

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capulí" en *Cavia porcellus* "cobayo". Ayacucho- 2012.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. SALAZAR POMA, Ausberto.

Ayacucho - Perú

2012

A mis adorados padres y hermanos por el amor y apoyo incondicional que me han brindado para lograr mis objetivos.

A mi hija Valery por ser la razón de mi vida y a rossi por darme gratos momentos de alegría y felicidad.

AGRADECIMIENTO

Un especial agradecimiento a mi alma mater la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjador de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, que permitieron mi formación profesional.

A mi asesor Dr. Q.F. Edwin C. Enciso Roca, por su invaluable asesoramiento y constante apoyo durante la realización en mi trabajo de investigación. A los docentes de la E.F.P. de Farmacia y Bioquímica, Dr. Q.F. Enrique Aguilar Felices; Dr. Q.F. Aldo J. Tinco Jayo.

A las personas, amigos y familiares que de una u otra manera, colaboraron en la realización y conclusión del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN | v |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1. Antecedentes | 3 |
| 2.2. Aspectos botánicos | 5 |
| 2.3. Aspectos farmacológicos y químicos | 7 |
| 2.3.2. Composición química | 8 |
| 2.4. Diuréticos | 10 |
| 2.4.2. Furosemida | 12 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 15 |
| 3.1 Ubicación | 15 |
| 3.2 Materiales | 15 |
| 3.3 Métodos para la recolección de datos | 16 |
| 3.4 Determinación de la toxicidad aguda | 18 |
| 3.5 Análisis de datos | 19 |
| IV. RESULTADOS | 20 |
| V. DISCUSIÓN | 27 |
| VI. CONCLUSIONES | 33 |
| VII. RECOMENDACIONES | 34 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 35 |
| ANEXOS | |

Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. “capulí” en *Cavia porcellus* “cobayo”. Ayacucho- 2012.

AUTOR : Bach. SALAZAR POMA, Ausberto.

ASESOR : Dr. Q.F. ENCISO ROCA, Edwin Carlos.

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. “capulí”, realizado en los Laboratorios de Farmacología, Farmacognosia y Toxicología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses diciembre del 2011 a mayo del 2012.

El fruto fue recolectado en el centro poblado de Chonta, distrito de Querobamba, provincia de Sucre del departamento de Ayacucho. Se realizó el tamizaje fitoquímico mediante pruebas de coloración y precipitación; la actividad diurética utilizando el método de Naik y col., en cobayos distribuidos en cinco grupos de cinco animales, al primer grupo se administró solución salina, al segundo furosemida 20 mg/Kg, y al tercer, cuarto y quinto grupo, 100 mg/Kg, 200 mg/Kg y 400 mg/Kg respectivamente y la actividad diurética se expresó en porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU); asimismo, se determinó la toxicidad mediante la prueba de dosis límite.

El extracto hidroalcohólico presentó taninos y fenoles, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, quinonas, catequinas, aminoácidos y azúcares reductores. A la dosis de 100 mg/Kg se obtuvo 133.54, a 200 mg/Kg 102.68 y a 400 mg/Kg 66.18 de %EVU respectivamente, inferiores a la furosemida con un %EVU de 177.00, el análisis de varianza y la prueba de Tukey halló diferencias estadísticas entre los tratamientos. La prueba de toxicidad no reportó ningún grado de toxicidad a la dosis límite de 2000 mg/Kg.

Se concluye que el extracto hidroalcohólico tiene actividad diurética inferior a la furosemida, no es dosis dependiente y no mostró ningún grado de toxicidad.

Palabras clave. *Physalis peruviana* L., actividad diurética.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú, es un país privilegiado al poseer una diversidad de flora que, por el legado cultural de nuestros pueblos, muchas de las plantas pertenecientes a esta diversidad son utilizadas como un recurso medicinal natural para el tratamiento de varias afecciones (Cáceres, 1995).

Muchas de estas plantas utilizadas popularmente con fines medicinales no cuentan con estudios farmacológicos que validen las actividades terapéuticas atribuidas a las mismas, por lo que es importante realizar dichos estudios para poder contribuir con la población peruana que las utiliza, dando a conocer su potencial terapéutico para que puedan ser utilizadas de forma adecuada y segura (Brack, 1999).

En la actualidad cientos de plantas medicinales están siendo analizadas y estudiadas por la ciencia para determinar los efectos terapéuticos de las plantas queriendo precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza en la naturaleza, si no para agrupar a las plantas de efectos similares y conocer los principios activos responsables de aliviar o curar enfermedades, para finalmente dar a conocer a la humanidad los resultados de los estudios (Brack, 1999).

Los diuréticos son un grupo de medicamentos con acción terapéutica que se utiliza para ajustar el volumen de líquidos corporales en situaciones clínicas diversas, entre otras: hipertensión arterial, insuficiencia cardiaca aguda y crónica, insuficiencia renal aguda y crónica, y la diabetes insípida. Además, a veces los diuréticos se utilizan para preservar un volumen de orina adecuado, como ocurre en el caso de ciertos traumatismos severos, o para reducir la concentración de un agente nocivo en la orina a fin de minimizar el deterioro renal (Uriarte y Trejo, 2003).

La planta en estudio *Physalis peruviana* L. "capuli", es conocida por su uso tradicional como antiasmático, diurético, sedante, analgésico, fortifica el nervio óptico; además se reportan sus propiedades antidiabéticas (Rodríguez y Rodríguez, 2007). Dando así la oportunidad de contribuir en la búsqueda de nuevas moléculas con actividad diurética.

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de superar la fase empírica de su uso, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli".

Objetivos específicos:

- Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli".
- Conocer la dosis del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli" que presenta mejor actividad diurética.
- Evaluar la toxicidad del extracto hidroalcohólico *Physalis peruviana* L. "capuli" en ratones.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

En el Perú, las plantas se aprovechan desde hace siglos. Durante muchos años los investigadores han estudiado las propiedades de las diversas especies vegetales y han descubierto diversas posibilidades. Uno de ellos se encuentra en sus propiedades medicinales (Rodríguez, 2002).

Los problemas de salud y la difícil consecución de los medicamentos sintéticos han llevado de nuevo a la humanidad a la búsqueda de la medicina tradicional; es así que el conocimiento de las plantas medicinales ha vuelto a tener un auge acelerado y cada día se ubica en un destacado lugar como una de las medicinas alternativas del futuro que garantiza eficacia, seguridad y bajos costos, siempre y cuando sea usado en forma adecuada y por personal calificado (Fornegra, 2007).

Physalis peruviana L., comúnmente conocida como "capuli", es una planta originaria de los Andes suramericanos y es una de las especies más conocidas de este género por su uso alimenticio (Franco y col, 2007).

Los frutos se usan en el tratamiento de la estomatitis, faringitis, diabetes, como descongestionante ocular y diurético (Rodríguez y Rodríguez, 2007). En la actualidad en universidades del país y del mundo, se realizan trabajos de

investigación con tratamientos terapéuticos; dando así mayor importancia a aquellas que tienen diferentes actividades farmacológicas como antiinflamatorias, antioxidantes, cicatrizantes, diurética, hipoglucemiante y otras.

En la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; se realizaron estudios sobre actividad diurética, con la utilización de diversas plantas:

Oré (2000), llevó a cabo el tamizaje fitoquímico y la evaluación del efecto diurético del *Petroselinum sativum* "perejil" en cobayos, obteniendo una eficacia diurética del 33.35% a dosis de 250 mg/kg.

Franco (2002), evaluó la actividad diurética de la *Krameria lappacea* "ratania", encontrando un mayor efecto diurético a una concentración de 400 mg/kg.

Oriundo (2004), realizó el tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Foeniculum vulgare* "hinojo" planta nativa de Ayacucho, obteniendo un mayor efecto diurético a una concentración de 250 mg/kg y una eficacia de 42.73%.

Manrique (2004), determinó el efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizado de *Taraxacum officinales* "diente de león", presentando un mayor efecto diurético a una dosis de 800 mg/kg.

González (2003), evaluó la actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* "sillkai" en cobayos, obteniéndose un mayor efecto diurético a una concentración de 350 mg/kg en planta seca y fresca; una eficacia de 54.8%.

Mayhua (2008), llevó a cabo la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua", encontrando mayor eficacia a la concentración de 500 mg/kg.

Prado (2008), evaluó la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco", mostrando un efecto diurético a la dosis de 600 mg/kg y una eficacia de 70.46%.

No se encontraron estudios realizados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "capuli" para aprovechar su efecto como diurético.

Estudios realizados en otros lugares:

Zavala y col., (2006), determinaron el efecto citotóxico de *Physalis peruviana* L. "capuli" en cáncer de colon y leucemia mieloide crónica, este trabajo se llevo a cabo en los Laboratorios del Departamento de Farmacología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

Franco y col., (2007), determinaron la actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis Peruviana* L. "capuli". Realizado en el Instituto Nacional de Salud. Bogotá, Colombia.

Rodríguez y Rodríguez., (2007), determinó el efecto de la ingesta de *Physalis peruviana* L. "capuli" sobre la glicemia postprandial en adultos jóvenes. La parte experimental se llevo a cabo en la Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo. Trujillo, Perú.

Quispe y col., (2009), determinó actividad citotóxica de *Physalis Peruviana* L. "capuli" en cultivos celulares de adenocarcinoma colorectal, próstata y leucemia mieloide crónica. Es un estudio biológico experimental "in vitro" realizado en la Unidad de Investigación en Productos Naturales y el Laboratorio de Biología Celular y Virología de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID), de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Lima, Perú.

