBK) Bailey "tumbo" Referencia 20 mg/kg de furosemida. Diseño experimental Método descrito por Naik y colaboradores y modificado por la cátedra de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. Análisis de datos El área bajo la curva del volumen de orina en función del tiempo se determinó con la hoja de cálculo Microsoft Excel. Por ser variables cuantitativas de razón, se realizó las siguientes pruebas: el análisis de varianza (ANOVA) al 95% de nivel de confianza. La significación estadística entre los grupos se evaluó por el Método Tukey, Dunnett y Duncan Para determinar dichas pruebas se utilizó el paquete estadístico SPSS 22 (PASW Statistics).

Actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” en *Cavia porcellus* “cobayos”, Ayacucho – 2016.

CARBAJAL MENDIVIL, CHANEL.¹

¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” en *Cavia porcellus* cobayos y concretizó en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. La muestra fue recolectada en el distrito de Saurama, provincia de Vilcashuamán, región Ayacucho. Los metabolitos secundarios se identificaron según Miranda y Cuéllar. La actividad diurética se determinó utilizando el método de Naik y colaboradores en la que se empleó 25 cobayos machos distribuidos al azar en cinco grupos de cinco animales cada grupo. Al primero se administró solución salina 50 mL/kg, al segundo furosemida 20 mg/kg, al tercero, cuarto y quinto, 100, 200 y 400 mg/kg de muestra respectivamente. Luego de administrada las dosis correspondientes se colocaron en jaula de diuresis por un periodo de cuatro horas midiendo el volumen excretado en cada tiempo. Los metabolitos secundarios identificados fueron: flavonoides, alcaloides, fenoles, taninos y glicósidos. Se observó que los valores de porcentaje de actividad diurética a las dosis de 100 mg/kg es 47,4% 200 mg/kg, 101, 1%, 400 mg/kg a 82,6% y la furosemida 20 mg/kg a 100% respectivamente, el análisis de varianza con un nivel de confianza 95% ($p < 0,05$). Concluyendo que la mejor dosis es de 200 mg/kg encontrándose la mejor actividad diurética.

Palabra clave: *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey, extracto etanólico, Actividad diurética.

Summary

The present work of investigation was realized by the aim to determine the activity diurética of the extract etanólico of the fruit of *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "I" "knock down" in *Cavia porcellus* guinea-pigs and concretizó in the laboratories of Drugstore and Biochemistry of the Faculty of Sciences of the Health of the National University of Huamanga's St Kitts. The sample was gathered in Saurama's district, Vilcashuamán's province, region Ayacucho. The secondary metabolitos identified according to Elevated place and Cuéllar. The activity diurética decided using the method of Naik and collaborators in that one used 25 guinea-pigs males distributed at random in five groups of five animals every group. To the first one saline solution administered 50 mL/kg, to the second furosemida 20 mg/kg, to the third party, fourth and fifth, 100, 200 and 400 mg/kg of it shows respectively. After administered the corresponding doses were placed in cage of diuresis by a period of four hours measuring the volume excreted in every time. The secondary identified metabolitos were: flavonoides, alkaloids, phenols, tannins and glicósidos. Was observed that the values of percentage of activity diurética to the doses of 100 mg/kg is 47, 4 % 200 mg/kg, 101, 1 %, 400 mg/kg to 82, 6 % and the furosemida 20 mg/kg to 100 % respectively, the analysis of variance with a confidence level 95 % ($p < 0, 05$). Concluding that the best dose is of 200 mg/kg being the best activity diurética.

Key word : *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey, extract etanólico, Activity diurétic

INTRODUCCIÓN

El ser humano desde su origen ha procurado su bienestar y en gran parte lo ha encontrado en la naturaleza.¹ En los últimos años un 80% de la población mundial ha recurrido a las plantas medicinales para tratar diversas enfermedades o afecciones, porque son accesibles y más baratos que los productos farmacéuticos.² Se han identificado gran número de especies con actividad terapéutica y el Perú forma parte integral de la rica tradición de la cultura popular; donde el País por su ubicación geográfica, su gran biodiversidad de recursos naturales, que han demostrado su eficacia en el uso tradicional; sin embargo muchas de ellas a pesar de ser muy empleadas todavía no poseen el respaldo científico que avale su actividad desde la

perspectiva biomédica, careciendo de información científica respecto a su actividad farmacológica y toxicológica.^{3,4} En la actualidad cientos de plantas medicinales están siendo analizadas y estudiadas para determinar sus efectos terapéuticos y queriendo precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, para de esta manera agrupar las plantas de efectos similares y conocer los principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades.^{5,6}

