

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**



**Evaluación de la actividad diurética del extracto
acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L.
“lengua de perro”, Ayacucho - 2010.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

Bach. RAMOS SÁNCHEZ, GOTTARDO

AYACUCHO - PERÚ

2011

*A mis padres Juan Ramos
y Victoria, por su dedicación y
esfuerzo en la cristalización de
mi carrera profesional*

*A mis hermanos Ana,
Dina, Rubén, Aida,
Nivardoy Fredy por su
permanente apoyo en mi
formación profesional.*

*A Andrea y todos mis
amigos por los ideales y
vivencias compartidas.*

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadores de profesionales al servicio de la sociedad.

A los profesores: Q.F. José Diez Macavilca, Q.F. Edwin Enciso Roca por su valioso asesoramiento que brindaron en la conducción del presente trabajo de investigación

A la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y a sus profesores.

ÍNDICE

	Pag.
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	03
2.1. Antecedentes	03
2.2. Aspectos botánicos	05
2.3. Aparato urinario	07
2.4. Diuréticos	10
2.5. Furosemida	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1. Ubicación	14
3.2. Materiales	14
3.3. Diseño metodológico	15
3.4. Análisis estadístico	18
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	34
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
IX. ANEXOS	38

Evaluación de la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”, Ayacucho -2010.

Autor : Bach. Gottardo RAMOS SÁNCHEZ

Asesores : Mg. José M. DIEZ MACAVILCA

Mg. Edwin C. ENCISO ROCA

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacognosia y Farmacología de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, con muestras de hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”, recolectadas en la localidad de Machente del Distrito de Ayna, Provincia de la Mar del Departamento de Ayacucho, ubicado a una altitud de 2100 m.s.n.m. durante el año 2010.

La actividad diurética se determinó utilizando el método de Naik y col., modificado por la cátedra de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), y se utilizaron 25 cobayos machos, a los cuales se administró 100, 200 y 400 mg/Kg del extracto acuoso. Asimismo, se realizó el tamizaje fitoquímico de extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”, encontrándose presentes los triterpenoides y esteroides, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, resinas, lactonas, cumarinas, glucósidos cardiotónicos y azúcares reductores.

Se logró un mejor efecto diurético a la dosis de 400 mg/Kg, el mismo que representó el 50% del efecto del diurético control que fue la furosemida ($p < 0.05$). También tuvo un comportamiento medianamente natriurético ($p < 0.05$) y potencialmente ahorrador de potasio ($p < 0.05$). Por tanto tiene actividad diurética.

En consecuencia se logró determinar que el extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro” tuvo una moderada actividad diurética comparado con la furosemida.

Palabras clave: actividad diurética, *Buddleja americana* L., lengua de perro,

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú el empleo de preparados a partir de productos naturales principalmente de origen vegetal se encuentran ampliamente difundido, debido a la existencia de una gran diversidad de flora en las distintas regiones del país (Cormejo, 1977).

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos, es una práctica que se ha utilizado desde tiempos inmemorables, durante mucho tiempo los remedios naturales sobre todo las plantas fueron el principal recurso del cual disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies naturales y ampliar sus experiencias en el empleo de los productos que de ella se extraen (Tyler, 1980).

Indudablemente el reino vegetal posee muchas especies de plantas que aún están por descubrir. Un gran número de plantas son analizadas constantemente en relación a su posible valor farmacológico, particularmente por sus propiedades antiinflamatorias, hipotensoras y diuréticas (Font Quer, 1978).

La farmacognosia se desarrolló desde las civilizaciones más antiguas que usaban partes de las plantas y animales para preparar pociones curativas que eliminaban el dolor, atenuaban y combatían las enfermedades.

En el presente trabajo de investigación se planteó determinar la actividad diurética de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”, para lo cual el problema de la investigación fue si el extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro” presenta actividad diurética experimentada en un modelo biológico en cobayos.

Para responder a esa interrogante se propuso los siguientes objetivos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en *Buddleja americana* L. “lengua de perro”.
- Evaluar la actividad diurética del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

El uso de plantas medicinales se remonta a la época en que el hombre hizo su aparición en la faz de la tierra, imitando a los animales que por instinto buscaban en los vegetales remedios para sus dolencias (Muñoz, 1999).

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos, es una práctica que se ha utilizado desde tiempos inmemorables. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el único recurso de que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de los recursos vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar sus experiencias en el empleo de los productos que de ellas se extraen.(Cornejo, 1977)

Hoy por hoy en el mundo industrializado, donde hay una cierta desconfianza en los avances científicos – tecnológicos y en el valor de los productos de la industria farmacéutica que se consideran “tóxicas” o repletos de “químicos” ha crecido notablemente el mercado de medicamentos basados en las plantas medicinales (Cornejo, 1977).

Las plantas medicinales, son aquellos vegetales que elaboran unos productos llamados principios activos, que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo.

En la actualidad en Universidades del país y el mundo, se realizan trabajos de investigación con tratamiento; dando así mayor importancia a aquellas que tienen actividades farmacológicas como antiinflamatorias, antioxidantes, cicatrizantes, diuréticas, hipoglicemiantes y otras.

Como antecedentes se citan algunos trabajos de investigación de actividad diurética realizados en plantas medicinales:

Quispe 2000, realizó el tamizaje fitoquímico y evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro", identificando la presencia de triterpenos, esteroides, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, resinas, lactonas, cumarinas, glicósidos cardiotónicos y azúcares reductores. Asimismo, determinó de los extractos acuosos e hidroalcohólico a dosis de 100 mg/Kg de peso presentan actividad antiinflamatoria, con una eficacia de 32,11% y 30,99% respectivamente.

Oré 2000, realizó el tamizaje fitoquímico y la evaluación del efecto diurético del *Petroselinum sativum* "perejil" en cobayos, obteniendo una eficacia diurética del 33,3% a dosis de 250 mg/Kg.

Oriundo 2003, 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%.

González 2003, realizó la evaluación de la actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* "silkau" en cobayos, obteniéndose un mayor efecto a una concentración de 350 mg/Kg en planta seca y fresca; una eficacia diurética de 54,8%.

Mayhua 2008, realizó la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* "mashua", encontrando mayor eficacia diurética a una concentración de 500 mg/Kg.

Prado 2008, realizó la evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* HBK "sauco", mostrando un efecto diurético a una dosis de 600 mg/Kg y una eficacia de 70,46%.

Franco 2002, realizó la evaluación de la actividad diurética de la *Kramenia lappacea* "ratania", encontrando un mayor efecto diurético a una concentración de 400 mg/Kg.

Manrique 2004, realizó el efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizado de *Taraxacum officinale* "diente de león", presentando mayor efecto diurético a una dosis de 800 mg/Kg.

2.2. Aspectos botánicos de *Buddleja americana* "lengua de perro"

2.2.1. Clasificación sistemática de *Buddleja americana* "lengua de perro"

División : Angiosperma

Clase : Dicotiledonea

Subclase : Simpétalas

Orden : Contortales

Familia : Loganiaceae

Género : *Buddleja*

Especie : *Buddleja americana* L.

Nombre vulgar : "lengua de perro"; "árnica", "hoja blanca", "sactzam",
"salviona", "tepozán", "salvia santa". (Anexo 1).

2.2.2. Sinonimias y nombres populares

Buddleja occidentalis L., *B. callicarpoides* HBK, *B. dentata* HBK, *B. fluribunda* HBK, *B. rufescens* Willd, *B. verbascifolia* HBK, *B. decurrens* Schlegel et Cham (Cáceres, 1995).

2.2.3. Descripción de la Familia Loganiaceae

La Familia Loganiácea comprende plantas leñosas, arbustivas y herbáceas escasamente bejucos, de hojas opuestas, simples con estipulas o estas reducidas a líneas estipulares. Inflorescencias en cimas o racimosas a veces modificada, comúnmente bracteoladas. Flores hermafroditas actinomorfas (Mostacero, 1993). Esta Familia comprende 18 géneros y 500 especies entre árboles, arbustos y herbáceas y también algunas lianas. Son de climas tropicales y algo cálidos. Entre sus géneros figuran el *Strychnus* (200 especies), *Logania* (25 especies), *Gelsenium* (02 especies), *Genistoma* (60 especies), *Gardneria* (05 especies) *Buddleja*, etc. Esta familia es rica en alcaloides de los grupos indol y oxindol. Entre otros componentes están el heterósido de aucubina e iridoides (Evans, 1989).