2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS DE *Physalis Peruviana* L. "capuli".

2.2.1. CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA:

La determinación botánica se realizó según el sistema de clasificación de Cronquist. A. (1988) y es como sigue:

Clasificación sistemática de la especie:

| | |
|-----------------|--------------------------------|
| ❖ DIVISIÓN | : MAGNOLIOPHYTA |
| ❖ CLASE | : MAGNOLIOPSIDA |
| ❖ SUBCLASE | : ASTERIDAE |
| ❖ ORDEN | : SOLANALES |
| ❖ FAMILIA | : SOLANACEAE |
| ❖ GÉNERO | : <i>Physalis</i> |
| ❖ ESPECIE | : <i>Physalis peruviana L.</i> |
| ❖ Nombre vulgar | : “capuli”, “aguaymanto”. |

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga (ANEXO N° 1).

2.2.2. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.

El *Physalis peruviana L.* pertenece a la familia de las Solanáceas y al género *Physalis*, cuenta con más de ochenta variedades que se encuentran en estado silvestre y que se caracterizan porque sus frutos están encerrados dentro de un cáliz o cápsula. Es originaria del Perú, es la especie más conocida de este género (Calvo, 2009).

Es una planta herbácea erecta, con ramificaciones escalonadas y que puede alcanzar de 0,3 a 1,20 m de altura; con frecuencia densamente pilosa; siempre reptante persistente. Hojas alternas, simples, pecioladas, de limbo ampliamente oval de 5 a 12 cm de largo, y casi igual de ancho agudo en el ápice, cordiforme o truncado en la base, y regularmente dentado o, más frecuente, entero y pubescente. Flores hermafroditas, axilares, solitarias, con un pedúnculo largo de 1 a 2 cm; cáliz acrecente, campanulados, iguales en el tubo, corola campanulada larga y ancha, amarillenta con puntos de color púrpura azul oscuro en la base.

Fruto es una baya globosa, contenida en un saco membranoso constituido por el cáliz acrecenté, largo; la baya tiene de 1 a 2.6 cm de longitud y de 1 a 3 cm de diámetro, está recubierto de una piel delgada, lisa de color amarillo ámbar con muchas semillas pequeñas blanquecinas dentro de una pulpa jugosa, blanda y traslúcida. Cuando está completamente madura exhala un olor muy agradable (Montes, 1982).

2.2.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *Physalis*.

Physalis es un género de plantas que pertenecen a la familia de las solanáceas, nativo de las regiones templadas, cálidas y subtropicales de todo el mundo. El capulí registra buen comportamiento en las regiones que se ubican entre 1.800 y 2.800 metros sobre el nivel del mar, con alta luminosidad, temperaturas promedio entre 13 y 18 grados centígrados, precipitación anual de entre 1,000 y 2,000 milímetros y humedad relativa de 70 a 80 por ciento (Montes, 1982).

2.3. ASPECTOS FARMACOLÓGICOS Y QUÍMICOS DE *Physalis Peruviana* L. "capulí".

2.3.1 USOS EN LA MEDICINA TRADICIONAL.

Se le han atribuido muchas propiedades medicinales tales como antiasmático, diurético, antiséptico, sedante, analgésico, fortifica el nervio óptico, alivia problemas de garganta, elimina parásitos intestinales y amebas; además se reportan sus propiedades antidiabéticas, recomendando el consumo de 5 frutos diarios. No existiendo estudios previos que indiquen sus posibles efectos adversos (Rodríguez y Rodríguez, 2007).

En Colombia se le atribuyen propiedades medicinales tales como las de purificar la sangre, disminuir la albúmina de los riñones, aliviar problemas en la garganta, próstata y bronquiales, fortificar el nervio óptico, limpiar las cataratas y prevenir la osteoporosis (Calvo, 2009).

El fruto de "capulí" puede consumirse sin procesar, como fruta deshidratada, también se incorpora en jugos, mermeladas, helados, dulces y jaleas (Calvo, 2009).

En los últimos años, debido a la expansión de la medicina alternativa, el "capulí" ha sido una de las frutas predilectas por los entendidos en la materia. Por otro lado; el "capulí" se consume como néctar, mermelada, yogurt, helado, en extracto, fruta fresca, pulpa congelada o como ingredientes en exquisitos potajes de la floreciente gastronomía novoandina (Avalos, 2008).

2.3.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

Physalis peruviana L. "capulí" tiene como principales compuestos químicos bioactivos a las fisalinas (B, D y F) y glucósidos (por ejemplo, miricetina-3-O-neohesperidoside). Anteriores estudios fitoquímicos han aislado un número de compuestos de *Physalis peruviana* L, como ticloidina, phygrina, 28-hydroxywithanolido, y E 4- β -hydroxywithanolido, withanólidos, withaphysanolido, y viscosalactona (Chang y col, 2008).

Esta planta contiene más de diez withanólidos, entre ellos perulactones E, perulactones H, 28-hidroxi-withanólidos, withaperuvins IK y withaperuvins LN, phyperunofidos A y B, withanolido C, withanolido S y physalactona (Fang y col, 2012).

El *Physalis peruviana* L. "capulí" contiene entre otros nutrientes compuestos bioactivos como el ácido ascórbico, β -caroteno (provitamina A) compuestos fenólicos, entre otras vitaminas que podría proporcionar un efecto fisiológico beneficioso en la salud, en el funcionamiento del organismo o en el bienestar, mayor que el proporcionado por los nutrientes sencillos que contiene, dado que se conoce que existe un efecto sinérgico entre los compuestos que presenta un alimento con estas características (Encina y col, 2012).

El contenido de ácido ascórbico (28,55 mg/100 g de fruto) se encuentra dentro del rango reportado por varios autores. Estos valores pueden variar por factores como: suelo, clima, variedad, estado de madurez, etc. (Encina y col, 2012).

Los resultados promedios de carotenoides totales (1,77 mg de β -caroteno/100g, lo que equivale a 2950 UI de vitamina A) obtenidos para el "capulí". También contiene compuestos fenólicos, resultando en un 79,23 mg de ácido clorogénico en 100 g de fruto (Encina y col, 2012).

2.3.3. Composición Química Nutricional de *Physalis peruviana* L. "capulí".

CUADRO N° 01: Composición química y nutricional en 100g del fruto de *Physalis peruviana* L. "capulí". Ayacucho- 2012.

| COMPONENTES | CANTIDAD EN 100 g. DE "capulí" | VALORES DIARIOS (BASADOS EN UNA DIETA DE 2000 CALORÍAS) |
|-----------------|--------------------------------|---|
| Humedad | 78.90% | |
| Carbohidratos | 16 g | 300g |
| Ceniza | 1.01 g | |
| Fibra | 4.90g | 25g |
| Grasa total | 0.16g | 66g |
| Proteína | 0.05g | |
| Ácido ascórbico | 28,55mg | 60mg |
| Calcio | 8mg | 162mg |
| Caroteno | 1.77 mg | 2950 ui |
| Fósforo | 55.30 mg | 125mg |
| Hierro | 1.23mg | 18mg |
| Niacina | 1.73 mg | 20mg |
| Riboflavina | 0.03mg | 1.7mg |

Fuente: (Repo y Encina, 2008).

2.4. DIURÉTICOS.

Los diuréticos constituyen un grupo de medicamentos con acción terapéutica que se utilizan para ajustar el volumen de líquido extracelular, incrementando el volumen de orina excretado por los riñones ajustando la composición, de los líquidos corporales en situaciones clínicas diversas, entre otras: hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca aguda y crónica, insuficiencia renal aguda y crónica, síndrome nefrótico, cirrosis y la diabetes insípida. Además, a veces los diuréticos se utilizan para preservar un volumen de orina adecuado, como ocurre en el caso de ciertos traumatismos severos, o para reducir la concentración de un agente nocivo en la orina a fin de minimizar el deterioro renal (Uriarte y col 2003).

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 y útiles deben ser saluréticos-eliminadores de cloruro de sodio o mejor dicho natriuréticos-excretadores de sodio. Tan importante es este concepto que actualmente se definen los diuréticos como las drogas que actúan sobre el riñón, provocando inicialmente la excreción de sodio y causando un balance negativo de dicho catión, y como la excreción de sodio se acompaña del cloruro, los términos diuréticos y saluréticos son sinónimos.

Los diuréticos provocar:

- 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, que así se contrae, desapareciendo el edema.
- c) Se produce 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 (Velásquez, 1993).

2.4.1. 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 importantes son: derivado del ácido antranílico, Furosemida, el derivado de la metanilamina, Bumetanida y el derivado del ácido fenoxiacético ácido etacrínico.(Flores, 1998).

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.
- ❖ Quinazolininas: Metolazona. (Flores, 1998).

c) Diuréticos de ligera eficacia

Aquí encontramos a los inhibidores de la anhidrasa carbónica que aumenta el aclaramiento de agua libre, su acción predominante en el túbulo proximal y los diuréticos osmóticos son muy pocos natriuréticos pero capaces de eliminar abundante agua, su sitio de acción es variable. Derivados de la isoindolina, Clortalidona. (Flores, 1998).