Los diuréticos son drogas de gran utilidad en la terapéutica actual, se utilizan en varias enfermedades cardiovasculares, principalmente la hipertensión arterial, afecciones renales como en el síndrome nefrótico, en las alteraciones hepáticas que presentan ascitis y otras que producen alteraciones en los compartimentos del

organismo.⁷ La acción diurética puede ser causada por principales activos de naturaleza química muy variada. Frecuentemente, la presencia de varios de estos principios en la misma droga es la responsable de la acción diurética, aunque no está claro el grado de contribución de cada uno de ellos a la actividad diurética total de la droga. Los principales principio activos que pueden intervenir en la acción diurética son aceites esenciales, flavonoides, saponinas y sales de potasio.⁸

El fruto de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H.Bailey "tumbo serrano" es una baya elipsoidal de 7 a 10 cm de largo, verde claro en proceso de desarrollo y completamente amarilla al madurar; pulpa carnosas, jugosa y semillas pequeñas de color negro, sabor suave, agradable, perfumado, ligeramente ácido y astringente, utilizado en la industria alimentaria en la preparación de sorbetes, licores, mermeladas, helados, jugos a partir de la pulpa congelada y saborizante para productos lácteos. Posee alto valor nutritivo, fundamentalmente vitamina A, C y enzimas.^{9, 10}

Sin embargo, hasta el presente no se han registrado estudios en el fruto de

Passiflora mollissima (HBK) Bailey "tumbo serrano" sobre actividad diurético, por lo que este estudio aporta los primeros antecedentes de la mencionada actividad. Para lo cual nos planteamos los siguientes objetivos.

Objetivo General:

- Determinar la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" en *Cavia porcellus* "cobayos".

Objetivos Específico:

- Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo".
- Determinar el porcentaje del efecto diurético del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo".
- Comparar el efecto diurético del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey con el estándar de furosemida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población.- Planta de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" que fueron recolectados en el distrito de Saurama, provincia de Vilcashuamán departamento de Ayacucho situado a 3500 msnm.

Muestra.- 5 kilogramos de frutos de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo".

Material biológico.- Constituido por 25 cobayos machos, con un peso 400-500 gramos de peso, con una edad aproximadamente de dos meses, criados y alimentados en las mismas condiciones.

Método de recolección de muestra

- Recolección de la muestra.
- Preparación del extracto

Identificación de los metabolitos secundarios.

Propuesto por Miranda y Cuellar.⁴³

- Determinación de la actividad diurética de extracto etanólico.

La metodología empleada para la determinación de la actividad diurética se basó en el método utilizado Naik y col y aplicado en la cátedra de farmacología, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.^{44, 45}

Procedimiento experimental.

Se utilizó 25 cobayos del mismo sexo y edad con un peso corporal entre 400-500 gramos. Los mismos que fueron mantenidos en ayunas por 18 horas antes de la prueba, sin ser privadas de agua.

Se formaron cinco grupos de cinco animales cada grupo que fueron pesados e hidratados con cloruro de sodio 0,9% por vía oral a través de una sonda nasogástrica, en una dosis de 50 mL/kg de peso corporal.

Los cobayos tratados fueron puestos en la jaula de diuresis.

Después de 20 minutos de la hidratación se les administró por vía oral: cloruro de sodio al 0,9% como control; el extracto etanólico a 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg y el control referencia: furosemida a 20 mg/kg.

Después de 30 minutos se recolectó la orina seguidamente cada hora por un periodo de cuatro horas en una probeta graduada y se registró el volumen correspondiente.

Para determinar el porcentaje de la actividad diurética (%AD), se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% AD = \frac{\text{volumen de orina excretada}}{\text{vol. de orina del diurético estándar}} \times 100$$

Luego se calculó el área bajo la curva del volumen de orina en función del tiempo por el método del trapecio:

Regla del Trapecio; consiste en aproximar el área bajo la curva f(x) en el intervalo [a,b] que contiene los datos, mediante el área del trapecio rectángulo determinado por los puntos (a,0), (b,0), (a, f(a)) y (b, f(b)), tal y como muestra la figura:

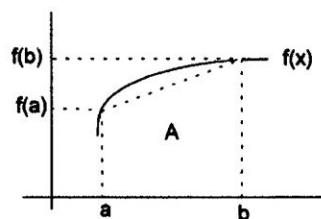


Figura 2. Área bajo la curva mediante la regla del trapecio.