2.2.4. Descripción de la especie *Buddleja americana* "lengua de perro"

Arbusto o árbol que puede alcanzar hasta los 10 m de altura, de tallo semi leñoso y alargados y de poco espesor, con hojas de 5 a 30 cm. de largo, opuestas, ovales o elípticas, delgadas, algunas veces finamente dentadas, en el reverso son verdes y cubiertas por una lanilla amarillenta. Tiene flores pequeñas fragantes, de forma de embudo, color blanco o amarillento, en grupos densos

con inflorescencias en racimo cada 22 cm. Cápsula de semillas oblongas de aproximadamente 1 mm de largo (Cáceres, 1995).

2.2.5. Distribución geográfica de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”

Planta nativa del continente americano, se encuentra en la cuenca del Caribe y desde el Centro de México hasta Centro América y partes de América del Sur en alturas de 80 a 2100 msnm; a menudo se encuentra en terrenos rocosos a lo largo de ríos y arroyos o bordeando los campos de cultivo (Cáceres, 1995)

2.2.6. Usos medicinales

La decocción de hojas se usa por vía oral para tratar afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, disentería, gastritis, dolor de estómago, indigestión) y respiratorias (amigdalitis, asma, bronquitis, fiebre) cirrosis, epilepsia e infección urinaria. La infusión de hojas se usa contra el reumatismo; una preparación de hojas se usa para aliviar la leucorrea, cefalea y erisipela; la decocción de la raíz es soporífera para personas con insomnio y ayuda a detener la hemorragia nasal. El cocimiento de hojas, corteza y raíz se usan para tratar hidropesía.

Las hojas machacadas se aplican tópicamente como cataplasma en heridas, quemaduras y raspones. La infusión o decocción en cortadas, golpes, forúnculos, úlceras, laceraciones, inflamaciones, carbuncos, salpullidos y alergias. El emplasto se aplica en tumores y la tintura en fricciones contra el reumatismo (Cáceres, 1995).

2.3. Aparato urinario

El aparato urinario, compuesto por los riñones y su sistema excretor (uréteres, vejiga, uretra), tiene como función principal el de la excreción de los

productos metabólicos de desecho, junto a otras no menos relevantes, como la regulación del volumen de líquido extracelular, así como del pH de los líquidos corporales y su concentración iónica.

La unidad funcional renal es la nefrona; está compuesta por el glomérulo capilar, que aporta la sangre que será (ultra) filtrada, pasando al interior de la cápsula de Bowman, y de allí al sistema tubular (asa de Henle, túbulo contorneado distal, túbulos colectores) donde el ultra filtrado plasmático es modificado mediante una serie de procesos de secreción y reabsorción hasta transformación en la orina. A través de los conductos colectores llega hasta la pelvis renal, y por los uréteres hasta su almacenamiento temporal en la vejiga, desde donde finalmente es eliminada por la uretra (Zaragoza, 2001).

2.3.1. Principales patologías susceptibles de tratamiento fitoterapéutico

La nefrolitiasis es producida por la cristalización de sustancias poco solubles, que forman partículas de mayor o menor tamaño (cálculos) que se alojan a lo largo del tracto excretor (cálices, pelvis renal, uréteres). Frecuentemente son la expresión de un trastorno metabólico subyacente que conduce a la sobresaturación de la orina en una sustancia determinada, al que en ocasiones se añaden factores dietéticos, o situaciones de reducción del volumen urinario por deshidratación u otras causas. Los cálculos más frecuentes son los de tipo cálcico (oxalato o fosfato cálcico); menos frecuentes son los de ácido úrico o de ácido oxálico, estruvita, cistina, etc. (Evans, 1989).

La existencia de cálculos en las papilas renales o en el interior del sistema excretor no se acompaña necesariamente de síntomas, y con la frecuencia la litiasis es descubierta con ocasión de exploraciones radiográficas o ecográficas por otras causas. En ocasiones pueden producir hematuria macro o microscópica. En otros casos, sin embargo, los cálculos se desprenden y entran

en el uréter u ocluyen la unión ureteropélvica, dando lugar a dolor y a veces a obstrucción. El dolor es de tipo cólico, generalmente muy intenso, y suele irradiarse por los trayectos ureterales hasta la ingle y área genital. Otros síntomas habituales son la poliaquiuria, la urgencia urinaria y la disuria, que pueden originar confusiones diagnósticas con procesos infecciosos de las vías urinarias (Zaragoza, 2001).

Las infecciones del tracto urinario son procesos muy frecuentes en clínica. Son más prevalentes en mujeres debido a la menor longitud de la uretra femenina, lo que favorece a la contaminación por los gérmenes de las heces (*escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *enterococos*, etc.) (Zaragoza, 2001).

2.3.2. Tratamiento fitoterápico

En el caso de infecciones del tracto urinario, así como en procesos inflamatorios motivados por litiasis o debidos a otras causas, se ha postulado que el hecho de favorecer la formación de orina hipoosmótica se presenta como una opción eficaz para limpiar el tracto urinario de núcleos de cristalización, bacterias y otros agentes inflamatorios, mediante un proceso de lavado/ arrastre mecánico. Para conseguir este objetivo se han recomendado frecuentemente preparados a base de plantas medicinales, a las que se atribuye actividad diurética, si bien en muchos casos no existen pruebas concluyentes que avalen su eficacia como aumentadores de la excreción renal del agua. Según una opinión ampliamente extendida entre los clínicos, su efecto diurético podría ser consecuencia, en mayor o menor medida, de la ingesta de agua que acompaña al tratamiento, siendo objeto de discusión el que las especies medicinales ejerzan, *per se*, un auténtico efecto acuarético. Ahora bien, en muchas de estas plantas se ha detectado la presencia de distintos activos como ácido fenólicos, flavonoides, saponinas, aceites, sales de potasio, ácido silícico, para los cuales

está ampliamente demostrada la actividad diurética. La cuestión que permanece es si éstos se encuentran en concentraciones suficientes para que el efecto diurético sea clínicamente significativo.

En cuanto al efecto antiséptico demostrado en numerosas experiencias *in vitro* para distintas especies medicinales, algunos autores aducen que el inconveniente básico que presentan es el relativo a que la concentración que puede conseguirse de sus principios activos en orina no resulta suficiente para conseguir una acción clínicamente relevante, si bien pueden ser considerados como buenos coadyuvante de síntesis en fases agudas febriles. Su interés es mayor en fases pos agudas, con objeto de reducir las recidivas, así como en los procesos crónicos consecutivos a pieló nefritis, cistitis recidivantes, etc., dado que su baja toxicidad y escasez de efectos secundarios permite su utilización durante largos periodos de tiempo. Dado que estos procesos cursan además con síntomas muy molestos para los pacientes: dolor, espasmos, disuria, etc., el uso de drogas vegetales de acción antiinflamatoria, sedante o espasmolítico puede ser de gran ayuda desde el punto de vista clínico (Zaragoza, 2001).

2.4. Los diuréticos

Son drogas que actúan sobre el riñón y son capaces de provocar un aumento de volumen de la orina excretada, pero el propósito de los diuréticos en el edema no es solamente aumentar el volumen de la orina, sino promover la excreción de sodio, ya que en el agua le sigue pasivamente por 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 del catión sodio en todos los tipos de edema (Litter, 1997).

Los diuréticos constituyen drogas que actúan sobre el riñón y que se usan para ajustar el volumen y composición o ambas, de los líquidos corporales

en diversas situaciones clínicas, entre ellas hipertensión, insuficiencia cardíaca, aguda y crónica además, insuficiencia renal aguda y crónica, así como el síndrome neurótico y cirrosis (Guyton, 1985).

Los diuréticos actúan a través de los túmulos venales disminuyendo la reabsorción electrolítica, que prueba el lugar y la acción de los diuréticos, se emplea los métodos de clearance de agua libre bajo diuresis hídrica y a la reabsorción del agua libre en condiciones de antidiuréticos o hidroponía, así tenemos:

- a) Durante la diuresis acuosa en ausencia de la hormona antidiurética, el agua se produce por reabsorción del cloruro y sodio en los dos segmentos de dilución de la rama ascendente gruesa de asa de Henle.
- b) Si disminuye la reabsorción de sodio en el túbulo proximal, al haber mayor oferta de cloruro de sodio al asa de Henle, existe mayor reabsorción en la rama ascendente gruesa y aumenta el clearance de agua libre (Goodman y Gillman, 1996).