- ❖ Inhibidores de la anhidrasa carbónica: Acetazolamida, Diclufenamida.
- ❖ Diuréticos osmóticos: Manitol. (Flores, 1998).

d) Diuréticos ahorradores de Potasio

Actúan en el último segmento del túbulo distal por antagonismo o inhibición de la aldosterona: espironolactona, los otros ejercen sus efectos independiente de la presencia o ausencia de aldosterona: amilorida y triamtereno. Inducen una natriuresis leve y reducen la excreción de iones potasio e hidrogeno (Flores, 1998; Goodman & Gilman, 2007).

2.4.2. Furosemida

Origen y Química

La furosemida es un derivado del ácido antranílico, posee un núcleo bencenosulfamilo halogenado adyacente en forma semejante a las tiazidas. Deriva de un anillo aromático fundamental correspondiente al ácido antranílico, con una cadena lateral que contiene un anillo furano; su potencia y eficacia diurética depende de todas estas características (Remington, 2003).

Mecanismo de acción

Este diurético 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 electrolíticos, pues a nivel de los túbulos renales el agua es retenido por acción osmótica y es eliminado concomitantemente con la sal (Litter, 1997).

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 plasma y por lo tanto la presión coloidosmótica, que origina el pasaje de líquido desde el compartimiento intersticial a la sangre y la consiguiente desaparición del edema, si existe, y descenso del peso corporal. Su acción es rápida por vía oral; el efecto comienza de 30 - 60 minutos, alcanzando una máxima intensidad de 90 - 120 minutos de vida media, persistiendo durante 4 a 6 horas; y 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 2 horas (Smith y Col, 1999; Remington, 2003).

Farmacocinética

La furosemida se absorbe 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 lo 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 10-30 min y alcanzan el efecto máximo a los 20-40 min 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 6 horas es un 80%. Lo cual son excretados parcialmente por orina en forma activa y, en parte, son también metabolizados. La furosemida sufre glucuronidación, con posible acumulación en caso de uremia (Flores, 1998; Smith y Col, 1999).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacología, Farmacognosia y Toxicología, del Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de diciembre del 2011 a mayo del 2012.

3.2 MATERIALES

3.2.1 POBLACIÓN

Frutos de la planta *Physalis peruviana* L. "capuli" que fueron recolectadas en el centro poblado de Chonta, distrito de Querobamba, provincia de Sucre, Región de Ayacucho a una altura de 2650 m.s.n.m. (ANEXO N° 2 Fotografía 1).

3.2.2 MUESTRA

kg de frutos de *Physalis peruviana* L. "capuli" muestreadas aleatoriamente en horas de la mañana (9:00 am) (ANEXO N° 2 Fotografía 2). Se seleccionaron los frutos que no estaban dañados ni maltratados una vez recolectados fueron limpiados, y guardados en bolsas de tela de color oscuro, siendo trasladados a los laboratorios del Área de Farmacia de la UNSCH en la ciudad de Ayacucho, una parte fue enviado para su identificación botánica por la Bióloga Laura AUCASIME MEDINA del Laboratorio de Botánica de la UNSCH (ANEXO N° 1).

3.2.3 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

25 cobayos de 500 - 650 g machos, que fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) – Ayacucho, y transportados a los Laboratorios del Área de Farmacia de la UNSCH y teniendo un tiempo de adaptación de 7 días, a una temperatura de ambiente con dieta balanceada y agua *ad libitum*.

10 ratones machos y 10 ratones hembras, que fueron adquiridos en el Centro Nacional de Producción de Biológicos del Instituto Nacional de Salud – Lima, y transportados a los Laboratorios del Área de Farmacia de la UNSCH y tuvieron un tiempo de adaptación de 7 días, a una temperatura de ambiente con dieta balanceada y agua *ad libitum*.

3.3 MÉTODOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

Los frutos fueron trozados previa limpieza y colocados luego en una fuente de vidrio, se procedió a colocar en una estufa MEMMERT a 40°C hasta desecación y luego fueron macerados en un frasco de color ámbar por una semana en 1,5 L de alcohol 80°; éste cubrió a la muestra por 1 cm de diferencia. Durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para su distribución homogénea de la muestra del extracto hidroalcohólico de *Physalis peruviana* L. "capuli".

Se preparó la solución madre con una concentración al 20% utilizando como vehículo agua destilada, seguidamente se prepararon concentraciones de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg (ANEXO N° 3).

3.3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Se realizó reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico (Miranda y Cuellar, 2000) (ANEXO N° 4 Fotografía 3).

3.3.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DIURÉTICA

3.3.4.1. Método de Naik y col.

La metodología que se empleó para la determinación de la actividad diurética se basa en el método utilizado por Naik y colaboradores, aplicado en la cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Cotillo, 1990).

3.3.4.2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En este ensayo se utilizaron 25 cobayos con un peso de 500 a 650 g y se llevó a cabo como sigue:

1º Se privó de agua y alimentos 18 horas antes del inicio del ensayo experimental.

2º Los animales fueron marcados, pesados y distribuidos aleatoriamente en cinco grupos de cinco animales cada grupo.

3º todos los animales fueron hidratados con solución salina fisiológica al 0.9% en dosis de 50 ml/kg, y después de 15 minutos de hidratación nuevamente fueron pesados y se les administró el fármaco y el extracto hidroalcohólico de *Physalis peruviana* L "capuli" a las dosis a evaluar.

4º seguidamente a los animales se colocaron en las jaulas de diuresis y se midió el volumen de orina excretada cada hora durante seis horas registrándose el volumen correspondiente.

3.3.4.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se formó 5 grupos de 5 cobayos cada uno distribuido aleatoriamente, los que fueron sometidos a los siguientes tratamientos:

- **Grupo 1:** Tratado con solución de cloruro de sodio al 0.9%, blanco.
- **Grupo 2:** Tratado con furosemida en dosis de 20 mg/kg de peso, control.
- **Grupo 3:** Administrado con el extracto a dosis de 100 mg/kg de peso.

➤ **Grupo 4:** Administrado con el extracto a dosis de 200 mg/kg de peso.

➤ **Grupo 5:** Administrado con el extracto a dosis de 400 mg/kg de peso.

Con los datos del volumen de orina se calculó:

La excreción volumétrica urinaria (EVU) expresada en porcentaje, utilizando la siguiente fórmula:

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

La actividad diurética, utilizando la siguiente fórmula:

$$AD = \frac{\text{Volumen de orina excretado}}{\text{Vol. orina del diurético estándar}}$$

3.4. DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA POR EL MÉTODO DE DOSIS LÍMITE..

✓ Para la determinación de la toxicidad aguda del extracto, se emplearon 20 ratones (10 machos y 10 hembras), previamente acondicionados. Los animales estuvieron en ayunas 3-4 horas antes de la administración. La sustancia experimental fue administrada en una sola dosis 2000 mg/kg. Dosis de acuerdo al peso por vía oral, usando una cánula adecuada. Terminada la dosificación se volvió a colocar la comida 2 horas después.

✓ Se observaron a los animales individualmente, después de la dosificación con atención especial durante las primeras 4 horas, periódicamente durante las primeras 24 horas y después diariamente, hasta un total de 14 días (ANEXO N° 07 Fotografía 7).

✓ Los pesos individuales de los animales, se determinaron antes de administrar la sustancia experimental, a los 7 días y 14 días para comparar la variación de peso (OECD, 2001).

3.5 ANÁLISIS DE DATOS

Con los datos obtenidos se procedió a evaluar mediante el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$) para determinar las diferencias significativas entre los grupos tratados con el extracto y el grupo control; para lo cual se usó el software SPSS, versión 19,0. Se realizó comparaciones múltiples de Tukey de los valores de diuresis (mL) para determinar estadísticamente cual de los tratamientos posee el mismo comportamiento farmacológico.

Con los datos obtenidos en la evaluación de la toxicidad aguda se elaboró un cuadro y un gráfico; calculando la media de la variación de peso corporal de los ratones y se representó en Histograma. Los resultados también fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) factorial simple; para lo cual se usó el software SPSS, versión 10,0; para evaluar las diferencias estadísticas al 95% de confianza.

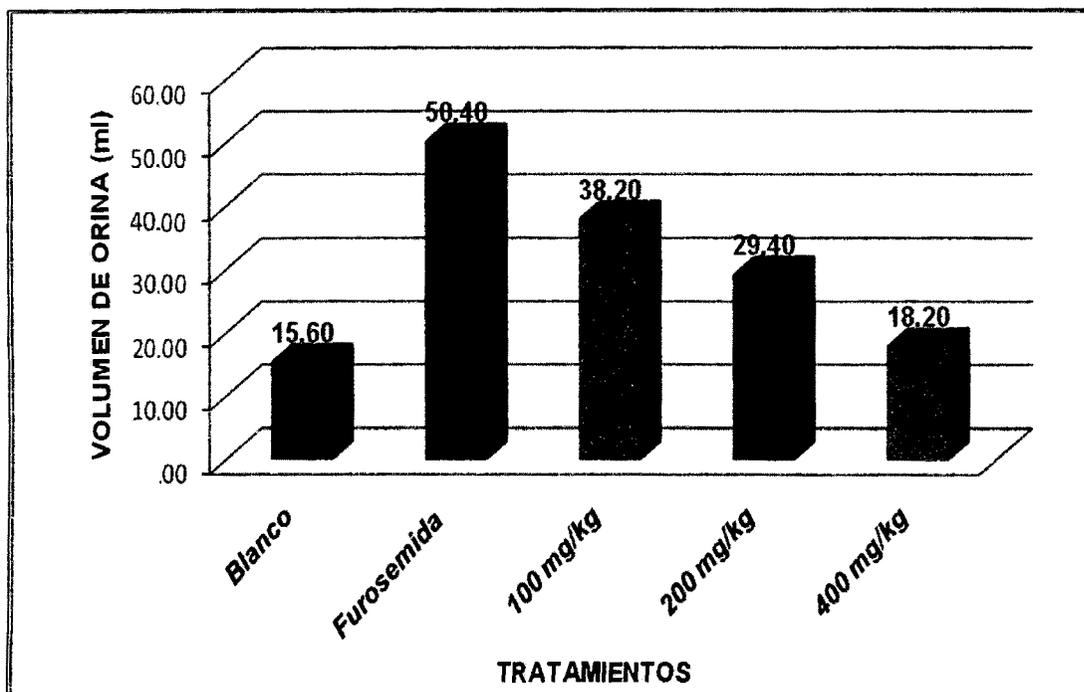


GRÁFICO Nº 02: Volumen promedio final de orina por efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli". Ayacucho –2012.