El área del trapecio es la semisuma de las bases multiplicadas por la altura. En este caso será:

$$A = \frac{1}{2}(f(a) + f(b)).(b - a)$$

Tipo de investigación

Experimental – puro.

Diseño de investigación

El diseño de investigación es experimental de tipo experimento puro⁴⁶

G₁ cobayos X₁ O_{extracto}
 G₂ cobayos X₂ O_{extracto}
 G₃ cobayos X₃ O_{extracto}
 G₄ cobayos Z_{st} O_{referencia}
 G₅ cobayos B O_{control}

Dónde:

B = Control

Z_{st} = Estándar

G = Grupo

O = Observación (volumen de orina)

X = Extracto

Análisis de datos

El área bajo la curva del volumen de orina en función del tiempo se determinó con la hoja de cálculo Microsoft Excel.

Por ser variables cuantitativas de razón; se realizó las siguientes pruebas: el análisis de varianza (ANOVA) al 95% de nivel de confianza. La significación estadística entre los grupos se evaluó por el Método Tukey, Dunnett y Duncan Para determinar dichas pruebas se utilizó el paquete estadístico SPSS 22 (PASW Statistics).

RESULTADOS

Tabla 2. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

Metabolitos secundarios	Ensayo	Resultado	observación
Flavonoides	Shinoda	+++	Fase amilica de color amarillo
Fenoles y/o Taninos	Cloruro férrico	+++	Verde azulado
Glicósidos	Vainillín sulfúrico	++	Color violáceo
	Dragendorff	++	Formación de precipitado
Alcaloides	Mayer	+	Formación de precipitado
	Wagner	+	Formación de precipitado

Leyenda:

(+++) : Abundante

(++) : Moderado

(+) : Escaso

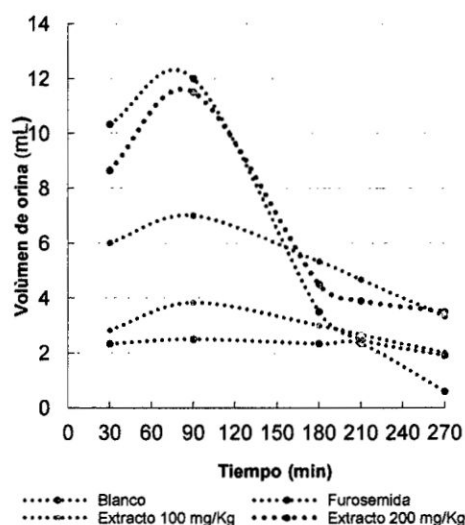


Figura 3. Variación del volumen promedio de orina en función del tiempo de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

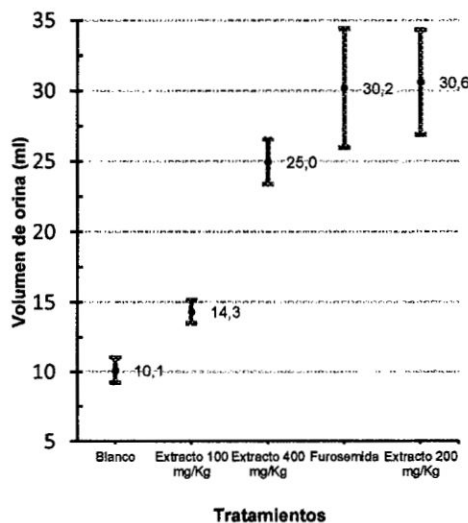


Figura 4. Variación de volumen de orina acumulada en función de los tratamientos del extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

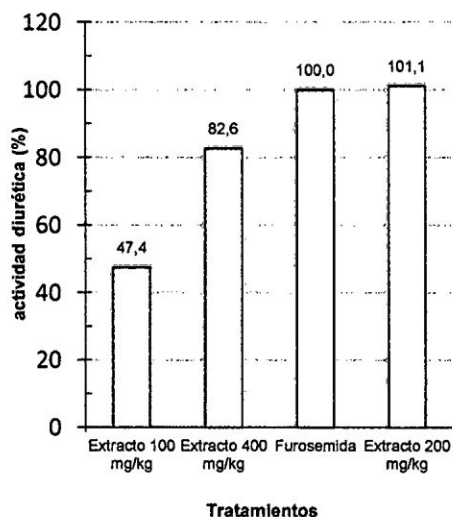


Figura 5. Porcentaje de actividad diurética en función de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