Se ha demostrado que los diuréticos disminuyen el clearance de agua libre y las más eficaces y poderosas también la reabsorción de agua libre, por lo que actúan fundamentalmente sobre la rama ascendente gruesa del asa de Henle, en cambio los diuréticos con escasa acción natriurética aumentan el clearance de agua libre, lo que indica una acción preponderante sobre el túbulo proximal.

2.4.2. Clasificación de los diuréticos

- a) Diuréticos de gran eficacia
 - Derivados del ácido antranílico: Furosemida.
 - Derivados del mitanilomida: Bumetamida.

b) Diuréticos de moderada eficacia

- Tiazidas: benzotiazida, clorotiazida, hidroclortiazida.
- Ftalamidas o derivados de la Isonidina: clorotalidona.
- Quinazolinas: metolazona.

c) Diuréticos de baja eficacia

- Diuréticos acidificantes: cloruro de amonio, nitrato de amonio, cloruro cálcico.
- Inhibidores de anhidrasa carbónica: acetozolomida (Diamox).
- Diuréticos osmóticos: manitol, sorbitol.

d) Diuréticos economizadores de potasio

- Agonista de la aldosterona y afines: espironolactonas y derivados (Litter, 1997).

2.5. Furosemida

Es un derivado del ácido antranílico, posee un núcleo bencenosulfanilo halogenado adyacente en forma semejante a las tiazidas. Deriva de un anillo orgánico fundamental correspondiente al ácido antranílico con una cadena lateral que contiene un anillo tirano: su potencia y eficacia diurética depende de todas estas características (Litter, 1997).

La acción diurética de la furosemida, administrado por vía intravenosa, intramuscular y oral produce una copiosa diuresis en animales y en el hombre normal o con edema que puede llegar a 10 litros diarios (Litter, 1997). Si se emplea por vía oral, el efecto comienza a los treinta a sesenta minutos, alcanzando su máximo efecto de los noventa a ciento veinte minutos y dura de seis a ocho horas. En caso de dosis por vía intravenosa en adultos es de 40mg,

en niños de 1 a 16 años es de 1mg/Kg Y en menores de un año 0.3mg/Kg El efecto comienza a 1 a 2 minutos con un rápido aumento del flujo de la orina a los 3 a 7 minutos y el efecto máximo de 15 a 18 minutos de la administración y dura de 3 a 5 horas (Goodman y Gillman, 1996).

La furosemida además de producir un aumento de la eliminación del agua, provoca un potente saluresis, con una intensa excreción de sodio (natriuresis), cloro (cloruresis) y potasio (kaliuresis), pero en general la pérdida del anión cloruro es mayor que la del catión sodio; dicho exceso de cloruro se elimina con iones potasio y amonio (Litter, 1997).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante el año 2010.

3.2. Materiales

3.2.1. Población

La población estuvo conformada por plantas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro” recolectados en la localidad de Machente del Distrito de Ayna, provincia de La Mar del departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

5 Kg de hojas secas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”.

3.2.3. Material biológico En el estudio se utilizaron 25 cobayos machos con un peso de 400 – 500 gramos, de dos meses de edad, criados y alimentados en las mismas condiciones, divididos en 05 grupos.

3.3. Diseño metodológico

3.3.1. Procedimiento para la obtención de extracto acuoso

En primer lugar se recolectó las hojas tiernas en buen estado, observando su tamaño y color.

El secado de la muestra se realizó a la sombra en un ambiente con buena ventilación, seguidamente se completó el secado en estufa a temperatura de 37 – 40°C.

Con ayuda de un molino, se procedió a triturar la muestra y luego se tamizó.

Con la muestra de hoja tamizada se preparó el extracto acuoso, siguiendo la metodología de (Miranda, 2000).

3.3.2. Determinación de cenizas totales

En un crisol de porcelana, previamente tarado, se pesó la muestra de ensayo, pulverizada y tamizada, con un error máximo de 0,5 mg. Se calentó suavemente la muestra, aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incinera en una mufla a una temperatura de 700 – 750 °C durante 02 horas. Transcurrido el tiempo, se enfrió el crisol en un desecador hasta obtener una masa constante, es decir, hasta que no difiera en más de 0,5 mg. en dos pesadas consecutivas (Miranda, 2000).

3.3.3. Determinación de humedad

De la muestra de ensayo, se pesan 02 gramos con un error máximo de 0,5 mg, luego se transfirió a una placa de vidrio previamente tarado y desecada 105°C durante 3 horas. La placa de vidrio se pasó a un desecador donde se dejó

enfriar, se colocó nuevamente en una estufa durante 1 hora, se repitió esta operación hasta obtener una masa constante.

3.3.4. Identificación de metabolitos secundarios

La identificación de los metabolitos secundarios en el extracto acuoso se realizó según la metodología propuesta por Miranda, 2000.

3.3.5. Determinación de la actividad diurética

Al evaluar la actividad diurética del extracto acuoso, se empleó el método propuesto por Naik y col. y aplicado en la Cátedra de Farmacología, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM (Cotillo, 1990).

En este ensayo se utilizó cobayos del mismo sexo y edad con un peso comprendido entre 400 – 500 gramos, los cuales se dejaron en ayunas de 10 – 12 horas antes de la prueba sin privarlos de agua. Se administró por vía oral una solución de NaCl al 9% (solución fisiológica), mediante una sonda naso gástrica, en una dosis de 50 mL/Kg de peso, y se colocó en una jaula de diuresis.

Después de 20 minutos de la hidratación, se pesó a los cobayos y se administró las siguientes muestras:

Grupo I : Furosemida en una dosis de 5 mg/Kg de peso corporal.

Grupo II : Blanco (solución de NaCl al 9%).

Grupo III : Extracto acuoso 100 mg/Kg.

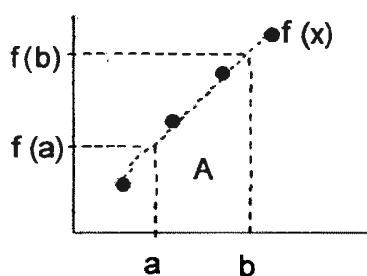
Grupo IV : Extracto acuoso 200 mg/Kg.

Grupo V : Extracto acuoso 400 mg/Kg.

El tiempo de recolección de orina fue de 04 horas en todos los casos. Luego se procede a pesar a los animales y por diferencia de peso se calcula aproximadamente el volumen perdido; asimismo se mide en una probeta

graduada el volumen de orina eliminados cada hora durante las 4 horas para comparar el efecto producido. Con los datos de volumen de orina en función del tiempo se calcula el área bajo la curva de la siguiente manera:

a) **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:



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

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

b) **Regla de simpson;** en cada subintervalo $[a_i, a_{i+1}]$ en que hemos dividido $[a, b]$ se aproxima el área de trabajo bajo la curva $f(x)$ por la expresión:

$$B_i = \frac{1}{6} (a_{i+1} - a_i) \times (f(a_i) + 4f(m_i) + f(a_{i+1}))$$

Donde m_i es el punto medio en el intervalo $[a_i, a_{i+1}]$, es decir, $m_i = (a_i + a_{i+1})/2$

También se calculó el volumen de excreción urinaria (EVU) y la eficacia urinaria:

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

$$\text{Eficacia} = \frac{\text{volumen de orina}_{\text{tratamiento}} - \text{volumen de orina}_{\text{blanco}}}{\text{volumen de orina}_{\text{blanco}}} \times 100$$

3.4. Análisis Estadístico

Se calculó el promedio del volumen de orina por hora y por tratamiento, se evaluó la dispersión de las repeticiones calculando la desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación.

Se construyó gráficos de tendencia de la variación del volumen de orina en función del tiempo, se calculó la ecuación de la recta y el área bajo la curva para cada tratamiento y repetición. El área bajo la curva se determinó con el programa COMPARE del paquete SIMFIT creado por el profesor W. G. Bardsley de la Universidad de Manchester (UK), el programa lo calcula por dos algoritmos numéricos; regla del trapecio y la regla de simpson.