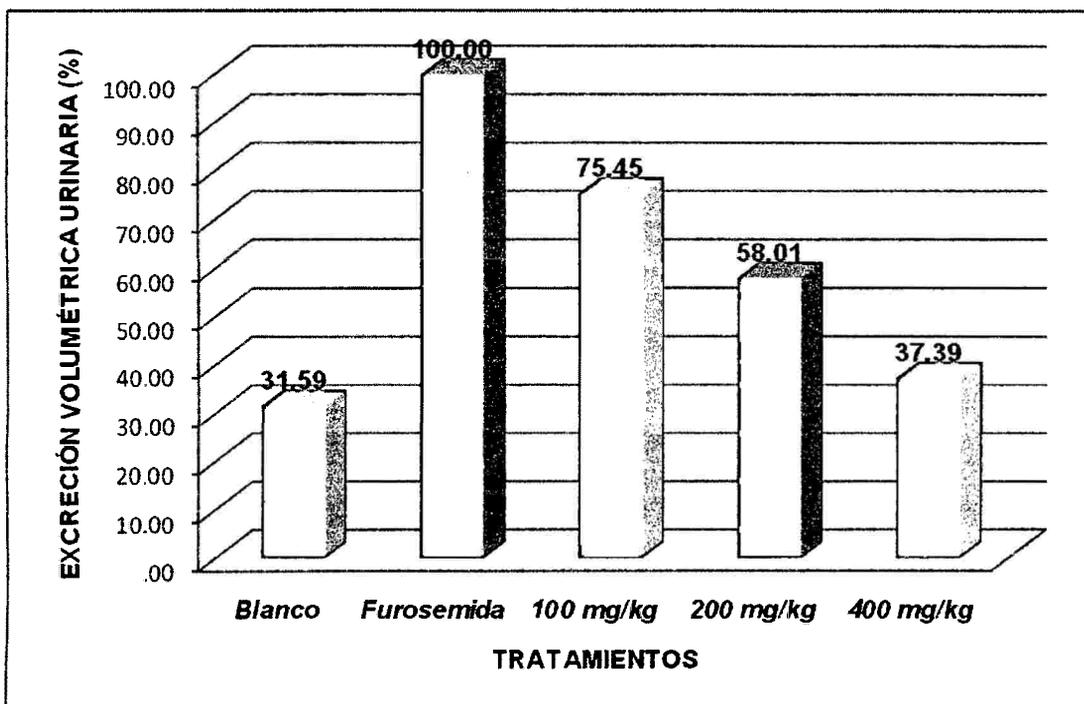


GRÁFICO Nº 03: Porcentaje de la excreción volumétrica urinaria del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capulí". Ayacucho-2012.

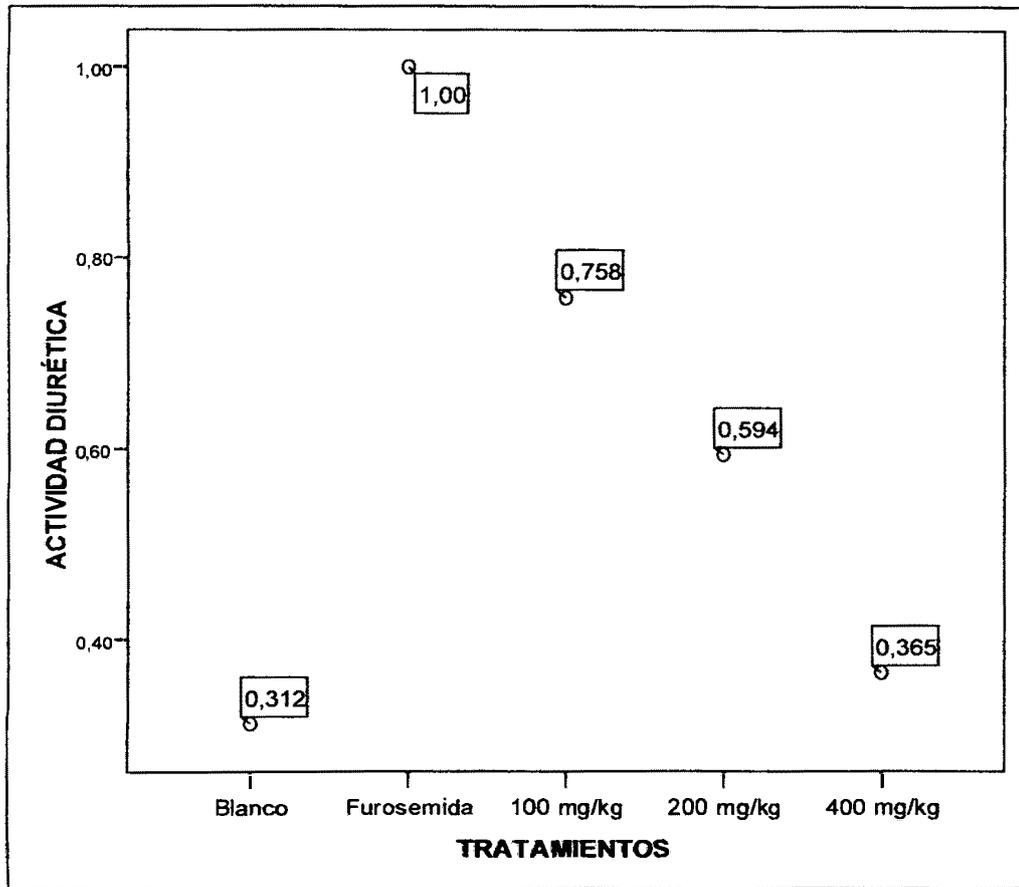


GRÁFICO Nº 04: Medias de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli". Ayacucho –2012.

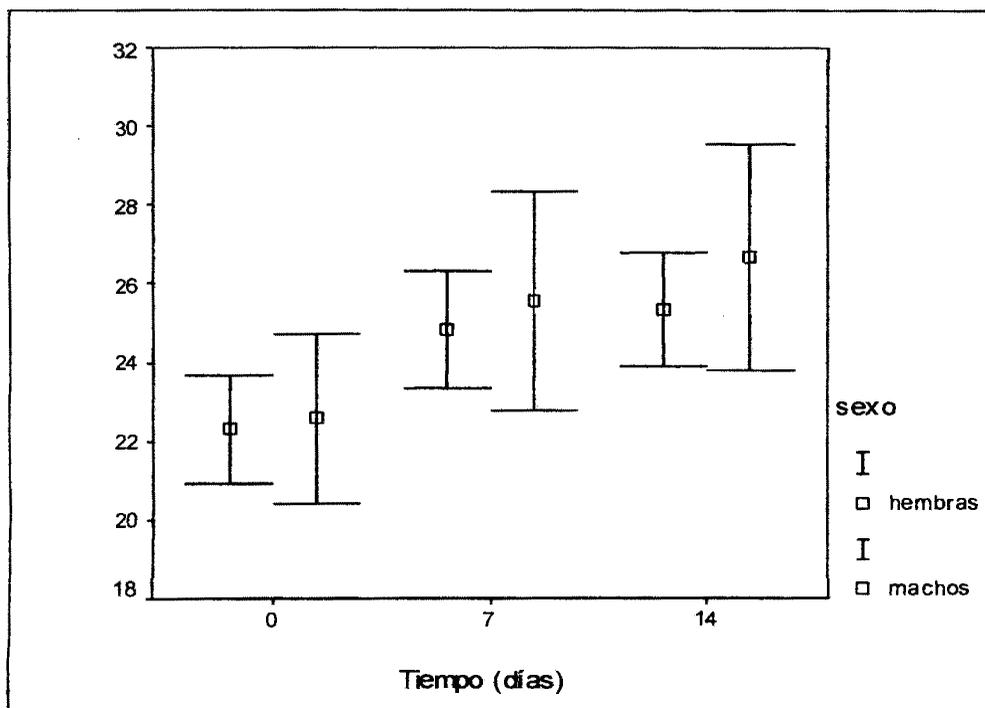


GRÁFICO N° 05: Variación de peso en el ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli". Ayacucho -2012.

V. DISCUSIÓN

A pesar de los siglos de tradición, la fitoterapia del griego "phyton" (planta) tratamiento de las enfermedades por plantas frescas, secos o sus extractos; ha sabido, pues evolucionar y ha ganado prestigio y eficacia, sobre todo en los últimos tiempos, acercándose cada vez más a las normas y usos que exige la medicina moderna.

Como resultado de ello, actualmente se posee un mejor conocimiento de las propiedades medicinales, se ha incrementado su número, se han descubierto científicamente los principios activos y se han descrito con más precisión sus propiedades, y su posología (Salaverry, 2000).