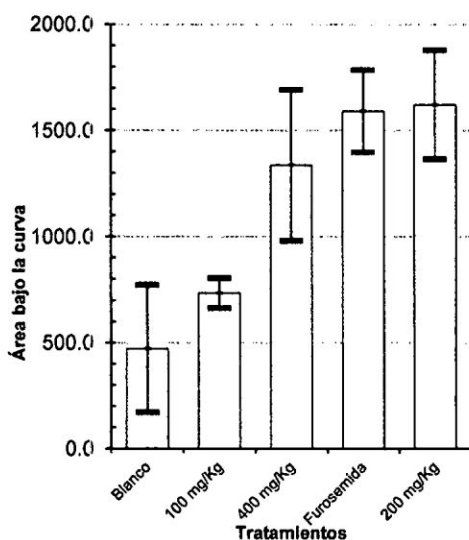


Figura 6. Área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria en función de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016.

Tabla 3. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey y Duncan del área bajo la curva de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", Ayacucho - 2016

Test	Factor	N	Sub conjuntos			
			1	2	3	4
Tuk ey	Blanco	3	47			
	100	3	73			
	400	3		133		
	Furose	3		158	158	
HSD	200	3			162	
	Sig.		,06	,07	,99	
	Dun can	Blanco	3	47		
Dun can	100	3		732		
	400	3			133	
	Furose	3				158
	200	3				162
Sig.			1,0	1,0	1,0	,72

DISCUSIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades. Durante mucho tiempo los fármacos naturales y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso del que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de especies vegetales con propiedades medicinales y se ampliara la investigación acerca de los productos que de ella se extraen.⁴⁷

Para la obtención del extracto etanólico se siguió la metodología según Miranda y Cuellar, en donde la concentración de principios activos es óptima, facilitándose la dosificación de los mismos; respaldado con esta información, se llegó a extraer el metabolito de la planta en estudio con etanol al 96°. En la tabla 2; se observa los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (kunth) L.H.Bailey "tumbo serrano", como los flavonoides, glicósidos, fenoles y/o taninos, dichos resultados se contrastan con los estudios realizados en la evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (kunth) L.H.Bailey "tumbo serrano" y su uso como activo biológico en industria cosmética,¹¹ al realizar el tamizaje fitoquímico hay presencia fenoles, taninos, flavonoides, alcaloides glicósidos y carbohidratos, algunos metabolitos que son responsables del efecto diurético. Así mismo otra investigación evaluación de la actividad quimiopreventiva de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba larga) contra cáncer colorrectal,¹⁵ refuerza la presencia de estos metabolitos, pues contiene compuestos fenólicos y flavonoides.

Uno de los metabolitos responsables de la actividad diurética son los flavonoides, sustancias que afectan la permeabilidad de la membrana celular, al tiempo que inhiben a la fosfatasa renal, todo ello complementando por el efecto vasoprotector capilarotropo que mejora la circulación a nivel de todo el organismo. Además representa 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 estas propiedades son atribuidas a los flavonoides como antimicrobiana, antialérgica, antivírica, cicatrizante, antiagregante plaquetario y hepatotóxicos y diuréticos.^{6, 48}

Los taninos y polifenoles comprenden un grupo de sustancias complejas localizadas en las hojas, frutos y corteza de la planta. Tienen propiedades farmacológicas: antioxidantes, antidiarreicas y cicatrizantes las cuales se adhieren con facilidad en la absorción de la piel, además los polifenoles tienen propiedades diuréticas que han sido comprobados en la experimentación.^{49, 50}

Para la determinación de la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", se utilizó el método descrito por Naik y colaboradores, siendo este un método adecuado y económico para la realización de este tipo de investigaciones; demostrándose que existe una respuesta diurética significativa en todos los niveles de dosis ensayadas 100, 200 y 400 mg/kg de peso, siendo superiores al compararlos con control (NaCl 0,9%) y casi al nivel de los grupos control positivo furosemida⁴⁴. Se hace uso de la furosemida como referencia en el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta su farmacocinética; por su buena absorción por vía oral y/o parenteral, ya que es un fármaco de máxima eficacia produciendo así una buena diuresis⁴².