Se construyó el gráfico de los valores de área bajo la curva en función del tratamiento y se realizó el análisis de varianza y de mínimas diferencias significativa de Fisher (MSD Fisher) al 95% de nivel de confianza, para la comparación de medias y de esta manera identificar diferencias estadísticamente significativas.

IV. RESULTADOS

Cuadro N° 01. Resultados de la determinación de la humedad y cenizas totales de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”. Ayacucho 2010

Parámetro	%
Humedad	51,28
Cenizas totales	12,4

Cuadro N° 02. Resultados de la identificación fitoquímica del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”. Ayacucho 2010

Ensayo	Reacción	Observación
Lieberman- Burchad (triterpenos y esteroides)	(+)	Halo de color rosado
Mayer (alcaloides)	(++)	Formación de opalescencia de color marrón
Shinoda (flavonoides)	(+)	Formación de una coloración anaranjado amarillenta
Cloruro férrico (taninos y fenoles)	(+)	Formación de coloración rojo oscuro
Borntrager (quinonas)	(+++)	Formación de coloración rojo en la fase alcalina.
Baljet (lactonas y cumarinas)	(+)	Coloración roja
Resinas	(+)	Formación de precipitado
Benedict (azúcares reductores)	(+)	Formación de una colación verde rojiza

Leyenda :

Reacción : RX

Positivo : (+)

Leve : (+)

Moderado : (++)

Abundante : (+++)

Cuadro N° 03: Principios Activos presentes en las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro“. Ayacucho – 2010.

PRINCIPIOS ACTIVOS
Triterpenos y esteroides
Taninos y fenoles
Flavonoides
Quinonas
Resinas
Lactonas y cumarinas
Glicósidos Cardiotónicos
Azúcares Reductores

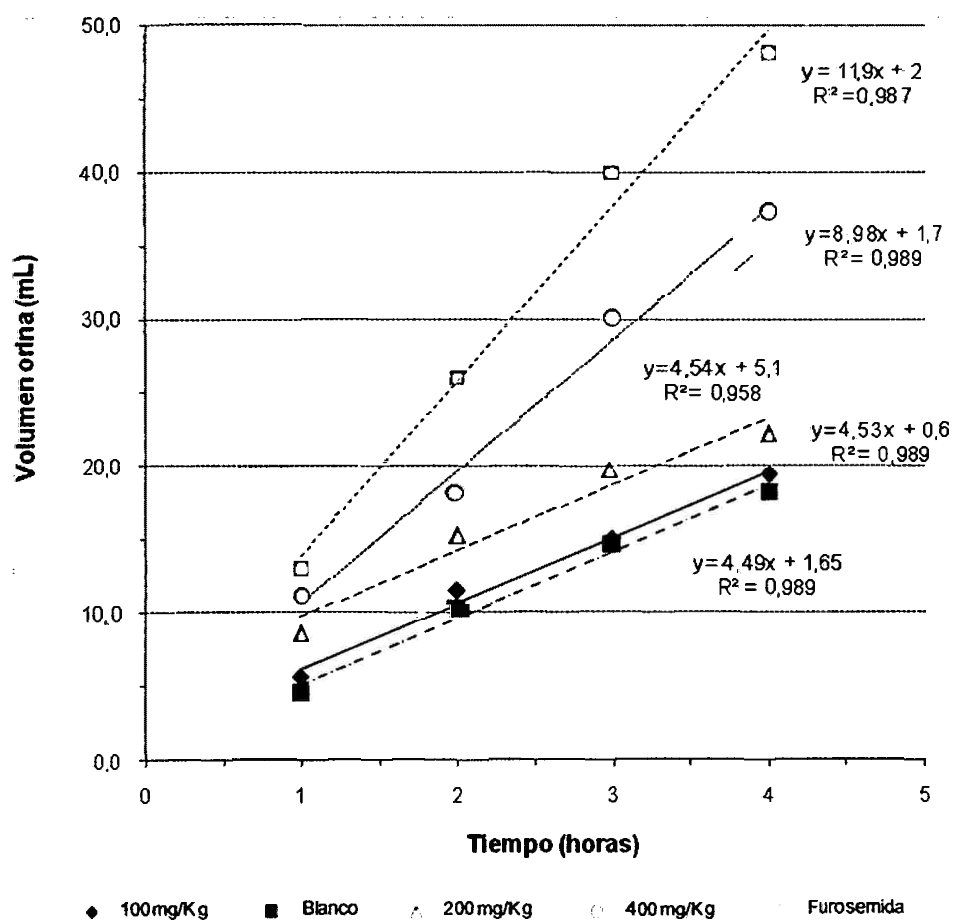
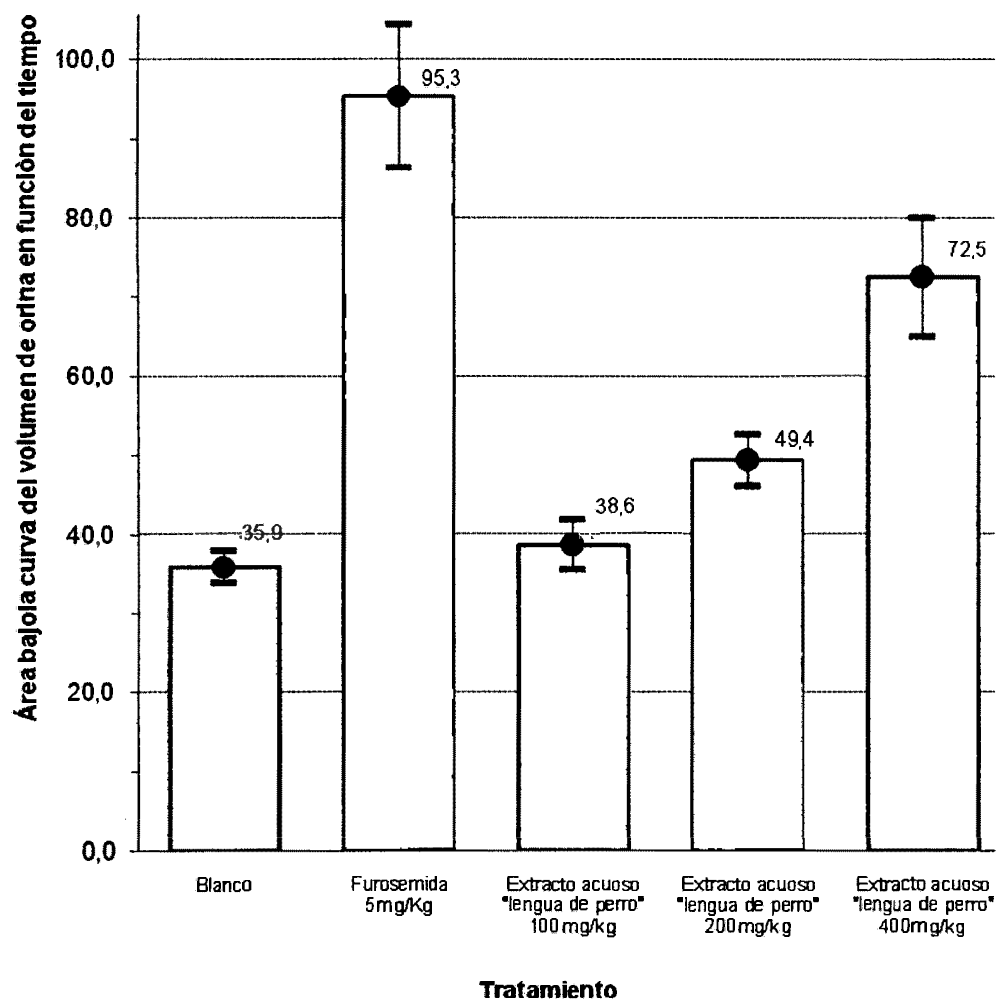


Gráfico Nº 01. Variación del volumen de orina en cobayos en función del tiempo por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”. Ayacucho 2010.