Miranda y Cuellar (2000), afirman que los extractos hidroalcohólicos son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en drogas, en donde la concentración de principios activos es óptima, facilitándose la dosificación de los mismos. Es así que la planta en estudio se llegó a extraer con alcohol al 80°.

En el cuadro N° 02, se reportan los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico conteniendo flavonoides, fenoles, taninos, compuestos aminados, alcaloides, azúcares reductores, esteroides, triterpenos, cardenólidos, catequinas, lactonas y/o cumarinas, saponinas. Todos los metabolitos analizados

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

Los estudios realizados de este género han demostrado la presencia de metabolitos secundarios como witanóidos, esteroides, glucósidos y flavonoides (Mayorga y col, 2002).

Los flavonoides son sustancias que representan a uno de los más importantes grupos de compuestos con actividad farmacológica y poseen una alta reactividad química que se manifiesta por sus efectos sobre diferentes sistemas biológicos; muchas de esas propiedades son atribuidas a los flavonoides como: antimicrobiana, antialérgica, diurética, antivírica, cicatrizante, antiagregante plaquetario y hepatotóxico (Lock, 1994).

En cuanto a las cumarinas, se hace mención que se encuentra desde la raíz, flores y siendo muy abundantes en los frutos; tienen actividad farmacológica como: antibacteriano, antibiótica y acción anticoagulante (Evans, 1991).

Para evaluar la actividad diurética del *Physalis peruviana* L se utilizó la furosemida como referencia ya que es un fármaco diurético de máxima eficacia. Para ello se utilizó el método de Naik y Col, modificada por la cátedra de farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Cotillo, 1990), siendo este el más utilizado, adecuado y económico para la realización de este tipo de trabajo de investigación.

En el gráfico N° 01 se observa la variación del volumen de orina en función del tiempo por efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L., en el cual a medida que pasa el tiempo va aumentando la eliminación de orina y nos da un gráfico de dosis-respuesta, y la furosemida es mayor a los diferentes tratamientos.

Gráfico N° 02. Se observa el histograma de frecuencias, referido al volumen final de orina por efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana L.*, resaltando que el volumen de orina eliminado por la furosemida es de 50.40 ml., seguido de la dosis de 100 mg/kg de peso que produce 38.20 ml. de orina eliminado, mostrando así que a esta dosis representa la concentración de mayor actividad diurética por ser un volumen de orina muy próximo a la furosemida, esto se debe tal vez a la presencia de metabolitos secundarios como las lactonas entre ellos los whitanolidos. A la dosis de 400 mg/kg de peso se obtuvo un volumen de 18.20 ml, el cual muestra una semejanza en la actividad diurética con respecto al blanco que tuvo 15.60 ml de orina eliminado; que podría deberse a que en el extracto debe existir una o varias sustancias antidiuréticas, y a la dosis de 200 mg/kg de peso se obtiene 29.40 ml de orina mostrando así una actividad diurética significativa en comparación con el blanco y al fármaco de referencia.

Gráfico N° 03. Se presenta el histograma de frecuencias, observando que la excreción volumétrica urinaria expresada en porcentaje se halla dividiendo el volumen de orina excretado entre el volumen de líquido administrado multiplicado por 100, donde se obtiene como resultado el porcentaje de furosemida es 100.0%, siendo este el mayor en comparación al resto de los tratamientos, pero a la dosis de 100 mg/kg de peso del extracto hidroalcohólico de *Physalis peruviana L.*, tiene un porcentaje de 75.45% esto nos indica que tiene actividad diurética, porque tiene un valor cercano al presentado por la furosemida.

Gráfico N° 04. En este gráfico se presenta la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana L.* que a dosis de 100 mg/kg de peso presenta una actividad de 0.758 en comparación al de la furosemida

presenta una actividad diurética de 1.000. Así queda demostrado en el presente trabajo de investigación la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana L.* muestra una respuesta diurética positiva a la dosis de 100 mg/kg de peso en comparación con la furosemida.

En este gráfico se muestra la comparación de las medias de la actividad diurética según los tratamientos, observando que hay variación entre los tratamientos administrados donde a dosis de 400 mg/kg de peso es similar al del blanco, y a dosis de 200 mg/kg de peso es diferente al blanco, seguida por dosis de 100 mg/kg de peso que se acerca al de la furosemida; notándose así que hay un comportamiento diferente al de los demás tratamientos.

La actividad diurética obtenida en el presente trabajo de investigación fue de 0.758 que es superior a los a los resultados obtenidos a los diferentes trabajos realizados en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga como: en *Petroselinum sativum* "perejil" (Oré, 2000), *Foeniculum vulgare* "hinojo" (Oriundo, 2004), *Bidens pilosa* "silkau" y *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" (Prado, 2008), quienes reportaron valores de 0.151, 0.224, 0.252 y 0.354 de actividad diurética respectivamente; todos estos trabajos se realizaron siguiendo el mismo método y así también como del material biológico utilizado en el presente trabajo realizado.

En el cuadro N° 06 (ANEXO N°12), se observa la Prueba de Tukey realizada para hacer comparaciones múltiples; a dosis de 400 mg/kg de peso y el blanco son estadísticamente similares ($p > 0,05$), se observa que el blanco y a dosis de 200 mg/kg de peso son estadísticamente diferentes ($p > 0,05$), y a dosis de 100 mg/kg de peso también es estadísticamente diferente al blanco, 400 y 200 mg/kg de peso ($p < 0,05$); la furosemida es también estadísticamente diferente a los demás tratamientos ($p < 0,05$).

Las diferencias entre los tratamientos fueron confrontados estadísticamente a través del análisis de varianza, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) y la prueba de Tukey que muestra que el extracto a dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg y la furosemida, tienen un comportamiento biológicamente diferentes en comparación con el blanco.

Por tanto, podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico a dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg, ejercen un efecto diurético a diferencia de 400 mg/kg que no demostró efecto diurético ya que se obtuvo un porcentaje de excreción volumétrica urinaria similar al del blanco. Además podemos demostrar que a mayor concentración menor es la actividad diurética.

En el presente estudio en cobayos, la administración oral del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana L.* a dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg ejercen mayor actividad diurética con un 75.45% y 58.01% de excreción volumétrica urinaria respectivamente (CUADRO N° 07, ANEXO N° 13), este porcentaje en relación a la furosemida, el cual muestra mayor actividad diurética con 100.00% en contraste con la otra dosis del extracto que tiene menor actividad diurética, así tenemos la dosis de 400 mg/kg con un valor de 37.39%, el cual demuestra que no tiene actividad diurética a esta dosis.

Probablemente el efecto diurético sea debido a la presencia de metabolitos secundarios como las lactonas (withanolidos), aunque tampoco puede descartarse la acción de otros compuestos presentes en la planta.

Adicionalmente se realizó la determinación de toxicidad aguda en ratones con el extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana L.*, en el cual se observó que la administración del extracto a una dosis límite de 2000 mg/kg de masa corporal no provocó muerte de ninguno de los animales del grupo tratado tampoco hubo síntomas indicativos de toxicidad, se registró una conducta normal

en los animales. La masa corporal como indicador de toxicidad, se comportó dentro de los parámetros establecidos para la curva de crecimiento de la especie (Gráfico N° 05 y ANEXO N° 17). Este resultado indica que el extracto hidroalcohólico no es tóxico a la dosis estudiada, posiblemente presente toxicidad aguda a una dosis mayor a 2000 mg/kg (OECD, 2001). Cabe señalar que en medicina tradicional, la población consume los frutos de dicha planta y no presenta alguna sintomatología irregular a corto plazo.

Las diferencias entre los tratamientos fueron estadísticamente a través del análisis de varianza (ANOVA) factorial simple (ANEXO N° 19) donde se observa que el extracto a dosis de 2000 mg/kg de peso no tiene efecto tóxico, ya que el peso corporal del animal aumenta con normalidad de al tiempo y sexo.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli" posee actividad diurética.
2. El tamizaje fitoquímico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli" demostró poseer: taninos y fenoles, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, quinonas, catequinas, aminoácidos y azúcares reductores.
3. Las dosis que poseen mayor actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli" es de 100 mg/kg y 200 mg/kg con una actividad diurética de 0.758 y 0.584 respectivamente en relación con la furosemida que es de 1.0.
4. El extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli", no demostró toxicidad a la dosis ensayada, siendo la $DL_{50} > 2000$ mg/kg.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de *Physalis peruviana* L. "capuli", para identificar el metabolito secundario responsable del efecto diurético.
2. Realizar estudios para identificar cual es la sustancia antidiurética responsable de que a mayor concentración del extracto es menor la diuresis.
3. Realizar el estudio de la actividad diurética teniendo en cuenta también parámetros como el pH de la orina, medir la concentración de los electrolitos y determinar presencia de proteínas.
4. Aislar los metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli", para su mejor estudio y posible desarrollo de tecnología de una forma farmacéutica.
5. Complementar el estudio toxicológico.

VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Avalos, C.** (2008). Aguaymanto fruto peruano que conquista el mundo. Biodiversidad. Formato pdf. <http://tradexbiz.com/usa/AGUAYMANTO.pdf>.
2. **Brack, A.** (1999). Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. OCDE. Perú.
3. **Cáceres, A.** (1995) Plantas Medicinales de Guatemala Editorial Universitaria de la Universidad San Carlos. Guatemala.
4. **Calvo, I.** (2009). El cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana*). Manejo integrado de cultivos/frutales de altura. Costa Rica.
5. **Chang, J., Lin, C., Wu, S., Lin, D., Wang, S., Miaw, C. y Ng, L.** (2008). Antioxidative and Hepatoprotective Effects of *Physalis peruviana*. Extract against Acetaminophen-Induced Liver Injury in Rats. University of Pharmacy and Science, Tainan, Taiwan; Tainan District Agricultural Research and Extension Station, Taiwan; Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan. *Pharmaceutical Biology* 2008, Vol. 46, Nos. 10–11, pp. 724–731.
6. **Cotillo, P.** (1990). Métodos Farmacológicos en la Investigación de los Productos Naturales. Editorial Jarmad. Lima – Perú.
7. **Encina, C., Ureña, M. y Repo, P.** (2012). Determinación de compuestos bioactivos del aguaymanto (*Physalis peruviana*, *linnaeus*, 1753) y de su conserva en almíbar maximizando la retención de ácido ascórbico. ECIPERU-PLD 0292, Primera edición digital Enero, 2012 Lima – Perú.
8. **Evans, W.** (1991). Farmacognosia. 4ª ed. Editorial Interamericana McGraw Hill. México.
9. **Fang, S., Liu, J. y Li, B.** (2011). Ten new withanolides from *Physalis peruviana*. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, Yunnan, China. *Steroids* 77 (2012) 36–44.
10. **Flórez, J.** (1998). Farmacología Humana. 4ª ed. Editorial Masson. España.
11. **Franco, L., Matiz, J., Calle, R., Pinzón, I. y Ospina L.** (2007). Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L., *Biomédica* de 2007, 27 (1), 110-115. Colombia.

12. **Franco, V.** (2002). Evaluación de la actividad diurética de *Krameria lappacea* "ratania" en cobayo. Tesis UNSCH. Ayacucho – Perú.
13. **Fonnegra, R.** (2007). Plantas Medicinales. 2ª ed. Editorial Antioquía. Colombia.
14. **González, V.** (2004). Evaluación de la actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* "sillkau" en cobayos. Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. Ayacucho-Perú.
15. **Goodman, A. y Gilman, P.** (2007). Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Undécima edición. Editorial Interamericana McGraw Hill. Bogota - colombia.
16. **Litter, M.** (1997). Compendio de Farmacología. 3a ed. Editorial Ateneo. Buenos Aires - Argentina.
17. **Lock, O.** (1994). Investigación Fitoquímica: Método en el estudio de productos naturales. Segunda edición. Editorial Fondo. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima – Perú.
18. **Manrique, J.** (2004). Efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizado de *Taraxacum officinale* "diente de león". Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. Ayacucho-Perú.
19. **Mayhua, H.** (2008). Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua" en ratas. Tesis UNSCH. Ayacucho - Perú.
20. **Mayorga, H., Duque, C., Knapp, H. y Winterhalter P.** (2002). Hydroxyester disaccharides from fruits of Cape gooseberry (*Physalis peruviana*), *Phytochemistry*. 2002; 59:439-45. Estados Unidos.
21. **Miranda, M. y Cuellar, A.** (2000). Manual de Prácticas de Laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba.
22. **Montes, A.** (1982). Especies frutales forestales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO, Roma– Italia. P-119.
23. **OECD.** (2001). Guideline for testing of chemicals. Acute oral toxicity– Acute toxic class method. N° 423.USA.
24. **Oré, J.** (2000). Tamizaje fitoquímico y evaluación del efecto diurético del *Petroselinum sativum* "perejil" en cobayos. Tesis UNSCH. Ayacucho – Perú.
25. **Oriundo, S.** (2003). Tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Foeniculum vulgare* "hinojo". Facultad de Ciencias Biológicas UNSCH. Ayacucho-Perú.

26. **Prado, N.** (2008). Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* H.B.K. "sauco" en cobayos. Tesis UNSCH. Ayacucho – Perú.
27. **Quispe, A., Callacondo, D., Rojas, J., Zavala, D., Posso, M. y Vaisberg, A.** (2009). Actividad citotóxica de *Physalis Peruviana* L. "capulí" en cultivos celulares de adenocarcinoma colorectal, próstata y leucemia mieloide crónica. Unidad de Investigación en Productos Naturales y el Laboratorio de Biología Celular y Virología de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID), de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Lima, Perú.
28. **Rémington, G.** (2003). Farmacia. Tomo II. 20ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires – Argentina.
29. **Repo, R., y Encina C.** (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina. *Rev. Soc. Quím. Perú.* 2008, 74, Nº 2 (108-124).
30. **Rodríguez, D.** (2002). La Revista Internacional de Procesamiento de Alimentos a Pequeña Escala. Editor Barrie Axtell. Perú.
31. **Rodríguez, S. y Rodríguez, E.** (2007). Efecto de la ingesta de *Physalis peruviana* (aguaymanto) sobre la glicemia postprandial en adultos jóvenes. *Revista Médica Vallejana.* 1 (4): 43-53. Trujillo, Perú.
32. **Salaverry, A.** (2000). Historia de la Medicina Peruana en el siglo XX. Editorial el Fondo UNMSM. Perú.
33. **Smith y Col.** (1999). Farmacología. Tomo II. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires – Argentina.
34. **Uriarte, V. y Col.** (2003). Farmacología Clínica. Primera edición. Editorial Trillas S.A. de C.V. México.
35. **Velásquez, L.** (1993). Farmacología y su Proyección a la Clínica. Editorial Oteo. Madrid – España.
36. **Zavala, D., Quispe, A., Posso, M., Rojas, J. y Vaisberg, A.** (2006). Efecto citotóxico de *Physalis peruviana* L. "capulí", en cáncer de colon y leucemia mieloide crónica. Departamento de Farmacología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

IX. ANEXOS

ANEXO Nº 01

Certificado de la identificación de la planta



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

CERTIFICA

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. Ausberto, SALAZAR POMA, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

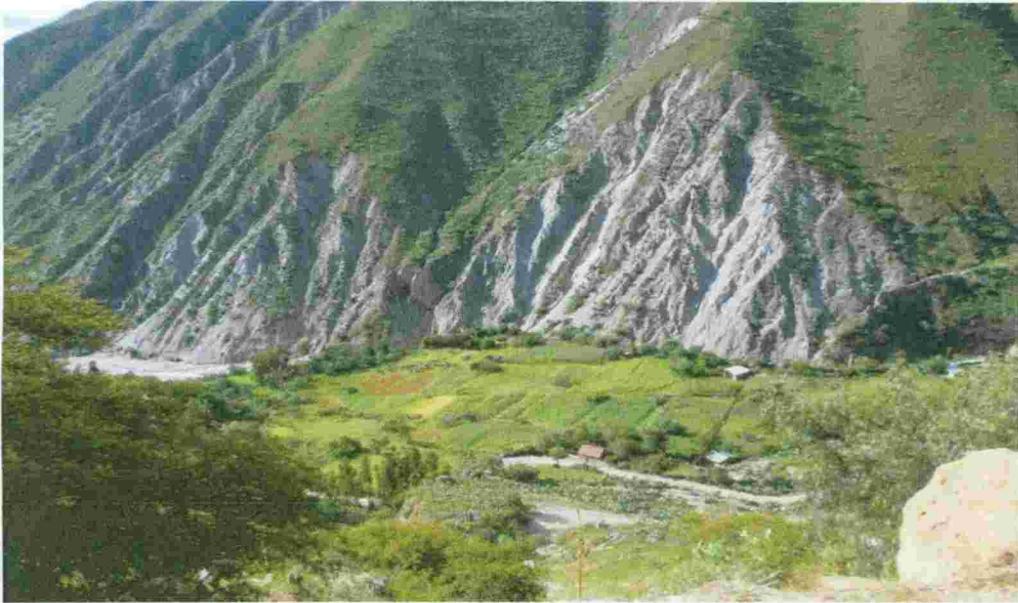
| | | |
|-----------|---|------------------------------|
| DIVISIÓN | : | MAGNOLIOPHYTA |
| CLASE | : | MAGNOLIOPSIDA |
| SUB CLASE | : | ASTERIDAE |
| ORDEN | : | SOLANALES |
| FAMILIA | : | SOLANACEAE |
| GENERO | : | <i>Physalis</i> |
| ESPECIE | : | <i>Physalis peruviana</i> L. |
| N.V. | : | "capulí", "aguaymanto" |

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

Ayacucho, 16 de Setiembre del 2011.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS
[Firma]
Bach. C. A. Rosendo Suedma
JEFE

ANEXO N°02



Fotografía 1: Lugar de recolección de los frutos de *Physalis peruviana* "capuli"

ANEXO N°03



Fotografía 2: Frutos de *Physalis peruviana* "capuli"