En la figura 3, se observa la variación del volumen de orina en función del tiempo del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", donde podemos contemplar la similitud de la variación del volumen de orina en función del tiempo del extracto a 200 mg/kg con la furosemida y en menor medida los demás tratamientos. Estudios realizados presentan las mismas variaciones del volumen de orina en función del tiempo como de la especie *Salvia scutellarioides*, observándose los mismos comportamientos en la variación del volumen de orina en función del tiempo mostrados en una curva característica de los efectos diuréticos.⁵¹ Otro estudio de la evaluación de efecto de diurético del extracto de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg., muestra características variaciones del volumen de orina en función del tiempo y los metabolitos encontrados son similares a la planta en estudio como los flavonoides y

alcaloides. Los cuales nos indicarían que dichos compuestos son responsables del efecto diurético ya sea actuando individualmente o mediante un sinergismo.⁵²

En la figura 4, observamos variación de volumen de orina acumulada en función de los tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", donde podemos evidenciar que el volumen promedio de orina acumulado por el extracto etanólico a 200 mg/kg es 30,6 mL, seguido por la furosemida con un volumen de excreción de 30,2 mL, luego extracto etanólico a 100 mg/kg con 14,10 mL, el extracto etanólico a 400 mg/kg con 25,0 mL y por último el blanco un volumen de 10,10 mL, donde se puede revelar que la variación del volumen de orina acumulada del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" a una concentración de 200 mg/kg presenta un volumen superior incluso al grupo de la furosemida; demostrándose así mayor actividad diurética a la concentración mencionada. Otras investigaciones refuerzan el efecto diurético a una concentración de 200 mg/kg como el estudio de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Rosmarinus officinalis* L. "Romero", a una dosis de 200 mg/kg presenta un volumen de excreción promedio de 42,33 mL.²² Así mismo en la investigación de la actividad diurética del producto natural *Noni-C Morinda citrifolia*, evidenciamos que a una dosis de 200 y 400 mg/kg mostraron un mayor volumen de excreción urinaria con valores de 30,12 y 34,23 mL respectivamente.¹⁷

En la figura 5, observamos el porcentaje de la actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo", donde percibimos a una dosis de 100 mg/kg presenta un 47,37% de actividad diurética, a 200 mg/kg un 101,1% y a 400 mg/kg un 82,60%, reafirmando nuevamente que a una dosis de 200 mg/kg del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo" presenta mayor actividad diurética. Contrastando nuestros resultados podemos afirmar que el porcentaje de la actividad diurética tiene un mismo comportamiento en comparación con otros estudios, como la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro", a una dosis de 200 y 400 mg/kg tiene un porcentaje de actividad diurética de 22,0 y 101,2%.¹⁹ Otro estudio de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Rosmarinus officinalis* L. "romero" a una dosis de 200 mg/kg presenta un 101,08% de actividad diuretica.²²

Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS versión 22; el análisis de varianza de los niveles de excreción urinaria de los distintos tratamientos del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey "tumbo",

Ayacucho – 2016, presentan un valor de significancia igual a cero ($p=1,77 \times 10^{-7}$) como muestra el Anexo N° 15, es decir que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

Seguidamente se realizó las comparaciones múltiples de las medias de los tratamientos con la prueba de Tukey HSD, la Tabla 03 muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado de parecido existente entre sus medias: así el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” a una concentración de 200 mg/kg no difiere significativamente con la furosemida clasificados en el subconjunto 3, es decir tienen el mismo comportamiento, pero difiere con los demás tratamientos. Utilizando otra prueba el Duncan similarmente muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado de parecido existente entre sus medias: así el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” a una concentración de 200 mg/kg no difiere significativamente con la furosemida clasificados en el subconjunto 4, es decir tienen el mismo comportamiento, pero difiere con los demás tratamientos. Todos estos resultados nos conducen a afirmar que el extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” a una concentración de 200 mg/kg tienen mayor efecto diurético con respecto a la furosemida como muestra la Tabla 03.

CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” presenta actividad diurética.
2. El extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” presenta: taninos, flavonoides, alcaloides y glicósidos.
3. El porcentaje de efecto diurético del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” presenta 101,1% a 200 mg/kg y 82,6% a 400 mg/kg.
4. El extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” presenta efecto diurético estadísticamente similar a la furosemida a 200 y 400 mg/kg.