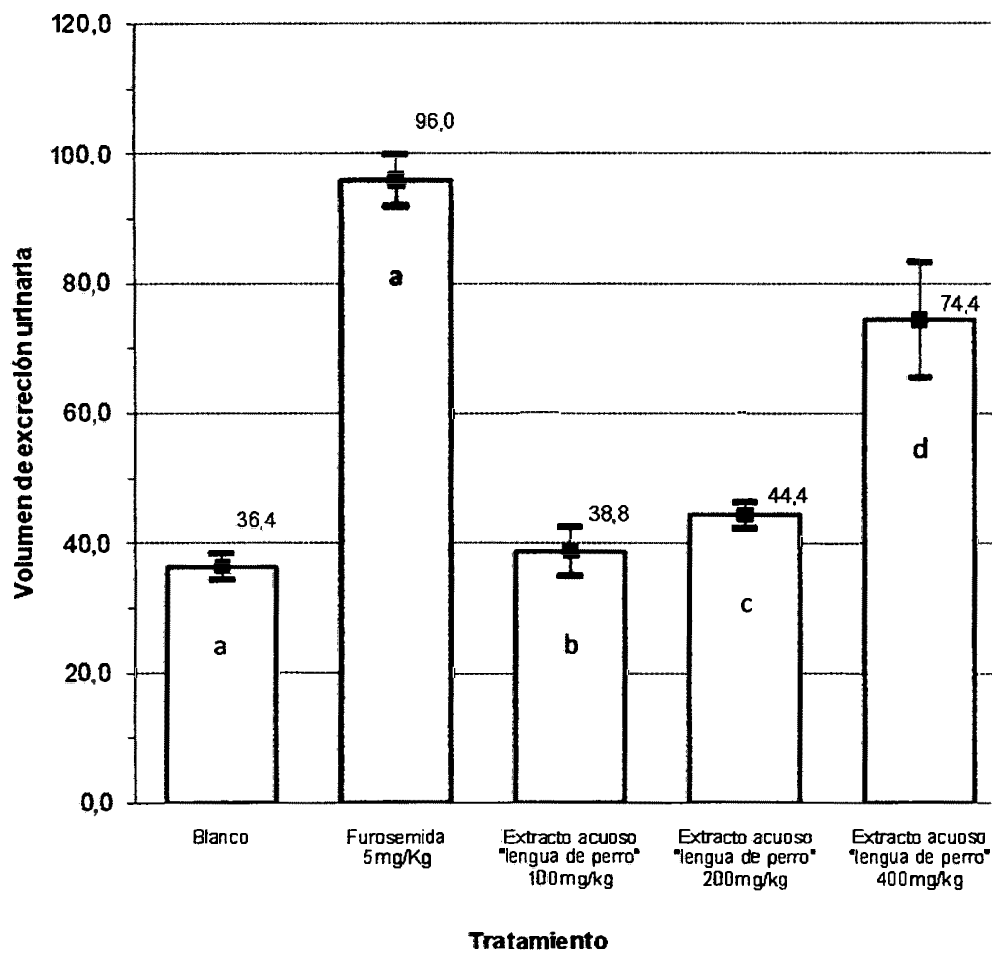


$p < 0,05$: SIGNIFICATIVO

Gráfico Nº 02. Área bajo la curva de la variación del volumen de orina en cobayos en función del tiempo por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”. Ayacucho 2010

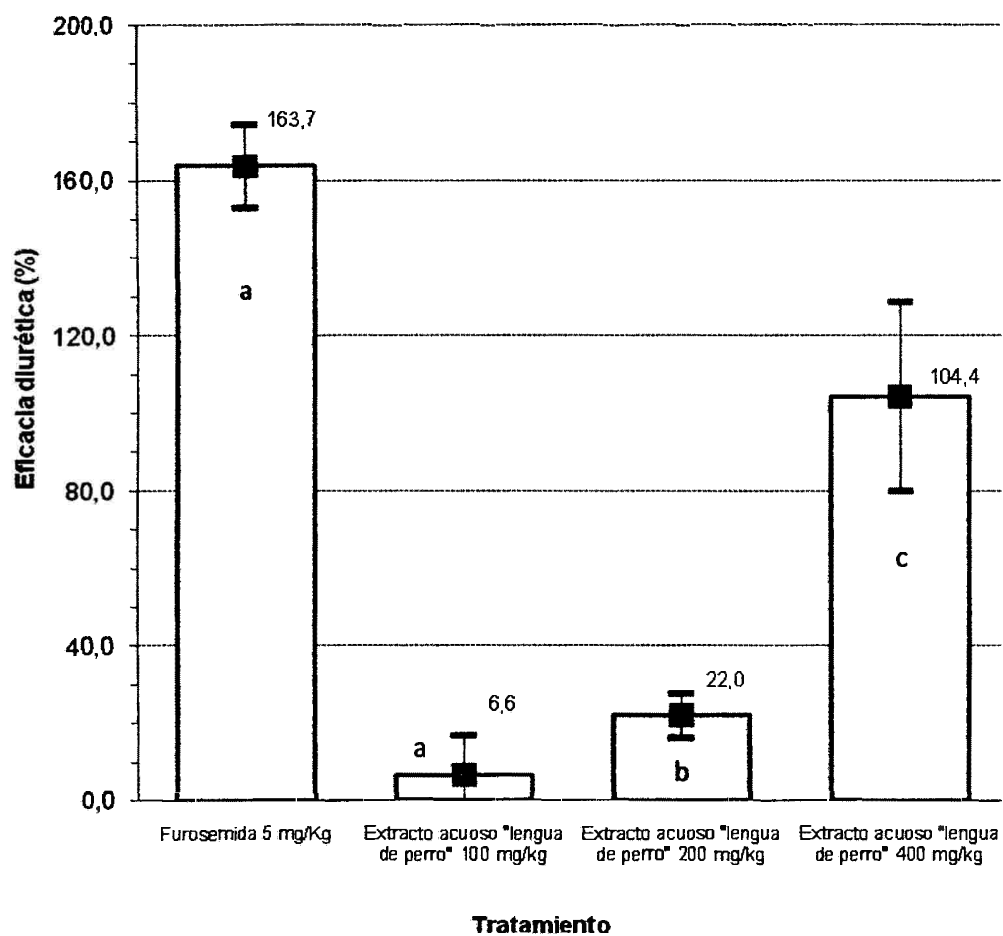
Cuadro N° 04. Resultados del análisis de mínimas diferencias significativas del área bajo la curva de la variación del volumen de orina en cobayos en función del tiempo por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho 2010

Tratamientos	N	Subconjuntos			
		1	2	3	4
Blanco	5	35,80			
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> "lengua de perro" 100 mg/Kg	5	38,66			
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> "lengua de perro" 200 mg/Kg	5		49,38		
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> "lengua de perro" 400 mg/Kg	5			72,46	
Furosemida 5 mg/Kg	5				95,26
Sig.		0,7186	1	1	1



$p < 0,05$: SIGNIFICATIVO

Gráfico N° 03. Volumen de excreción urinaria en cobayos por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho 2010



$p < 0,05$: SIGNIFICATIVO

Gráfico Nº 04. Eficacia diurética en cobayos por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho 2010

V. DISCUSIÓN

La discusión del presente trabajo de investigación parte por hacer referencia que existe evidencia teórica y científica que *Buddleja americana* L. "lengua de perro", tiene propiedades medicinales entre las que interesa en esta oportunidad es la actividad diurética. Cáceres en 1995, reporta que se le atribuye propiedad antiséptica, antiinflamatoria, depurativa, diurética, espasmódica, eupéptica, febrífuga, hemostática, hipnótica, sedante, sudorífica y tónica.

Al respecto menciona que la composición química se conoce muy poco y el tamizaje fitoquímico de las hojas indica la presencia de alcaloides, flavonoides, glicósidos saponínicos, taninos, esteroides y triterpeno. Ninguno de los alcaloides de la planta ha sido caracterizado. La raíz contiene materia grasa, aceite esencial, resina ácida, alcaloides, glucosa, tanino y sales (Cáceres, 1995).

Quispe 2000, identificó en *Buddleja americana* L. triterpenos y esteroides, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, resinas, lactonas, cumarinas, glicósidos cardiotónicos y azúcares reductores. Asimismo, no logró identificar la presencia de alcaloides, el cual se debería a diversos factores, entre los que se puede mencionar por ejemplo: la parte de la planta estudiada, (hojas), el hábitat de la especie, composición o tipo de suelo, la época o estación del año en que fue recolectada, etc.