ANEXO N° 04



Selección de los frutos



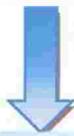
Secado de los frutos



Macerado por 7 días



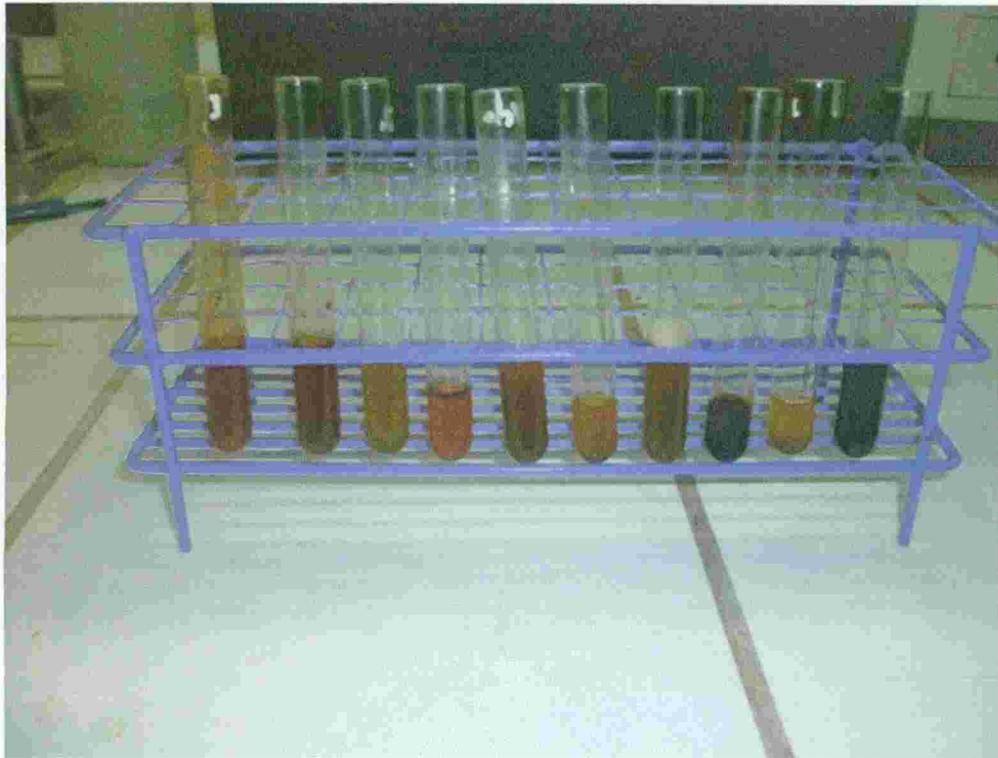
Filtrado y concentrado



Extracto hidroalcohólico de *Physalis peruviana* "capuli"

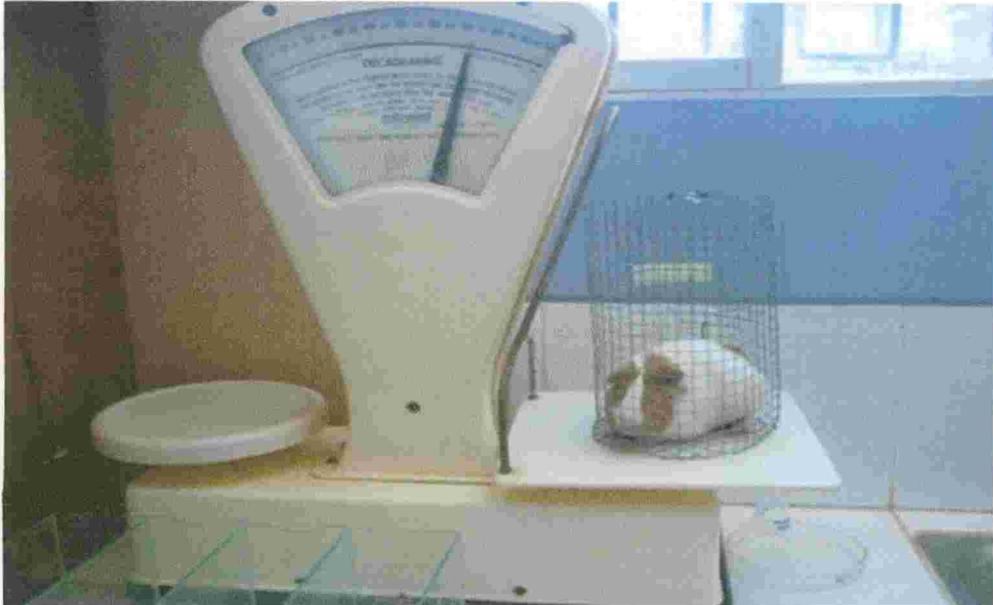
Etapas del proceso de obtención del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Physalis peruviana* "capuli"

ANEXO Nº 05



Fotografía 3: Resultado de la identificación de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* “capulí”. Laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho–2012.

ANEXO Nº 06



Fotografía 4: Peso del cobayo para calcular de la dosis de extracto, control y blanco. Laboratorio de Farmacología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho–2012.

ANEXO N°07



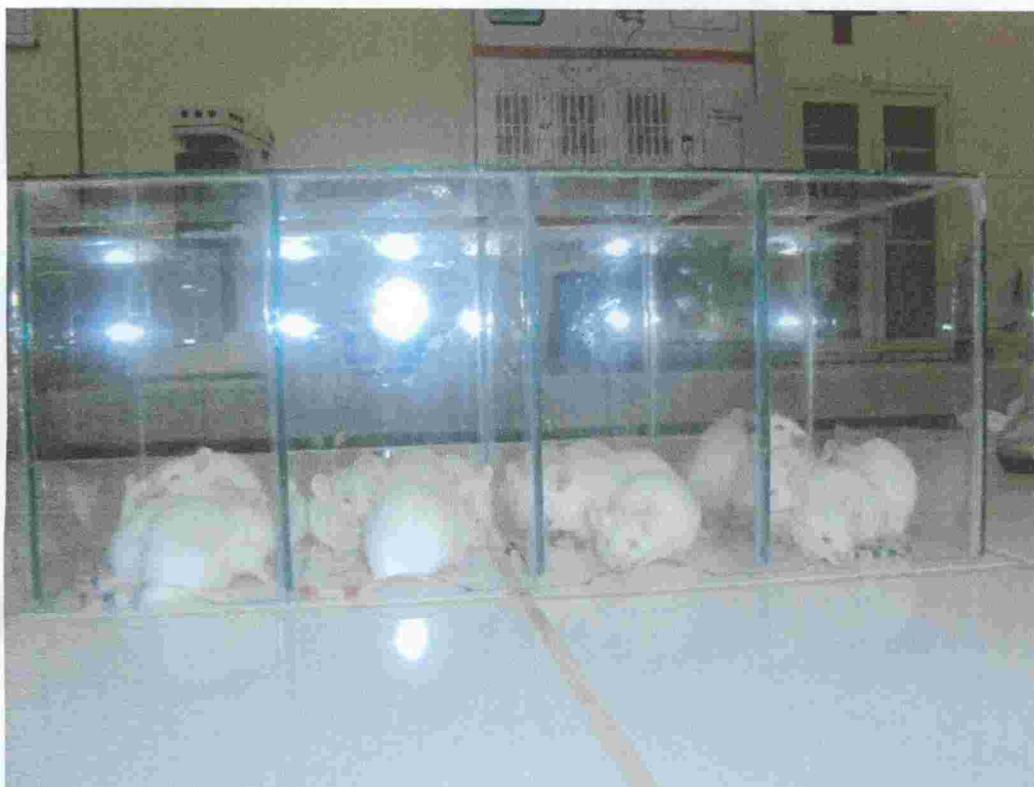
Fotografía 5: Administración oral del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* "capuli" para la determinación de la actividad diurética. Laboratorio de Farmacología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho –2012.

ANEXO Nº 08



Fotografía 6: Determinación de la actividad diurética. Laboratorio de Farmacología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – 2012.

ANEXO N°09



Fotografía 7: Observación de los ratones durante la evaluación de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* “capuli”. Laboratorio de Toxicología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – 2011.

ANEXON°10

CUADRO N° 03: Análisis de varianza (ANOVA) del volumen de orina en tres concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli", furosemida, y un blanco en función del tiempo; en cobayos. Ayacucho – 2012.

ANOVA

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|---------------------|-------------------|----|------------------|--------|------|
| Hora 1 Inter-grupos | 1033.840 | 4 | 258.460 | 5.651 | .003 |
| Intra-grupos | 914.800 | 20 | 45.740 | | |
| Total | 1948.640 | 24 | | | |
| Hora2 Inter-grupos | 3588.240 | 4 | 897.060 | 17.984 | .000 |
| Intra-grupos | 997.600 | 20 | 49.880 | | |
| Total | 4585.840 | 24 | | | |
| Hora3 Inter-grupos | 2188.560 | 4 | 547.140 | 6.048 | .002 |
| Intra-grupos | 1809.200 | 20 | 90.460 | | |
| Total | 3997.760 | 24 | | | |
| Hora4 Inter-grupos | 2148.800 | 4 | 537.200 | 5.337 | .004 |
| Intra-grupos | 2013.200 | 20 | 100.660 | | |
| Total | 4162.000 | 24 | | | |
| Hora5 Inter-grupos | 3773.360 | 4 | 943.340 | 36.227 | .000 |
| Intra-grupos | 520.800 | 20 | 26.040 | | |
| Total | 4294.160 | 24 | | | |
| Hora6 Inter-grupos | 4148.560 | 4 | 1037.140 | 54.701 | .000 |
| Intra-grupos | 379.200 | 20 | 18.960 | | |
| Total | 4527.760 | 24 | | | |

ANEXO N°11

CUADRO N° 04: Análisis de varianza (ANOVA) del volumen total y la excreción volumétrica urinaria de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli", furosemida, y un blanco; en cobayos. Ayacucho – 2012.