RECOMENDACIONES

- Elucidar y aislar los principios activos responsables de la actividad farmacológica encontrados en el extracto etanólico de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo”, para su mejor estudio y posible desarrollo de tecnología de una farmacéutica.
- Complementar estudios para determinar otras actividades relacionadas a la actividad diurética, que pueden ser útiles a la población con la planta en estudio.

- Profundizar los estudios fitoterapéuticos y difundir del efecto de la planta hacia la población para su mejor aprovechamiento

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cortez G, Macedo J, Hernández AM, Arteaga A, Espinoza G, Rodríguez J. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. [Revista en internet] 2005 [acceso 20 de febrero 2016]; Rev. Biomed.15:123-136, disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb041527.pdf>.
2. UICN- OMS- WWF. Directrices sobre conservación de plantas medicinales. Organización Mundial de la Salud (OMS). [sede web]. Gland, Suiza. 1993. Disponible en: http://www.urosario.edu.co/urosario_files/571bf298-6ad8-4b7f-b432-26a6fb78e6de.pdf.
3. Rengifo, E. Las ramas floridas del bosque. Instituto de investigaciones de la amazonia peruana. Iquitos, 2007.
4. Mostacero J, Mejía F. Taxonomía de las fanerogamas útiles del Perú. Perú. 2002 (1): 523-524.
5. Brack, A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Centro Bartolomé de las Casas, Cuzco, 1999.
6. Lock, O. Investigación Fitoquímica: método en el estudio de productos naturales. 2ª edición. Editorial Fondo. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima –Perú, 1994.
7. Katzung, B. Farmacología básica y clínica .7ª edición. Editorial el Manual Moderno S.A.Mexico, 1999.
8. López, M. Fitoterapia: plantas medicinales con acción diurética. [sede web]. 2016.[acceso 25 febrerodel2016]. Disponible en:<http://www.doymafarma.com>
9. Perea M, Fischer G, Miranda D. Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas tropicales. Bogotá, Colombia. 2010.
10. Becerra D. Efecto del origen del material vegetal y la edad sobre la capacidad morfogénica de dos especies de *Passiflora* (*Passiflora mollissima* H.B.K. Bailey y *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 2003.
11. Montes E, Churampi L. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *passiflora mollissima* (kunth) l.h.bailey “tumbo serrano” y su uso como activo biológico en industria cosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos .Lima; 2015.
12. Alberto B, Zapata K. Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba).Plant. Med.2012; 17(4).