Zaragoza 2001, refiere por ejemplo que la actividad diurética y antiinflamatoria de *Solidago virgaurea* se debe a su contenido en flavonoides y saponinas y que el mecanismo de la acción diurética se debe a las saponinas que produce una irritación a nivel de las mucosas. La actividad diurética más o menos marcada que poseen los compuestos flavónicos, se une el que para muchos de ellos se ha demostrado (*in vitro*) un efecto inhibidor de la lipooxigenasa y/o ciclooxigenasa, lo cual podría explicar su actividad antiinflamatoria. Cabe resaltar también a Quispe en 2000, quien demostró el efecto antiinflamatorio de las hojas de *Buddleja americana* L.

Zaragoza 2001 de igual forma menciona que el *Equisetum arvense* presenta actividad diurética, demostrado por ensayos experimentales, caracterizada por un discreto incremento en la eliminación renal de agua, con un aumento de flujo en los uréteres y sin práctica modificación del balance electrolítico y que en esta acción diurética podrían estar implicados los flavonoides como las sales de potasio presenten en la especie.

Chirino 2006, refiere que existe muy poca información química sobre esta planta. En la hoja se han detectado los lignanos martinósido y verbascósido, el flavonoide linarín, y el monoterpene negrósido. Se indica la presencia de alcaloides no identificados en hojas, corteza de tronco, tallo, y raíz. Además en la raíz se ha detectado un aceite esencial, resina, taninos y flavofenos, estos últimos componentes presentes también en las hojas.

Chirino 2006, menciona que, en general los compuestos fenólicos son desinfectantes, antisépticos urinarios y diuréticos, razón por la cual la medicina tradicional ha hecho uso de las raíces y tubérculos andinos para aliviar algunas enfermedades.

La investigación farmacológica del efecto diurético se realizó mediante el Método de Naik y col; modificado por la Cátedra de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM (Cotillo, 1990), esta metodología ha sido ampliamente utilizada en nuestra Universidad para evaluar la actividad diurética de varias especies medicinales de amplio uso en la medicina popular ayacuchana. (Rejas, 1999), determinó el efecto diurético del *Equisetum bogotense* “cola de caballo”; (Oré, 2000), determinó el efecto diurético del *Petroselinum sativum* “perejil”; (Manrique, 2005), determinó el efecto diurético de *Taraxacum officinale* “diente de león”; (Oriundo, 2003), realizó el tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz del *Foeniculum vulgare* “hinojo”; (Mayhua, 2006), determinó la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* “mashua”.

En el Gráfico 1, se presentan los resultados de la variación del volumen (en mL) de la orina en función del tiempo (horas). Observamos en primer término que la relación entre ambas variables es lineal, así queda demostrado por los valores del coeficiente de determinación que reportan todos los tratamientos. Los cobayos que fueron administrados con NaCl al 9% presentan menor pendiente (4,49), los tratamientos con extracto acuoso *Buddleja americana* L. 100, 200 y 400 mg/Kg tienen pendientes mayores al blanco pero menores a la Furosemida (4,53; 4,54; 8,98; 11,9 respectivamente). Esto nos da una idea de la actividad diurética, a mayor pendiente mayor volumen de orina en función del tiempo, produciendo mayor área bajo la curva.

Para poder confirmar la actividad diurética de los extractos respecto al blanco y la Furosemida se calculó el área bajo la curva (AUC) de la variación del volumen de orina en función del tiempo (Cáceres, 1995). En el Gráfico 2, se

muestra el promedio de AUC de los diferentes tratamientos: $35,9 \pm 2,05$ (blanco); $95,3 \pm 9,01$ (Furosemida); $38,6 \pm 3,16$ (100 mg/Kg); $49,4 \pm 3,31$ (200 mg/Kg) y $72,5 \pm 7,53$ (400 mg/Kg). Como se mencionó en el párrafo anterior, a mayor AUC mayor será la actividad diurética. Si un tratamiento presenta mayor AUC respecto al blanco podemos decir que tiene actividad diurética. Entonces los tres extractos acuosos de hojas de *Buddleja americana* L. poseen actividad diurética. Del análisis de varianza obtuvimos un valor de $9,8 \times 10^{-17}$, lo que nos indica que por lo menos uno de los promedios es diferente del resto ($p < 0,05$), tal como se observa en el Anexo 2.

Si bien es cierto, los extractos acuosos de las hojas de *Buddleja americana* L. poseen actividad diurética, nos interesa saber estadísticamente si es cierta nuestra apreciación. También nos interesa saber como son respecto a la Furosemida. Para ello, se realizó la prueba de MSD de Fisher (mínimas diferencias significativas de Fisher) al 95% de nivel de confianza, que se muestran en el Cuadro 2. Observamos cuatro sub conjuntos homogéneos, el AUC del extracto acuoso 100 mg/kg es estadísticamente similar al blanco ($p < 0,05$), por lo tanto no podemos afirmar con certeza estadística que tiene efecto diurético. Los extractos acuosos 200 mg/K y 400 mg/Kg, presentan valores estadísticamente diferentes al blanco ($p < 0,05$), confirmando su actividad diurética, pero son estadísticamente menores a la Furosemida ($p < 0,05$).

Asimismo, podemos mencionar que el volumen de excreción urinaria de todos los tratamientos el blanco, furosemida, 100 mg/Kg, 200 mg/Kg y 400 mg/Kg del extracto acuso, con valores de $36,4 \pm 2,08$ %; $96,00 \pm 3,93$ %; $38,80 \pm 3,77$ %; $44,40 \pm 2,08$ % y $74,40 \pm 8,85$ % respectivamente. En el Gráfico 3, se observa que el blanco y la furosemida presentan valores de EVU

estadísticamente similares ($p > 0,05$) y que son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) a los extractos acuosos de *Buddleja americana* L.

El porcentaje de eficacia diurética para los extractos acuosos de *Buddleja americana* L. a 100 mg/Kg y 200 mg/Kg fueron de $6,59 \pm 10,34$ % y $21,98 \pm 5,71\%$ respectivamente, siendo estadísticamente similares ($p > 0,05$). El extracto acuoso a 400 mg/Kg presentó un valor de $104,40 \pm 24,31\%$ que viene a ser estadísticamente diferente a la furosemida que tiene un valor de $163,74 \pm 10,79\%$.

Haciendo una aproximación teórica de los metabolitos secundarios que contiene *Buddleja americana* L. a los cuales se debe la actividad diurética, podemos mencionar que los metabolitos responsables de la actividad diurética son los ácidos fenólicos, flavonoides, saponinas, aceites esenciales, sales de potasio y ácido sílico (Zaragoza, 2001). Haciendo un contraste con los metabolitos secundarios identificados en la presente investigación, flavonoides, azúcares reductores, taninos y fenoles, volvemos a afirmar que en la práctica y teoría existe evidencias para poder afirmar que el extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. posee actividad diurética.

Esto podemos reforzar al tener referencias bibliográficas que poseen los mismos metabolitos y tienen actividad diurética, como por ejemplo: *Solidago virgaurea* presenta ácidos fenólicos, flavonoides, antocianidinas, taninos catecólicos, aceite esencial, di terpenos, saponinas; *Arctostaphylos uva-ursi* contiene arbutósido, metil arbutósido, ácido gálico, ácido quínico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, hiperósido, quercitrósido; *Equisetum arvense* posee glucósidos y ésteres malónicos de luteolina y apigenina, glucopiranósido, quercetina, genkwanina; *Orthosiphon stamineus* presenta ácido rosmarínico, ácido dicafeiltartárico, derivados del ácido litospérmico, flavonoides como

sinensetina, salvigenina y eupatorina; todas estas especies tienen actividad diurética reportada (Zaragoza, 2001).

VI. CONCLUSIONES

1. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. fueron: triterpenos, esteroides, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, quinonas, resinas, lactonas, cumarinas, glicósidos cardiotónicos y azúcares reductores.
2. Se determinó que los extractos acuosos de las hojas de *Buddleja americana* L. a las concentraciones de 200 mg/Kg y 400 mg/Kg tienen un área bajo la curva de la variación del volumen de orina en función del tiempo de $49,4 \pm 3,31$ y $72,5 \pm 7,52$ respectivamente, el cual respecto al blanco ($35,9 \pm 2,05$) son estadísticamente mayores ($p < 0,05$); por lo tanto tienen actividad diurética.
3. Los extractos acuosos de las hojas de *Buddleja americana* L. 200 mg/Kg y 400 mg/Kg tienen actividad diurética estadísticamente menor a la Furosemida, al comparar el área bajo la curva de la variación del volumen de orina en función del tiempo ($p < 0,05$).