ANOVA

| | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|-----------------------------------|------------------|----------------------|----|---------------------|--------|------|
| Volumen Total | Inter- grupos | 4148.560 | 4 | 1037.140 | 54.701 | .000 |
| | Intra- grupos | 379.200 | 20 | 18.960 | | |
| | Total | 4527.760 | 24 | | | |
| Excreción Volumétrica Urinaria | Inter- grupos | 49492.262 | 4 | 12373.065 | 39.392 | .000 |
| | Intra- grupos | 6281.956 | 20 | 314.098 | | |
| | Total | 55774.218 | 24 | | | |

ANEXON°12

CUADRO N° 05: Comparación de medias mediante la prueba de Tukey del volumen total de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capulí", furosemida, y un blanco; en cobayos. Ayacucho –2012.

HSD de Tukeya

| var | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|------------|---|------------------------------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Blanco | 5 | 15.6000 | | | |
| 400 mg/kg | 5 | 18.2000 | | | |
| 200 mg/kg | 5 | | 29.4000 | | |
| 100 mg/kg | 5 | | | 38.2000 | |
| Furosemida | 5 | | | | 50.4000 |
| Sig. | | .876 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. utiliza el tamaño armónica media de la muestra = 5.0

ANEXONº13

CUADRO Nº 06: Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de la excreción volumétrica urinaria de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capulí", furosemida, y un blanco; en cobayos. Ayacucho–2012.

HSD de Tukeya

| var | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | |
|------------|---|------------------------------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| Blanco | 5 | 55.9200 | | |
| 400 mg/kg | 5 | 66.1800 | | |
| 200 mg/kg | 5 | | 102.6800 | |
| 100mg/kg | 5 | | 133.5400 | |
| Furosemida | 5 | | | 177.0000 |
| Sig. | | .888 | .081 | 1.000 |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. utiliza el tamaño armónica media de la muestra = 5.0

ANEXON°14

CUADRO N° 07: Análisis de varianza (ANOVA) de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. “capulí”, furosemida, y un blanco; en cobayos. Ayacucho –2012.

ANOVA

| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------------|-------------------|----|------------------|--------|------|
| Inter-grupos | 1.615 | 4 | .404 | 94.449 | .000 |
| Intra-grupos | .086 | 20 | .004 | | |
| Total | 1.701 | 24 | | | |

ANEXON°15

CUADRO N° 08: Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de la actividad diurética de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capulí", furosemida, y un blanco; en cobayos. Ayacucho – 2012.

HSDde Tukey

| Concentraciones | N | Subconjunto para alfa= .05 | | | |
|-------------------------|---|----------------------------|-------|-------|--------|
| | | 2 | 3 | 4 | 1 |
| Blanco | 5 | .3116 | | | |
| 400mg/kg | 5 | .3652 | | | |
| 200 mg/kg | 5 | | .5940 | | |
| 100 mg/kg | 5 | | | .7578 | |
| Furosemida ^a | 5 | | | | 1.0000 |
| Sig. | | .697 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica= 5.000.

ANEXON°16

CUADRO N° 09: Análisis de varianza (ANOVA) factorial simple del ensayo de toxicidad aguda por efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. “capuli”, en una dosis de 2000 mg/kg en ratones. Ayacucho – 2012.

ANOVA^{a,b}

| | | | Método único | | | | |
|---------------|---------------------|---------------|-------------------|----|------------------|--------|------|
| | | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig |
| Peso (gramos) | Covariables | Tiempo (días) | 128.271 | 1 | 128.271 | 15.074 | .000 |
| | Efectos principales | sexo | 9.275 | 1 | 9.275 | 1.090 | .301 |
| | Modelo | | 137.546 | 2 | 68.773 | 8.082 | .001 |
| | Residual | | 485.035 | 57 | 8.509 | | |
| | Total | | 622.581 | 59 | 10.552 | | |

a. Peso (gramos) por sexo con Tiempo (días)

b. Todos los efectos introducidos simultáneamente

ANEXO Nº 17

MATRIZ DE CONSISTENCIA

| TITULO | PROBLEMA | OBJETIVOS | MARCO TEÓRICO | HIPOTESIS | VARIABLES E INDICADORES | DISEÑO METODOLÓGICO |
|---|---|--|---|--|---|---|
| Actividad diurética extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> en "capull" <i>Cavia porcellus</i> "cobayo", Ayacucho 2011. | ¿Tendrá actividad diurética el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull" administrado en <i>Cavia porcellus</i> "cobayo"? | <p>Objetivo general: Determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull".</p> <p>Objetivos específicos: - Identificar cualitativamente los metabolitos secundarios de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull". - Conocer la concentración óptima diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull". - Comparar el efecto diurético de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull" en relación con la furosemida. - Determinar la toxicidad aguda en ratones.</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Antecedentes botánicos - Distribución geográfica - Conceptos básicos - Diuréticos - Mecanismo de acción - Absorción, distribución, metabolismo y excreción - Furosemida | <p>El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull" presenta actividad diurética en <i>Cavia porcellus</i> "cobayo".</p> | <p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull".</p> <p>Indicadores: - 100 mg/kg. - 200 mg/kg. - 400 mg/kg.</p> <p>Variable dependiente: Actividad diurética.</p> <p>Indicadores: - Porcentaje de excreción volumétrica urinaria - Frecuencia de excreción urinaria - Variación de peso</p> | <p>Tipo de investigación: Básico – Experimental</p> <p>Población: Fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull" recolectada en la localidad de Chonta de la provincia de Sucre, Región de Ayacucho a una altura de 2650 m.s.n.m.</p> <p>Muestra: 5 kg. de fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> "capull"</p> <p>Unidad experimental 25 <i>Cavia porcellus</i> "cobayos" de la misma edad de 400 – 500g de peso, obtenidos de INIA,</p> <p>Equipo: Jaula de diuresis</p> <p>Actividad diurética Se dejan en ayunas unas 18 a 24 horas antes de la prueba, si ser privadas de agua, se les administra por vía oral mediante una sonda naso gástrica 50 mL/kg de peso una solución de cloruro de sodio 0.9% y se coloca en una jaula de diuresis. Después de 15 minutos de hidratación se les pesa se les administra el producto en estudio y se les coloca en al jaula de diuresis, recolectando a partir de ese momento la orina cada 30 minutos por un periodo de cuatro horas.</p> <p>Análisis estadístico El método empleado será el de barras y el análisis de varianza los cuales serán elaborados utilizando los resultados experimentales obtenidos en la presente investigación con una significancia de 0.05 (ANOVA).</p> |

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 241 – 2012 – FCB - D

Bach. Ausberto SALAZAR POMA

En la ciudad de Ayacucho siendo las cuatro de la tarde del día viernes diecisiete de Agosto del año dos mil doce en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presidencia del Doctor Tomas Castro Carranza en su condición de decano de la Facultad de Ciencias Biológicas y con la asistencia de los miembros: Magister Enrique Javier Aguilar Felices, Doctor Aldo Tinco Jayo, Doctor Edwin Enciso Roca (Asesor) y Magister Maricela López Sierralta quien además actuará como secretaria Docente para recepcionar la sustentación de tesis: "Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capulí" en *Cavia porcellus* "cobayo". Ayacucho – 2011 presentado por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica señor Ausberto Salazar Poma, quien pretende optar el título Profesional de Químico Farmacéutico con la sustentación de su tesis.

El decano inicia el acto de sustentación solicitando la revisión de la documentación e instruyendo al sustentante en aspectos relacionados al acto de exposición del trabajo de investigación indicando que cuenta con el tiempo máximo de cuarenta y cinco minutos.

Culminada la exposición, se inicia la segunda etapa en la que los docentes miembros realizan las observaciones, aclaraciones y preguntas que crean por conveniente para realizar la evaluación inicia su participación el cuarto jurado y culmina la evaluación con la participación del asesor.

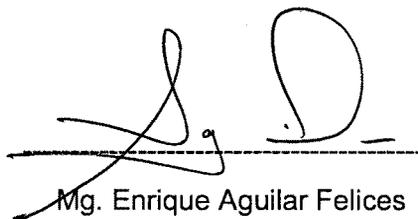
El decano solicita al sustentante y al público en general que abandone el auditorio, para que el jurado calificador pueda deliberar y emitir su calificación como sigue:

| JURADO CALIFICADOR | EXPOSICION | RESPUESTAS | PROMEDIO |
|------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| Mg. Enrique Aguilar Felices | 17 | 17 | 17 |
| Dr. Aldo Tinco Jayo | 17 | 17 | 17 |
| Dr. Edwin Enciso Roca | 17 | 17 | 17 |
| Mg. Maricela López Sierralta | 17 | 17 | 17 |

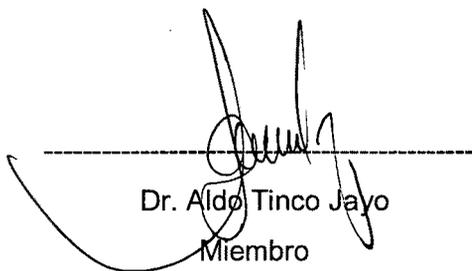
De la calificación realizada; el sustentante obtiene la nota promedio de DIECISIETE (17) de lo cual dan fé los miembros del jurado calificador, estampando su firma al pie de la presente. Culmina el acto de sustentación siendo las seis y quince de la noche.



Dr. Tomás Castro Carranza
Presidente



Mg. Enrique Aguilar Felices
Miembro



Dr. Aldo Tinco Jayo
Miembro



Mg. Edwin Enciso Roca
Miembro - Asesor



Mg. Maricela López Sierralta
Miembro – Secretaria Docente