13. Inocente M, Tomas G. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK). Per. Quím. Ing. Quím.2017; 17(02):27-33.
14. Habib N, Daud A, Sánchez A. Efecto diurético de extractos acuosos y alcohólicos de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas. Revista Cubana Plant Med.2005; 10(4): 7-9.
15. Carolina C, Maldonado M, Amparo L, Alberto B. Propiedades quimiopreventivas de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba larga) contra cáncer colorrectal. Rev. cubana Plant. Med.2015; 20(1).
16. Carvajal L, Turbay S, Rojano B, Álvarez L, Restrepo S, Álvarez J, Bonilla K, Ochoa C, Sánchez N. Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2011; 16(4).
17. Martínez S, Jiménez M, Río S, Pérez J, Maceira A, Morales Z, Ángeles M. Evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) en un modelo experimental en ratas. [Revista Cubana Plant Med].2012; 17(4), [Acceso 03 de noviembre del 2015]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962012000400014&script>.
18. Salazar, A. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *physalis peruviana* L." capulí" en cobayos, [tesis pregrado].Ayacucho-Peru.2012.
19. Ramos, G. Evaluación de la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro". [tesis pregrado].Ayacucho-Peru.2010.
20. Mayhua, H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas. [tesis pregrado].Ayacucho-Peru.2008.
21. Prado, N. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" en cobayos. [tesis pregrado].Ayacucho-Peru.2008.
22. Poma, H. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas del *Rosmarinus officinalis* L. "romero"en *cavia porcellus* "cobayo". [tesis pregrado].Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.Ayacucho-2012.
23. Bernal J, Díaz C. Tecnología para el cultivo de la curuba. Rionegro Antioquia: edit. Corpoica, Colombia; 2005.
24. Reina C. Manejo Post cosecha y evaluación de la calidad de curuba *passiflora mollissima* que se comercializa en la ciudad de Neiva. Neiva: Universidad Sur Colombiana; 1995.
25. Ocampo, A. cultivo de curuba larga (*passiflora mollissima*) en el departamento de Antioquia, y su manejo agronómico en la vereda yarumal del municipio de sonsón; 2014.
26. Reyes M, Gómez I, Espinoza C, Bravo F, Ganoza L. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Instituto Nacional de Salud. 8° Edición. Lima. 2009: 28.
27. Becerra, D. Efecto del origen del material vegetal y la edad sobre la capacidad morfogénica de dos especies de *Passiflora* (*Passiflora mollissima* H.B.K. Bailey y *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 2003.
28. Hodek P, Trefil P, Stiborova M. Flavonoids- Ptent and versatile biologically active conpuonds interacting witch cytochromers P450.Chmico-Biological interactions 2002;139:1-21.
29. Bruneton, J. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. Editorial Acribia S.a. España, 1991.
30. Villar del Fresno, M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis .Madrid- España, 1999.
31. Bruneton, J. Flavonoides. En: farmacognosia. Fitoquímica plantas medicinales.2ª edición. Editorial Acribia S.A. España ,2001.
32. De Wield A, golde PHM, Hart H Ch. Blessing of the grape. European journal of international Medicine 2001; 12:484-489.España, 2017.
33. Kuklinski, C.Farmacognosia.1ª edición. editorial omega. España; 2000.
34. Debenedetti S, Wilson E. Farmacognosia Clases Teóricas y Presentaciones Generalidad de Alcaloides. Universidad de Belgrano. Buenos Aires- Argentina; 2014.
35. Martínez C, Cano A, plantas medicinales con alcaloides en la provincia de Jaén. Instituto de estudios Giennenses, 2009.
36. Ávalos A, Peréz E. Metabolismo secundario de plantas. Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid; 2009.
37. Trabajos médicos. Fisiología del aparato urinario (fisiología y función renal). Publicado 03 de agosto del 2011.Disponible en: <http://trabajosmedicos.blogspot.com/2011fisiologia-del-aparato-urinario.html>.
38. Velásquez, L. Farmacología y su proyección a la clínica. Editorial medica Oteo. Madrid –España, 1993.
39. Flórez, J. farmacología Humana.4ª ed. Editorial Masson. España, 1998.
40. Remington, G. Farmacia tomo II. 20ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires- Argentina, 2003.
41. Litter, M. Tratado de Farmacología experimentales y clínica. Argentina: Ateneo; 1996.
42. Alvarado, J. Apuntes de Farmacología.3ª ed. Perú: Apuntes médicos del Perú; 2008.

43. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad la Habana, Cuba, 2000.
44. Cotillo, P. Tratado de Farmacología en la investigación de los productos naturales. Lima - Perú: Jamed; 1990.
45. Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F, Marrero E. Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética. Revista cubana de investigaciones biomédicas. 2011; 30(3):332-344.
46. Herrández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación 3ra Edición. Editorial McGraw – Hill. Interamericana. México; 2006.
47. García A, Rojas C. Actividad antimicrobiana in vitro de *Pseudelephantopus spiralis* (Lessing) Cronquis y *Alternanthera halimifolia* (Lamarck) Standley Pittie – IMET. [tesis pregrado]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, 2011.
48. Pérez M, Morón F. Consideraciones farmacológicas sobre principios activos en plantas medicinales con actividad diurética. Revista Latinoamericana de Hipertensión. 2011; 6(2).
49. Evans, W. Farmacognosia. 15ª edición. Editorial Masson S. A. Madrid – España; 1991.
50. Naranjo, A. "evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Escuela superior politécnica de Chimborazo; 2013.
51. Hernán J, Palacios M, Gutiérrez O. Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas. Revista INS Biomédica 2006; 26:145-9.
52. Salazar, M. estudios etnobotánicas de *Eysenhardtia polystachya* (ort.) Sarg. en una comunidad del Municipio de Zempoala, Hidalgo y evaluación de efecto de diurético en rata. [tesis pregrado]. universidad Autónoma Estado de Hidalgo, 2015.
53. Noriega, A. Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las plantas medicinales *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradisi* (toronja) y *Citrus aurantifolia*. [tesis pregrado]. Universidad de San Carlos de Guatemala, 2015.