VII. RECOMENDACIONES

1. Durante el proceso de evaluación de la actividad farmacológica, se debe tratar de controlar las variables intervinientes como estrés, iluminación y temperatura, ya que éstos pueden alterar los resultados.
2. Se debe implementar un bioterio que provea de animales con características similares.
3. Se debe continuar con el estudio de este recurso vegetal terapéutico, a fin que se pueda transformar en fitomedicamento.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Cáceres, A.** 1995. Plantas medicinales; Edit. Universitaria; Universidad San Carlos. Guatemala.
2. **Chirino, R.** 2006, High performance liquid chromatography With. Fotodiode array detection (UPLC –DAD)/HPLC
3. **Cornejo, V.** 1977. Plantas medicinales y su correcta Utilización. UNSCH. Ayacucho.
4. **Cotillo, P.** 1990. Métodos farmacológicos en la investigación de los productos naturales; Editorial Jarmad. Lima – Perú.
5. **Evans, W.** 1989. “Farmacognosia” Décimo Tercera Edición, Editorial Interamericano Mc Graw – Hill, México.
6. **Font Quer, P.** 1978. Plantas Medicinales; Editorial Labor S.A. Barcelona.
7. **Franco, V.** 2002. Evaluación de la actividad diurética de *Krameria lappacea* “ratania” en cobayos; Tesis UNSCH. Ayacucho– Perú.
8. **González, V.** 2003. Evaluación de la actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* “silkau” en cobayos; Tesis UNSCH. Ayacucho –Perú.
9. **Goodman, A. y Gillman, P.** 1996. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9na edición; McGraw-Hill Interamericana. México.
10. **Guyton, A.** 1985. Tratado de fisiología médica. 10ma edición; Editorial McGraw-Hill Interamericana. México.
11. **Litter, M.** 1997. Compendio de Farmacología. 2da. Edición; Ediciones Buenos Aires. Argentina.
12. **Manrique, J.** 2004. Efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto acuoso atomizados de *Taraxacum officinale* “diente de león”; Tesis Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
13. **Mayhua, H.** 2006. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* “mashua” en ratas; Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
14. **Miranda Cuellar, A.** 2000. Practicas de Farmacognosia y Métodos de análisis de drogas y extractos; Editorial Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana. La Habana.
15. **Mostacero, J.** 1993. Taxonomía de fanerógamas peruanas; 1ra edición; Edit. CONCYTEC. Trujillo – Perú.

16. **Muñoz, A.** 1999. Plantas medicinales; Edit. Ecoe. Santa Fe de Bogotá.
17. **Oré, J.** 2000. Tamizaje fitoquímico y evaluación del efecto diurético del *Petroselinum sativum* "perejil" en cobayos; Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú..
18. **Oriundo, S.** 2003. Tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz del *Foeniculum vulgare* "hinojo" en cobayos; Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
19. **Prado, N.** 2008. Evaluación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las flores de *Sambucus peruviana* HBK "sauco" en cobayos; Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
20. **Quispe, A.** 2000. Tamizaje fitoquímico y evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro" en cobayos; Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
21. **Rejas, R.** 1999. Marcha fitoquímica y evaluación del efecto diurético del *Equisetum bogotense* "cola de caballo" en cobayos; Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú.
22. **Tyler, P.** 1980. "Farmacognosia" Segunda Edición, Editorial el Ateneo, Buenos Aires – Argentina.
23. **Zaragoza, F.** 2001. Curso de plantas medicinales y fitoterapia. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. España.

ANEXO

ANEXO N°01

Certificado de la muestra de hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro" procedente de la localidad de Machente del Distrito de Ayna, Provincia de la Mar, Departamento de Ayacucho.



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 Bach. en Farmacia y Bioquímica, Sr. **Gottardo, RAMOS SÁNCHEZ**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis. Dicha muestra ha sido estudiada y clasificada según el Sistema de Clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	ANTOPHYTA (ANGIOSPERMAE)
CLASE	:	DLCOTILEDONEAE
SUB CLASE	:	METACLAMIDEAS
ORDEN	:	GENTIANALES (CONTORTALES)
FAMILIA	:	BUDDLEJACEAE
GENERO	:	<i>Buddleja</i>
ESPECIE	:	<i>Buddleja americana</i> L.
Nombre vulgar	:	"lengua de perro"

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

Ayacucho, 15 de Marzo del 2011.

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

Dña. Laura Dorelina Medina
JEFE

ANEXO N°02

Cuadro N° 05. Valores descriptivos del área bajo la curva de la variación del volumen de orina en función del tiempo por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho 2010

Tratamiento	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95 %		Mínimo	Máximo
					Límite	Límite		
					inferior	superior		
Blanco	5	35,8	1,29	0,58	34,2	37,4	34,5	37,9
Furosemida 5 mg/Kg	5	95,3	5,68	2,54	88,2	102,3	88,5	101,3
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 100g/Kg	5	38,7	1,97	0,88	36,2	41,1	36,8	42,0
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 200 mg/Kg	5	49,4	2,07	0,93	46,8	51,9	47,3	52,5
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 400 mg/Kg	5	72,5	4,75	2,13	66,5	78,3	67,5	80,3
Total	25	58,3	23,23	4,65	48,7	67,9	34,5	101,3

ANEXO N°03

Cuadro N° 06. Resultados del análisis de varianza de los valores descriptivos del área bajo la curva de la variación del volumen de orina en función del tiempo por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”. Ayacucho 2010

	Suma de cuadrados	g.l.	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	12690,5	4	3172,62	245,536	9,8E-17
Intra-grupos	258,424	20	12,9212		
Total	12948,9	24			

ANEXO N°04

Cuadro N° 07. Valores descriptivos de la excreción volumétrica urinaria por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”. Ayacucho 2010

Tratamientos	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	5	36,4	1,7	0,7	34,3	38,5	34,0	38,0
Furosemida	5	96,0	3,2	1,4	92,1	99,9	92,0	100,0
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 100mg/Kg	5	38,8	3,0	1,4	35,0	42,6	34,0	42,0
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 200mg/Kg	5	44,4	1,7	0,7	42,3	46,5	42,0	46,0
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 400mg/Kg	5	74,4	7,1	3,2	65,6	83,2	68,0	86,0
Total	25	58,0	24,1	4,8	48,0	68,0	34,0	100,0

ANEXO N°05

Cuadro N° 08. Resultados del análisis de varianza de la excreción volumétrica urinaria por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”. Ayacucho 2010

	Suma de cuadrados	g.l.	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	13665,6	4	3416,40,0	225,952,4	2,4391E-16
Intra-grupos	302,4	20	15,120,0		
Total	13968,0	24			

ANEXO N° 06

Cuadro N° 09. Resultados del análisis de comparaciones múltiples de Duncan de la excreción volumétrica urinaria por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho 2010

Tratamiento	N	Sub conjunto homogéneo			
		1	2	3	4
Blanco	5	36,4			
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 100	5	38,8			
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 200	5		44,4		
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 400	5			74,4	
Furosemida	5				96
Sig.		0,34077113	1	1	1

ANEXO N°07

Cuadro N° 10. Valores descriptivos de la eficacia urinaria por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho 2010

Tratamientos	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Furosemida	5	163,7	8,7	3,9	152,9	174,5	152,7	174,7
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 100 mg/Kg	5	6,6	8,3	3,7	-3,8	17,0	-6,6	15,4
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 200 mg/Kg	5	22,0	4,6	2,1	16,3	27,7	15,4	26,4
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L. "lengua de perro" 400 mg/Kg	5	104,4	19,6	8,8	80,1	128,7	86,8	136,3
Total	20	74,2	66,2	14,8	43,2	105,2	-6,6	174,7

ANEXON°08

Cuadro N° 11. Resultados del análisis de varianza de la eficacia urinaria por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L. “lengua de perro”. Ayacucho 2010

	Suma de cuadrados	g.l.	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	81084,4	3	27028,1	196,4	7,882E-13
Intra-grupos	2202,2	16	137,6		
Total	83286,6	19			

ANEXO N°09

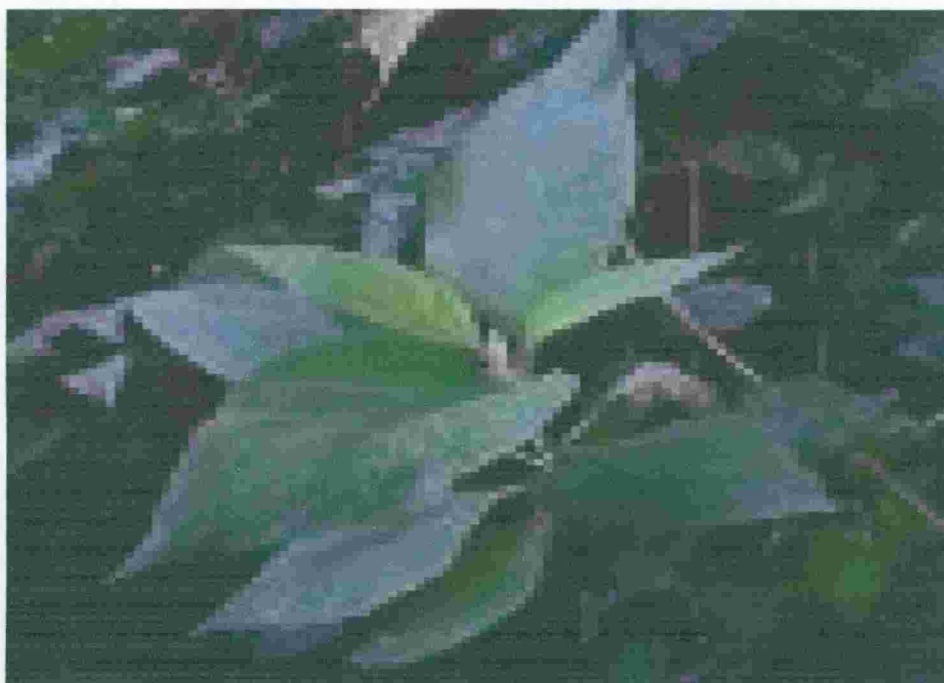
Cuadro N° 12. Resultados del análisis de comparaciones múltiples de Duncan de la eficacia urinaria por efecto del extracto acuoso de las hojas de *Buddleja americana* L “lengua de perro”. Ayacucho 2010

Tratamientos	N	Sub conjuntos homogéneos		
		1	2	3
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L.				
"lengua de perro" 100 mg/Kg	5	6,6		
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L.				
"lengua de perro" 200 mg/Kg	5	22,0		
Extracto acuoso de <i>Buddleja americana</i> L.				
"lengua de perro" 400 mg/Kg	5		104,4	
Furosemida	5			163,7
Sig.		0,054	1,000	1,000

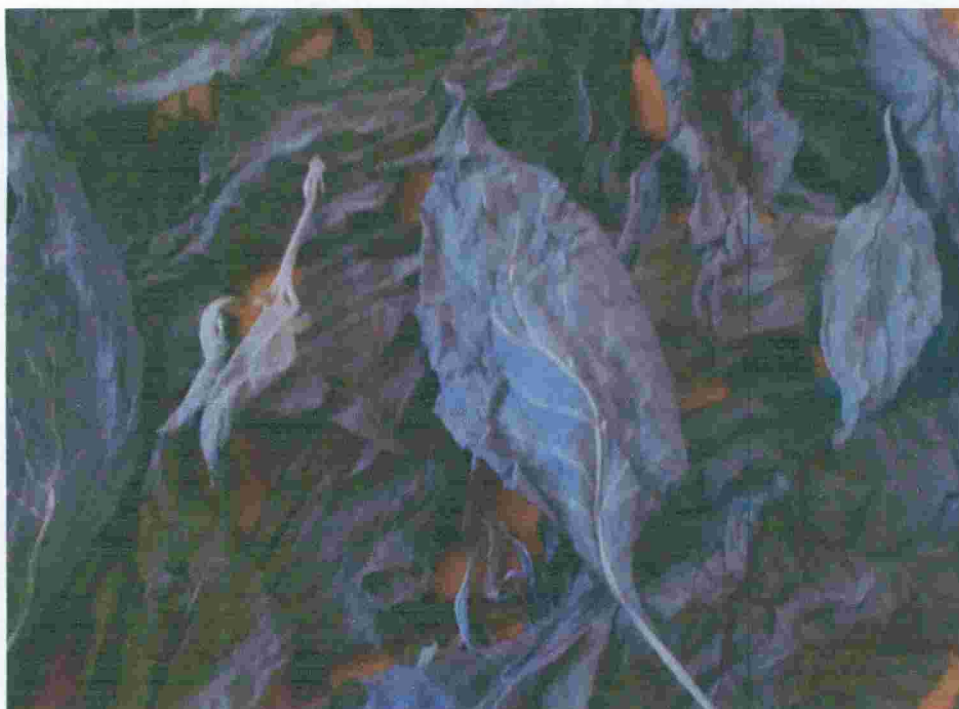
ANEXO Nº 10



Fotografía Nº 01: Planta de *Budleja americana* L. “lengua de perro” tomada en su estado natural. en la Localidad de Machente, distrito de Ayna, Provincia de La Mar, departamento de Ayacucho.



Fotografía Nº 02: Planta de *Budleja americana* L. “lengua de perro” tomada en su estado natural. en la Localidad de Machente, distrito de Ayna, Provincia de La Mar, departamento de Ayacucho.



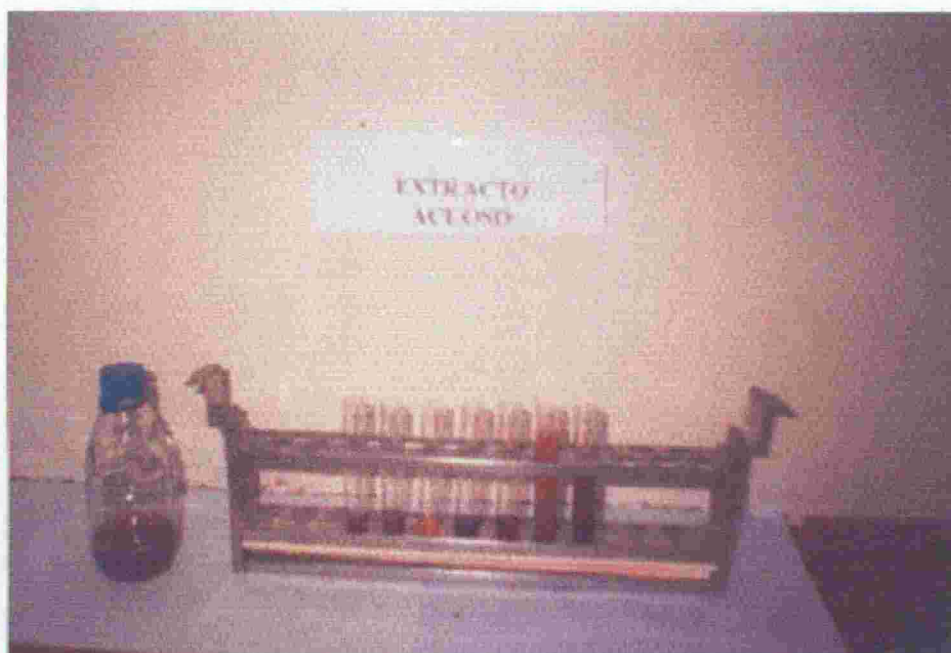
Fotografía N° 03: Secado de las hojas de *Budleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho 2010.



Fotografía N° 04: Secado de las hojas de *Budleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho 2010.



Fotografía Nº 05: Muestra triturada de las hojas de *Budleja americana* L. "lengua de perro". Ayacucho – 2010.



Fotografía Nº 06: Identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Budeja americana* L. "lengua de perro".



Fotografía N° 07: Concentración acuosa de las hojas de *Budleja americana* "lengua de perro" en rotavapor.



Fotografía N° 08: Selección y pesaje de animales en experimentación



Fotografía Nº 09. Medida de los volúmenes de orina en las jaulas de diuresis, de los animales en experimentación.